



**Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos**

KLYCIA FIDÉLIS CERQUEIRA E SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO DE SACHA
INCHI (*Plukenetia volubilis* L.) ATRAVÉS DE GELIFICAÇÃO IÔNICA**

**CAMPINAS
2018**

KLYCIA FIDÉLIS CERQUEIRA E SILVA

DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS CONTENDO ÓLEO DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis L.*) ATRAVÉS DE GELIFICAÇÃO IÔNICA

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

Orientadora: Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA KLYCIA FIDÉLIS CERQUEIRA E SILVA E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. MIRIAM DUPAS HUBINGER.

**CAMPINAS
2018**

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 132420/2016-3

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

Si38d Silva, Klycia Fidélis Cerqueira e, 1992-
Desenvolvimento de micropartículas contendo óleo de sacha inchi
(*Plukenetia volubilis* L.) através de gelificação iônica / Klycia Fidélis Cerqueira e
Silva. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Miriam Dupas Hubinger.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Engenharia de Alimentos.

1. Óleo de sacha inchi. 2. Ácidos graxos insaturados. 3. Gelificação
ionotrópica. 4. Alginato de sódio. I. Hubinger, Miram Dupas. II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Development of microparticles containing sacha inchi oil
(*Plukenetia volubilis* L.) by ionic gelation

Palavras-chave em inglês:

Sacha inchi oil
Unsaturated fatty acids
Ionotropic gelation
Sodium alginate

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestra em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Miram Dupas Hubinger
Louise Emy Kurozawa
Vânia Regina Nicoletti Telis

Data de defesa: 20-04-2018

Programa de Pós-Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Professora Dra. Miriam Dupas Hubinger
Orientadora

Professora Dra. Louise Emy Kurozawa
Membro titular – UNICAMP/FEA

Professora Dra. Vânia Regina Nicoletti Telis
Membro titular – UNESP/IBILCE

Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

DEDICATÓRIA

“Com todo amor e carinho eu dedico essa dissertação à minha amada família e amigos, em particular à minha mãe Marcia e avó Ana, que nunca permitiram que eu perdesse a fé e a esperança.”

RESUMO

O óleo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), nativo da Amazônia peruana, é caracterizado predominantemente por elevados níveis de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs). Em virtude desta alta concentração de PUFAs, este óleo apresenta instabilidade à temperatura ambiente, o que dificulta e limita a sua utilização devido a sua maior predisposição à oxidação lipídica quando exposto a condições adversas. O presente trabalho teve como o objetivo desenvolver micropartículas de alginato contendo óleo de sachá inchi através da técnica de gelificação iônica combinada ao processo de interação eletrostática com quitosana. Este processo de encapsulação foi utilizado visando a proteção deste óleo, bem como ampliar a sua aplicação industrial. Para isso estudou-se a formação das emulsões com e sem adição de surfactante não iônicos (Tween 20 e 80) com 45, 60, e 75% de óleo de sachá inchi (OSI) em relação a sólidos totais. As emulsões foram caracterizadas em relação à estabilidade, diâmetro médio e distribuição de gotas, microscopia óptica, comportamento reológico, densidade de carga superficial e a tensiometria interfacial. Diante dos resultados de caracterização das emulsões, as formulações constituídas de Tween 20 a 1% foram selecionadas para a produção de micropartículas. As micropartículas contendo 45, 60 e 75% de OSI, em relação a sólidos totais, obtidas por extrusão foram caracterizadas em relação à eficiência de encapsulação, teor de umidade, atividade de água, diâmetro médio e distribuição das partículas, estrutura morfológica e estabilidade oxidativa. As partículas úmidas apresentaram valores superiores a 80% para o conteúdo de umidade e 0,99 para atividade de água, respectivamente. As micropartículas exibiram distribuição monomodal com diâmetros variando entre 355 a 454 μm , sendo os menores diâmetros observados para as formulações que foram recobertas com quitosana. As micropartículas úmidas exibiram eficiência de encapsulação superior a 99%, bem como melhoria na estabilidade oxidativa com valores de índice de peróxido inferiores aos encontrados no óleo de sachá inchi livre.

Palavras-chaves: óleo de sachá inchi, ácidos graxos insaturados, gelificação ionotrópica e alginato.

ABSTRACT

The sachá inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.), native to the Peruvian Amazon, is predominantly characterized by high levels of polyunsaturated fatty acids (PUFAs). As a result of this high concentration of PUFAs, this oil presents instability at room temperature, which hampers and limits its use due to its greater predisposition to lipid oxidation when exposed to adverse conditions. The present work had the objective of developing alginate microparticles containing sachá inchi oil (SIO) through the ionic gelation technique combined with the electrostatic interaction process with chitosan. This process of encapsulation was used to protect this oil, as well as to extend its industrial application. For this, the formulations of the emulsions were studied with and without addition of nonionic surfactant (Tween 20 and 80) with 45, 60, and 75% SIO in relation to total solids. Emulsions were characterized in relation to stability, droplet size distribution, optical microscopy, rheological behavior, ζ -Potential measurements and interfacial tension. Considering the results of characterization of the emulsions, the formulations consisting of 1% Tween 20 were selected to produce microparticles. The microparticles containing 45, 60 and 75% SIO in relation to total solids obtained by extrusion were characterized in relation to encapsulation efficiency, moisture content, water activity, particle mean diameter, microstructure and lipid oxidation. The wet particles presented values higher than 80% and 0.99 for the moisture content and water activity, respectively. The microparticles showed monomodal distribution with diameters particle that ranging from 355 to 454 μm , being the smallest diameters observed for the formulations that were coated with chitosan. The wet microparticles exhibited encapsulation efficiency greater than 99% as well as improved oxidative stability with lower peroxide values than those found in free inchi oil.

Keywords: sachá inchi oil, unsaturated fatty acids, ionotropic gelation and sodium alginate.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Sacha inchi verde (esquerdo) e maduro (direita).	16
Figura 2. Esquema do mecanismo de oxidação lipídica primária. Fonte: Ramalho e Jorge (2006).	21
Figura 3. Estrutura molecular dos emulsificantes Tween 20 e Tween 80.	23
Figura 4. Estrutura das sequências de monômeros em relação as três tipos de ligações glicosídicas (HELGERUD <i>et al.</i> , 2010).	28
Figura 5. Modelo caixa de ovo (CHAN <i>et al.</i> , 2017).	28
Figura 6. Espectro de dicróismo circular do alginato de sódio a 6,4 mg/mL	30
Figura 7. Diagrama de fluxo para execução das atividades.	32
Figura 8. Esquema do processo de atomização em solução de cloreto de cálcio a 2%(m/v) (CHAN <i>et al.</i> , 2012).	42
Figura 9. Avaliação da estabilidade das emulsões em diferentes concentrações de OSI e surfactante em relação a sólidos totais após 24 horas. Emulsão controle com 45% (A), 60% (B) e 75% (C); Emulsão Tween 80 a 0,5% com 45% (D), 60% (E) e 75% (F); Emulsão Tween 80 a 1% com 45% (G), 60% (H) e 75% (I); Tween 20 a 0,5% com 45% (J), 60% (L) e 75% (M); Emulsão Tween 20 a 1% com 45% (N), 60% (O) e 75% (P);	53
Figura 10. Distribuição de diâmetro de gota das emulsões obtidas com diferentes concentrações de surfactante e OSI sendo que --- 45%, — 60% e 75% de fase oleosa em relação a sólidos totais.	56
Figura 11. Influência do pH sobre o potencial zeta da solução de alginato de sódio a 0,2%.	58
Figura 12. Micrografias óticas das emulsões com escala de 5 µm. Onde: Emulsão controle com 45% (A), 60% (B) e 75% (C); Emulsão Tween 80 a 0,5% com 45% (D), 60% (E) e 75% (F); Emulsão Tween 20 a 0,5% com 45% (G), 60% (H) e 75% (I); Tween 80 a 1% com 45% (J), 60% (L) e 75% (M); Emulsão Tween 20 a 1% com 45% (N), 60% (O) e 75% (P);	61
Figura 13. Distribuição de tamanho de partícula úmida obtidas com diferentes concentrações de OSI, sendo que 45%, - - - 60% e — 75% em relação a sólidos totais.	67

Figura 14. As microestruturas das micropartículas secas por liofilização com escala de 200 μm com aumento de 100x. (A) 45% de OSI sem revestimento, (B) 60% de OSI sem revestimento e (C) 75% de OSI sem revestimento; (D) 45% de OSI revestidas, (E) 60% de OSI revestidas e (F) 75% de OSI revestidas.....	70
Figura 15. As microestruturas das partículas úmidas estão na escala de 100 μm com aumento de x10 (lado esquerdo da figura), e as partículas secas por liofilização com escala de 20 μm com aumento x500 (centro da figura) e a superfície das partículas liofilizadas com escala de 10 μm com x2000 (lado direito da figura). Onde: (A), (B) e (C) 45% de OSI sem revestimento; (D), (E) e (F) 60% de OSI sem revestimento; (G), (H) e (I) 75% de OSI sem revestimento; (J), (L) e (M) 45% de OSI revestidas; (N), (O) e (P) 60% de OSI revestidas; (Q), (R) e (S) 75% de OSI revestidas.	71
Figura 16. Microestrutura representativas das partículas úmidas coradas com corantes fluorescentes na escala de 100 μm , onde: A apresenta as partículas sem recobrimento, B e C apresenta mesma partícula com e sem revestimento de quitosana, respectivamente.....	72
Figura 17. Variação no índice de peróxido das amostras durante ao armazenamento a 45 °C	75

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Dados do departamento de comércio exterior do governo peruano da exportação do óleo de sachá inchi para o mês de outubro.	17
Tabela 2. Composição de ácidos graxos de óleos de vegetais comerciais.....	18
Tabela 3. Ensaio preliminares envolvendo surfactantes, OSI e solução de alginato a 2% (g/100g).....	37
Tabela 4. Emulsão utilizada na produção das partículas	41
Tabela 5. Composição de ácidos graxos de OSI	46
Tabela 6. Composição em triacilgliceróis (TAGs) de OSI	48
Tabela 7. Caracterização do OSI segundo sua qualidade físico-química	48
Tabela 8. Dados de tensão interfacial entre a fase oleosa OSI e diferentes concentrações de surfactante na fase aquosa da dispersão de alginato de sódio a 2%.....	50
Tabela 9. Dados de diâmetro superficial de gota $D_{[32]}$ e <i>span</i> das emulsões.....	55
Tabela 10. Dados de potencial zeta e pH das emulsões desenvolvidas.....	59
Tabela 11. Parâmetros de ajuste do modelo da Lei da Potência aos dados experimentais das emulsões.....	64
Tabela 12. Teor de umidade e atividade de água das micropartículas recobertas ou não com quitosana	66
Tabela 13. Dados de diâmetro médio de partícula $D_{[43]}$	68
Tabela 14. Dados da eficiência de encapsulação por lavagem superficial das micropartículas úmidas	73

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivo específicos	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1. Sacha inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.).....	16
3.2. Propriedades do óleo de sachá inchi	18
3.3. Oxidação lipídica	20
3.4. Emulsão	22
3.5. Microencapsulação	24
3.6. Produção de micropartículas por gelificação iônica/ionotrópica	25
3.7. Polissacarídeos iônicos.....	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1. MATERIAL	30
4.1.1. Ativo	30
4.1.2. Material de Parede	30
4.1.3. Reagentes.....	31
4.2. MÉTODOS	31
4.2.1. ETAPA 1: Caracterização do óleo de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.)	33
4.2.2. ETAPA 2: Desenvolvimento e caracterização das emulsões.....	36
4.2.3. ETAPA 3: Desenvolvimento e caracterização das partículas.....	41
4.2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SACHA INCHI (<i>Plukenetia volubilis</i> L.)	46
5.1.1. Composição de ácidos graxos e triacilgliceróis	46
5.1.2. Avaliação da qualidade do OSI controle	48
5.2. CARACTERIZAÇÃO DA EMULSÃO	50
5.2.1. Tensão dinâmica interfacial.....	50

5.2.2. Estabilidade.....	52
5.2.3. Distribuição e diâmetro médio de gotas	54
5.2.4. Densidade de carga superficial	58
5.2.5. Microscopia óptica	60
5.2.6. Comportamento reológico.....	62
5.2. CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS	66
5.2.1. Teor de umidade e atividade de água das partículas.....	66
5.2.2. Diâmetro médio e distribuição de partícula	67
5.2.3. Microestrutura e morfologia das partículas	69
5.2.4. Eficiência de encapsulação.....	73
5.2.5. Estabilidade oxidativa	74
6. CONCLUSÕES	76
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	77
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXO A	87

1. INTRODUÇÃO

O sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L) é um fruto encontrado na Amazônia peruana, que possui sementes oleaginosas dos quais se extraem um óleo com elevada quantidade de ácidos graxos poliinsaturados, que representam em média 82% do conteúdo lipídico total. O ácido graxo α -linolênico (C18:3) e o ácido graxo linoleico (C18:2) são os principais componentes encontrados no óleo de sachá inchi, além de possuir em sua composição micronutrientes, como os fitoesteróis, tocoferóis, carotenoides e compostos fenólicos. No entanto, em razão da elevada quantidade de insaturações, este óleo é facilmente degradado, principalmente na presença de catalisadores, como o oxigênio, luz, umidade e altas temperaturas, uma vez que estes são capazes de aumentar a cinética do processo autoxidativo, também conhecido por rancidez oxidativa (Cisneros et al., 2014; Fanali et al., 2011). Em vista disso, o processo de encapsulação é um método capaz de minimizar os fatores que interferem na instabilidade do óleo sachá inchi.

A microencapsulação consiste em uma técnica que proporciona proteção para compostos sensíveis à degradação, quando expostos a fatores ambientais externos, podendo ainda proporcionar a liberação controlada do agente ativo encapsulado. O método baseia-se em produzir uma membrana polimérica envolvendo o ingrediente ativo, criando desta maneira, uma barreira protetora. A eficiência de proteção e liberação dependem principalmente da composição e estrutura da parede da partícula, e também das condições de operação durante a produção e do meio de aplicação.

Dentre as técnicas de microencapsulação, têm-se a gelificação iônica, que consiste na produção de partículas através da interação iônica entre um biopolímero e a solução de polieletrólitos. Para soluções contendo alginato de sódio essa interação pode ocorrer seguindo o modelo de configuração espacial conhecido como “caixa de ovos”, que consiste na acomodação dos íons divalentes ao longo das cadeias do grupo carboxílico. Para a microencapsulação de óleos através dessa técnica, as partículas são formadas por meio de duas etapas: a primeira resume-se na formação de uma emulsão estável, onde a fase contínua é constituída por uma dispersão aquosa do agente gelificante e a fase dispersa, o ativo a ser encapsulado, para posteriormente ser extrusada em um banho de solução iônica.

A principal vantagem desse método é o emprego de polímeros que não necessitam de altas temperaturas para formar géis, o que é interessante para óleos ricos em ácidos graxos poliinsaturados, pois permite a proteção do composto de interesse, possibilita a aplicação em produtos alimentícios e também pode-se encapsular um maior conteúdo de óleo em comparação a outros métodos como spray drying. Conforme abordado por Chan (2011) a produção de partículas com alta concentração de óleo pode ser justificada em suas aplicações em produtos alimentícios nutraceuticos, onde pode ser requerido um maior teor ativo com aplicação de um menor volume de partícula no produto final. Nesse sentido, Peniche et al. (2004) observaram que é possível atingir um alto teor de óleo (cerca de 65-70%) através do processo de extrusão simples, cujo o óleo foi encapsulado em partículas de Cálcio-alginato revestidas com quitosana.

Existem alguns trabalhos na literatura que utilizaram a microencapsulação por gelificação iônica com a finalidade de proteção de óleos ricos em ácidos graxos poliinsaturados (COMUNIAN *et al.*, 2017a, 2017b; HECK *et al.*, 2017; US-MEDINA *et al.*, 2017; VASILE *et al.*, 2016). Para o óleo de sacha inchi foram encontrados poucos estudos de encapsulação, destacando o método de spray drying (FADINI *et al.*, 2018; SANCHEZ-REINOSO; GUTIÉRREZ, 2017; VICENTE *et al.*, 2017), sendo um amplo campo de pesquisa a se explorar. Não há informação na literatura sobre a utilização deste óleo em partículas de hidrogel, tornando interessante o estudo de encapsulação deste óleo por gelificação iônica. Dessa forma, esse estudo teve como propósito produzir partículas por gelificação iônica para encapsular o óleo de sacha inchi, tendo em vista sua proteção à oxidação lipídica, e permitindo sua aplicação em matrizes alimentícias.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo produzir micropartículas de hidrogel contendo óleo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) como agente ativo. Como método de encapsulação foi utilizado a gelificação iônica, com a finalidade de promover melhoria na estabilidade oxidativa deste ativo, bem como ampliar a sua aplicação industrial.

2.2 Objetivo específicos

- ✓ Estudar a formação da emulsão (O/A) constituída por óleo de sacha inchi em solução aquosa de alginato e agente emulsificante avaliando a concentração e o tipo de emulsificante.
- ✓ Avaliar a emulsão em relação à estabilidade, distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas, microscopia ótica, densidade de carga superficial, comportamento reológico e tensão interfacial.
- ✓ Produzir e caracterizar as micropartículas por gelificação iônica em relação ao conteúdo de umidade, atividade de água, distribuição e diâmetro médio das partículas, eficiência de microencapsulação e microestrutura.
- ✓ Avaliar o processo de recobrimento das micropartículas de alginato de sódio utilizando quitosana.
- ✓ Estudar a estabilidade oxidativa das micropartículas a 45°C durante 4 semanas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

O Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) (Figura 1), também conhecida por “Inca inchi”, “amendoim da floresta”, “amendoim silvestre” e “amendoim Inca”, é uma planta oleaginosa da família Euphorbiaceae encontrada na Amazônia peruana em altitudes entre 200 a 1500 metros (FOLLEGATTI-ROMERO *et al.*, 2009; GUILLÉN *et al.*, 2003). Os frutos de sachá inchi apresentam cápsulas lobulares onde se encontram de 4 a 7 sementes lenticulares de aparência dura (HAMAKER *et al.*, 1992). A população nativa da Amazônia peruana utiliza o sachá inchi para diferentes aplicações. O óleo extraído desta semente pode ser consumido nas refeições ou ainda como um tradicional remédio no tratamento de problemas musculares e reumáticos (CHIRINOS *et al.*, 2013; FANALI *et al.*, 2011).



Figura 1. Sacha inchi verde (esquerdo) e maduro (direita).

Este fruto apresenta potencial comercial, pois a semente é uma excelente fonte de compostos bioativos, como os fitoesteróis, tocoferóis, carotenoides e compostos fenólicos. De 35 a 60% da semente constitui-se de óleo e aproximadamente 27% de proteínas, sendo rica nos aminoácidos: cisteína, tirosina e triptofano. Além do mais, seu conteúdo lipídico mostra-se superior em quantidade de ácido graxo poliinsaturado (PUFAs) se comparados a outras sementes oleaginosas,

como soja, amendoim, sementes de algodão e girassol (CHIRINOS *et al.*, 2013; GUILLÉN *et al.*, 2003; HAMAKER *et al.*, 1992).

Huamani e Flores (2014) descrevem as estratégias comerciais que o mercado nacional peruano está empregando para ampliar a variedades de produtos que contém o sachá inchi. Os produtos desenvolvidos dispõem desde as sementes ao óleo, sendo eles: cremes antirrugas, cápsulas contendo o óleo, manteigas, nougat, *snacks*, farinhas, bolo proteico, e ingredientes de alguns pratos regionais como *chili*, *tacha* e o *inchicapi* (sopa). Os autores concluíram que o óleo de sachá inchi é o único produto derivados das sementes que está industrializado, apesar da diversidade de produtos desenvolvidos eles ainda atingem uma pequena parcela de consumidores.

Em 2017, o mercado peruano de exportação obteve valores de 4220 milhões de dólares de produtos agrícolas exportados, sendo que 88% do montante comercializado são dos produtos agrícolas classificados como não tradicionais. Entre os produtos não tradicionais está o óleo de sachá inchi. A Tabela 1 apresenta os dados que o governo peruano disponibiliza sobre o volume de exportação do óleo de sachá inchi. E, observa que o mesmo apresenta baixa participação nas exportações, representando cerca de 0,03% dos produtos não tradicionais comercializados. O principal país importador dos óleos vegetais produzido no Peru, dentre eles o óleo de sachá inchi, é a França, porém a Alemanha, Japão, EUA e o Reino Unido são países que também importam quantidades significativas (PERU, 2017).

Tabela 1. Dados do departamento de comércio exterior do governo peruano da exportação do óleo de sachá inchi para o mês de outubro.

Ano	FOB (mil US\$)	Volume exportado (Tonelenadas)
2015	1576,45	91,46
2016	1570,40	89,45
2017	1197,51	72,92

Fonte: Peru (2017); Onde: *FOB* é *Free On Board* termo em inglês que designa uma modalidade de responsabilidade entre o comprador e o exportador desenvolvido pela câmara de comercio internacional.

3.2. Propriedades do óleo de sachá inchi

O óleo sachá inchi, extraído das sementes, é caracterizado predominantemente pela alta quantidade presente de PUFAs, que representam em média 82% do conteúdo lipídico total, bem como a presença dos mesmos bioativos presentes na semente.

Tabela 2. Composição de ácidos graxos de óleos de vegetais comerciais.

Óleo Vegetal (sementes)	Composição de ácido graxo (%)									
	C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:1
Palma ^a				5,0	36,0	2,0	50,0	8,0		
Girassol ^a					7,0	5,0	19,0	68,0		
Soja ^a					11,0	4,0	23,0	54,0	8,0	
Linhaça ^a					6,0	2,0	19,0	24,0	47,0	
Canola ^a					4,0	2,0	60,0	21,0	10,0	1,0
Coco ^a	7,0	7,0	48,0	18,0	9,0	3,0	6,0	2,0		
Chia ^f					7,5	3,0	7,2	20,1	61,8	
Amendoim ^a					9,0	3,0	52,0	32,0		
Oliva ^c					11,8	2,8	74,3	8,4	0,6	
Algodão ^c					22,4	2,8	18,4	52,8	0,5	
Milho ^c					11,2	2,0	28,5	56,0	0,9	
Sachá inchi ^b					4,0	3,0	9,0	36,0	47,0	
Sachá inchi ^d					4,2	2,5	8,4	34,0	50,4	0,2
Sachá inchi ^e					4,4	2,4	9,1	33,4	50,8	
Sachá inchi ^c					4,7	3,5	10,7	33,5	44,0	

^aDYER *et al.*, 2008; ^bFANALI *et al.*, 2011; ^cMAURER *et al.*, 2012; ^dFOLLEGATTI-ROMERO *et al.*, 2009; ^eGUTIÉRREZ; ROSADA; JIMÉNEZ, 2011; ^fBODOIRA *et al.*, 2017.

A Tabela 2 apresenta as composições de ácidos graxos de diferentes óleos vegetais comerciais, onde observa-se que o óleo de sachá inchi exibe pequenas variações entre os trabalhos realizados, concluindo-se que o óleo é composto

principalmente por ácidos α -linolênico (C18:3) e linoleico (C18:2). Entre os óleos comerciais apresentados os de oliva, canola, amendoim e palma exibem elevadas proporções de ácido oleico (C18:1), enquanto os óleos de girassol, milho, soja e algodão apresentam maior quantidade de ácido linoleico (C18:2). No entanto, apenas a linhaça, a chia e o sacha inchi são ricos em ácidos α -linolênico (C18:3). Os três óleos apresentam altas proporções de PUFAs e são similares em sua constituição, porém a chia apresenta maior quantidade de ácidos α -linolênicos, a linhaça em ácido oleico e o sacha inchi em ácidos linoleicos.

Molendi-Coste, Legry, Leclercq (2011) relataram a importância da ingestão de ácido graxos α -linolênico na regulação do organismo devido aos altos níveis de compostos anti-inflamatórios. Esses compostos auxiliam positivamente na redução da obesidade, diabetes tipo 2 e no perfil lipídico se consumidos frequentemente. Barceló-Coblijn e Murphy (2009) discutiram a função e os níveis de ácidos α -linolênico para a manutenção da saúde humana e relataram a necessidade de se obter a partir da alimentação proporções adequadas de PUFAs. Dessa forma, o óleo de sacha inchi apresenta tal potencial por possuir uma relação apropriada entre a composição dos PUFAs.

Os ômega-6 (ácido linolênico) e ômega-3 (ácidos α -linolênico) são termos genéricos para os PUFAs, e estão relacionados à posição da insaturação, ou dupla ligação, na cadeia lipídica (SRINIVASAN; PARKIN; FENNEMA, 2007). Os PUFAs são ácidos graxos essenciais, pois o metabolismo humano não é capaz de produzi-los devido à ausência de enzimas que possam inserir duplas ligações, assim é necessário obtê-los a partir da alimentação. As principais fontes de ômega-6 e ômega-3 são os peixes marinhos de água fria, cujas gorduras são ricas em ácido eicosapentaenóico (EPA; C20:5n-3) e ácido docosahexaenóico (DHA; C22:6n-3), que serão biossintetizados para ácido α -linolênico (C18:3). Os óleos vegetais são outras fontes de ácidos α -linolênicos (C18:3) e linolênicos (C18:6), sendo sua produção mais viável economicamente e com menor geração de resíduos poluentes se comparada à produção de óleo de peixe (BAKER *et al.*, 2016; MAURER *et al.*, 2012).

FANALI *et al.* (2011) encontraram 21 compostos fenólicos no óleo de sacha inchi, onde 15 foram identificados como sendo pertencentes aos álcoois fenólicos, flavonóides, secoiridóides e da classe dos lignanos. Segundo Bendini *et*

al. (2007), os compostos fenólicos são hidrofílicos com alta atividade antioxidante e, quando presentes em óleos apresentam maior eficiência na proteção contra a degradação oxidativa, comparados com compostos antioxidantes lipofílicos.

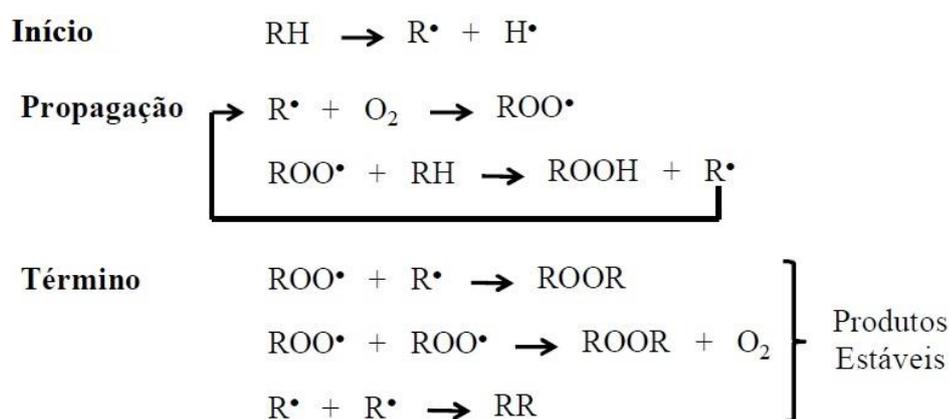
Em testes preliminares, Hamaker *et al.* (1992) observaram que o óleo de sacha inchi bruto se mostrou estável à temperatura ambiente, em decorrência da presença de compostos antioxidante lipofílicos e hidrofílicos. Enquanto, Cisneros *et al.* (2014) avaliaram a capacidade antioxidante e a estabilidade durante 30 dias a 60°C dos óleos de sacha inchi em diversos estados de torrefação das sementes. Os autores observaram que os compostos antioxidantes presentes no óleo não foram capazes de proteger os ácidos graxo α -linolênico (C18:3) contra a oxidação lipídica.

3.3. Oxidação lipídica

Oxidação lipídica é um termo genérico para uma complexa sequência de alterações químicas provenientes de interações entre a matriz lipídica e o oxigênio. Ao longo das reações de oxidação lipídica, os ácidos graxos esterificados são decompostos em cadeias menores de triacilgliceróis e fosfolipídeos, produzindo, conseqüentemente, compostos voláteis com aromas indesejáveis, conhecidos como rancidez oxidativa (SRINIVASAN; PARKIN; FENNEMA, 2007). Além de provocar alteração da qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, a oxidação lipídica também afeta a integridade e segurança dos alimentos em virtude da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO; JORGE, 2006).

A deterioração oxidativa de óleos e gorduras é um processo complexo que leva à produção de diversos subprodutos de decomposição. Em temperatura ambiente esse processo ocorre lentamente, sendo denominado de auto-oxidação (WERMANN; NEEMAN, 1986). Araújo (2008) afirma que a auto-oxidação é o principal mecanismo de oxidação lipídica em ácidos graxos poliinsaturados, em decorrência da presença de grupos metilenos que são ativados entre as ligações duplas, tornando-os vulneráveis à ação do oxigênio. Laguerre, Lecomte e Villeneuve (2007) debateram sobre os vários mecanismos de oxidação lipídica, e mencionaram que a foto-oxidação é a reação inicial que estimula o processo auto-oxidativo.

Os óleos crus, diferentemente dos óleos refinados, apresentam em sua composição moléculas fotossensíveis como riboflavina, clorofila e eritrosina. Essas moléculas na presença de luz transferem elétrons para o oxigênio no estado fundamental ($^3\text{O}_2$). Essa transferência faz com que o oxigênio se torne mais reativo ($^1\text{O}_2$) atacando as duplas ligações dos ácidos graxos poliinsaturados, logo conduzindo a formação de hidroperóxido. Esse mecanismo de oxidação ocorre através de vias não enzimática e não radical, assim trata-se de uma reação menor quando comparadas a auto-oxidação. Esta é uma reação de deterioração espontânea, que pode ser acelerada na presença de sistemas catalíticos, como altas temperaturas, enzimas, metais e microorganismos (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007; RONSEIN *et al.*, 2006).



onde: RH – Ácido graxo insaturado; R^\bullet – Radical livre;
 ROO^\bullet – Radical peróxido e ROOH – Hidroperóxido.

Figura 2. Esquema do mecanismo de oxidação lipídica primária. Fonte: Ramalho e Jorge (2006).

A Figura 2 expõe resumidamente o processo de autoxidação de ácidos graxos insaturados que ocorre através de reação em cadeia de radicais livres no decorrer de três etapas: início (formação dos radicais livres nos ácidos graxos na presença de catalizadores), propagação (radicais livres são atacados pelo oxigênio) e terminação (combinações de radicais que resultarão em produtos estáveis) (RAMALHO; JORGE, 2006). O hidroperóxido é um produto primário gerado da reação de autoxidação e sua decomposição produz aldeídos, cetonas, álcoois, hidrocarbonetos, ácidos orgânicos voláteis, e compostos epóxido (compostos

derivados de éster cíclico) como produtos de oxidação secundária (SHAHIDI; ZHONG, 2005).

3.4. Emulsão

Emulsão compreende em um sistema formado por dois líquidos imiscíveis, no qual um dos líquidos está disperso em outro na forma de pequenas gotas esféricas. Geralmente, os sistemas de emulsões são categorizados em termos relativos à localização da fase aquosa e oleosa, onde emulsões óleo em água (O/A) consistem na dispersão de gotas de óleo na fase contínua aquosa, enquanto as emulsões água em óleo (A/O) possuem gotas de água dispersa na fase contínua oleosa. De forma geral, as emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis que tendem a se romper ao longo do tempo, devido a uma variedade de mecanismos físico-químicos de instabilidade, tais como separação gravitacional, floculação, coalescência, e maturação de Ostwald. Para a produção de emulsões cineticamente estáveis durante um certo período de tempo é possível serem adicionados compostos conhecidos como emulsionantes e modificadores de textura (MCCLEMENTS et al., 2000; MCCLEMENTS, 2004; MCCLEMENTS et al., 2007).

Os emulsificantes ou surfactantes, são moléculas anfifílicas que possibilitam a interação entre água e óleo, em decorrência da presença dos grupos polares e apolares na sua composição. Eles promovem a formação de um filme molecular ordenado entre as interfaces, que reduz a tensão interfacial e superficial entre as fases contínua e dispersa. Os modificadores de texturas melhoram a estabilidade do sistema através da imobilização ou retardamento dos movimentos das gotículas, devido às propriedades espessantes ou gelificantes dessas substâncias na fase contínua (DA SILVA et al., 2015; MCCLEMENTS; DECKER; WEISS, 2007).

O Tween 80 (Polioxietileno 20 mono-oleato de sorbitano) e Tween 20 (Polioxietileno 20 monolaurato de sorbitano) são surfactantes não iônicos, e não tóxicos, da classe dos polissorbatos. Esses surfactantes são amplamente utilizados em ambientes domésticos, científicos e industriais, sendo comumente aplicados como detergentes e emulsificantes. A capacidade emulsionante dos polissorbatos está diretamente relacionada à sua natureza química, tal como o comprimento de

cadeia de alquilo dos ácidos graxos, o grau de esterificação, estrutura do núcleo do derivado de sorbitol e a quantidade de oxietileno polimerizado. Os Tweens se distinguem pelo grupo hidrofóbico, dado que o polissorbato 20 possui cadeia linear com uma fração de ácido láurico, enquanto o 80 apresenta cadeia insaturada como pode ser observado na Figura 3 (FRISON-NORRIE; SPORNS, 2001; KERWIN, 2008; MAHMOOD; AL-KOOFEE, 2013).

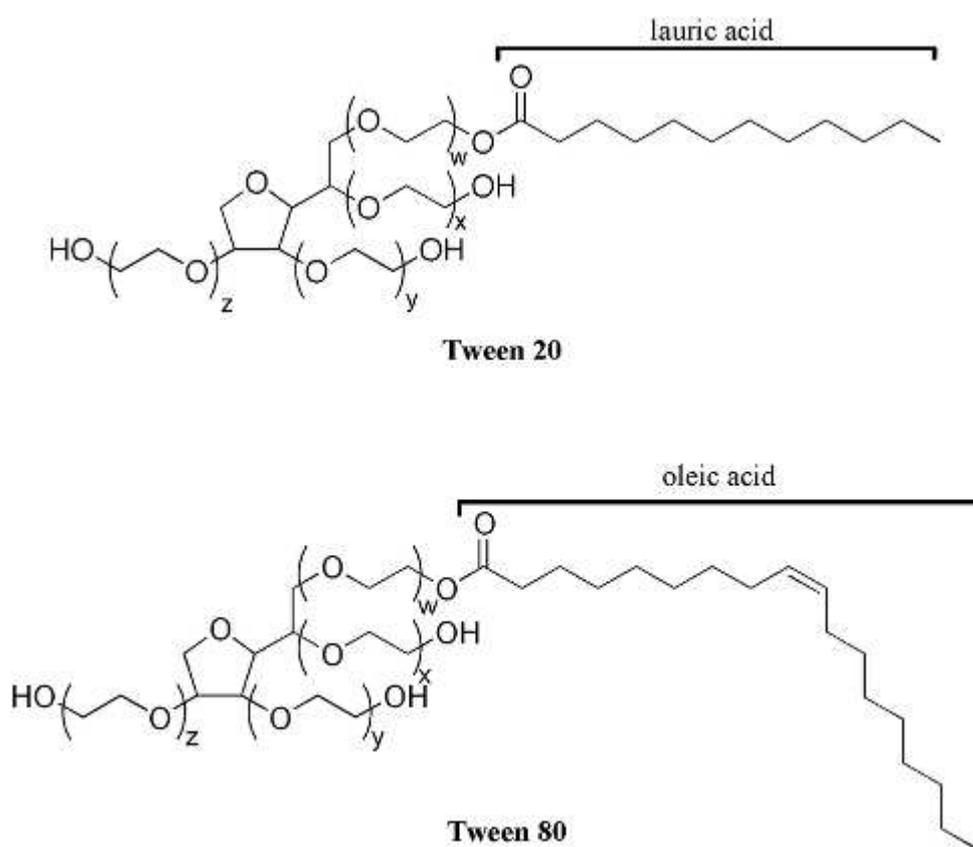


Figura 3. Estrutura molecular dos emulsificantes Tween 20 e Tween 80.
Fonte: Johnson, (2013)

Ong *et al.* (2015) estudaram a adição de surfactantes em emulsão (O/A) constituída por alginato, e observaram que a presença dos surfactantes permitiu a formação de emulsões estáveis e a redução do diâmetro das gotas na fase contínua. Isso se deve a maior adsorção dos agentes tensoativos pela interface das gotículas de óleo, formando assim, uma película impermeabilizante que impediu a coalescência.

Li e McClements (2013) avaliaram a influência de surfactante não iônico em sinergia com proteína globular e biopolímeros (alginato e quitosana) na

estabilização das gotas de óleo. Os autores observaram que a adição do surfactante combinado com as proteínas globulares acarretou na redução das dimensões das gotas, bem como no tamanho dos complexos eletrostáticos. As emulsões, sem e com adição do emulsificante iônico, apresentaram separação gravitacional, no entanto as adicionadas de emulsificante exibiram menor velocidade de separação.

As emulsões vêm sendo exploradas para ampliar o desempenho funcional e tecnológico nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêutica e outros setores. Elas são capazes de fornecer proteção e liberação controlada às substâncias bioativas através do encapsulamento da fase dispersa, sendo relevantes as dimensões de gota na compreensão da estabilidade final das emulsões, bem como em suas aplicações. (KAUSHIK *et al.*, 2015; MCCLEMENTS, 2010).

3.5. Microencapsulação

A microencapsulação é uma técnica que consiste em aprisionar um ou mais componentes ativos por um invólucro protetor. O invólucro encapsulante pode ser chamado de revestimento, membrana, casca, material de parede, fase externa ou matriz, enquanto o material a ser encapsulado é chamado de núcleo, agente ativo, material de recheio ou fase interna. O material de parede pode ser selecionado dentre uma vasta gama de polímeros naturais e sintéticos, de acordo com as características desejadas para a micropartícula final. O método de microencapsulação é caracterizado pela obtenção de partículas micrométricas entre 1 a 1000 µm (NAZZARO *et al.*, 2012; RODRÍGUEZ *et al.*, 2016).

A finalidade da microencapsulação é proteger o núcleo contra as adversidades do ambiente externo, que podem promover a deterioração das propriedades funcionais do composto ativo. Os principais fatores extrínsecos que justificam a utilização da técnica são a luz, oxigênio, pH, pressão, temperatura e umidade. Ademais, as técnicas de encapsulação podem contribuir para solucionar problemas tecnológicos, tais como mascarar odores e sabores desagradáveis, e controlar a volatilização de compostos voláteis. Em óleos, essas vantagens são somadas ao aumento da vida de prateleira, pois a membrana produzida limita interações ambientais, permitindo a liberação controlada do agente ativo, sob

determinadas condições: enzimática, de pH e interações eletrostáticas (ARAB-TEHRANY et al., 2012; ZUIDAM et al., 1998).

Diversos métodos têm sido utilizados e estudados para produção de micropartículas para serem aplicadas em diferentes tipos de alimentos. Essas técnicas são divididas em três grupos: processos físicos (*spray drying*, *spray coating*, *spray chilling*, processos de encapsulação de fluidos supercríticos, processo com microcanais e revestimento por pulverização), processos químicos (polimerização molecular e inclusão molecular) e processos físico-químicos (gelificação iônica, coacervação complexa, lipossomas, micelas, emulsões, processo com matrizes lipídicas nanoestruturadas e evaporação de solventes) (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016).

Gaonkar *et al.* (2014) discutiram os fatores que devem ser considerados para a seleção de um processo específico. Dentre eles estão: as propriedades físico-químicas tanto do recheio quanto do revestimento, morfologia das partículas, tamanho, distribuição, rendimento da produção de partículas do método, orçamento e disponibilidade de equipamentos para a aplicação do método. Encina *et al.* (2016) argumentaram a importância da seleção do agente encapsulante e da técnica no encapsulamento de óleos ricos em PUFA's visando a aplicabilidade final dessas partículas.

3.6. Produção de micropartículas por gelificação iônica/ionotrópica

A produção de micropartículas de hidrogel por gelificação iônica é baseada na habilidade dos polissacarídeos (pectina, alginato, goma carragena, gelana e quitosana) de formarem géis na presença de íons multivalentes. As interações entre os íons multivalentes, como os íons de cálcio, com o grupo carboxila das cadeias poliméricas desses polissacarídeos resultam na formação de um gel insolúvel. A gelificação iônica ou ionotrópica, externa e interna estão dentre os processos utilizados para produção de partículas através de interação iônica (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

A gelificação iônica externa consiste em um procedimento simples, no qual o material a ser encapsulado, agente ativo, é adicionado na solução aquosa de biopolímero sob homogeneização contínua. A solução homogeneizada é extrusada

através de um bico atomizador em uma solução iônica, onde o tamanho da partícula pode ser controlado através do diâmetro do bico. O enrijecimento das partículas ocorre em intervalos mínimos de tempo, iniciando a reação a partir do contato com a solução iônica. Assim, são formadas estruturas rígidas, com alto teor de água, que utiliza íons para difundir-se através do interior da partícula, proporcionando a reticulação do exterior para o interior (SAGIRI; ANIS; PAL, 2015; SMRDEL et al., 2008).

Já o processo de gelificação iônica interna consiste da adição de sais de cálcio em forma inativa em uma emulsão contendo solução polimérica e agente ativo. Para dar início a formação de gel é necessário que se reduza o pH do meio, sendo adicionado uma solução de ácido orgânico na emulsão sob constante homogeneização. As principais diferenças entre a gelificação externa e interna são a cinética de formação de gel e tamanho das partículas produzidas. O método interno gelifica de forma mais controlada quando comparado ao externo, pois a relação de cálcio para biopolímero é mais fácil de se manipular, de forma que diminui a possibilidade de surgir sinérese. As micropartículas produzidas pela gelificação interna são mais compacta que as externas, alcançando de 20-25 μm até 2 mm (ETCHEPARE *et al.*, 2015; HELGERUD *et al.*, 2010) .

A gelificação iônica é uma técnica relativamente simples, que não requer equipamento especializado, altas temperaturas, condições extremas de pH, utilização de solventes orgânicos, e pode ser considerado de baixo custo para a sua reprodução. Sendo a liberação controlada um aspecto relevante, pois permite a liberação do ativo via difusão através estímulos externos que alteram as estruturas do gel, como mudanças de pH, desgaste mecânico, enzimático e forças osmóticas. As partículas produzidas com alginato são porosas, que pode ser um diferencial quando se imagina liberação do agente ativo, mas pode ser reduzida com a adição de outro polímero (polissacarídeos ou proteína) e até mesmo a utilização de outra técnica para o recobrimento (KUROZAWA; HUBINGER, 2017; SMIDSROD; SKJAKBRK, 1990; TELLO et al., 2015).

3.7. Polissacarídeos iônicos

Os polissacarídeos são um conjunto de carboidratos poliméricos constituídos por cadeias repetidas de monossacarídeos unidas através de ligações glicosídicas. São biopolímeros naturais, altamente seguros, não tóxicos, estáveis, biodegradáveis e biocompatíveis, além de serem encontrados em abundância na natureza e apresentarem baixo custo. Eles são extraídos de algas (alginato de sódio), plantas (amido, celulose, pectina), microrganismos (dextrana, goma xantana e gelana) e animais (quitosana). Em razão de sua diversidade química, presença de grande número de grupos funcionais, hidrofiliçidade, solubilidade em água, comportamento de fluxo, potencial de gelificação e propriedades interfaciais/superficiais, esses polímeros se distinguem dos polímeros proteicos (YANG *et al.*, 2015; ZIA *et al.*, 2015).

O alginato de sódio é um polissacarídeo aniônico obtido das algas marinhas de coloração marrom pertencente ao gênero *Phaeophyceae*. É classificado como copolímero de ligações (1,4) glicosídicas formados por dois monômeros de cadeias lineares, ácido α -L-gulurônico (G) e o ácido β -L-manurônico (M), cujas propriedades físicas e químicas são fortemente influenciadas pela composição, peso molecular, extensão e sequência dos monômeros. A indústria apresenta ampla gama de aplicação para esse polímero, em decorrência de sua solubilidade e propriedade de formação de géis, sendo estável sob altas e baixas temperaturas (HELGERUD *et al.*, 2010; SMIDSROD; SKJAKBRK, 1990).

As sequências de monômeros presentes no alginato de sódio são fundamentais à formação de géis e são constituídas de configuração do tipo "blocos". Nessa conformação é possível encontrar três tipos de ligações glicosídicas: as homopoliméricas constituídas pelos monômeros GG (ácido gulurônico-ácido gulurônico) e MM (ácido manurônico-ácido manurônico), e a heteropolimérica que são formadas pelos grupos MG ou GM, conforme a Figura 4. Os alginatos que dispõem de alto teor de blocos G exibem géis melhores estruturados, quando comparados com os alginatos de alto teor de blocos M. A configuração espacial do bloco G, por ser mais organizada facilita as interações com os íons divalentes, que comumente é visualizada como modelo caixa de ovos (Figura 5). Em geral, o modelo caixa de ovos é formado entre duas cadeias vizinhas, sendo estabilizadas primeiramente por interações eletrostáticas, seguidas por ligações de hidrogênios e

por último pelas interações de van der Waals (CHAN et al., 2017; DRAGET; SKJÅK-BRÆK; SMIDSRØD, 1997; FUNAMI et al., 2009).

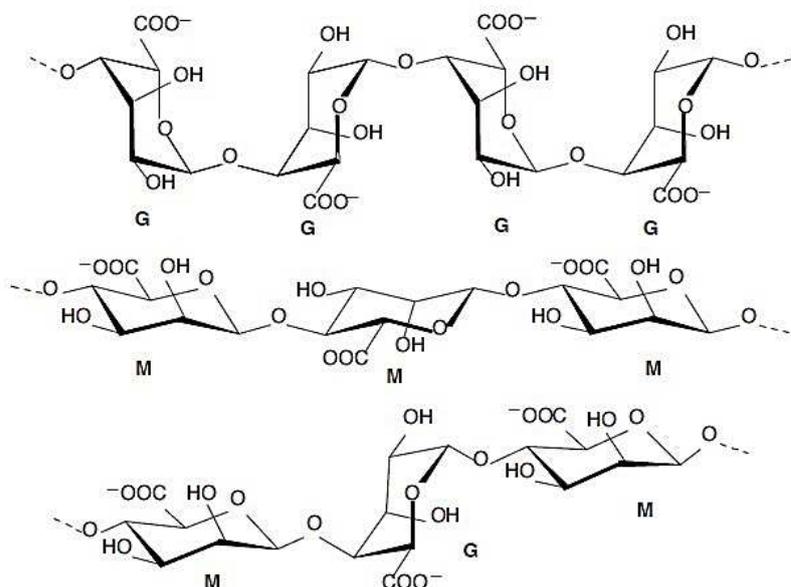


Figura 4. Estrutura das seqüências de monômeros em relação as três tipos de ligações glicosídicas (HELGERUD *et al.*, 2010).

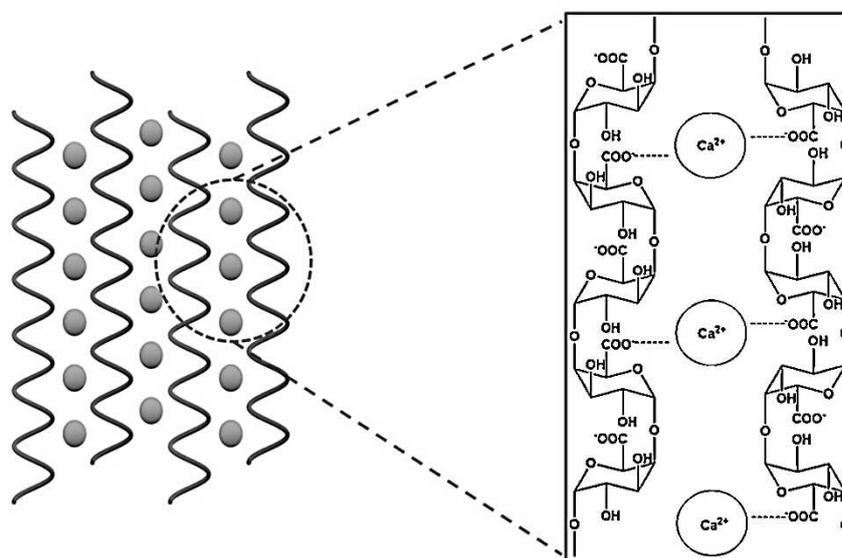


Figura 5. Modelo caixa de ovo (CHAN et al., 2017).

A quitosana é um polissacarídeo, oriundo da quitina, proveniente da casca de crustáceos, exoesqueleto de insetos e parede celular de fungos. Sendo o segundo polissacarídeo mais abundantemente encontrado na natureza depois da celulose. Quimicamente, a quitosana apresenta cadeia linear catiônica composta por

dois monômeros o β -(1-4)-D-glucosamina e β -(1-4)-N-acetil-D-glucosamina. Ademais, apresenta atividade antimicrobiana e antioxidante, bem como propriedade de mucoadesão como uma de suas particularidades (BOSQUEZ-MOLINA; ZAVALETA-MEJÍA, 2016; FATHI; MARTÍN; MCCLEMENTS, 2014; YANG et al., 2015).

A aplicação de quitosana como sistema de cobertura em partículas com objetivo de proporcionar maior proteção, bem como a liberação do ativo encapsulado em sítios específicos tem sido amplamente abordada, como relatado por Han *et al.* (2008). Esses autores desenvolveram partículas de alginato/quitosana contendo micronutrientes, e observaram a resistência das partículas sob condições gastrointestinais, temperatura, umidade, além da liberação controlada que foram proporcionadas através das interações entre os dois biopolímeros utilizados.

Fujiwara *et al.* (2013) estudaram a formação de micropartícula de alginato/amido/quitosana através da técnica de gelificação iônica externa contendo estigmasterol dissolvido em óleo de canola. Os autores observaram que as partículas produzidas apresentaram alta eficiência de encapsulação e a efetiva proteção oxidativa do estigmasterol.

Vasile *et al.* (2016) avaliaram a estabilidade oxidativa das partículas produzidas de alginato com goma de exsudato de *Prosopis alba* através de gelificação iônica externa, e recobertas com quitosana encapsulando óleo de peixe. De acordo com os autores, as partículas que continham a incorporação da goma do exsudado foram as que promoveram melhor proteção oxidativa ao longo do período de observação quando comparados ao óleo livre e às micropartículas contendo alginato/quitosana.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Ativo

O óleo das sementes de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) foi adquirido da empresa American Calix (Lima, Peru) e sua ficha técnica fornecida pela empresa, está apresentada no ANEXO A. O óleo de sacha inchi (OSI) foi obtido por prensagem a frio sem adição de qualquer classe de aditivo.

4.1.2. Material de Parede

O alginato de sódio (GRINDSTED® Alginate FD 175) fornecido pela Danisco Brasil Ltda (Cotia, São Paulo) foi utilizado na produção das emulsões e no desenvolvimento das partículas como agente gelificante. A caracterização do alginato utilizado segundo sua composição de ácido gulurônico e manurônico foi determinado através de espectro de dicroísmo circular pelo equipamento *Jasco J-810 Spectropolarimeter* no Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM). O espectro apresentou ser inteiramente negativo (Figura 6), logo estima-se que o alginato utilizado apresenta 68,71% de blocos de ácido gulurônico e 31,65 % de blocos de ácido manurônico (MORRIS; REES; THOM, 1980).

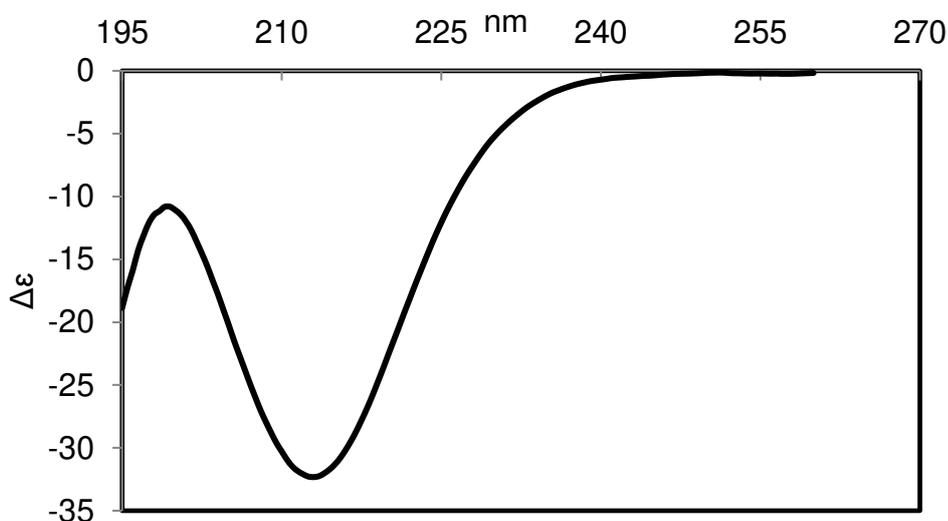


Figura 6. Espectro de dicroísmo circular do alginato de sódio a 6,4 mg/mL

Para o processo de recobrimento das partículas em gel foi utilizada quitosana de baixo peso molecular (desacetilação 75% - 85%), da empresa Sigma-Aldrich Brasil Ltda (São Paulo, Brasil).

4.1.3. Reagentes

Para a execução dos ensaios, foi utilizado cloreto de cálcio, cloreto férrico, ácido acético, citrato de sódio, clorofórmio e o Tween 20 (Polioxietileno 20 monolaurato de sorbitano) foram adquiridos da Dinâmica Química Contemporânea Ltda (São Paulo, Brasil). O metanol, ácido clorídrico, peróxido de hidrogênio e cloreto ferroso foram fornecidos pela Synth (São Paulo, Brasil), enquanto o Tween 80 (Polioxietileno 20 mono-oleato de sorbitano) obtido da Vetec (São Paulo, Brasil).

4.2. MÉTODOS

Para realização dos objetivos propostos, o projeto foi dividido em três etapas como pode ser observado na Figura 7. A primeira compreende a determinação das caracterização físico-químicas do OSI adquirido. A etapa seguinte constitui da formação e caracterização das emulsões obtidas por proporção fixa de alginato de sódio (2 g/100g), e com concentrações variáveis de OSI (45, 60 e 75% (g/100g)) e emulsificante (0.5 e 1% (g/100g)) em relação aos sólidos totais do sistema. Os emulsificantes não iônicos utilizados são permitidos pela Legislação (RDC Nº 23, de 15 de fevereiro de 2005), bem como suas concentrações dos emulsificantes utilizados. A terceira etapa correspondeu à produção de partículas pela técnica de gelificação iônica externa através de extrusão das emulsões contendo 1% (g/100g) de Tween 20 com diferentes concentrações de OSI (45, 60 e 75% (g/100g)) em relação a sólidos totais em solução reticulante de cloreto de cálcio a 2% (m/v)

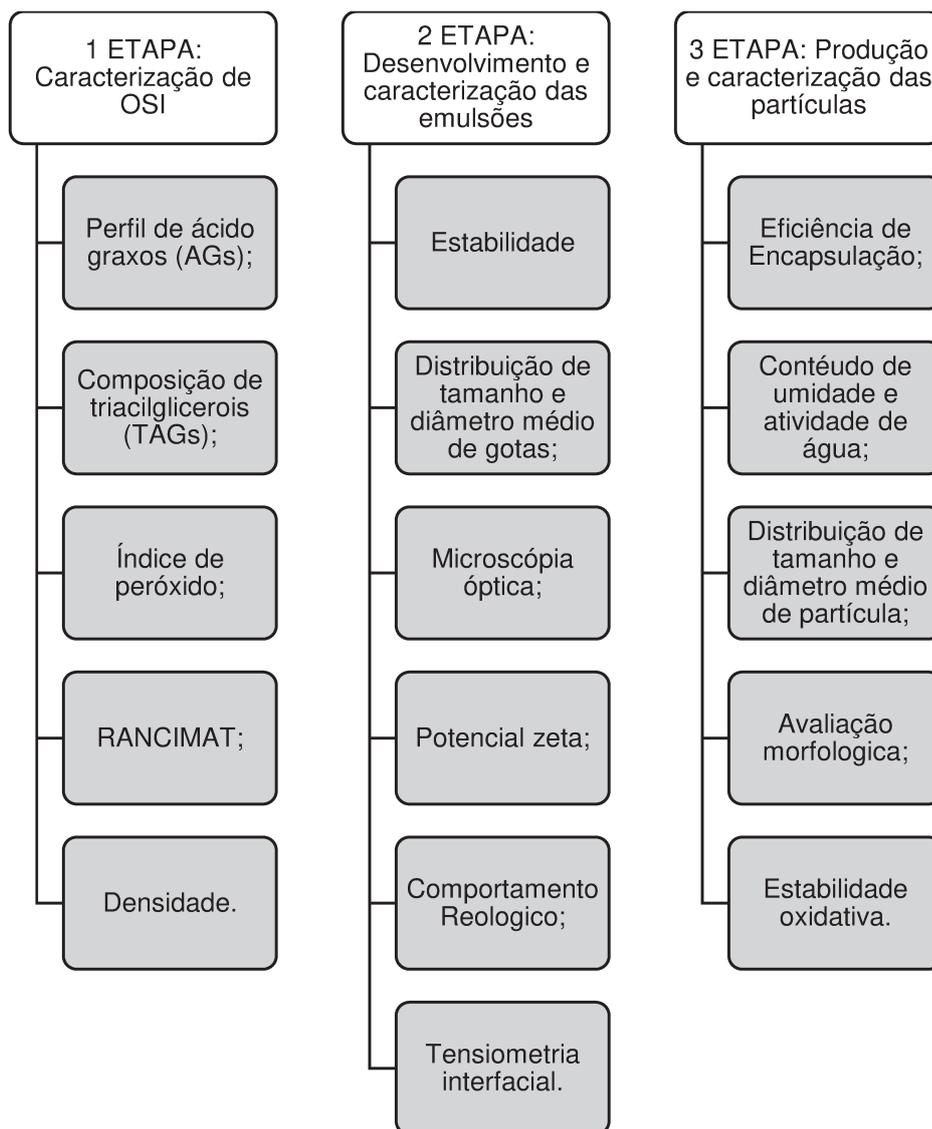


Figura 7. Diagrama de fluxo para execução das atividades.

4.2.1. ETAPA 1: Caracterização do óleo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

4.2.1.1. Perfil de ácidos graxos (AGs)

O perfil de ácido graxo do OSI foi determinado através do Cromatógrafo Gasoso Capilar CGC 68650 Serie GC System (Agilent, EUA), equipado com uma coluna capilar DB-23 (50% cianopropil – metilpolisiloxano), com dimensões de 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent,EUA). Adotou-se a metodologia da AOCS (2009), sendo realizada em duplicata no Laboratório de Óleos e Gorduras da Faculdade de Engenharia de Alimentos/Unicamp.

4.2.1.2. Composição de triacilgliceróis (TAGs)

Essa análise foi realizada em cromatógrafo gasoso capilar Agilent 6850 *Series II single channel GC*, Santa Clara, EUA, com uma coluna capilar DB-17HT Agilent Catalog 122-1811 (50%-fenilmetilpolisiloxano), d.i.=15 m x 0,25 mm e 0,15 µm de filme. Condições de análise: injeção *split*, razão de 1:100; temperatura da coluna: 250 °C, programada até 340 °C à razão de 5 °C/min; gás de arraste: hélio, em vazão de 1,0 mL/min; temperatura do injetor: 375 °C; temperatura do detector: 375 °C; volume injetado: 1,0 mL; concentração da amostra: 100 mg/5 mL de tetrahydrofurano. A identificação dos grupos de TAGs foi realizada por comparação dos tempos de retenção, segundo os procedimentos da AOCS (2009).

4.2.1.3. Índice de peróxido

Determinou-se o índice de peróxido segundo o método padrão IDF 74A:1991, que consistiu em dissolver uma alíquota de 0,01 g de OSI em 9,7 mL de solução de clorofórmio: metanol (7:3). Para a formação de pigmentação foram adicionados 50 µL de cloreto de ferro (II) e tiocianato de amônia, que posteriormente foi homogeneizado e mantido no escuro por 5 minutos para ser mensurado em espectrofotômetro – ÚNICO® Spectrophotometer 2800UV/VIS (United Products & Instruments Inc., New Jersey, EUA) na absorvância de 500 nm. Para assegurar a integridade da análise contra eventuais contaminações, foram realizados os brancos

do método. O branco corresponde ao mesmo procedimento citado anteriormente sem a presença do analítico problema, que neste caso representa o OSI. Todas as análises foram realizadas em triplicata. A construção da curva padrão de concentração de Fe^{+3} versus absorvância foi realizada segundo Shantha e Decker (1994). O valor de peróxido foi expresso em miliequivalente de peróxido por kg de óleo, onde foi calculado seguindo a Eq. (1). A curva de padrão construída neste trabalho, para mensuração do índice de peróxido do OSI, obteve coeficiente de correlação (R_2) de 0,9967.

$$\text{Índice de peróxido} = \frac{(A_s - A_b) * m}{55,84 * m_0 * 2} \quad (1)$$

Onde: A_s é a absorvância das amostras; A_b é absorvância do branco; m é coeficiente angular da curva padrão construído; m_0 é a massa em gramas da amostra; 55,84 é a massa atômica do ferro; 2 é o fator necessário para que o valor de peróxido fique expresso em miliequivalente de peróxido ao invés de miliequivalente de oxigênio, como mencionado pelo método IDF.

4.2.1.4. Índice de estabilidade oxidativa do OSI

Para a avaliação do índice de estabilidade oxidativa do OSI foi utilizado o equipamento 893 profissional biodiesel Rancimat (Metrohm, Suíça). A análise foi desenvolvida em triplicata utilizando-se cerca de 5 gramas de amostra para cada repetição. As amostras foram submetidas à temperatura de $110 \pm 0,9^\circ\text{C}$ com fluxo de ar constante de 9 L/h. Essa análise consiste na mensuração constante da condutividade ($\mu\text{S/cm}$) dos compostos voláteis oxidativos gerados ao longo da oxidação acelerada. O período de indução foi definido pelo tempo (h) necessário para atingir o ponto de inflexão na curva, determinado através da derivada segunda calculada pela intersecção da reta tangente projetada ao longo do eixo do tempo.

4.2.1.5. Densidade

A densidade do OSI foi determinada através de picnômetro, que compreendeu basicamente a mensuração da massa e do volume do óleo a temperatura de 24°C , e calculada pela razão expressa na Eq. (2).

$$d = \frac{(m_1 - m)}{(m_2 - m)} \quad (2)$$

Onde: m é a massa do picnômetro vazio; m_1 é a massa do picnômetro cheio do líquido problema; m_2 é a massa do picnômetro cheio de água;

4.2.2. ETAPA 2: Desenvolvimento e caracterização das emulsões

4.2.2.1. Preparo da solução de alginato de sódio a 2% (g/ 100g)

A solução de alginato de sódio foi preparada em temperatura ambiente, dispersando 2 gramas de alginato em 98 gramas de água destilada, e em seguida manteve-se sob agitação através de um agitador magnético durante um período de 12 horas para a completa solubilização.

4.2.2.2. Preparações das emulsões

As condições experimentais foram determinadas a partir do princípio da elaboração de emulsões com altas concentrações de óleo em relação aos sólidos totais (ST), e estabilizadas com surfactantes não iônicos. Para isso, foram feitos testes preliminares com a preparação de emulsões constituídas de agente surfactante nas concentrações de 0 (controle), 0,5% e 1% (g/100g) em solução aquosa de alginato de sódio a 2%(g/100g), e OSI nas proporções de 45, 60 e 75% (g/100g) em relação ao ST do presente sistema. Para a homogeneização das emulsões foi utilizado o rotor-estator (ULTRA TURRAX L5M-A, Silverson Machines, Massachusetts, EUA) a 5600 rpm durante 3 minutos. Todo o processo de homogeneização ocorreu em sistema de béquer encamisado ligado a banho termostático a 3°C mantendo as emulsões em temperatura de 25°C durante o processo de agitação. Um grande aumento de temperatura pode afetar a interface de adsorção entre o surfactante e as gotas de óleo, além de degradar as propriedades intrínsecas do OSI.

Na Tabela 3 estão apresentados os ensaios preliminares que foram realizados e a forma de distribuição em relação a quantidade de óleo, concentração e espécie do surfactante. O principal objetivo desse teste foi definir o melhor tipo e concentração de surfactante, onde as emulsões foram caracterizadas a partir das análises de estabilidade, distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas, microscopia óptica, comportamento reológico, densidade de carga superficial e tensiometria interfacial.

Tabela 3. Ensaios preliminares envolvendo surfactantes, OSI e solução de alginato a 2% (g/100g).

Ensaio	Surfactantes		OSI %		Solução de alginato a 2%(g)	
	%(g/100g)*	g	%(g/100g)*	g		
1	0,00	0,00	45,00	1,64	98,36	
2	controle	0,00	0,00	60,00	3,00	97,00
3		0,00	0,00	75,00	6,00	94,00
4		0,50	0,50	45,00	2,05	97,45
5		0,50	0,50	60,00	3,75	95,75
6	Tween 20	0,50	0,50	75,00	7,50	92,00
7		1,00	1,00	45,00	2,46	96,54
8		1,00	1,00	60,00	4,50	94,50
9		1,00	1,00	75,00	9,00	90,00
10		0,50	0,50	45,00	2,05	97,45
11		0,50	0,50	60,00	3,75	95,75
12	Tween 80	0,50	0,50	75,00	7,50	92,00
13		1,00	1,00	45,00	2,46	96,54
14		1,00	1,00	60,00	4,50	94,5
15		1,00	1,00	75,00	9,00	90,00

OSI: óleo de sacha inchi; * Porcentagem em relação a sólido totais.

4.2.2.3. Estabilidade

Alíquotas de 25 mL de cada emulsão formada, imediatamente após a homogeneização final, foram transferidas para provetas graduadas de 50 mL, seladas e estocadas em BOD à temperatura de 25°C por 24 horas. A estabilidade foi mensurada através do índice de cremação (IC%) e separação de fases (SF%), sendo ambas realizadas em triplicatas e descritas pelas Eqs. (3) e (4).

$$IC(\%) = \left(\frac{H_i}{H_0} \right) * 100 \quad (3)$$

$$SF(\%) = \left(\frac{H}{H_0} \right) * 100 \quad (4)$$

Onde: H_0 corresponde à altura inicial, H_i representa a altura da fase inferior e H a altura da fase superior após 24 horas (KEOWMANEECHAI; MCCLEMENTS, 2002).

4.2.2.4. Distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas

Para a distribuição de tamanho e diâmetro médio das gotas de todas as emulsões, utilizou-se a técnica de espalhamento de luz por difração a laser, através do equipamento Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Reino Unido). Essas medidas foram realizadas a 25 °C logo após a homogeneização final da emulsão. As Eqs. (5) e (6) apresentam o diâmetro médio (Diâmetro médio superficial - $D_{[32]}$), e o índice de dispersão como *span*, respectivamente. As amostras foram analisadas em sextuplicatas, por via úmida, com dispersão em água destilada.

$$D_{[32]} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (5)$$

$$Span = \frac{(d_{90} - d_{10})}{d_{50}} \quad (6)$$

Onde: d_i é o diâmetro das gotas; n é o número de gotas e d_{10} , d_{50} e d_{90} são os diâmetros de 10%, 50% e 90% do volume acumulado, respectivamente.

4.2.2.5. Microscopia óptica (MO)

Uma pequena porção da emulsão foi colocada em lâminas, e foram ser observadas em um microscópio ótico Carl Zeiss (modelo Axio Scope A1, Gottingen, Alemanha) sendo ampliadas de 40x e 100x.

4.2.2.6. Densidade de carga superficial

O potencial zeta, ou densidade de carga superficial, (ζ) consiste na relação entre direção e velocidade do movimento das gotas da emulsão ou dispersão, em um campo elétrico bem definido. As densidades de carga superficial das gotas das emulsões foram obtidas através do medidor de potencial zeta (ζ), utilizando uma câmara de medição de microeletroforese (ZetaSizer Nano-ZS, Malvern Instruments Ltda, Worcestershire, Reino Unido). As medidas foram realizadas em sextuplicatas em temperatura ambiente.

4.2.2.7. Comportamento reológico

O comportamento reológico das emulsões foi caracterizado em relação à viscosidade a 25°C com reômetro Physica MCR301 (TA Instruments, Delaware, EUA) de tensão controlada com geometria tipo cone-placa com 45 mm de diâmetro. Realizou-se cada ensaio em três etapas sequenciais, fazendo-se a varredura da taxa de deformação variando entre 0 e 300 s⁻¹, sendo a primeira e a segundo a fim de eliminar possíveis efeitos tixotrópicos. A terceira curva foi usada para avaliação do comportamento reológico em estado estacionário. Os resultados obtidos a partir da terceira curva foram ajustados aos modelos de fluido da lei da potência como apresentando na Eq. (7).

$$\sigma = k * (\dot{\gamma})^n \quad (7)$$

Onde: $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação, n é o índice de comportamento, σ é a tensão e k é o índice de consistência.

4.2.2.8. Tensiometria interfacial

Foi realizada a medida da tensão interfacial inicial (10s) e no equilíbrio entre as diferentes fases aquosas e oleosa com objetivo de determinar como cada componente atua na interface da gota no processo de emulsificação. Foi utilizado o método de gota pendente através de um tensiometro Tracker-S (Teclis, França). O método da gota pendente baseou-se na deformação do perfil da gota em função da tensão interfacial. Os ensaios foram realizados a $25\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ com a formação de uma gota da fase aquosa na fase oleosa, sendo a fase aquosa formada pela dispersão de alginato de sódio a 2% (g/100g) sem e com surfactante, o Tween 80 e 20, nas concentrações de 0,5% e 1% (g/100g), enquanto a fase oleosa foi composta por OSI.

4.2.3. ETAPA 3: Desenvolvimento e caracterização das partículas

4.2.3.1. Produção de partículas de alginato

As partículas foram produzidas a partir da emulsão desenvolvida e selecionada com base nos testes preliminares. As emulsões com 1% (g/100g) de Tween 20 foram as selecionadas para serem utilizadas no estudo de formação de partícula, como descrito na Tabela 4.

Tabela 4. Emulsão utilizada na produção das partículas

	Emulsificante		Óleo de sacha inchi		Dispersão de alginato a 2% (g)
	Tween 20 (g)	% (g/100g) *	(g)	(g)	
Amostras	1,00	45,00	2,46	96,54	
	1,00	60,00	4,50	94,50	
	1,00	75,00	9,00	90,00	

OSI – óleo de sacha inchi; *fração de óleo em relação a sólidos totais

As emulsões foram extrusadas por meio de um sistema de atomização com bico tipo duplo fluido, com orifício de 0,7 mm de diâmetro, com auxílio de bomba peristáltica e compressor (Figura 8). O processo de extrusão foi realizado através de uma bomba peristáltica Masterflex L/S (Cole-Parmer, USA) com vazão de 0,6 kg/h e pressão de atomização de 0,15 bar (pressão ajustada através de testes preliminares). Todo o processo ocorreu em temperatura ambiente, sobre uma solução reticulante de cloreto de cálcio a 2% (m/v) mantida a 15 cm do bico extrusor. Após a atomização, as partículas foram mantidas na solução de cloreto de cálcio por 30 minutos. Subsequentemente, as partículas foram separadas e lavadas em peneiras de malha de aço (abertura de 0.35 mm) com água destilada. O processo de formação das partículas foi feito em duplicata. Uma fração de partículas úmidas foi congelada e conduzida ao liofilizador LS 3000 (Terroni Equipamentos Científicos, São Carlos, Brasil) durante 48 horas. As partículas úmidas e liofilizadas separadas para análise foram mantidas sob refrigeração a 5°C.

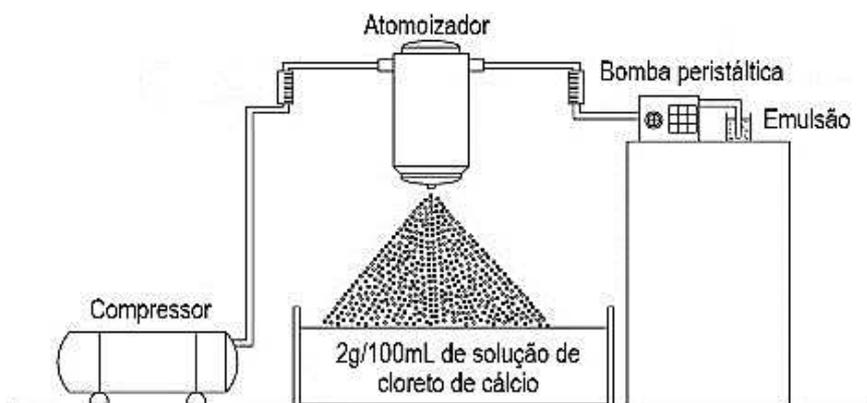


Figura 8. Esquema do processo de atomização em solução de cloreto de cálcio a 2%(m/v) (CHAN *et al.*, 2012)

4.2.3.2. Recobrimento das partículas de alginato com quitosana

As partículas de alginato contendo três concentrações diferentes de OSI foram recobertas com dispersão de quitosana a 1% (m/v) através de interação eletroestática que corresponde a capacidade de um polímero catiônico interagir com cargas aniônicas das superfícies de gel do alginato. A condição da execução desse procedimento foi baseada em Carvalho (2017) com adaptações. As partículas foram colocadas juntamente com a dispersão de quitosana na relação 1:2, e mantidas sob agitação magnética durante 30 min. A seguir, as partículas recobertas foram separadas e lavadas em peneiras de malha de aço (abertura de 0.149 mm) com água deionizada. O processo de formação das partículas foi feito em duplicata. As partículas úmidas foram congeladas e conduzidas ao liofilizador LS 3000 (Terroni Equipamentos Científicos, São Carlos, Brasil) durante 48 horas. As partículas úmidas e liofilizadas separadas para análise foram mantidas sob refrigeração.

A solução de quitosana 1% (m/v) foi preparada pela dissolução de 1 g de quitosana em 100 mL de solução de ácido acético 1% (v/v) durante 12 horas para a completa hidratação. Foi utilizada água deionizada na preparação da solução de ácido acético, sendo seu pH final de 3,74.

4.2.3.3. Eficiência de Encapsulação

Após a produção das partículas foi determinada a eficiência de encapsulação. A quantidade de óleo não encapsulado presente na superfície das

partículas foi determinada segundo Vasile *et al.* (2016) com adequações. 5 mL de hexano foram adicionados em 1 g de partículas úmidas previamente pesadas em *vials* e agitados vigorosamente por 60 segundos. O sobrenadante de cada amostra foi transferido para um béquer previamente pesado. A quantidade de óleo não encapsulado foi determinada gravimetricamente pela diferença de peso após a completa evaporação do hexano em estufa a 70°C. A eficiência de microencapsulação (EE) foi calculada a partir da Eq (8).

$$EE(\%) = \frac{(\text{Óleo total} - \text{Óleo superficial})}{\text{Óleo total}} * 100 \quad (8)$$

Onde o óleo total foi considerado igual à quantidade de óleo inicial na emulsão, pois o OSI não possui características voláteis. O óleo superficial foi tido como OSI não encapsulado presente na superfície das partículas úmidas.

4.2.3.4. Conteúdo de umidade e atividade de água

O conteúdo de umidade das partículas foi determinado gravimetricamente segundo o método adaptado da AOAC (2009) para balanças determinadoras de umidades (Shimadzu, Barueri, Brasil), onde a temperatura do equipamento foi ajustada para 105°C e a umidade foi definida até a massa da amostra permanecer constante. A atividade de água foi medida em um higrômetro digital Aqualab modelo series 3TE (Decagon, Pullman, EUA), a 25°C. Ambas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.3.5. Distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas

A distribuição de tamanho e diâmetro médio de partículas foram determinados por um analisador de tamanho de partículas por difração a laser, no equipamento Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Reino Unido). O diâmetro médio foi determinado baseando-se no diâmetro de De Brouckere D[4,3]. As amostras foram analisadas em quintuplicata, por via úmida, com dispersão em água destilada.

$$D_{[43]} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (9)$$

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

4.2.3.6. Avaliação de microestrutura

4.2.3.6.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos por Rosenberg; Young (1993). As amostras liofilizadas foram fixadas em porta-espécimes metálicas (*stubs*), através do uso de uma fita adesiva. Como as amostras não são metálicas, foi necessário realizar a metalização (*sputtering*), cobrindo-as com uma fina camada de liga metálica. Assim, as amostras foram recobertas com ouro em um aparelho metalizador. As amostras metalizadas foram mantidas em um suporte fechado dentro de um dessecador, até o momento da análise no MEV. Foram utilizadas ampliações de 500x e 2000x para observação das amostras.

4.2.3.6.2. Microscopia óptica (MO)

Uma pequena porção de partícula úmida foi colocada em lâminas, onde foram observadas em um microscópio ótico Carl Zeiss (modelo Axio Scope A1, Gottingen, Alemanha) sendo ampliadas de 10x.

4.2.3.6.3. Microscopia confocal de varredura a laser (MCVL)

A análise de microscopia confocal foi baseada na metodologia proposta por Lamprecht, Schäfer e Lehr (2000). As partículas foram produzidas com materiais corados previamente. A solução de quitosana foi corada com o corante isotiocinato de fluoresceína (FITC) (Sigma-Aldrich Brasil Ltda., SP, Brasil) e o óleo de sacha inchi corado com vermelho do Nilo (Sigma-Aldrich Brasil Ltda., SP, Brasil). As amostras foram colocadas diretamente em lâminas e recobertas com lamínulas e analisadas em microscópio confocal Carl Zeiss (LSM 780-NLO, Germany) com objetiva de 10x 0.3x, realizado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de

Fotônica Aplicada à Biologia Celular (INFABIC) no Instituto de Física da UNICAMP. As imagens foram coletadas utilizando lasers com comprimentos de onda de 488 e 543 nm para excitação do FITC, e 528 nm para vermelho do Nilo.

4.2.3.7. Estabilidade oxidativa das partículas durante a estocagem

Para os ensaios de estabilidade oxidativa, as partículas produzidas foram avaliadas a temperatura de 45°C ao longo de quatro semanas, sendo as amostras analisadas em relação à oxidação lipídica (CARNEIRO *et al.*, 2013). Em resumo, em 0,5 g de partículas úmidas adicionou-se solução aquosa de citrato de sódio a 4% (m/v). Para as partículas que possuem recobrimento com quitosana foi realizada digestão enzimática como pré-tratamento como descrito por Tello *et al.* (2015) com adaptações. O pré-tratamento consistiu em ajustar o pH do meio em que estavam as partículas para 7 com NaOH 0.5 N, logo após foi adicionado solução de pancreatina a 0,5 mg/mL. Posteriormente, a quantificação do óleo foi realizada segundo o método de extração de Bligh e Dyer (1959) sendo realizadas em duplicata para cada amostra. 0,1 g de amostra do óleo extraído foi diluído em 4 mL de solução de clorofórmio/metanol (7:3), onde foi retirado 200 µL de alíquota para determinação. As determinações dos valores de peróxidos (PV) foram efetuadas conforme a seção 4.2.1.2., e executadas em duplicata para cada amostra.

4.2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos para as diferentes emulsões e micropartículas foram analisados por Análise de Variância utilizando-se o Software Minitab 18 (Pensilvânia, EUA). O Teste de Tukey foi utilizado para a análise de diferença de médias, com $p \leq 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis L.*)

5.1.1. Composição de ácidos graxos e triacilglicerois

O OSI foi caracterizado segundo sua composição de ácido graxos (AG) e triacilglicerois (TAG), de acordo com a metodologia descrita nos itens 4.2.1.1 e 4.2.1.2.

Tabela 5. Composição de ácidos graxos de OSI

Ácido Graxo	Área (%)
C12:0 – dodecanoico	0,02 ± 0,01
C14:0 – mirístico	0,06 ± 0,00
C15:0 – pentadecanóico	0,02 ± 0,00
C16:0 – palmítico	6,62 ± 0,01
C16:1 – palmitoléico	0,06 ± 0,00
C17:0 – margárico	0,12 ± 0,00
C17:1 – cis-10-heptadecenóico	0,05 ± 0,00
C18:0 – esteárico	3,81 ± 0,01
C18:1 – oleico	14,65 ± 0,00
C18:2 – trans t-linoléico	0,11 ± 0,13
C18:2 – linoleico	42,50 ± 0,01
C18:3 – trans t-linolênico	0,42 ± 0,00
C18:3 – linolênico	30,75 ± 0,02
C20:0 – araquídico	0,21 ± 0,00
C20:1 – eicosenóico	0,24 ± 0,00
C22:0 – behênico	0,19 ± 0,00
C24:0 – lignocérico	0,08 ± 0,00
∑ Saturado	11,17
∑ MUFA	14,72
∑ PUFA	74,02
Total (%)	99,90

*Cx:y – onde x é o número de carbonos e y é o número de ligações duplas.
MUFA – monoinsaturado; PUFA – poliinsaturado

Na Tabela 5 é possível observar que o óleo adquirido apresenta em sua constituição baixo teor de AGs saturados (<12%) e alta proporção de insaturados (>88%), sendo predominante a fração composta pelos AGs poliinsaturados. O ácido linoleico é o AG dominante encontrado no OSI (42,5%), seguido pelo ácido linolênico (30,75%) e o oleico (14,65%). O perfil de AG encontrado neste trabalho difere dos exibidos para óleo de sacha inchi descrito por Hamaker *et al* (1992), Guillén *et al* (2003), Follegatti-Romero *et al* (2009) e Fanali *et al* (2011), onde o AG em maior quantidade identificado foi o ácido linolênico. Chirinos *et al* (2013) avaliaram as sementes de SI em relação a AGs, tocoferóis, fitoesteróis, compostos fenólicos e a capacidade antioxidante de 16 cultivares diferentes. Esses autores concluíram que entre os AGs analisados, o ácido linolênico foi o de maior destaque, mas observou-se que há heterogeneidade entre as composições de AGs nas sementes de OSI. As diferenças na composição de AGs podem ser atribuídas às diferentes subespécies, distribuição geográfica, clima e condições de crescimento, tempo de colheita, práticas agrícolas e método quantitativo da análise.

O perfil de AGs pode ser utilizado para avaliar a composição nutricional e genuinidade de óleos e gorduras, no entanto para conhecer as propriedades físicas e funcionais é fundamental determinar a constituição de TAGs presente. A Tabela 6 expõe as cadeias de TAGs existentes no OSI; constatou-se que a composição majoritária de TAGs é composta por insaturação (<56%), não havendo TAGs predominantemente saturados. Além disso, nota-se a abundância do ácido linolênico dentre as cadeias de porcentagem de área mais representativas. O alto percentual de ácido linolênico é de grande interesse, pois AGs insaturados proveniente de óleos vegetais reduzem os níveis de lipoproteínas dos colesterol total e de baixa densidade, conseqüentemente, diminuindo os riscos de doença cardiovascular (FANALI *et al.*, 2011).

A composição de TAGs é relevante para conferir a autenticidade de óleos e gorduras. Fanali *et al* (2011) identificaram e quantificaram as cadeias de TAGs do OSI, e encontraram cinco AGs diferentes, e inerentes do mesmo, sendo o ácido graxo palmítico (P), ácido graxo esteárico (S), ácido graxo oleico (O), ácido linoleico (L) e o ácido graxo linolênico (Ln). Para Chasquibol *et al* (2016) OSI legítimos apresentam diversas combinações principalmente a partir dos AGs Ln, L, O e P. Além disso, OSI autênticos devem conter combinações OLO, SLL, OLP, SOLn,

OOO, SLO, SLP inferiores a 10% e SSO abaixo de 1%. Para o OSI analisado conferem os mesmos AGs exibidos por Fanali *et al* (2011), contatando valores a 10% para as combinações OLO, OLP, SLP e não exibiu porcentual significativo de SSO. No entanto, exibiu uma combinação de TAGs (PLP) diferente da encontrada nos trabalhos. Assim, pode-se concluir que de fato é um OSI devido à composição de TAGs, mesmo apesar de possuir um perfil de AGs diferente dos dados encontrados na literatura.

Tabela 6. Composição em triacilgliceróis (TAGs) de OSI

Nº C	TAGs	Área (%)	Nº C	TAGs	Área (%)
C50	PLP	1,85	C54	OOL	3,81
	PLnL	1,56		OLL	7,52
	PLS	1,64		OLLn	11,26
C52	POL	4,52	LLLn	20,48	
	PLL	8,69	LLnLn	10,46	
	PLLn	15,04	LnLnLn	3,39	
	PLnLn	7,78			
		∑ SSS			0
		∑ SSU			3,48
		∑ UUS			37,59
		∑ UUU			56,92
		Total (%)			98

Onde: P representa o ácido graxo palmítico, L o ácido linoleico, Ln ácido linolênico, O ácido oleico e S o ácido esteárico. SSS representa os triglicerídeos compostos apenas por saturação, SSU por dupla saturação e uma insaturação, UUS dupla insaturação e uma saturação e UUU apenas triglicerídeos insaturados.

5.1.2. Avaliação da qualidade do OSI controle

A Tabela 7 apresenta as características físico-químicas de acordo com a metodologia descrita nos itens 4.2.1.3; 4.2.1.4; 4.2.1.5 e 4.2.1.6.

Tabela 7. Caracterização do OSI segundo sua qualidade físico-química

Parâmetros	Média
Tempo de indução (h)	3,01 ± 1,34
Índice de peróxido (meq O ₂ .kg ⁻¹)	4,47 ± 0,07
Densidade (g.cm ⁻³)	0,925 ± 0,000

Todos os dados estão exibidos em média ± desvio padrão.

Para os parâmetros de densidade e índice de peróxido foram obtidos, respectivamente, $0,925 \text{ g.cm}^{-3}$ e $4,47 \text{ meq O}_2.\text{kg}^{-1}$ de OSI. Ambos os aspectos estão dentro do estabelecido pelo regulamento técnico específico para OSI segundo a NTP 151.400 (2009), sendo que o índice de peróxido exibido não ultrapassou o limite máximo permitido de $10 \text{ meq O}_2/\text{kg}$ de OSI. Enquanto, para o tempo de indução foi de 3,01 horas, desta forma verifica-se que o OSI apresenta baixa estabilidade oxidativa tendo alcançado apenas o tempo mínimo (3 horas) estabelecido pela metodologia (DE GOEDE et al., 2015).

5.2. CARACTERIZAÇÃO DA EMULSÃO

5.2.1. Tensão dinâmica interfacial

A Tabela 8 apresenta os resultados de tensão interfacial em função do tempo entre o OSI e a dispersão de alginato de sódio a 2% (g/100g) com diferentes concentrações de surfactante (Tween 80 e 20), bem como o tempo de equilíbrio necessário para a estabilização entre as interfaces de óleo-água. Os dados exibidos foram obtidos segundo a metodologia descrita no item 4.2.2.8.

Tabela 8. Dados de tensão interfacial entre a fase oleosa OSI e diferentes concentrações de surfactante na fase aquosa da dispersão de alginato de sódio a 2%.

Concentração de surfactante	Tween 80 γ_0 (mN.m ⁻¹)	Tween 20 γ_0 (mN.m ⁻¹)	Tween 80 γ_e (mN.m ⁻¹)	Tween 20 γ_e (mN.m ⁻¹)
0% (Controle)	13,47 ± 0,37 ^a	13,47 ± 0,37 ^a	4,38 ± 0,00 ^a	4,38 ± 0,00 ^a
0,5% (g/100g)	6,59 ± 0,02 ^{b, A}	5,00 ± 0,04 ^{b, B}	3,97 ± 0,03 ^{b, A}	2,87 ± 0,07 ^{b, B}
1% (g/100g)	5,43 ± 0,01 ^{c, A}	4,42 ± 0,02 ^{b, B}	3,08 ± 0,02 ^{c, A}	3,02 ± 0,03 ^{b, A}

Concentração de surfactante	Tween 80 Tempo de equilíbrio (s)	Tween 20 Tempo de equilíbrio (s)
0% (Controle)	2710,5 ± 0,0 ^a	2710,5 ± 0,0 ^a
0,5% (g/100g)	604,32 ± 0,12 ^{c, A}	604,41 ± 0,08 ^{b, A}
1% (g/100g)	654,63 ± 0,11 ^{b, A}	604,16 ± 0,05 ^{b, B}

Todos os dados estão exibidos em média ± desvio padrão. As letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$). As letras minúsculas apresentam diferenças entre a mesma coluna, enquanto as maiúsculas na mesma linha. Onde: γ_0 é a tensão inicial e γ_e tensão no equilíbrio; A amostra controle é a dispersão de alginato de sódio sem adição de emulsificante.

Ao observar a Tabela 8, verifica-se que as tensões interfaciais de todos os sistemas diminuíram com o tempo até atingir o equilíbrio. Outro ponto perceptível, foi a considerável redução da tensão interfacial inicial (γ_0) ($p \leq 0,05$) nos sistemas com a adição de emulsificante (Tween 80 e 20), chegando a ser reduzido pela metade do valor da amostra controle. As duas concentrações de Tween 20

estudadas (0,5% e 1%) não diferiram significativamente nos pontos iniciais (γ_0) e de equilíbrio (γ_e) de tensão interfacial. Em contrapartida, o aumento da concentração de Tween 80 de 0,5% para 1% ocasionou uma redução significativa da tensão interfacial nos pontos iniciais (γ_0) e de equilíbrio (γ_e).

Considerando o ponto inicial da análise, os sistemas adicionados de Tween 20 apresentaram tensão interfacial significativamente menor do que aqueles estabilizados com Tween 80, em ambas as concentrações avaliadas. No ponto de equilíbrio, esta mesma tendência foi observada apenas na concentração de 0,5% de surfactante, sendo que na concentração de 1% os dois sistemas atingiram valores semelhantes. Já em relação aos tempos de equilíbrio dos sistemas avaliados, percebe-se que a amostra controle foi a que apresentou maior tempo para atingir equilíbrio, diferindo significativamente das demais amostras.

Com o aumento da concentração do Tween 80 foi possível observar a redução da tensão interfacial no equilíbrio, porém foi exigido um maior tempo para que se realizasse. Pode atribuir esse comportamento ao intervalo de tempo necessário à difusão e a reorganização das moléculas do Tween 80 sobre a interface da gota. Também foi possível observar que o Tween 80 na concentração de 0,5% exibiu o menor tempo de equilíbrio, porém apresentou os maiores valores de tensão interfacial inicial e de equilíbrio comparado com à concentração de 1%. Em vista disso, verifica-se que os sistemas com adição do Tween 80 não alcançaram sua concentração micelar crítica (CMC) dentro da faixa de concentração avaliada. Logo, infere-se que os sistemas que possuem a incorporação do Tween 20 foram mais eficazes na redução da tensão interfacial se comparado a aqueles que apresentam adição do Tween 80.

Sinzato, Sousa Dias e Cunha (2017) afirmaram que a estrutura molecular mais compacta de um surfactante contribui para um menor valor de tensão interfacial, devido à sua maior concentração na superfície de saturação. Visto que ambos os surfactantes apresentam sorbitano polietoxilado em sua parte hidrofílica, baixo peso molecular sendo de 1310 e 1228 g.mol⁻¹ para o Tween 80 e 20, respectivamente, esses emulsificantes diferem, principalmente, devido ao grupo hidrofóbico. No caso do Tween 20 o grupo hidrofóbico é composto por uma cadeia de hidrocarboneto linear, enquanto que o Tween 80 apresenta cadeia de hidrocarboneto com insaturação (BAK; PODGÓRSKA, 2016). Assim, o Tween 20 por

apresentar uma estrutura molecular mais condensada pode migrar mais rapidamente para a superfície da gota quando comparado ao Tween 80, como pode ser visualizado na estrutura apresentada na Figura 3.

Gomes *et al.* (2016) incorporaram ácido gálico em emulsão tipo O/A e A/O. Para as emulsões O/A utilizaram Tween 20 (0,1; 1; 2 e 4% (g/100g)) como emulsificante e avaliaram a tensão interfacial. Esses autores observaram que a partir de 2 g/100g de Tween 20 ocorreu a diminuição na taxa de queda da curva de tensão interfacial, concluindo que essa tendência está associada ao excesso de surfactante acima do limite máximo da concentração micelar crítica. Esse comportamento foi similar ao que ocorreu neste trabalho, pois os sistemas estabilizados com Tween 20 nas concentrações de 0,5% e 1% apresentaram valores de tensão interfacial no equilíbrio semelhante entre si. Tal fato pode ser atribuído à saturação da interface óleo-água com o surfactante, embora as concentrações usadas fossem inferiores se comparadas às usadas por esses autores. Em vista disso, o alginato de sódio pode ter contribuído para atingir concentração micelar crítica, pois apresenta propriedade emulsionante como uma de suas características, sendo possivelmente desempenharem papel como co-surfactante (ARTIGA-ARTIGAS; ACEVEDO-FANI; MARTÍN-BELLOSO, 2017; WU et al., 2018).

5.2.2. Estabilidade

A estabilidade das emulsões desenvolvidas com OSI foi avaliada segundo o item 4.2.2.3. As emulsões primeiramente foram avaliadas durante as 4 horas iniciais e não foi verificada nenhuma separação de fases. De maneira geral, após as 24 horas, as emulsões se mostraram estáveis, apenas duas formulações se apresentaram cineticamente instáveis com separação de fases, como pode ser visualizado na Figura 9 (C e F). A emulsão C (Figura 9) apresentou uma separação de fases (SF) de SF = 16,67%±1,63 e índice de cremação (IC) IC = 83, 33±1,63 após 24 horas, entretanto não foram mensuradas o SF e IC da emulsão F (Figura 9) em decorrência da ausência de menisco no local de separação.

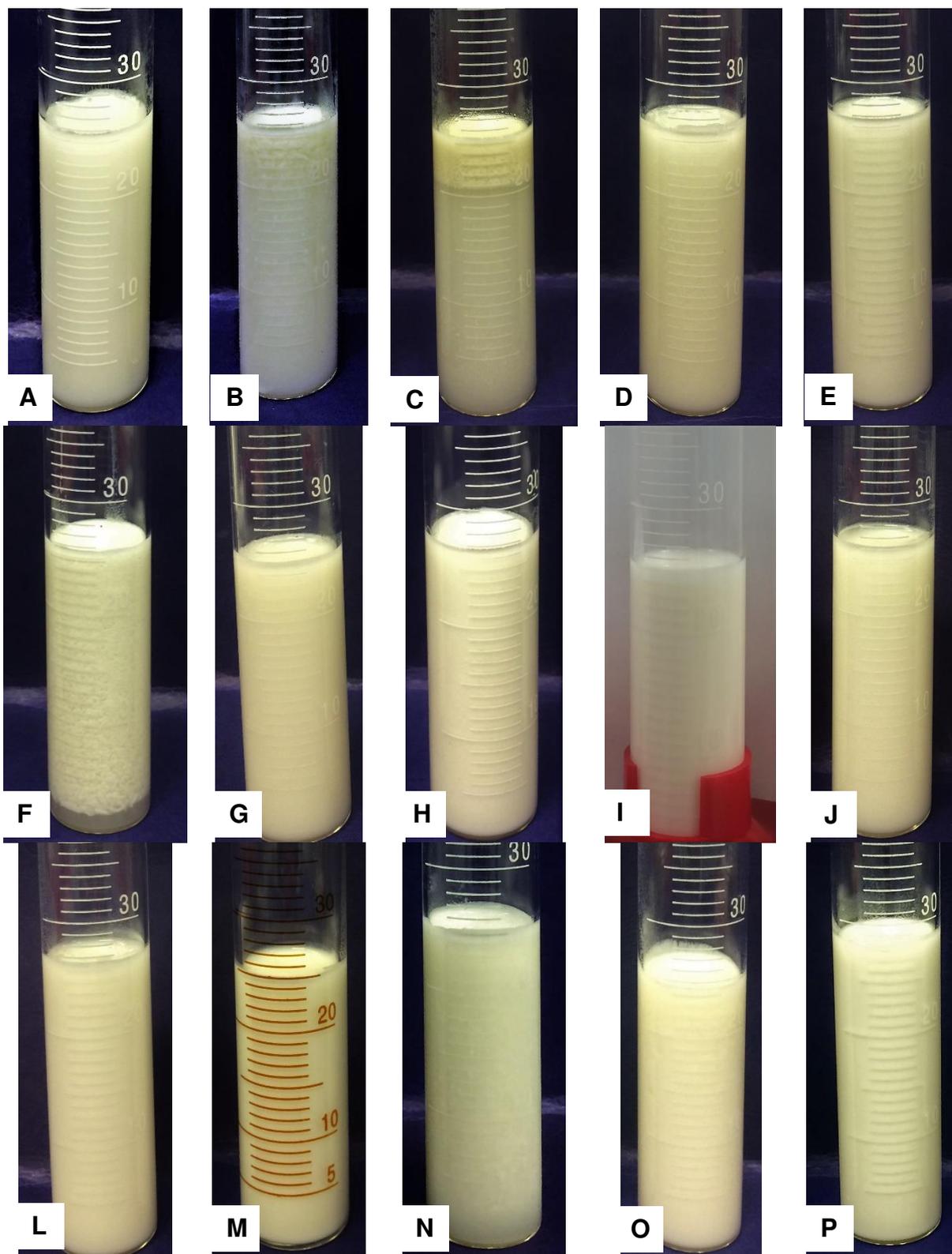


Figura 9. Avaliação da estabilidade das emulsões em diferentes concentrações de OSI e surfactante em relação a sólidos totais após 24 horas. Emulsão controle com 45% (A), 60% (B) e 75% (C); Emulsão Tween 80 a 0,5% com 45% (D), 60% (E) e 75% (F); Emulsão Tween 80 a 1% com 45% (G), 60% (H) e 75% (I); Tween 20 a 0,5% com 45% (J), 60% (L) e 75% (M); Emulsão Tween 20 a 1% com 45% (N), 60% (O) e 75% (P);

Os mecanismos de separação de fases desses dois sistemas são semelhantes, onde ocorreu o aumento das gotas através da instabilidade do sistema, como coalescência. Logo, as gotas de maiores tamanhos migram mais facilmente à parte superior da proveta estimulando a cremação. As emulsões produzidas com alginato de sódio apresentam gotas consideravelmente grandes, em decorrência da baixa atividade superficial que ela exerce na interface de gota, conseqüentemente, formando sistemas altamente instáveis (GAONKAR, 1991).

A concentração de Tween 80 utilizada na emulsão F não foi suficiente para promover uma prolongada estabilidade, ao contrário que pode ser observada na emulsão M (Figura 9) com o Tween 20 sob as mesmas condições. Esse comportamento pode ser atribuído à quantidade insuficiente de moléculas de Tween 80 disponíveis para saturação da interface de óleo-água. Visto que, entre dois emulsificantes estudados, o Tween 80 foi que apresentou considerável redução da tensão interfacial com o aumento da sua concentração. Outro ponto que pode ser considerado na estabilidade desse sistema foi a velocidade de adsorção de emulsificante na interface de gota. O Tween 20 se mostrou mais eficiente em se reorganizar na interface, como observado nos resultados da tensão interfacial (Tabela 8), que contribuiu para se obter sistemas mais cineticamente estáveis.

5.2.3. Distribuição e diâmetro médio de gotas

As emulsões foram submetidas à análise de distribuição do diâmetro médio de gotas conforme item 4.2.2.4. Na Tabela 9 estão descritos os valores do diâmetro médio das gotas e polidispersidade (Span). A Figura 10 apresenta as curvas de distribuição do diâmetro das gotas das emulsões. A homogeneização da solução de alginato de sódio com OSI e surfactantes (Tween 80 e 20) resultou em emulsões com diâmetro médio de gota variando de 1,7 a 3,6 μm . O primeiro pico da curva bimodal pode ser atribuído à representação das gotas iniciais ou individuais da emulsão, enquanto o segundo pico seria das gotas formadas após o processo de coalescência ou floculação.

Tabela 9. Dados de diâmetro superficial de gota $D_{[32]}$ e *span* das emulsões

	Concentração de OSI	Controle	Tween 80 0,5% (g/100g)	Tween 20 0,5% (g/100g)
$D_{[32]}$ (μm)	45%	2,41 \pm 0,08 ^{a, C}	1,91 \pm 0,07 ^{b, B}	1,88 \pm 0,10 ^{b, B}
	60%	3,02 \pm 0,03 ^{a, B}	1,95 \pm 0,04 ^{c, B}	2,05 \pm 0,12 ^{b, A}
	75%	3,61 \pm 0,15 ^{a, A}	2,05 \pm 0,01 ^{b, A}	1,95 \pm 0,04 ^{c, B}
Span	45%	1,55 \pm 0,05 ^{a, C}	1,01 \pm 0,3 ^{b, A}	0,95 \pm 0,06 ^{c, B}
	60%	1,93 \pm 0,08 ^{a, B}	1 \pm 0,02 ^{c, A}	1,16 \pm 0,17 ^{b, A}
	75%	2,20 \pm 0,08 ^{a, A}	1 \pm 0,05 ^{b, A}	1,04 \pm 0,11 ^{b, AB}

	Concentração de OSI	Controle	Tween 80 1% (g/100g)	Tween 20 1% (g/100g)
$D_{[32]}$ (μm)	45%	2,41 \pm 0,08 ^{a, C}	1,98 \pm 0,01 ^{b, B}	1,74 \pm 0,01 ^{c, C}
	60%	3,02 \pm 0,03 ^{a, B}	1,97 \pm 0,05 ^{b, B}	1,78 \pm 0,03 ^{c, B}
	75%	3,61 \pm 0,15 ^{a, A}	2,06 \pm 0,06 ^{b, A}	1,8 \pm 0,02 ^{c, A}
Span	45%	1,55 \pm 0,05 ^{a, C}	0,96 \pm 0,03 ^{b, B}	0,85 \pm 0,04 ^{c, A}
	60%	1,93 \pm 0,08 ^{a, B}	1,02 \pm 0,04 ^{b, A}	0,83 \pm 0,03 ^{c, A}
	75%	2,20 \pm 0,08 ^{a, A}	0,92 \pm 0,06 ^{b, B}	0,81 \pm 0,05 ^{c, A}

Todos os dados estão exibidos em média \pm desvio padrão. As letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$). As letras minúsculas apresentam diferenças entre as médias da mesma linha, enquanto as maiúsculas entre as médias da mesma coluna.

As três amostras controles foram as que apresentaram as maiores diferenças significativas ($p \leq 0,05$) nas distribuições de diâmetro e polidispersidade tanto para as concentrações 0,5 e 1,0% de Tween 20 quanto às de Tween 80. Observa-se que a emulsão controle com 75% de OSI foi a que exibiu maior diâmetro de gota e polidispersidade, em decorrência da quantidade de óleo incorporado e baixa atividade superficial que o alginato de sódio exerceu na interface O/A.

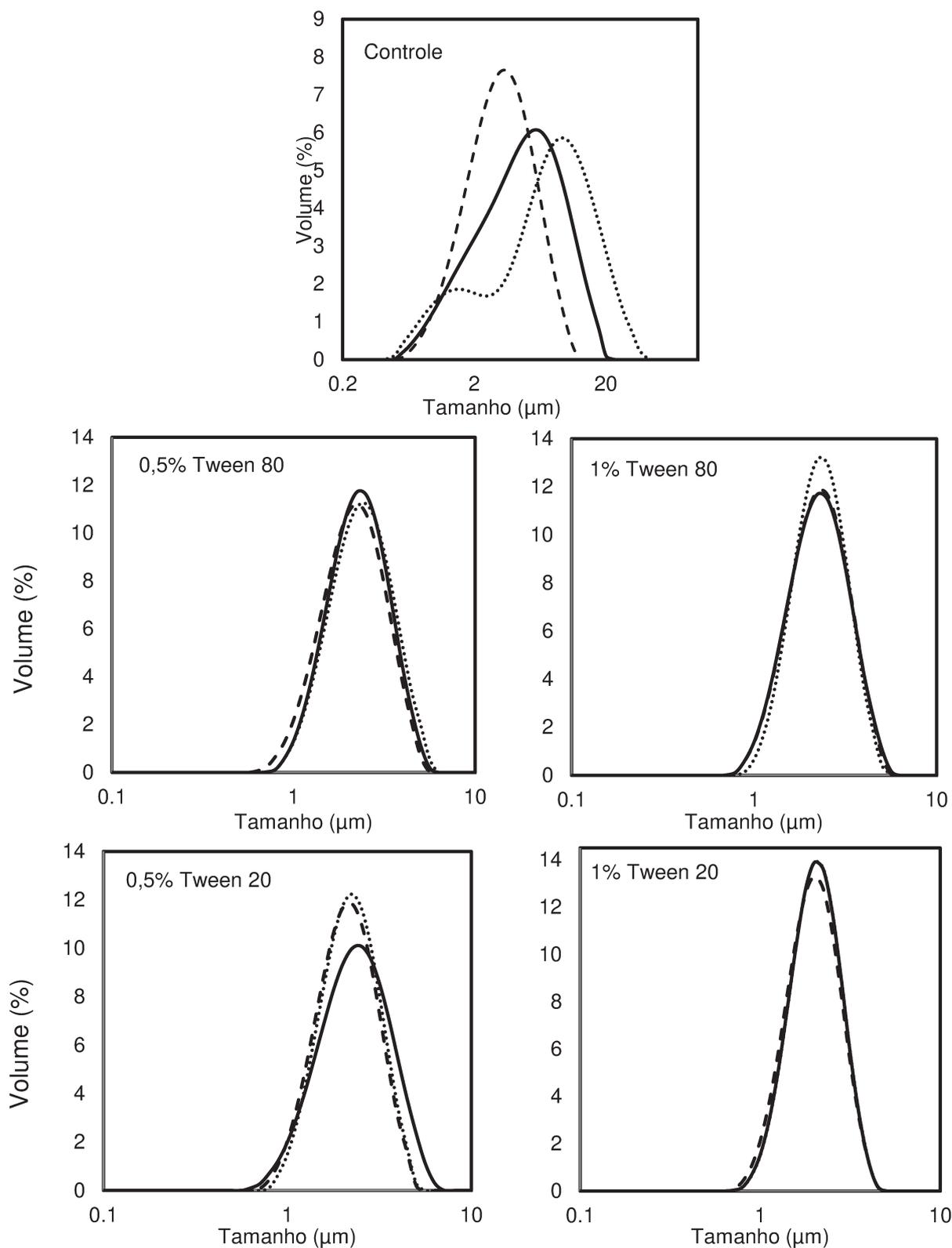


Figura 10. Distribuição de diâmetro de gota das emulsões obtidas com diferentes concentrações de surfactante e OSI sendo que --- 45%, — 60% e 75% de fase oleosa em relação a sólidos totais.

As emulsões com 0,5% de ambos os surfactantes (Tween 80 e 20) para 45% de OSI não diferiram significativamente. Para as emulsões com 60 e 75% de OSI a 0,5% de Tween 80 foram encontradas diferenças significativas das emulsões com Tween 20 sob mesmas condições. Enquanto, para as emulsões com os Tween 80 e 20 a 1,0% nas três concentrações de OSI (45, 60 e 75%) apresentaram diferenças significativas. Sendo que, apenas as formulações contendo o Tween 20 a 1,0% exibiram os menores valores de diâmetro de gota quando comparadas com as demais. O Tween 80 a 0,5 foi mais eficiente na redução dos diâmetros de gotas que o Tween 20 a 0,5% (g/100g) na concentração de 60% de OSI, reduzindo de 2,05 para 1,95 μm . À medida que, nas demais concentrações de OSI (60 e 75%) não foram observadas diferenças estatísticas.

Sinzato, Sousa Dias e Cunha (2017) avaliaram a dependência da tensão interfacial em diferentes frações volumétricas de surfactantes não iônicos. Esses autores constataram que o Tween 80 foi mais eficiente quando comparado ao outro surfactante abordado, pois foi capaz de reduzir a tensão interfacial com concentrações menores de emulsificante devido à sua geometria molecular ser mais volumosa. Diante disso, o Tween 80 se sobressaiu sobre o Tween 20, porém, mesmo sendo mais eficiente na redução do diâmetro médio, o mesmo não conseguiu estabilizar a emulsão com maior quantidade de OSI durante 24 horas.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 9, observa-se que as emulsões com adição de Tween 20 mostraram uma considerável redução no diâmetro de gota, além de exibir menores valores de polidispersidade quando comparados ao Tween 80, e, conseqüentemente, favoreceu aumento da estabilidade das emulsões. Os dados encontrados nesse trabalho foram semelhantes aos discutidos por Su e Zhong (2016), que produziram nanoemulsões a partir de caseinato de sódio, óleo de limoneno e Tween 20. Esses autores relataram que o desempenho do Tween 20 combinado com o caseinato de sódio resultou em significativa redução do diâmetro superficial de gota, por conseguinte, melhorando os aspectos de translucidez do sistema na análise de turbidez das nanoemulsões.

5.2.4. Densidade de carga superficial

A Figura 11 e a Tabela 10 apresentam o perfil do potencial zeta da solução de alginato em função de diferentes valores de pH e os resultados de potencial zeta e pH das emulsões analisadas, respectivamente. A determinação do potencial zeta permite conhecer a distribuição eletrostática do polissacarídeo sobre a superfície interfacial que envolve as gotículas, sendo esse um dado relevante na compreensão de estudo a respeito da estabilidade de um sistema coloidal (WU *et al.*, 2018).

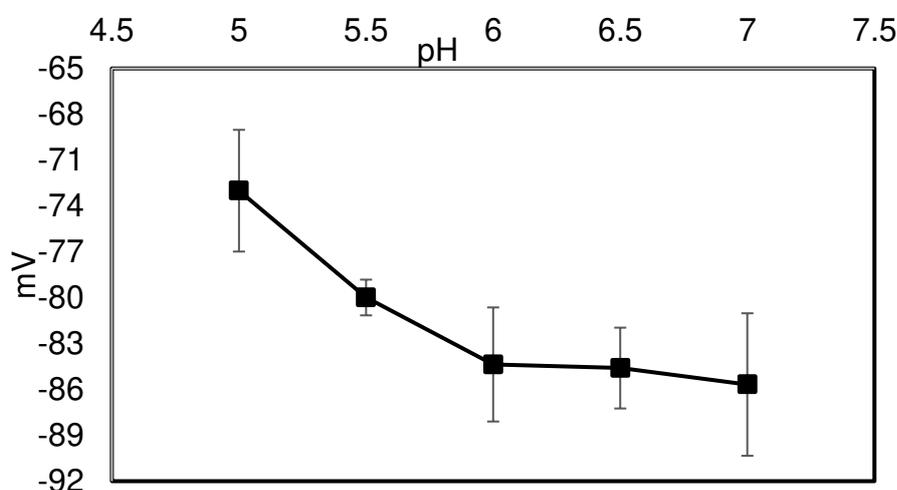


Figura 11. Influência do pH sobre o potencial zeta da solução de alginato de sódio a 0,2%.

A partir do perfil do potencial zeta, verificou-se que a dispersão de alginato de sódio possui caráter aniônico em todos os valores de pH analisados, e com o aumento pH a eletronegatividade desse material aumentou também. Esse comportamento também pode ser observado no trabalho de Pongsawatmanit, Harnsilawat e McClements (2006) que investigaram a influência do alginato, pH e o ultrassom em emulsões O/A estabilizadas com β -lactoglobulina.

A dispersão de alginato de sódio a 2% utilizada para a produção das emulsões apresentou valor de pH de $5,7 \pm 0,07$, e potencial zeta de $-81,73$ mV. Com a produção das emulsões foi possível observar o aumento do pH quando contraposto com a dispersão de alginato. Também foi notado que o aumento das concentrações de OSI nas emulsões afetaram significativamente os seus valores de pH, sendo as emulsões controles as mais influenciadas. As emulsões controles nas

três variações de OSI apresentaram potencial zeta mais eletronegativo quando comparadas com as emulsões com adição de emulsificante. As emulsões com adição de emulsificante não apresentaram um comportamento linear para os valores de pH, que podem estar relacionados com a redução de sua eletronegatividade. Os resultados exibidos nesse estudo são similares ao encontrado por Acevedo-Fani *et al.* (2015), que relataram a alta carga eletronegativa observada em suas nanoemulsões estabilizadas com surfactante não iônico pode ser atribuída à adsorção das moléculas de alginato dispersas na fase contínua na interface das gotículas.

Tabela 10. Dados de potencial zeta e pH das emulsões desenvolvidas

	Concentração de OSI	Controle	Tween 80 0,5% (g/100g)	Tween 20 0,5% (g/100g)
Potencial Zeta	45%	-84,77 ± 2,84 ^{b,B}	-64,29 ± 2,64 ^{a,A}	-65,03 ± 1,16 ^{a,A}
	60%	-80,91 ± 4,18 ^{b,A}	-66,95 ± 3,61 ^{a,A}	-66,3 ± 1,43 ^{a,AB}
	75%	-80,16 ± 4,12 ^{b,A}	-65,58 ± 1,09 ^{a,A}	-67,58 ± 1,41 ^{a,B}
pH	45%	7,60 ± 0,21 ^{a,A}	7,50 ± 0,24 ^{a,A}	6,13 ± 0,15 ^{b,A}
	60%	6,77 ± 0,14 ^{b,B}	7,46 ± 0,47 ^{a,A}	6,35 ± 0,07 ^{c,AB}
	75%	6,43 ± 0,04 ^{a,C}	6,17 ± 0,09 ^{b,B}	6,24 ± 0,15 ^{b,B}

	Concentração de OSI	Controle	Tween 80 1% (g/100g)	Tween 20 1% (g/100g)
Potencial zeta	45%	-84,77 ± 2,84 ^{c,B}	-62,93 ± 2,00 ^{a,A}	-66,13 ± 2,16 ^{b,B}
	60%	-80,91 ± 4,18 ^{c,A}	-72,90 ± 2,86 ^{b,C}	-61,52 ± 2,05 ^{a,A}
	75%	-80,16 ± 4,12 ^{c,A}	-68,73 ± 1,37 ^{b,B}	-65,03 ± 2,49 ^{a,B}
pH	45%	7,60 ± 0,21 ^{a,A}	6,85 ± 0,33 ^{b,A}	6,06 ± 0,05 ^{c,B}
	60%	6,77 ± 0,14 ^{a,B}	6,27 ± 0,08 ^{b,AB}	6,47 ± 0,17 ^{b,A}
	75%	6,43 ± 0,04 ^{b,C}	6,57 ± 0,14 ^{a,B}	6,43 ± 0,03 ^{b,A}

As letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$). As letras minúsculas apresentam diferenças entre as médias da mesma linha, enquanto as maiúsculas entre as médias da mesma coluna.

As emulsões que apresentam adição de surfactante diminuíram seu potencial eletronegativo, sendo esse fato atribuído à adsorção das moléculas de surfactante na interface das gotas na emulsão levando a redução da carga líquida de superfície. Essa carga negativa que circunda as gotículas de óleos evita a formação de mecanismos de instabilidades, como a floculação e a agregação, em

virtude das forças repulsivas se formam envolta das gotículas (SALVIA-TRUJILLO *et al.*, 2013). De maneira semelhantemente ocorreu com Fioramonti *et al.* (2015) quando estabilizaram emulsões com WPI. Constatando-se que as emulsões com pH de 5 e 7 apresentaram significativa diminuição da eletronegatividade devido à adsorção do emulsificante proteico na interface de gota.

5.2.5. Microscopia óptica

A microscopia ótica das emulsões produzidas com diferentes concentrações de OSI (45%, 60% e 75% g/100g) em relação a sólidos totais e os surfactantes o Tween 20 e 80 nas concentrações analisadas (0,5% e 1% g/100g) são apresentados na Figura 12. As imagens ilustram as emulsões cujas distribuições e diâmetros médios das gotas estão exibidos na Figura 9, onde pode ser observado o efetivo desempenho de ambos os surfactantes comparados às amostras controle na redução do tamanho das gotículas. Outro ponto observado foi o aspecto visual de cada surfactante em relação a aglomeração das gotas. As imagens exibidas pela Figura 12 (D, E, F, J, L e M) das emulsões com Tween 80 apresentam grupos de gotas mais floculadas para as duas concentrações (0,5 e 1,0%). Já as emulsões com Tween 20 são possíveis verificar a presença de aglomerados menores e mais dispersos na fase contínua, Figura 12 (G, H, I, N, O e P). Os diferentes aglomerados apresentados entre os dois surfactantes podem ser atribuídos as interações intermoleculares que atuam sobre as gotas.

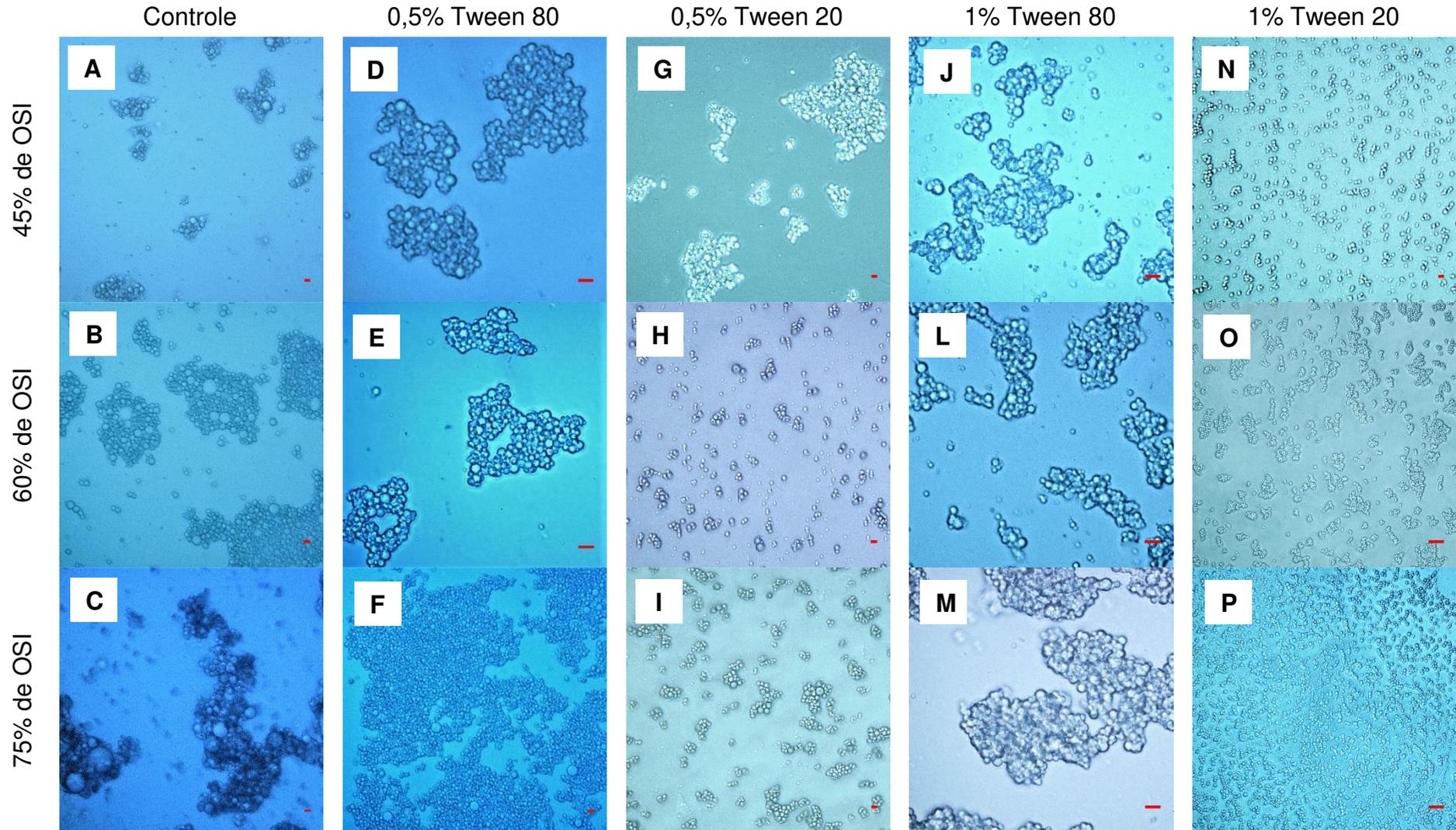


Figura 12. Micrografias óticas das emulsões com escala de 5 μ m. Onde: Emulsão controle com 45% (A), 60% (B) e 75% (C); Emulsão Tween 80 a 0,5% com 45% (D), 60% (E) e 75% (F); Emulsão Tween 20 a 0,5% com 45% (G), 60% (H) e 75% (I); Tween 80 a 1% com 45% (J), 60% (L) e 75% (M); Emulsão Tween 20 a 1% com 45% (N), 60% (O) e 75% (P);

Essas interações intermoleculares são resultantes de forças atrativas (forças de Van der Waals) e repulsivas (força eletrostáticas) que influenciam, ou impedem, na formação de aglomerados e a coalescência das gotas de óleo (BÖTTCHER; KEPPLER; DRUSCH, 2017). Logo, pressupõe-se que o Tween 80 apresenta forças repulsivas de menos intensidade quando contraposto ao Tween 20, apesar de os resultados de potencial zeta obtidos para os sistemas que possuem adição de surfactante terem sido superiores à 61 mV (Tabela 10). Os valores superiores a 60 mV são considerados ideais por apresentarem alta estabilidade eletrostática através de repulsão (SCHWARZ *et al.*, 1994). Então, a baixa intensidade das forças repulsivas observada para o Tween 80 pode ser referida à blindagem de cargas do sistema, como relatado por Böttcher, Keppler e Drusch (2017). Os autores afirmaram que a adição de surfactante à solução eletrostaticamente carregada, como o alginato de sódio, pode aumentar a força iônica através da blindagem das cargas levando ao enfraquecimento das forças repulsivas que, por conseguinte, acarreta a formação de aglomerados.

O alginato de sódio possui propriedades de emulsificante, embora, geralmente, atue como um espessante em emulsões em virtude de sua baixa atividade superficial e alta viscosidade. Logo, foram verificadas que as emulsões com 45% e 60% de OSI sem surfactante mostraram gotas de diâmetro parcialmente uniformes, Figura 12 (A e B). Já a Figura 12 C da emulsão com 75% de OSI apresentou gotas de comportamento heterogêneo, onde, de maneira geral, as gotas de menores diâmetros estão na interface das gotas maiores. Esse comportamento pode ser atribuído a mecanismos iniciais de instabilidade, como a coalescência (HUANG; KAKUDA; CUI, 2001). Frequentemente esse processo leva, conseqüentemente, à separação de fase das emulsões como pode ser visualizado na Figura 9.

5.2.6. Comportamento reológico

As emulsões foram submetidas à análise de curvas de escoamento conforme a metodologia do item 4.2.2.7. A fim de eliminar possíveis efeitos tixotrópicos utilizou-se a segunda subida da curva de escoamento, onde, posteriormente, foi ajustada aos modelos matemáticos empíricos. Através da Tabela

11 pode ser observado os dados experimentais de índice de consistência (k), índice de comportamento (n) e viscosidade aparente (μ) para o modelo que apresentou melhor coeficiente de determinação (R^2).

As curvas de escoamento da dispersão de alginato de sódio a 2% (g/100g) e das emulsões avaliadas foram melhores ajustadas ao modelo da Lei da Potência exibindo coeficiente de determinação (R^2) de aproximadamente de 99%, como pode ser visualizado na Tabela 11. Dessa forma, as amostras foram classificadas como fluidos pseudoplásticos. Sistemas pseudoplásticos apresentam a diminuição da viscosidade aparente com o aumento da taxa de cisalhamento. As emulsões apresentaram índice de comportamento oscilando de 0,71 a 0,74, a dispersão de alginato a 2% (g/100g) exibiu um índice de 0,5. Nota-se que com a incorporação do OSI na dispersão de alginato houve aumento do índice de comportamento, no entanto não suficiente para alterar o tipo de comportamento do fluido.

A dispersão de alginato a 2% (g/100g) apresentou índice de consistência de $10,61 \pm 0,1 \text{ Pa.s}^n$, e as emulsões mostraram variação entre 1,98 a 2,53 Pa.s^n . A considerável redução do índice de consistência pode estar associada à taxa de cisalhamento empregada para a formação das emulsões como também à incorporação do OSI. As emulsões preparadas mostraram significativa diminuição no índice de consistência, e na viscosidade aparente quando comparadas com as formulações controle e com adição de surfactante. Esse decréscimo pode ser atribuído à menor fração de gota em suspensão, por conseguinte, causando menor interação entre elas que normalmente se rompem facilmente sob altas taxas de cisalhamento (GOMES *et al.*, 2016).

Vale ressaltar que o ponto de interesse desse estudo é conhecer o comportamento das emulsões desenvolvidas na taxa de cisalhamento durante o processo de atomização. Segundo Steffe (1996) o processo de atomização envolve altas taxas de cisalhamento variando de 10^3 s^{-1} a 10^5 s^{-1} . Para emulsões que envolvem altas concentrações de surfactante, como as desse trabalho, Nash e Erk (2017) afirmaram que os agrupamentos de emulsificante sob altas taxas de cisalhamento se reorganizam para acomodar as variações de tamanho nas interfaces das gotas, conseqüentemente, ocorrendo mudanças nas conformações das gotas. Posto isso, compreender os dados reológicos em conjunto com os

demais pontos investigados sobre os sistemas desenvolvidos ajuda a elucidar a próxima parte do trabalho.

Tabela 11. Parâmetros de ajuste do modelo da Lei da Potência aos dados experimentais das emulsões

	Concentração de OSI	Controle	Tween 80 0,5% (g/100g)	Tween 20 0,5% (g/100g)
n	45%	0,74 ± 0 ^A	0,73 ± 0,01 ^{AB}	0,728 ± 0,01 ^B
	60%	0,74 ± 0,01 ^A	0,73 ± 0,01 ^B	0,72 ± 0 ^B
	75%	0,73 ± 0,02 ^A	0,71 ± 0,01 ^B	0,71 ± 0 ^B
k (Pa.s ⁿ)	45%	2,11 ± 0,09 ^A	2,06 ± 0,11 ^A	1,98 ± 0,13 ^A
	60%	2,06 ± 0,11 ^A	2,13 ± 0,13 ^A	2,18 ± 0,09 ^A
	75%	2,53 ± 0,3 ^A	2,43 ± 0,16 ^A	2,46 ± 0,04 ^A
$\mu_{300} s^{-1}$ (Pa.s)	45%	0,44 ± 0,01 ^A	0,41 ± 0,01 ^B	0,40 ± 0,02 ^B
	60%	0,43 ± 0,02 ^A	0,41 ± 0,01 ^A	0,41 ± 0,01 ^A
	75%	0,49 ± 0,01 ^A	0,43 ± 0,01 ^B	0,43 ± 0,01 ^B
	Concentração de OSI	Controle	Tween 80 1% (g/100g)	Tween 20 1% (g/100g)
n	45%	0,74 ± 0 ^A	0,73 ± 0 ^B	0,73 ± 0 ^B
	60%	0,74 ± 0,01 ^A	0,72 ± 0,01 ^B	0,72 ± 0 ^B
	75%	0,73 ± 0,02 ^A	0,71 ± 0,01 ^A	0,72 ± 0,01 ^A
k (Pa.s ⁿ)	45%	2,11 ± 0,09 ^A	2 ± 0,07 ^B	2 ± 0,05 ^B
	60%	2,06 ± 0,11 ^B	2,34 ± 0,24 ^A	2,19 ± 0,11 ^{AB}
	75%	2,53 ± 0,3 ^A	2,44 ± 0,2 ^A	2,30 ± 0,15 ^A
$\mu_{300} s^{-1}$ (Pa.s)	45%	0,44 ± 0,01 ^A	0,40 ± 0 ^B	0,40 ± 0,01 ^B
	60%	0,43 ± 0,02 ^A	0,43 ± 0,01 ^A	0,41 ± 0,01 ^A
	75%	0,49 ± 0,01 ^A	0,43 ± 0,01 ^B	0,42 ± 0,02 ^B
R ₂	Alginato 2%	0,992	T20 0,5% 60%	0,991
	Controle 45%	0,991	T20 0,5% 75%	0,993
	Controle 60%	0,990	T80 1% 45%	0,991
	Controle 75%	0,986	T80 1% 60%	0,991
	T80 0,5% 45%	0,991	T80 1% 75%	0,993
	T80 0,5% 60%	0,991	T20 1% 45%	0,991
	T80 0,5% 75%	0,992	T20 1% 60%	0,992
	T20 0,5% 45%	0,991	T20 1% 75%	0,995

Todos os dados estão exibidos em média \pm desvio padrão. As letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para as médias da mesma linha. Onde: μ_{300} corresponde à viscosidade aparente a uma taxa de cisalhamento a 300 s^{-1} (Pa.s); k corresponde ao índice de consistência (Pa.s^n); n corresponde ao índice de comportamento; R_2 coeficiente de determinação ao modelo de lei da potência; T80 ao Tween 80 e T20 ao Tween 20.

5.2. CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS

A partir da caracterização das emulsões em relação ao tamanho e distribuição de gotas, estabilidade cinética e imagens de microscopia ótica, foram selecionadas três formulações com diferentes concentrações de óleo (45, 60 e 75% de OSI em relação a sólidos totais) e estabilizadas com Tween 20 a 1% (g/100g) para a produção das partículas pelo processo de gelificação iônica. A composição dessas emulsões pode ser visualizada na Tabela 4 no item 4.2.3.1.

5.2.1. Teor de umidade e atividade de água das partículas

A Tabela 12 expõe os resultados de conteúdo de umidade e atividade de água das micropartículas recobertas ou não com quitosana. Em relação à atividade de água, todas as formulações estudadas apresentaram elevados índices variando de 0,998 a 0,995. Embora apenas a formulação 75% de OSI recoberta apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as demais. Os valores encontrados nesse trabalho para atividade de água são similares ao reportado por Heck *et al.* (2017), que microencapsularam o óleo de canola por gelificação iônica.

Tabela 12. Teor de umidade e atividade de água das micropartículas recobertas ou não com quitosana

	Amostra	Sem recobrimento	Com recobrimento
Atividade de água	45% de OSI	0,996 ± 0,001 ^{a; A}	0,996 ± 0,001 ^{a; A}
	60% de OSI	0,998 ± 0,001 ^{a; A}	0,997 ± 0,001 ^{a; A}
	75% de OSI	0,997 ± 0,001 ^{a; A}	0,995 ± 0,001 ^{b; B}
Umidade (%) (base umida)	45% de OSI	93,65 ± 0,24 ^{a; A}	90,66 ± 0,27 ^{b; A}
	60% de OSI	89,46 ± 1,83 ^{a; B}	86,99 ± 0,47 ^{b; B}
	75% de OSI	85,38 ± 1,25 ^{a; C}	81,50 ± 1,21 ^{b; C}

Todos os dados estão exibidos em média ± desvio padrão. As letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$). As letras minúsculas apresentam diferenças entre as médias da mesma linha, enquanto as maiúsculas apresentam diferença entre as médias da mesma coluna.

As micropartículas de alginato com e sem recobrimento apresentaram alto teor de umidade. A formulação com 45% de OSI sem recobrimento apresentou o maior teor de umidade (93,65%), e a formulação com 75% de OSI recoberta tem o menor conteúdo (81,50%). Este comportamento está diretamente relacionado ao aumento de OSI e à adição do revestimento de quitosana. Esses resultados foram similares ao observado em outros trabalhos para partículas produzidas por gelificação iônica, utilizando materiais como alginato e pectina. Logo, se subentende que partículas produzidas por gelificação iônica possuem redes tridimensionais com alta capacidade de retenção de água (AGUILAR *et al.*, 2015; BELŠČAK-CVITANOVIC *et al.*, 2016; TELLO *et al.*, 2015).

5.2.2. Diâmetro médio e distribuição de partícula

Na Figura 13 são apresentadas as distribuições de tamanhos das partículas desenvolvidas com e sem recobrimento de quitosana.

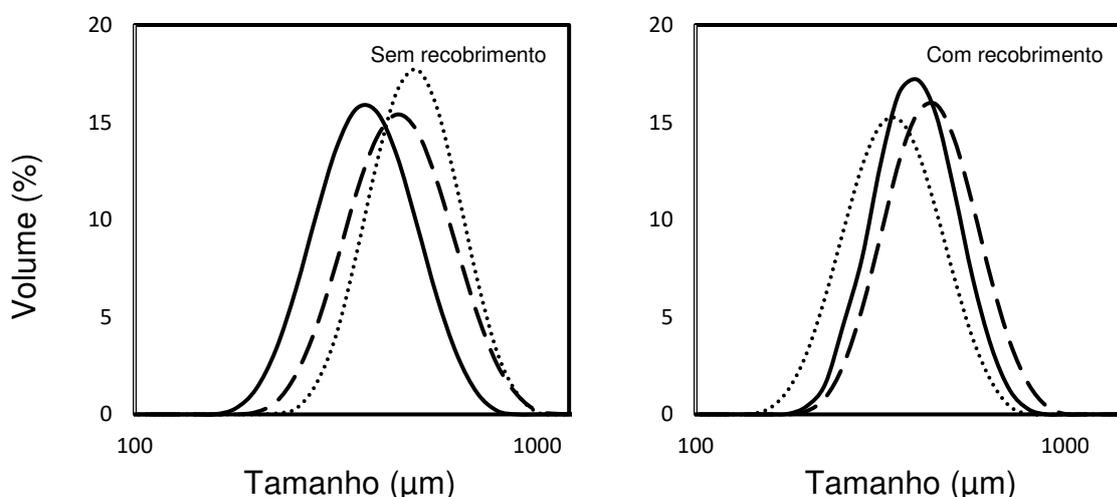


Figura 13. Distribuição de tamanho de partícula úmida obtidas com diferentes concentrações de OSI, sendo que 45%, - - - 60% e — 75% em relação a sólidos totais.

As micropartículas exibiram distribuição monomodal, com diâmetros variando entre 454 a 355 μm aproximadamente. Analisando as distribuições dos tamanhos, observa-se que o pico das partículas com 75% de OSI sem recobrimento se deslocou ligeiramente à esquerda. Tal resultado indica uma tendência de presença de micropartículas com diâmetro menor em comparação às demais

analisadas. O mesmo ocorreu com o pico das partículas com 60% de OSI recobertas.

Tabela 13. Dados de diâmetro médio de partícula D_[43]

Amostra	D _[43] (µm)	
	Sem recobrimento	Com recobrimento
45% de OSI	447,6 ± 33,4 ^{a; A}	355,7 ± 21,3 ^{c; B}
60% de OSI	454,6 ± 7,3 ^{a; A}	419,5 ± 9,1 ^{a; B}
75% de OSI	406,7 ± 11,1 ^{b; A}	375,7 ± 6,2 ^{b; B}

Todos os dados estão exibidos em média ± desvio padrão. As letras indicam diferenças significativas (p<0,05). As letras minúsculas apresentam diferenças entre as médias da mesma coluna, enquanto as maiúsculas apresentam diferença entre as médias da mesma linha.

O diâmetro médio das partículas, representado pelo diâmetro médio de Brouckere (D_[43]) pode ser visto na Tabela 13. Constata-se que as formulações recobertas com quitosana diferem significativamente das partículas sem recobrimento. Outro ponto observado é que as micropartículas com 75% de OSI apresentaram menor diâmetro entre as partículas sem recobrimento com 406,7 µm, sustentando a tendência de distribuição de tamanho observada na Figura 9. Ao mesmo tempo que, entre as micropartículas com recobrimento a formulação com 45% de OSI apresentou o menor diâmetro e a formulação com 60% de OSI apresentou o maior. Chan *et al.* (2012) discutiram em seu estudo as variáveis de processo que influenciam a distribuição de tamanho e morfologia das partículas de alginato durante o método de atomização em solução de cloreto de cálcio, e observaram que a tensão superficial e viscosidade, bem como o diâmetro do bico são relevantes na formação das partículas.

Tello *et al.* (2015) desenvolveram partículas de alginato e pectina revestidas com proteína globulares encapsulando óleo modelo, e obtiveram comportamento similar ao exibido neste estudo, observando que as partículas de pectina sem cobertura proteica tinham diâmetro 53,80% maior em relação as outras estudadas. Associaram isso à quantidade de ligação com as moléculas de água ocorridas ao longo do processo de reticulação. A redução do diâmetro médio das partículas recobertas com quitosana está relacionada à formação de complexo a partir de interação eletrostática entre os grupos amino da quitosana com os grupos

carboxílicos do alginato. Logo, deduz-se que a redução do diâmetro está ligada a forças intramoleculares exercidas pela película formada sobre a superfície das partículas (LAWRIE *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2002).

5.2.3. Microestrutura e morfologia das partículas

Nas Figura 14 e Figura 15 podem ser visualizadas as microestruturas das partículas úmidas e liofilizadas sem e com cobertura polimérica. Para as micropartículas úmidas foram realizadas análises de microscopia ótica (MO), enquanto para as liofilizadas utilizou da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para o MEV foram utilizadas três ampliações para cada formulação, sendo elas de 100, 500 e 2000x.

Através das imagens é possível observar as diferenças morfológicas entre as partículas produzidas. As micropartículas úmidas exibiram formato esférico, não sendo possível observar diferenças superficiais entre os tratamentos. Após a secagem por liofilização, as partículas, de maneira geral, permaneceram esféricas independentes do processo de revestimento, porém com pequenas irregularidades superficiais. Em vista disso, pode-se inferir que as estruturas tridimensionais formadas foram preservadas depois do processo de secagem por liofilização.

Fujiwara *et al.* (2013) produziram micropartículas de alginato/amido/quitosana contendo estigmasterol, e constataram que a morfologia das partículas foi esférica com a ligeira tendência a serem ovais. Já Jaya, Durance e Wang (2009) observaram diferenças morfológicas entre as partículas produzidas com alginato e pectina, concluindo que os tratamentos que apresentaram maior fração de alginato exibiram partículas com mais esfericidade quando comparadas às partículas com maior fração de pectina. Dado isso, pode ser inferir que as micropartículas de hidrogéis desenvolvidas com alginato ostentam estruturas tridimensionais melhores estruturadas e reticuladas, que permaneceram após a perda de água.

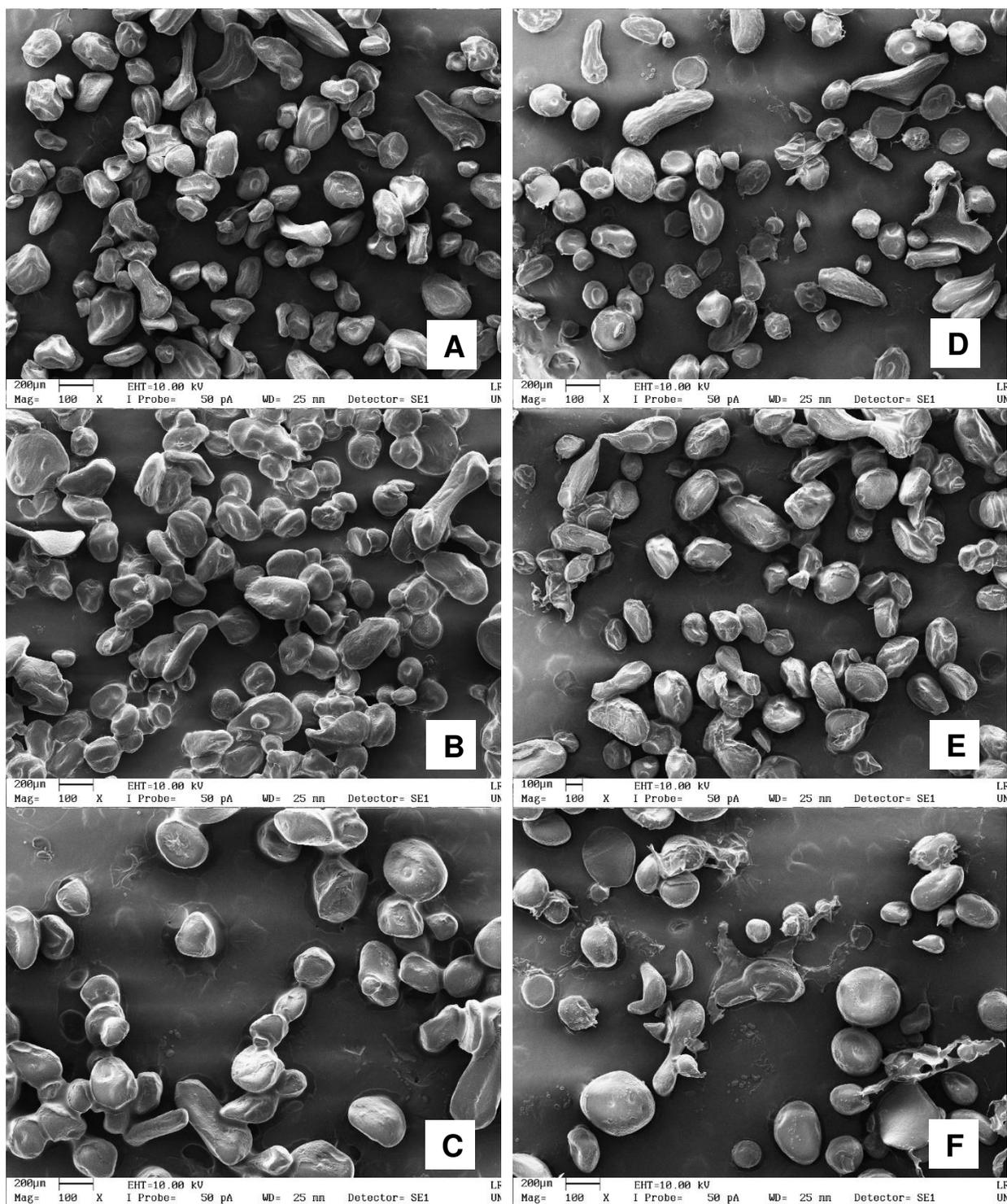


Figura 14. As microestruturas das micropartículas secas por liofilização com escala de 200 µm com aumento de 100x. (A) 45% de OSI sem revestimento, (B) 60% de OSI sem revestimento e (C) 75% de OSI sem revestimento; (D) 45% de OSI revestidas, (E) 60% de OSI revestidas e (F) 75% de OSI revestidas.

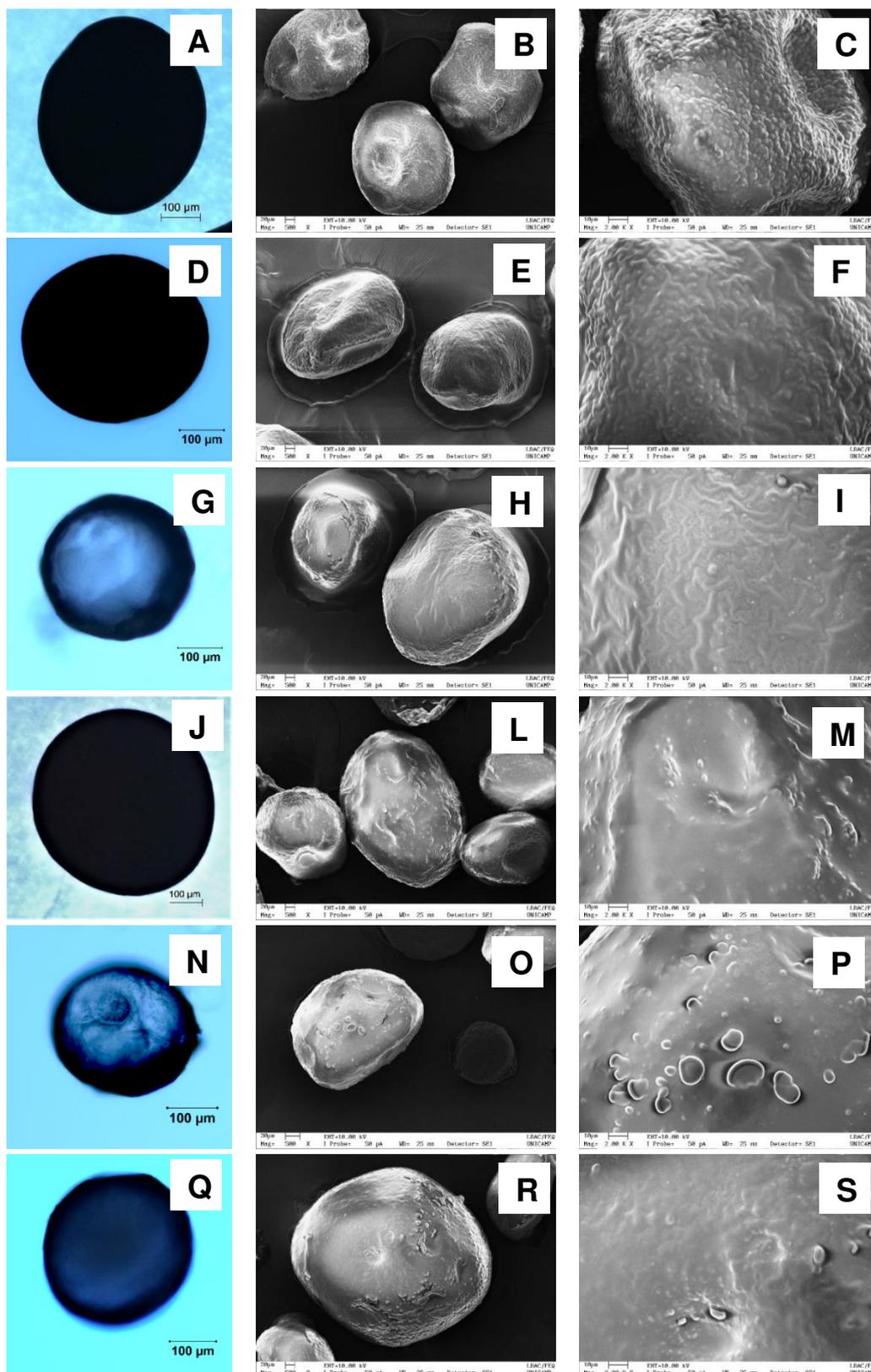


Figura 15. As microestruturas das partículas úmidas estão na escala de 100 μm com aumento de x10 (lado esquerdo da figura), e as partículas secas por liofilização com escala de 20 μm com aumento x500 (centro da figura) e a superfície das partículas liofilizadas com escala de 10 μm com x2000 (lado direito da figura). Onde: (A), (B) e (C) 45% de OSI sem revestimento; (D), (E) e (F) 60% de OSI sem revestimento; (G),

(H) e (I) 75% de OSI sem revestimento; (J), (L) e (M) 45% de OSI revestidas; (N), (O) e (P) 60% de OSI revestidas; (Q), (R) e (S) 75% de OSI revestidas.

Pelas mesmas imagens pode-se observar que os tratamentos sem recobrimento apresentaram superfícies ásperas, como pode ser visualizado na Figura 15 (B, C, E, F, H e I) ao mesmo tempo em que as micropartículas liofilizadas recobertas apresentam superfície suavizada (Figura 15 L, M, O, P, R e S). Comportamento similar foi relatado por Sarma, Pakshirajan e Mahanty (2011) que desenvolveram partículas de alginato com e sem revestimento de quitosana encapsulando óleo de silicone contendo pireno, e observaram que após o revestimento com quitosana a superfície de suas pérolas de alginato se tornou mais lisa. E atribuíram isso à ocorrência de interação iônica entre a quitosana e o alginato.

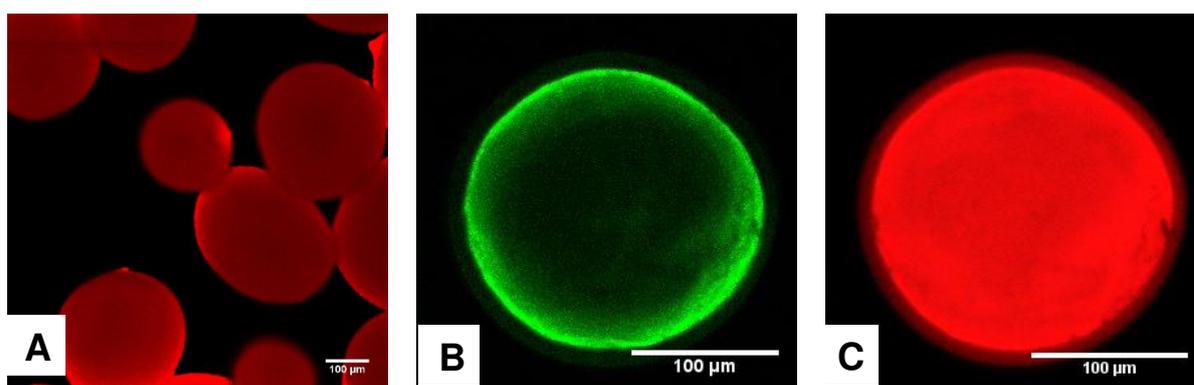


Figura 16. Microestrutura representativas das partículas úmidas coradas com corantes fluorescentes na escala de 100 µm, onde: A apresenta as partículas sem recobrimento, B e C apresenta mesma partícula com e sem revestimento de quitosana, respectivamente.

A estrutura interna das micropartículas úmidas pode ser analisada através de microscopia confocal de varredura a laser (MCVL). A Figura 16 exibe as micropartículas coradas com o vermelho do Nilo e FITC, como descrito pelo item 4.2.3.6.3. Observa-se que o óleo está distribuído homogeneamente pela matriz polimérica, indicando retenção de óleo por toda estrutura da partícula. Além disso, essa análise permitiu comprovar a presença de revestimento sobre as micropartículas.

Na literatura é possível encontrar trabalhos que relatam distribuição de óleo similar ao reportado no presente estudo, como Morales *et al.* (2017). Esses autores desenvolveram emulsões O/A com complexo de proteína/polissacarídeo mais alginato/shellac para posteriormente produzir partículas por gelificação iônica

externa. Esse fato foi observado por Zhang, Zhang e McClements (2016) que desenvolveram pérolas de hidrogel à base de alginato/WPI encapsulando óleo carregado com β -caroteno por gelificação iônica externa. Li *et al.* (2012) também verificaram a mesma distribuição de óleo em suas pérolas de hidrogel, onde foram produzidos e avaliados diversos sistemas estruturados para entrega baseados em alginato/ β -lactoglobulina contendo óleo de milho. Em vista disso, percebe-se que a inserção de emulsificantes no processo de produção de partícula contribui para obter matrizes poliméricas com distribuição de óleo mais homogêneas.

5.2.4. Eficiência de encapsulação

Através da Tabela 14, observa-se os resultados da eficiência de encapsulação por meio da lavagem superficial, como descrito no item 4.2.3.3. Neste estudo a quantidade inicial de OSI adicionado foi de 45%, 60% e 75% em relação a sólidos totais, como podem ser visualizados na Tabela 4.

Tabela 14. Dados da eficiência de encapsulação por lavagem superficial das micropartículas úmidas

Amostra	Eficiência de Encapsulação (%)	
	Sem recobrimento	Com recobrimento
45% de OSI	99,95 \pm 0,02 ^{a; A}	99,97 \pm 0,02 ^{a; A}
60% de OSI	99,97 \pm 0,01 ^{a; A}	99,98 \pm 0,01 ^{a; A}
75% de OSI	99,97 \pm 0,03 ^{a; A}	99,99 \pm 0,01 ^{a; A}

Todos os dados estão exibidos em média \pm desvio padrão. As letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$). As letras minúsculas apresentam diferenças entre as médias da mesma coluna, enquanto as maiúsculas apresentam diferença entre as médias da mesma linha.

Todas as formulações estudadas não apresentaram diferenças significativas entre si, mostrando valores superiores a 99% de eficiência de encapsulação. A alta eficiência de encapsulação pode ser atribuída a dois fatores: o primeiro, que pode estar relacionado à adição de surfactante na emulsão somado às condições de emulsificação, que levaram possivelmente, a uma redução das dimensões das gotas, conduzindo ao aumento da retenção do OSI na matriz polimérica da partícula. O segundo pode estar relacionado ao processo de extrusão das gotas e reticulação com íons de cálcio. A Figura 16 A contribui na sustentação

dessa suposição, pois permite visualizar através da análise de confocal a distribuição homogênea do óleo por toda matriz das micropartículas.

Chan (2011) produziu partículas de alginato através de gelificação iônica externa utilizando alto teor de óleo como agente ativo, variando entre 10 a 60% (v/v). Esse autor observou que as partículas úmidas apresentaram alta eficiência de encapsulação, superior a 90%, o que pode ser atribuído ao grau de reticulação que ocorreu sobre a superfície das partículas, bem como a composição do alginato utilizado. No presente trabalho foi observado valores de eficiência superiores a 99%, que pode estar associado a uma efetiva reticulação na estrutura do alginato com íons de cálcio durante o processo de gelificação iônica.

5.2.5. Estabilidade oxidativa

As micropartículas de alginato de sódio contendo o OSI sem e com recobrimento de quitosana na concentração de 1% (m/v) foram submetidas à análise de estabilidade oxidativa juntamente com o OSI livre, sendo avaliados pelo índice de peróxido no tempo 0 e após 4 semanas à 45°C. Os resultados de estabilidade oxidativa realizados estão apresentados na Figura 17.

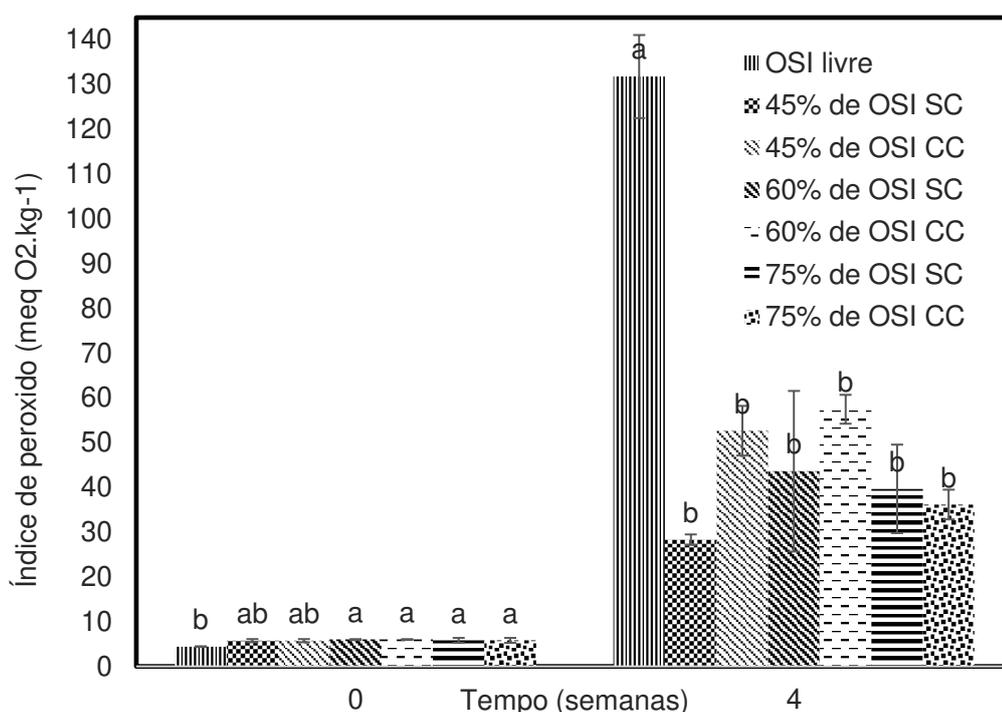


Figura 17. Variação no índice de peróxido das amostras durante ao armazenamento a 45 °C

* Letras diferentes em cada bloco (separadamente) indicam diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$). Onde SC significa sem cobertura e o CC com cobertura.

Inicialmente, o óleo puro apresentou baixo nível de oxidação com 4,4 meq $O^2.kg^{-1}$, bem como os óleos encapsulados variando de 5,75 a 6,01 meq $O^2.kg^{-1}$. Essa diferença entre os níveis de oxidação no tempo zero provavelmente pode estar relacionada ao processo de produção das partículas. Após 4 semanas à 45°C, o OSI livre diferiu significativamente em relação aos OSI encapsulados com 125,26 meq $O^2.kg^{-1}$ de índice de peróxido. Os OSI encapsulados apresentaram variações entre 28,32 a 57,46 meq $O^2.kg^{-1}$ para 45% de OSI sem revestimento e 60% de OSI revestido, respectivamente.

Tello *et al.* (2015) relataram que as suas micropartículas de alginato sem recobrimento produzido por gelificação iônica apresentaram elevados níveis de peróxido, superiores ao encontrado no óleo livre, e atribuíram esse resultado aos poros que podem ter permitido o fácil acesso do oxigênio ao óleo encapsulado. As micropartículas de alginato sem recobrimento estudadas no presente trabalho não apresentam esse comportamento. Possivelmente, isso deve estar relacionado com a distribuição do OSI pela extensão da matriz da partícula, como foi possível visualizar através das imagens de confocal (Figura 16).

Vasile *et al.* (2016) reconheceram que o processo de encapsulação pode aumentar a superfície de contato possibilitando maior exposição ao oxigênio. Porém, em seu trabalho foi possível observar que a formação de peróxido foi superior no óleo livre comparado ao encapsulado. Resultados similares foram encontrados nesse estudo, onde foi possível observar que os valores de peróxido no OSI encapsulado sem e com revestimento com quitosana foram inferiores ao óleo livre. A partir dos resultados obtidos, o método de encapsulação por gelificação iônica mostrou potencial de aplicação na proteção do OSI, onde o recobrimento com quitosana pode ser um diferencial para a liberação controlada quando associado ao alginato de sódio, como discutido no trabalho de HAN *et al.*, (2008).

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, este trabalho apresenta as seguintes conclusões:

A produção de emulsões (O/A) estabilizadas com alginato de sódio e surfactante não iônico permitiu a produção de micropartículas contendo óleo de sacha inchi, através de gelificação iônica.

A caracterização das fases contínua e dispersa permitiu visualizar as alterações nas propriedades interfaciais de gota após a adição de surfactante. A redução da atividade superficial entre a interface da gota contribuiu para diminuir o diâmetro médio superficial, e, conseqüentemente, melhorar a estabilidade cinética das emulsões ao longo do tempo de observação. Os sistemas contendo Tween 20 a 1% (g/100g) mostraram ser pouco influenciados pelo aumento da concentração de óleo de sacha inchi, quando comparados aos sistemas controle, sendo estes selecionados à produção das partículas.

As micropartículas produzidas por gelificação iônica mostraram alto conteúdo de umidade e atividade de água, que as tornam interessantes a serem utilizadas no enriquecimento de alimentos com elevado teor de umidade. As micropartículas de hidrogel úmidas apresentaram alta eficiência de encapsulação, não apresentando óleo superficial.

As estruturas tridimensionais das partículas úmidas mostraram-se esféricas e lisas, e mesmo após o processo de secagem por liofilização elas apresentaram poucas alterações estruturais. Através da microscopia confocal observou-se uma distribuição homogênea das gotas de óleo encapsulado em toda extensão da matriz de alginato. Confirmou também o revestimento por quitosana.

Através do monitoramento da estabilidade à 45 °C, foi possível observar a efetiva proteção do óleo de sacha inchi por meio de sua encapsulação, pois o óleo livre apresentou níveis de oxidação superior ao óleo encapsulado. Diante dos resultados obtidos ao decorrer deste trabalho, conclui-se que o processo de encapsulação atingiu seu principal objetivo, que foi promover a proteção do óleo de sacha inchi contra a oxidação lipídica através da microencapsulação por gelificação iônica.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar outros métodos de secagem para as partículas úmidas de alginato produzidas através de gelificação iônica externa;
- Avaliar o índice de peróxido das partículas utilizando menor intervalos de tempos;
- Determinar a estabilidade oxidativa das micropartículas através da Rancimat e cromatografia gasosa;
- Aplicar as micropartículas úmidas em produtos industrializado e avaliar sua aceitabilidade;
- Avaliar as micropartículas em relação a liberação em condições gastrointestinais simulada.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Official Methods of Analysis**. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC, EUA. 16. ed 2009.

AOCS. **American Oil Chemists Society**. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. Washington, 2004.

ACEVEDO-FANI, A. et al. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 168–177, 1 maio 2015.

AGUILAR, K. C. et al. Protein adsorption onto alginate-pectin microparticles and films produced by ionic gelation. **Journal of Food Engineering**, v. 154, p. 17–24, 2015.

ARAB-TEHRANY, E. et al. Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. **Trends in Food Science & Technology**, v. 25, n. 1, p. 24–33, 1 maio 2012.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos - Teoria e Prática**, 2008.

ARTIGA-ARTIGAS, M.; ACEVEDO-FANI, A.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effect of sodium alginate incorporation procedure on the physicochemical properties of nanoemulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 191–200, 1 set. 2017.

BAK, A.; PODGÓRSKA, W. Interfacial and surface tensions of toluene/water and air/water systems with nonionic surfactants Tween 20 and Tween 80. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 504, p. 414–425, 5 set. 2016.

BAKER, E. J. et al. Metabolism and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans. **Progress in Lipid Research**, v. 64, p. 30–56, 2016.

BARCELÓ-COBLIJN, G.; MURPHY, E. J. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. **Progress in Lipid Research**, v. 48, n. 6, p. 355–374, nov. 2009.

BELŠČAK-CVITANOVIC, A. et al. Emulsion templated microencapsulation of dandelion (*Taraxacum officinale* L.) polyphenols and β -carotene by ionotropic gelation of alginate and pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 139–152, 1 jun. 2016.

BLIGH, E.; DYER, W. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. **Can.J.Biochem.Physiol.**, v. 37, p. 911–917, 1959.

BODOIRA, R. M. et al. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 107–113, 2017.

BOSQUEZ-MOLINA, E.; ZAVALA-MEJÍA, L. New Bioactive Biomaterials Based on Chitosan. In: **Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 33–64.

BÖTTCHER, S.; KEPPLER, J. K.; DRUSCH, S. Mixtures of Quillaja saponin and beta-lactoglobulin at the oil/water-interface: Adsorption, interfacial rheology and emulsion properties. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 518, p. 46–56, 5 abr. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Resolução-RDC Nº 23, de 15 de fevereiro de 2005, Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras - subcategoria creme vegetal e margarinas. **Diário Oficial**, Brasília, 16 de fevereiro de 2005, Seção 001, p. 24-25.

CARVALHO, A. G. S. **Estudo da inclusão de antocianinas de extrato da polpa de juçara (*euterpe edulis martius*) em partículas produzidas por spray drying e gelificação iônica**. 2017. 174p Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

CARNEIRO, H. C. F. et al. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v. 115, n. 4, p. 443–451, abr. 2013.

CHAN, E.-S. Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 4, p. 1267–1275, 2 abr. 2011.

CHAN, E.-S. et al. The effect of low air-to-liquid mass flow rate ratios on the size, size distribution and shape of calcium alginate particles produced using the atomization method. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 2, p. 297–303, 1 jan. 2012.

CHAN, S. Y. et al. Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. **Carbohydrate Polymers**, v. 161, p. 118–139, 1 abr. 2017.

CHASQUIBOL, N. A. et al. Markers of quality and genuineness of commercial extra virgin sacha inchi oils. **Grasas y Aceites**, v. 67, n. 4, p. 169, 2016.

CHIRINOS, R. et al. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 1732–1739, 2013.

CISNEROS, F. H. et al. Chemical Composition, Oxidative Stability and Antioxidant Capacity of Oil Extracted from Roasted Seeds of Sacha-Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5191–5197, 4 jun. 2014.

COMISIÓN DE NORMALIZACIÓN Y DE FISCALIZACIÓN DE BARRERAS COMERCIALES NO ARANCELARIAS. NTP 151.400: ACEITE DE SACHA INCHI. Requisitos. 2009.

COMUNIAN, T. A. et al. Improving oxidative stability of echium oil emulsions fabricated by Microfluidics: Effect of ionic gelation and phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 233, p. 125–134, 15 out. 2017a.

COMUNIAN, T. A. et al. Development of functional yogurt containing free and encapsulated echium oil, phytosterol and sinapic acid. **Food Chemistry**, v. 237, p. 948–956, 15 dez. 2017b.

COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 442–457, dez. 2016.

DA SILVA, J. D. F. et al. **Microemulsões: Componentes, características, potencialidades em química de alimentos e outras aplicações** *Química Nova*, 2015. Disponível em: <<http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/0100-4042.20150135>>

DE GOEDE, S. et al. A Comparison of the Stability Performance of Blends of Paraffinic Diesel and Petroleum-Derived Diesel, with RME Biodiesel Using Laboratory Stability Measurement Techniques. **Journal of Fuels**, v. 2015, p. 1–15, 25 fev. 2015.

DRAGET, K. I.; SKJÅK-BRÆK, G.; SMIDSRØD, O. Alginate based new materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 21, n. 1–2, p. 47–55, 1997.

DYER, J. M. et al. High-value oils from plants. **Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 640–655, 2008.

ENCINA, C. et al. Conventional spray-drying and future trends for the microencapsulation of fish oil. **Trends in Food Science & Technology**, v. 56, p. 46–60, 1 out. 2016.

ETCHEPARE, M. DE A. et al. Microencapsulation of probiotics using sodium alginate. **Ciência Rural**, v. 45, n. 7, p. 1319–1326, jul. 2015.

FADINI, A. L. et al. Innovative strategy based on combined microencapsulation technologies for food application and the influence of wall material composition. **LWT**, v. 91, p. 345–352, 1 maio 2018.

FANALI, C. et al. Chemical characterization of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 24, p. 13043–13049, 2011.

FATHI, M.; MARTÍN, Á.; MCCLEMENTS, D. J. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. **Trends in Food Science and Technology**, v. 39, n. 1, p. 18–39, 1 set. 2014.

FIORAMONTI, S. A. et al. Multilayer emulsions as a strategy for linseed oil

microencapsulation: Effect of pH and alginate concentration. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 8–17, 1 jan. 2015.

FOLLEGATTI-ROMERO, L. A. et al. Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 49, n. 3, p. 323–329, 2009.

FRISON-NORRIE, S.; SPORNS, P. Investigating the molecular heterogeneity of polysorbate emulsifiers by MALDI-TOF MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 7, p. 3335–3340, 2001.

FUJIWARA, G. M. et al. Production and characterization of alginate-starch-chitosan microparticles containing stigmasterol through the external ionic gelation technique. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 3, p. 537–547, set. 2013.

FUNAMI, T. et al. Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca²⁺ binding. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 7, p. 1746–1755, 2009.

GAONKAR, A. G. Surface and interfacial activities and emulsion characteristics of some food hydrocolloids. **Topics in Catalysis**, v. 5, n. 4, p. 329–337, 1 ago. 1991.

GAONKAR, A. G. et al. **Microencapsulation in the Food Industry: A Practical Implementation Guide**. [s.l.] Elsevier Science, 2014.

GEORGE, M.; ABRAHAM, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan — a review. **Journal of Controlled Release**, v. 114, n. 1, p. 1–14, 10 ago. 2006.

GOMES, A. et al. Role of the phases composition on the incorporation of gallic acid in O/W and W/O emulsions. **Journal of Food Engineering**, v. 168, p. 205–214, 1 jan. 2016.

GUILLÉN, M. D. et al. Characterization of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil by FTIR Spectroscopy and ¹H NMR. Comparison with Linseed Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 8, p. 755–762, 2003.

GUTIÉRREZ, L. F.; ROSADA, L. M.; JIMÉNEZ, Á. Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. **Grasas y Aceites**, v. 62, n. 1, p. 76–83, 30 mar. 2011.

HAMAKER, B. R. et al. Aminoacid and fatty acid profile of the Inca peanut (*Plukenetia volubilis* L.).pdf. **Cereal Chemistry**, v. 69, n. 4, p. 461–463, 1992.

HAN, J. et al. Alginate and Chitosan Functionalization for Micronutrient Encapsulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 7, p. 2528–2535, abr. 2008.

HECK, R. T. et al. Is it possible to produce a low-fat burger with a healthy n – 6/n – 3 PUFA ratio without affecting the technological and sensory properties? **Meat**

Science, v. 130, p. 16–25, 1 ago. 2017.

HELGERUD, T. et al. Alginates. In: **Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2010. p. 50–72.

HUANG, X.; KAKUDA, Y.; CUI, W. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4–6, p. 533–542, 11 jul. 2001.

JAYA, S.; DURANCE, T. D.; WANG, R. Effect of alginate-pectin composition on drug release characteristics of microcapsules. **Journal of Microencapsulation**, v. 26, n. 2, p. 143–153, 20 mar. 2009.

JOHNSON, M. Detergents: Triton X-100, Tween-20, and More. **Materials and Methods**, v. 3, 18 jan. 2013.

KAUSHIK, P. et al. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 868–881, 1 dez. 2015.

KEOWMANEECHAI, E.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of EDTA and citrate on physicochemical properties of whey protein-stabilized oil-in-water emulsions containing CaCl₂. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 24, p. 7145–7153, 2002.

KERWIN, B. A. **Polysorbates 20 and 80 used in the formulation of protein biotherapeutics: Structure and degradation pathways** **Journal of Pharmaceutical Sciences** Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, , 1 ago. 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354916326570>>. Acesso em: 7 dez. 2017

KUROZAWA, L. E.; HUBINGER, M. D. **Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation** **Current Opinion in Food Science** Elsevier, , 1 jun. 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799316301059?via%3Dihub#bib0020>>. Acesso em: 21 jan. 2018

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. **Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges** **Progress in Lipid Research**, set. 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163782707000161>>. Acesso em: 6 dez. 2017

LAMPRECHT, A. et al. Structural analysis of microparticles by confocal laser scanning microscopy. **AAPS PharmSciTech**, v. 1, n. 3, p. 10–19, set. 2000.

LAWRIE, G. et al. Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 8, p. 2533–2541, ago. 2007.

LI, S. et al. Studies on alginate-chitosan microcapsules and renal arterial embolization in rabbits. **Journal of Controlled Release**, v. 84, n. 3, p. 87–98, 5 dez. 2002.

LI, Y. et al. Modulation of lipid digestibility using structured emulsion-based delivery systems: Comparison of in vivo and in vitro measurements. **Food & Function**, v. 3, n. 5, p. 528, 2 maio 2012.

LI, Y.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of non-ionic surfactant on electrostatic complexation of protein-coated oil droplets and ionic biopolymers (alginate and chitosan). **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 368–375, 1 dez. 2013.

MAHMOOD, M. E.; AL-KOOFEE, D. A F. Effect of Temperature Changes on Critical Micelle Concentration for Tween Series Surfactant. **Global Journal of Science Frontier Research Chemistry**, v. 13, n. 4, p. 1–7, 2013.

MAURER, N. E. et al. Characterization and authentication of a novel vegetable source of omega-3 fatty acids, sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. **Food Chemistry**, v. 134, n. 2, p. 1173–1180, 2012.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, Second Edition**. [s.l.: s.n.].

MCCLEMENTS, D. J. Emulsion Design to Improve the Delivery of Functional Lipophilic Components. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, n. 1, p. 241–269, abr. 2010.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 8, p. 1270–1282, nov. 2000.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; WEISS, J. Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 8, p. R109–R124, out. 2007.

MOLENDI-COSTE, O.; LEGRY, V.; LECLERCQ, I. A. Why and How Meet n-3 PUFA Dietary Recommendations? **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2011, n. Figure 1, p. 1–11, 2011.

MORALES, E. et al. Alginate/Shellac beads developed by external gelation as a highly efficient model system for oil encapsulation with intestinal delivery. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 321–328, 1 set. 2017.

MORRIS, E. R.; REES, D. A.; THOM, D. Characterisation of alginate composition and block-structure by circular dichroism. **Carbohydrate Research**, v. 81, n. 2, p. 305–314, maio 1980.

NASH, J. J.; ERK, K. A. Stability and interfacial viscoelasticity of oil-water nanoemulsions stabilized by soy lecithin and Tween 20 for the encapsulation of

bioactive carvacrol. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 517, p. 1–11, 20 mar. 2017.

NAZZARO, F. et al. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 182–186, 1 abr. 2012.

ONG, W.-D. et al. Alginate-Based Emulsion Template Containing High Oil Loading Stabilized by Nonionic Surfactants. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 1, p. E93–E100, jan. 2015.

PENICHE, C. et al. Formation and stability of shark liver oil loaded chitosan/calcium alginate capsules. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 5, p. 865–871, 1 set. 2004.

PERU, A. **Grasas Vegetales, Aceite de Palta, Castaña, Jojoba, Perú Exportación - Agrodataperu**. Disponível em: <<https://www.agrodataperu.com/2017/11/grasas-vegetales-aceite-palta-castana-jojoba-peru-exportacion-2017-octubre.html>>. Acesso em: 23 jan. 2018.

PONGSAWATMANIT, R.; HARNASILAWAT, T.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of alginate, pH and ultrasound treatment on palm oil-in-water emulsions stabilized by β -lactoglobulin. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 287, n. 1–3, p. 59–67, 15 set. 2006.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006.

RODRÍGUEZ, J. et al. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. **Food Research International**, v. 83, p. 41–59, 2016.

RONSEIN, G. E. et al. Oxidação de proteínas por oxigênio singleto: mecanismos de dano, estratégias para detecção e implicações biológicas. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 563–568, jun. 2006.

ROSENBERG, M.; YOUNG, S. L. Whey proteins as microencapsulating agents. Microencapsulation of anhydrous milkfat - structure evaluation. **Journal of Dairy Science**, v. 12, n. 1, p. 31–43, 1993.

SAGIRI, S. S.; ANIS, A.; PAL, K. A Review on Encapsulation of Vegetable Oils: Strategies, Preparation Methods and Applications. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 2559, n. July, p. 150615071237006, 2015.

SALVIA-TRUJILLO, L. et al. Physicochemical Characterization of Lemongrass Essential Oil-Alginate Nanoemulsions: Effect of Ultrasound Processing Parameters. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 9, p. 2439–2446, 17 set. 2013.

SANCHEZ-REINOSO, Z.; GUTIÉRREZ, L. F. Effects of the Emulsion Composition on the Physical Properties and Oxidative Stability of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil Microcapsules Produced by Spray Drying. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 7, p. 1354–1366, 29 jul. 2017.

SARMA, S. J.; PAKSHIRAJAN, K.; MAHANTY, B. Chitosan-coated alginate-polyvinyl alcohol beads for encapsulation of silicone oil containing pyrene: A novel method for biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 86, n. 2, p. 266–272, 1 fev. 2011.

SCHWARZ, C. et al. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery. I. Production, characterization and sterilization. **Journal of Controlled Release**, v. 30, n. 1, p. 83–96, 1 abr. 1994.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid Oxidation: Measurement Methods. In: **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2005.

SHANTHA, N. C.; DECKER, E. A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. **Journal of AOAC International**, v. 77, n. 2, p. 421–4, 1994.

SINZATO, Y. Z.; SOUSA DIAS, N. J.; CUNHA, F. R. An experimental investigation of the interfacial tension between liquid-liquid mixtures in the presence of surfactants. **Experimental Thermal and Fluid Science**, v. 85, p. 370–378, 1 jul. 2017.

SMIDSRD, O.; SKJAKBRK, G. Alginate as immobilization matrix for cells. **Trends in Biotechnology**, v. 8, n. 4, p. 71–78, 1990.

SMRDEL, P. et al. Shape optimization and characterization of polysaccharide beads prepared by ionotropic gelation. **Journal of microencapsulation**, v. 25, n. 2, p. 90–105, 2008.

SRINIVASAN, D.; PARKIN, K. L. .; FENNEMA, O. R. . **Fennema's Food Chemistry**. 4. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2007.

STEFFE, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. 2^a ed. East Lansing: [s.n.]. v. 23

SU, D.; ZHONG, Q. Lemon oil nanoemulsions fabricated with sodium caseinate and Tween 20 using phase inversion temperature method. **Journal of Food Engineering**, v. 171, p. 214–221, 1 fev. 2016.

TELLO, F. et al. Alginate and pectin-based particles coated with globular proteins: Production, characterization and anti-oxidative properties. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 670–678, jan. 2015.

TITO HUAMANI, P. L.; FLORES, E. B. ESTRATEGIAS DE COMERCIALIZACIÓN DEL SACHA INCHI. **Gestión en el Tercer Milenio**, v. 12, n. 23, p. 37–49, 6 nov. 2014.

US-MEDINA, U. et al. Salvia hispanica mucilage-alginate properties and performance as an encapsulation matrix for chia seed oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 6, p. e13270, 1 dez. 2017.

VASILE, F. E. et al. Prosopis alba exudate gum as excipient for improving fish oil stability in alginate–chitosan beads. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1093–1101, jan. 2016.

VICENTE, J. et al. Microencapsulation of sachu inchi oil using emulsion-based delivery systems. **Food Research International**, v. 99, n. March, p. 612–622, 2017.

WERMAN, M. J.; NEEMAN, I. Oxidative stability of avocado oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, n. 3, p. 355–360, mar. 1986.

WU, Z. et al. Colloid properties of hydrophobic modified alginate: Surface tension, ζ -potential, viscosity and emulsification. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, n. Supplement C, p. 56–62, 1 fev. 2018.

YANG, J. et al. Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 53–66, 5 jun. 2015.

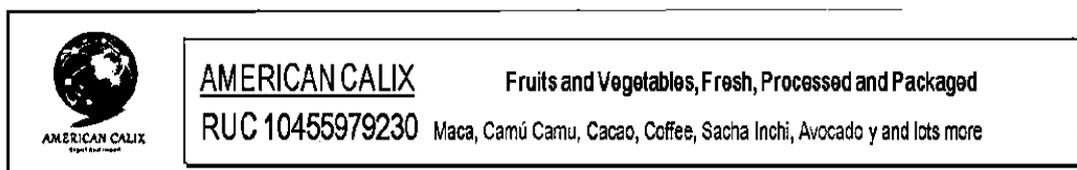
ZHANG, Z.; ZHANG, R.; MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of β -carotene in alginate-based hydrogel beads: Impact on physicochemical stability and bioaccessibility. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 1–10, 1 dez. 2016.

ZIA, K. M. et al. Alginate based polyurethanes: A review of recent advances and perspective. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 377–387, 1 ago. 2015.

ZUIDAM, N. J. et al. **Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing**. New York, NY: Springer New York, 1998. v. 3

ANEXO A

Ficha técnica de extração do óleo de sacha inchi utilizado neste trabalho



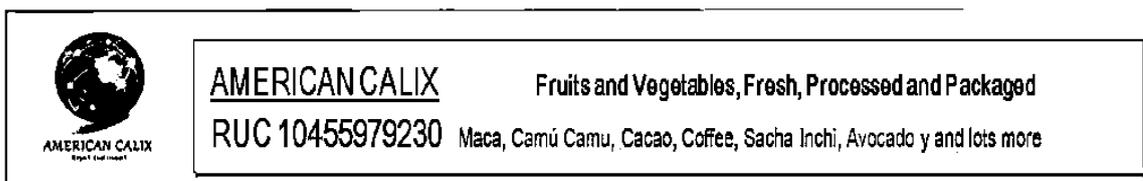
FICHA TECNICA PROCESAMIENTO INDUSTRIAL **ACEITE EXTRA VIRGEN DE SACHA INCHI**

(Plukenetia volubilis L.)

OBJETIVO.

Aplicar los métodos y buenas prácticas Agroindustriales que determinen optimizar los mejores rendimientos en granos y porcentaje de Aceite.

1. Acopio:
 - Frutos maduros color marrón como cosechan los productores agrarios.
 - Planta de acopio: pesaje, limpieza y secado de los frutos.
2. Almacenamiento:
 - En mantas tendidas sobre parihuelas de madera.
3. Transformación:
 - Descapsulado: Es mecánico fabricado para las características de dureza de la capsula, implementado con zarandas para la selección de los granos.
 - Limpieza de los granos en sus diversos estado (granos con cascara, almendras, fracturadas y/o partidos, capsulas para el repaso).
 - Descascarado: Es mecánico fabricado en acero inoxidable para las características de dureza de los granos, implementado con un ventilador para la limpieza de los granos descascarados, limpieza y selección de los granos: hongeados, vanas, otros.
4. Prensado:
 - Prensa Hidráulica: fabricado con material de acero inoxidable grado 304, capacidad de cada Bach 25 kg de almendra, bandeja de almacenamiento y tanque en acero inoxidable.
 - Prensa expeler para el segundo prensado: los accesorios como la bandeja de colección de aceite, el protector de los anillos estrujadores, la bandeja de evacuación de la torta, rebose de aceite - granos y las manijas del timón es fabricado todo en acero inoxidable
 - El Prensado de la torta, la temperatura del área de trabajo es del medio ambiente en el periodo del prensado propiamente se experimento un incremento de la temperatura hasta de 5 a 7 grados.
 - Residuos Industriales: Torta de color marfil.



5. Refinado del Aceite:

- El aceite extraído en su estado natural es acopiado en envases esterilizados de 20 litros de color blanco colados con colador de acero inoxidable y depositado en tanque decantador también de Acero Inoxidable de 600 litros de capacidad para separar del aceite el material sólido y la humedad por un periodo de 3 a 5 días.

El aceite decantado y filtrado en filtro prensa de alta presión (100 libras), el resultado es un aceite limpio y brillante libre de agentes extraños.

6. Almacenamiento:

- El almacenamiento se realiza en envases de acero inoxidable (tanques) de grado 304.

7. Envasado:

- El despacho del aceite es en bidones de color blanco vírgenes (nuevos) de 5, 10, 18, 20, 34, 50 litros, si la venta es a granel en el Perú (puede ser también en envases diferentes a pedido del cliente).
- Para exportación se hace preferentemente en envases de acero inoxidable grado alimentario, cumpliendo todos los estándares de calidad y seguridad para mejor preservación del aceite.
- Actualmente para el mercado nacional se está presentando en envases de vidrio de color verde no translucido, los envases tienen forma cuadrada vienen lacradas con roscas y selladas debidamente.