



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**AZEITE DE DENDÊ MICROENCAPSULADO: UMA  
ALTERNATIVA PARA PRESERVAÇÃO DE COMPOSTOS  
BIOATIVOS**

**CAMILA DUARTE FERREIRA**

**SALVADOR, 2015**

**CAMILA DUARTE FERREIRA**

**AZEITE DE DENDÊ MICROENCAPSULADO: UMA  
ALTERNATIVA PARA PRESERVAÇÃO DE COMPOSTOS  
BIOATIVOS**

Orientador (a): Profa. Dra. Itaciara Larroza Nunes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do grau de mestre.

**SALVADOR, 2015**

**Sistema de Bibliotecas - UFBA**

Ferreira, Camila Duarte.

Azeite de dendê microencapsulado: uma alternativa para preservação de compostos bioativos/

Camila Duarte Ferreira. - 2015.

83 f.

Inclui anexos.

Orientadora: Profª. Drª. Itaciara Larroza Nunes.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS



## TERMO DE APROVAÇÃO

CAMILA DUARTE FERREIRA

### AZEITE DE DENDÊ MICROENCAPSULADO: UMA ALTERNATIVA PARA PRESERVAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 30 de janeiro de 2015.

#### BANCA EXAMINADORA

Dr<sup>a</sup>. Itaciara Larroza Nunes  
Universidade Federal da Bahia  
Orientadora

Dr<sup>a</sup>. Andrea Limoeiro Carvalho  
Universidade Estadual de Feira de Santana

Dr<sup>a</sup>. Janice Izabel Druzian  
Universidade Federal da Bahia

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por sempre estar presente em minhas orações diárias e por, de alguma forma, dar-me força e sabedoria para não desistir jamais diante das provações.

Aos meus pais, Eulina e Marcus, pelo amor inabalável concebido desde a minha infância e pela possibilidade de ter chegado até aqui com muita dignidade e sabedoria. Vocês são os meus maiores referenciais de vida!

À minha irmã, Carol, pelo amor, carinho, compreensão, atenção e ombro amigo em cada etapa que vivi ao longo dessa trajetória.

À minha sobrinha, Duda, pelo jeito doce e amável de lidar com a vida e por me proporcionar momentos mais leves, especialmente quando o *stress* pareceu sobrepujar meu (in) consciente.

Às minhas amadas, tia Luísa e prima Edna que, por mesmo com tantos percalços na vida, mostraram que “o saber” pode nos levar a caminhos inimagináveis. Tenho muito orgulho de vocês!

Ao meu namorado, amigo e admirador, Vitor, por me mostrar quão capaz eu sou e, com seu amor, tornar essa etapa, especialmente os momentos finais, mais tranquilos.

À minha orientadora e amiga, Itaciara, pelo carinho, dedicação e ensinamentos quase que diários. Ela é o exemplo de profissional que almejo ser um dia, sem dúvidas.

Às minhas companheiras dessa caminhada, em especial, TÁCILA, Larissa, Elaine Janaína e Lú Rodrigues, por sempre me apoiarem e resolverem comigo problemas muitas vezes só meus.

A toda equipe do SENAI, com destaque para Samantha e Bruna que sempre me receberam tão bem e foram tão prestativas comigo.

A todos do LAPESCA, especialmente à professora Janice, por ceder o espaço para a realização das minhas análises e, é claro, pelos ensinamentos concedidos; e à Carol, pelo apoio, ensinamentos e milhares de “favorzinhos” que eu sempre suplicava e ela, de uma forma ou de outra, ajudava-me.

A Danilo, pelo apoio fundamental na elaboração e interpretação das análises de estabilidade térmica.

Aos funcionários dos laboratórios da ENUFBA, em especial a Sr. Luís e Ary que estavam sempre por perto para ajudar no que fosse preciso.

A toda equipe da microscopia da FIOCRUZ por me receber tão bem e ter me dado todo o apoio para que concluísse as minhas análises.

Ao professor Alessandro pelo auxílio na realização das análises de cromatografia líquida de alta eficiência.

Às empresas Grupo Agropalma, Cargill, Nexira e Kerry do Brasil pelas doações das matérias-primas para que realizasse as minhas análises.

À professora Tereza, minha estatística que, com sua competência e agilidade, sempre foi extremamente solícita comigo.

A toda a equipe da PROSIS – UFSB pelo apoio, confiança e compreensão.

À Andrea, por todo o apoio na elaboração das patentes.

A todos os amigos que conquistei ao longo dessa trajetória marcante, com destaque para as “Cats de Alimentos” (Sirlana, Ísis, Jaqueline e Mariana), Cláudia, Luciane e Cecília.

Às minhas amigas Vanessa e Tainara pelo apoio e palavras de conforto sempre bem-vindas.

Ao CNPq e FAPESB pelo apoio financeiro do projeto e bolsa do mestrado, respectivamente.

E, finalmente, a todos que contribuíram de alguma forma para que eu concluísse mais essa etapa em minha vida.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

1. <b>Introdução Geral</b> .....	13
Referências.....	15
2. <b>Objetivos</b> .....	17
2.1. Objetivo Geral.....	17
2.2. Objetivos Específicos.....	17
<b>CAPÍTULO I</b> .....	18
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
1. <b>Azeite de Dendê ou Óleo de Palma Bruto: Características Gerais e Aspectos Nutricionais</b> .....	19
2. <b>Antioxidantes</b> .....	22
2.1. Atividade Antioxidante dos Carotenoides.....	23
3. <b>Microencapsulamento</b> .....	25
3.1. <i>Spray-dryer</i> .....	28
3.2. Material de Parede.....	30
3.2.1. Fécula ou Amido.....	31
3.2.2. Goma Arábica.....	33
3.2.3. Proteínas.....	34
3.3. Propriedades das Microcápsulas.....	35
3.4. Microencapsulamento de Óleos.....	36
3.5. Estabilidade Oxidativa de Óleos Microencapsulados.....	39
Referências.....	40
<b>CAPÍTULO II</b> .....	49
PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND OXIDATIVE STABILITY OF MICROENCAPSULATED CRUDE PALM OIL BY SPRAY DRYING.....	49
ABSTRACT.....	50
1. <b>Introduction</b> .....	50
2. <b>Materials e Methods</b> .....	52
2.1. Materials.....	52
2.2. Emulsion Preparation.....	53
2.3. Microencapsulation by Spray Drying.....	53
2.4. Powders Analysis.....	53

2.4.1. Moisture Content and Water Activity (Aw).....	53
2.4.2. Encapsulation Efficiency and Encapsulation Yield.....	54
2.4.3. Scanning Electron Microscopy (SEM) .....	54
2.4.4. Thermogravimetric Analysis (TG-DTG) and Differential Scanning Calorimetry (DSC) .....	55
2.5. Encapsulated and Un-encapsulated Crude Palm Oil Chemical Characterization.....	55
2.5.1. Total Carotenoids.....	56
2.5.2. Major Carotenoids Identification by HPLC.....	56
2.5.3. Color Parameters.....	57
2.5.4. Peroxide Value (POV).....	57
2.5.5. Antioxidant Activity (AA).....	58
2.5.6. Palm Oil Fatty Acid Profile by Gas Chromatography (GC).....	58
2.5.7. Oxidative Stability Test.....	59
2.6. Statistical Analysis.....	60
<b>3. Results and Discussion</b> .....	60
3.1. Moisture Content of Microcapsules.....	60
3.2. Encapsulation Efficiency and Yield.....	61
3.3. SEM Image.....	62
3.4. Thermogravimetric Analysis (TG-DTG) and Differential Scanning Calorimetry (DSC) .....	63
3.5. Microencapsulation Effects on the Crude Palm Oil Characteristics.....	65
3.5.1. Total Carotenoids, Major Carotenoids Identification, Color Parameters, Peroxide Value and Antioxidant Activity.....	65
3.5.2. Fatty Acid Profile.....	67
3.5.3. Oxidative Stability Test.....	68
<b>4. Conclusion</b> .....	71
Acknowledgements.....	71
References.....	71
Conclusão Geral.....	76
ANEXOS.....	77



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

<b>Figura 1.</b> Representação esquemática do processo de oxidação lipídica.....	23
<b>Figura 2.</b> Representação esquemática da interação dos carotenoides com os radicais livres.....	24
<b>Figura 3.</b> Mecanismo de isomerização e oxidação dos carotenoides.....	25
<b>Figura 4.</b> Morfologia dos diferentes tipos de microencapsulamento.....	26
<b>Figura 5.</b> Esquema da instalação de secagem por atomização.....	29

### CAPÍTULO II

<b>Figura 1.</b> SEM image of crude palm oil microencapsulated by spray drying with 50% CS and 50% GA as wall materials.....	63
<b>Figura 2.</b> TG (A) and DTG (B) scans of crude palm oil (CPO); cassava starch (CS): gum arabic (GA) encapsulated without oil (white) and with crude palm oil.....	64
<b>Figura 3.</b> DSC scans of crude palm oil (CPO) and cassava starch (CS): gum arabic (GA) encapsulated without oil (white) and with crude palm oil.....	65
<b>Figura 4.</b> The effect of storage time on the encapsulation efficiency (A), peroxide value (B) and total carotenoids (C) of microencapsulated crude palm oil.....	70

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 1.</b> Characteristics of the generated microcapsules using different wall materials at 180°C.....	61
<b>Tabela 2.</b> Total carotenoids, color parameters, peroxide values and antioxidant activity characteristics of the crude palm oil (CPO) when encapsulated with 50:50 CS and GA as wall materials.....	66
<b>Tabela 3.</b> Characteristics of encapsulated and un-encapsulated (control) crude palm oil on the fatty acid profile.....	68

## LISTA DE QUADROS

### CAPÍTULO I

<b>Quadro 1.</b> Composição de ácidos graxos do óleo de palma bruto.....	20
<b>Quadro 2.</b> Níveis de tocoferóis e tocotrienóis do óleo de palma bruto.....	22
<b>Quadro 3.</b> Vantagens e desvantagens do uso da técnica de microencapsulamento por <i>spray-drying</i> .....	27
<b>Quadro 4.</b> Metodologias de microencapsulamento por <i>spray-drying</i> de alguns óleos.....	36
<b>Quadro 5.</b> Estudos que envolveram a avaliação da estabilidade oxidativa de microcápsulas de óleos.....	39

## APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

Esta dissertação encontra-se dividida em: resumo; *abstract*; introdução geral; objetivos (geral e específicos); capítulo I (revisão bibliográfica); capítulo II (artigo: *Physicochemical characterization and oxidative stability of microencapsulated crude palm oil by spray drying*); conclusão geral e anexos - cromatogramas dos carotenoides majoritários identificados e do perfil de ácidos graxos do azeite de dendê antes e após o encapsulamento; espectros dos carotenoides do azeite de dendê antes e após o encapsulamento; microscopias eletrônicas de varredura obtidas.

## RESUMO

O azeite de dendê ou óleo de palma bruto contém quantidades significativas de carotenoides, muitos dos quais provitamínicos A. Contudo, estes compostos são facilmente degradáveis, como por exemplo, quando expostos ao oxigênio e à luz. Portanto, torna-se fundamental a busca de alternativas tecnológicas do azeite de dendê de forma a preservar seus carotenoides. Além disso, não há estudos que reportem a obtenção de óleo de palma bruto (OPB) microencapsulado, bem como sobre a avaliação do efeito desse processo nas características do óleo. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a possibilidade de microencapsular óleo de palma bruto por *spray-drying* com o intuito de preservar as características do mesmo, tais como atividade antioxidante, composição de ácidos graxos, índice de peróxidos, carotenoides, cor, estabilidades térmica e oxidativa, de forma que essas microcápsulas possam ser empregadas na fortificação de alimentos. Para isso, foi utilizada a técnica de secagem por *spray-drying*, sendo empregados como materiais de parede a fécula de mandioca (FM), a proteína do soro do leite concentrada (WPC) e a goma arábica (GA) em diferentes combinações (FM : WPC; FM : GA; GA : WPC) e proporções (20:80; 50:50; 80:20) a uma temperatura de secagem de 180 °C, sendo avaliados parâmetros de umidade, atividade de água, eficiência e rendimento das microcápsulas. Os encapsulados que apresentaram FM e GA na proporção 50:50 como materiais de parede obtiveram melhores resultados em relação à umidade, atividade de água, eficiência e principalmente rendimento. Essas microcápsulas foram caracterizadas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). A avaliação do impacto do processo de encapsulamento no OPB foi realizada mediante análises de carotenoides totais (CT) por espectrofotometria, carotenoides majoritários por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), análise de cor em colorímetro Minolta utilizando a escala CIELab, índice de peróxidos (IP) através de titulação, atividade antioxidante (AA) pelo método do radical DPPH (2,2-difenil 1-picril-hidrazil), perfil de ácidos graxos (AG) por Cromatografia Gasosa (CG) e teste de estabilidade oxidativa em estufa a 45 °C por 5 semanas. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. Pôde-se constatar que morfologicamente as microcápsulas não apresentaram fissuras ou rachaduras aparentes e termicamente, exibiram boa estabilidade. O microencapsulamento de OPB preservou os carotenoides totais do óleo ( $600,52 \pm 16,05 \mu\text{g/g}$ ), parte da cor ( $L^* = 33,51 \pm 0,7$ ;  $a^* = 16,89 \pm 1,82$ ;  $b^* = 26,48 \pm 1,52$ ;  $C = 32,45 \pm 1,29$  e  $h_{ab} = 50,98 \pm 0,26$ ), retendo a composição de AG original do óleo (% massa), sendo esta: láurico ( $C_{12:0}$ )  $0,00 \pm 0,06$ ; mirístico ( $C_{14:0}$ )  $0,79 \pm 0,1$ ; palmítico ( $C_{16:0}$ )  $40,89 \pm 0,15$ ; palmitoleico ( $C_{16:1}$ )  $0,13 \pm 0,00$ ; esteárico ( $C_{18:0}$ )  $4,77 \pm 0,06$ ; oleico ( $C_{18:1}$ )  $43,29 \pm 0,26$ ; linoleico ( $C_{18:2}$ )  $8,67 \pm 0,04$ ; linolênico ( $C_{18:3}$ )  $0,22 \pm 0,01$ ; eicosanoico ( $C_{20:0}$ )  $0,30 \pm 0,03$ . Entretanto, reduziu significativamente os carotenoides majoritários *all-trans*- $\beta$ -caroteno ( $170,5 \pm 17,15 \mu\text{g/g}$ ) e *all-trans*- $\alpha$ -caroteno ( $67,37 \pm 6,93 \mu\text{g/g}$ ), a AA ( $29,25 \pm 1,13$  %) e aumentou o IP ( $11,16 \pm 0,00 \text{ meq kg}^{-1}$  óleo). Quando submetidas ao teste de estabilidade oxidativa a 45°C, em presença de oxigênio, as microcápsulas apresentaram redução do teor de carotenoides ( $378,44 \pm 10,67 \mu\text{g/g}$ ). Apesar disso, quando comparado a outros óleos, o OPB microencapsulado ainda manteve quantidades importantes de carotenoides (63 %), indicando que esta técnica pode ser empregada para a preservação desses compostos bioativos e que as microcápsulas podem ser uma alternativa para a fortificação com provitamina A de alimentos destinados ao público infantil, especialmente em matrizes alimentícias que não requerem aquecimento e que não sejam armazenadas em presença de oxigênio.

**Palavras-chave:** óleo de palma bruto; *spray-drying*; carotenoides; microencapsulamento.

## ABSTRACT

Crude palm oil contains significant amounts of carotenoids, many of which pro-vitamin A. However, these compounds are easily degradable, such as when exposed to oxygen and light. Therefore, it becomes essential to the pursuit of palm oil consumption alternatives to preserve their carotenoids. Furthermore, no studies to report obtaining crude palm oil (CPO) microencapsulated, as well as assessing the effect of the process oil properties. Thus, the aim of this study was to evaluate the possibility of microencapsulate crude palm oil by spray-drying in order to preserve their characteristics, such as antioxidant activity, fatty acid profile, peroxide value, carotenoids, color, stability thermal and oxidative so that the microcapsules can be used in food fortification. For this, spray drying technique were used and cassava starch (CS), whey milk protein concentrate (WPC) and gum arabic (GA) in different combinations (CS : WPC; CS: GA, GA: WPC) and ratios (20:80; 50:50; 80:20) were used as wall materials at a drying temperature of 180 °C and moisture content assessed, water activity, efficiency and yield microcapsules. The encapsulated presenting CS and GA in 50:50 as wall materials obtained better results in relation to moisture, water activity, efficiency and mainly income. These microcapsules were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and subjected to thermal gravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). The impact assessment of the encapsulation process in OPB was performed by analysis of total carotenoids (CT) by spectrophotometry, majority carotenoids by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) methods, color analysis by Minolta colorimeter using the CIELab scale, peroxide value (IP) by titration, antioxidant activity (AA) by the method of DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl), the fatty acid (FA) by Gas Chromatography (GC) and oxidative stability test in an oven at 45 ° C for 5 weeks. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) and comparison test of Tukey at 5% probability. It was found that morphologically the microcapsules showed no cracks or visible cracks and heat, showed good stability. The microencapsulation OPB preserved total carotenoids oil ( $600.52 \pm 16.05 \mu\text{g} / \text{g}$ ) of the color ( $L^* = 33.51 \pm 0.7$ ,  $16.89 \pm a^* = 1.82$   $b^* = 26.48 \pm 1.52$ ;  $C = 32.45 \pm 1.29$  and  $50.98 \pm \text{hab} = 0.26$ ) and kept the AG profile (% mass), which is: lauric ( $C_{12:0}$ )  $0.00 \pm 0.06$ ; myristic ( $C_{14:0}$ )  $0.79 \pm 0.1$ ; palmitic ( $C_{16:0}$ )  $40.89 \pm 0.15$ ; palmitoleic ( $C_{16:1}$ )  $0.13 \pm 0.00$ ; stearic ( $C_{18:0}$ )  $4.77 \pm 0.06$ ; oleic ( $C_{18:1}$ )  $43.29 \pm 0.26$ ; linoleic ( $C_{18:2}$ )  $8.67 \pm 0.04$ ; linolenic ( $C_{18:3}$ )  $0.22 \pm 0.01$ ; eicosanoic ( $C_{20:0}$ )  $0.30 \pm 0.03$ . However, the majority significantly reduced carotenoid all-trans  $\beta$ -carotene ( $170.5 \pm 17.15$  ppm) and all-trans  $\alpha$ -carotene ( $67.37 \pm 6.93$  ppm), AA ( $29.25 \pm 1.13$  %) and increased the IP ( $11.16 \pm 0.00$  meq  $\text{kg}^{-1}$  oil). When subjected to the oxidative stability testing, the microcapsules were reduced carotenoid content ( $378,44 \pm 10,67$  ppm). Nevertheless, when compared to other oils, OPB microencapsulated still retained a significant amount of carotenoids (63%), indicating that this technique can be used for the preservation of these bioactive compounds and the microcapsules could be an alternative to the fortification with pro vitamin A food intended to children, especially in food matrices that do not require heating.

**Keywords:** crude palm oil; spray drying; carotenoids; microencapsulation.

## 1. Introdução Geral

O azeite de dendê ou óleo de palma bruto (*crude palm oil*) é um dos óleos mais produzidos no mundo (FAOSTAT, 2014) e é extraído do mesocarpo dos frutos da palmeira da espécie *Elaeis guineensis*, os quais apresentam tamanho variável, formato ovoide e coloração amarela ou laranja, determinada principalmente pelo seu teor de carotenoides (OLIVEIRA, 2009).

Esse óleo possui características distintas dos demais óleos vegetais, uma vez que apresenta proporções praticamente iguais de ácidos graxos saturados e insaturados, com destaque para o ácido palmítico (C<sub>16:0</sub>), que por ser saturado confere maior estabilidade térmica e oxidativa ao óleo. Além disso, possui menor teor de ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>) e traços de ácido linolênico (C<sub>18:3</sub>), que são muito sensíveis à oxidação (MALACRIDA e JORGE, 2003; CODEX, 2013; KHAN et al., 2011). O óleo de palma bruto contém ainda elevados teores de antioxidantes naturais, tais como carotenoides (500 – 2000 ppm), tocoferóis e tocotrienóis (150 – 1500 µg/g) (CODEX, 2013).

Os carotenoides, além de conferirem a cor característica do óleo de palma bruto, possuem ainda atividade pró-vitáminica A e atuam como antioxidantes primários, sequestrando espécies reativas de oxigênio, como o radical peroxil (ROO●) e o oxigênio *singlete* (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004; KRINSKY e JOHNSON, 2005). Devido a essa característica, eles estão associados ao retardamento do envelhecimento e proteção contra doenças cardiovasculares, Parkinson, Alzheimer e câncer (ANDREU-SEVILLA et al., 2008).

Aliado a isso, no Brasil, o Ministério da Saúde (2002) estima que a prevalência da DVA (deficiência de vitamina A) varie de 16 a 55% entre as crianças menores de cinco anos de idade. Esta deficiência apresenta maior ocorrência na região Nordeste e Vale do Jequitinhonha (BRASIL, 2008; SANTOS, 2001; RAMALHO et al., 2002).

É importante destacar que além da África, somente na Bahia existe o hábito de consumo de maneira regular do azeite de dendê sem refino, o que conserva em grande parte os carotenoides do fruto, sendo o mesmo utilizado para o preparo de uma infinidade de pratos da culinária regional, com destaque para o acarajé (LODY, 2009), uma iguaria preparada com feijão fradinho descorticado, cebola ralada e sal e frito por imersão no azeite de dendê (SILVA et al., 2003).

Entretanto, com base em trabalhos anteriores realizados, foi possível verificar que a temperatura do azeite de dendê usado na fritura dos acarajés não é controlada, assim

como os demais fatores (tipo de utensílio, exposição à luz ao oxigênio e a umidade, tempo de utilização, entre outros) que podem influenciar na sua degradação e consequente redução do valor nutricional. Um exemplo é a redução no teor de carotenoides, pois entre os diversos tipos de azeite de dendê comercializados em Salvador, o conteúdo variou de 176 a 951,14 µg/g e após uso na primeira fritura (tempo aproximado de 5 minutos em temperatura média de 170 °C), houve redução desse conteúdo para 149,61 a 755,28 µg/g, sendo que as baianas chegam a usar o mesmo azeite por cerca de 4 horas de fritura, sem qualquer controle da temperatura (CURVELO, 2010).

Tendo em vista a importância nutricional, econômica e social do óleo de palma bruto, faz-se necessário buscar alternativas de uso desse óleo, que não só a fritura. Dessa forma, tem-se estudado cada vez mais métodos que modifiquem as características dos óleos para adequá-los a uma determinada aplicação. Uma possibilidade é a obtenção de óleo microencapsulado (CASTRO et al., 2004).

O microencapsulamento é uma técnica que tem sido utilizada para obtenção de óleos na forma de pó estável, dispersível em água e de fácil incorporação aos alimentos. Esta tecnologia consiste de um empacotamento com finas coberturas poliméricas aplicáveis em sólidos, gotículas de líquido ou material gasoso, formando pequenas partículas denominadas microcápsulas. A cobertura é conhecida como parede e o material encapsulado como núcleo. A parede tem como principal função, o aumento da vida útil do núcleo, retardando a isomerização e oxidação desses compostos (AGHBASHLO et al., 2013; FANG e BHANDARI, 2010). Dentre as várias técnicas de encapsulamento disponíveis, *spray-drying* é a mais utilizada na indústria de alimentos (CARNEIRO et al., 2013; MOREIRA, 2007). Os materiais de parede mais utilizados são as gomas, carboidratos e proteínas (SUAVE et al., 2006).

Considerando o exposto acima e o fato de que o uso do azeite de dendê é limitado, o objetivo da presente proposta foi obter azeite de dendê microencapsulado por *spray-drying* para a preservação dos compostos bioativos como possibilidade de as microcápsulas serem empregadas na fortificação de alimentos.



## Referências

- AGHBASHLO, M.; MOBLI, H.; MADADLOU, A.; RAFIEE, S. Fish oil microencapsulation as influenced by spray dryer operational variables. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 8, p. 1707–1713, 2013.
- ANDREU-SEVILLA, A., HARTMANN, A., SAYAS, E., BURLÓ-CARBONELL, F., DELGADO-ESTRELLA, P., VALVERDE, J. M., CARBONELL-BARRACHINA, A. Mathematical quantification of total carotenoids in Sioma oil using color coordinates and multiple linear regression during deep-frying simulations. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 1283 - 1291, 2008.
- CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v. 115, p. 443–451, 2013.
- CASTRO, H. F. DE; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C. dos; AGUIAR, C. L. de. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 146 - 156, 2004.
- CODEX STAN 210. CODEX ALIMENTARIUS (FAO/WHO) (2013). **Codex Standard for named vegetable oils**. Roma, 2013. Disponível: <<http://www.codexalimentarius.org/standards/>> Acesso em: 09 de Março de 2014.
- CURVELO, F. M. Uma Imersão no Tabuleiro da Baiana: O Estudo do Óleo de Palma Bruto (*Elaeis guineensis*). Salvador: UFBA. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde, Escola de Nutrição, **Universidade Federal da Bahia**, Salvador, 209p. 2010.
- FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols - a review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 21, p. 510 - 523, 2010.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases. Agricultural Data. 2014. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> >. Acesso em: 05 de Março de 2014.
- KHAN, M. I.; ASHA, M. R.; BHAT, K. K.; KHATOON, S. Studies on chemical and sensory parameters of coconut oil and its olein blends with sesame oil and palmolein during wheat flour-based product frying. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 175 - 182, 2011.
- KRINSKY, N. I.; JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 459 - 516, 2005.
- LODY, R. **Dendê símbolo e sabor**. São Paulo. Ed. SENAC, 2009.
- MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Alterações do óleo de soja e da mistura azeite de dendê - óleo de soja em frituras descontínuas de batatas chips. **Brazilian Journal Food Technology**, v.6, p. 245 - 249, 2003.

MOREIRA, G. E. G. Obtenção e caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). **Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, 2007.

BRASIL. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (PNDS) - 2006. Centro Brasileiro de Análise e Planejamento. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher – 2006. Ministério da Saúde. **Micronutrientes**. Brasil, 2008.

RAMALHO, R. A.; FLORES, H.; SAUNDERS, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. **Revista Panamericana de la Salud Publica**, v. 12, 2002.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B., KIMURA, M. Harvest Plus Handbook for Carotenoid Analysis. **Harvest Plus Technical Monograph**, v. 2, 2004.

SANTOS, L. M. P. Bibliografia sobre micronutrientes no Brasil: vitamina A. Brasília. **OPAS**, 2001.

SILVA, J. N.; MIRANDA, K. E. S.; ALMEIDA, V. F. A. BENEVIDES, C. M. J. Avaliação da composição centesimal e valor calórico de acarajés comercializados na cidade de Salvador, BA. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, p. 43 - 45, 2003.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2, 2006.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo Geral

- ✓ Obter azeite de dendê microencapsulado por *spray-drying* visando a preservação de compostos bioativos como possibilidade de as microcápsulas serem empregadas na fortificação de alimentos.

### 2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar os efeitos das concentrações de fécula de mandioca, proteína do soro do leite e goma arábica no rendimento e eficiência da microencapsulação;
- ✓ Determinar a umidade e a atividade de água da microcápsula imediatamente após o microencapsulamento;
- ✓ Caracterizar as microcápsulas obtidas nas melhores condições de processamento através de microscopia eletrônica de varredura;
- ✓ Determinar a estabilidade térmica das microcápsulas e do azeite de dendê;
- ✓ Avaliar o efeito do microencapsulamento por *spray-drying* do azeite de dendê nos carotenoides totais e majoritários; cor; índice de peróxidos; atividade antioxidante e perfil de ácidos graxos;
- ✓ Avaliar a estabilidade das microcápsulas durante a estocagem em relação ao teor de carotenoides, índice de peróxidos e eficiência do encapsulamento.

## CAPÍTULO I

---

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 1. Azeite de Dendê ou Óleo de Palma Bruto: Características Gerais e Aspectos Nutricionais

A partir do fruto do dendê são produzidos dois tipos de óleo, o azeite de dendê ou óleo de palma bruto (conhecido como *crude palm oil*, no mercado internacional), extraído do mesocarpo, a parte externa do fruto; e o óleo de palmiste (*palm kernel oil*), retirado da semente do fruto, e que é similar aos óleos de coco e babaçu (SEAGRI, 1999). Esse último é minoritário e produz 50 % de óleo de coloração escura com elevada proporção de ácido láurico e mirístico, utilizado na produção de produtos de confeitaria, sorvetes, sabões e detergentes (EDEM, 2002).

A espécie de palma *Elaeis guineensis* é originária do leste africano e foi introduzida no Brasil e em outros países tropicais no século XV. No entanto, sua propagação só teve início no século XIX quando os holandeses levaram sementes da África para Indonésia, a chamada “palma dura” que foi utilizada inicialmente como planta ornamental (SUNDRAM et al., 2003). A espécie *Elaeis oleífera*, que é originária da América do Sul, apresenta maior conteúdo de ácido oleico e linoleico, baixo conteúdo de ácido palmítico e outros ácidos graxos saturados que a variedade *E. guineensis* (CLEGG, 1973).

As variedades de palma mais cultivadas no Brasil são a dura, tenera e pisífera, que são diferenciadas pela espessura da casca da semente (TRIGUEIRO e PENTEADO, 1998; OLIVEIRA, 2009).

O óleo de palma bruto é um dos óleos mais consumidos mundialmente, ocupando em 2014, o 1º lugar na produção mundial entre os óleos e gorduras com 58,4 milhões de toneladas. Na escala mundial, os maiores produtores de óleo de palma bruto são a Indonésia, Malásia e Tailândia, sendo responsáveis por aproximadamente 90% da produção em 2014. Na América Latina, o maior produtor é a Colômbia (FAS, 2014). No Brasil, a produção ficou em torno de 275 mil toneladas em 2012, ocupando o 13º lugar entre os países produtores de óleo de palma bruto (ALMEIDA, 2012; FAS, 2013).

As áreas produtoras de óleo de palma bruto no Brasil concentram-se no Pará, Amazonas, Amapá e Bahia, sendo que o Pará representa 96% dessa produção nacional e concentra mais de 80% da área plantada. Nessa região, ocorre maior flutuação em energia solar, temperatura do ar e umidade atmosférica (distribuição das chuvas), que é o elemento climático de maior variação espacial e de maior repercussão na produtividade do dendê (ABOISSA, 2010; BRASIL, 2011; ALMEIDA, 2012). Além disso,

concentram-se no Pará grandes companhias produtoras de óleo de palma destinadas à obtenção de *biodiesel* (FAS, 2013).

O óleo de palma tem como constituintes majoritários os triacilgliceróis (95 %), compostos por 40,4 a 56,9% de ácidos graxos saturados e 43,0 a 62,5% de ácidos graxos insaturados, todos na configuração *cis* (SUNDRAM et al., 2003; GEE, 2007). Os principais ácidos graxos são o palmítico (35,0 a 47,0 %), o oleico (36,0 a 47,0%) e o linoleico (6,5 a 15,0 %), como demonstrado no Quadro 01 (BRASIL, 1999).

Quadro 01: Composição de ácidos graxos do óleo de palma bruto.

Ácido graxo	%
Capróico 6:0	-
Caprílico 8:0 -	-
Cáprico 10:0 -	-
Láurico 12:0	< 0,4
Mirístico 14:0	0,5 - 2,0
Palmítico 16:0	35,0 - 47,0
Estearico 18:0	3,5 - 6,5
Oleico 18:1	36,0 - 47,0
Linoleico 18:2	6,5 - 15,0
Linolênico 18:3	< 0,5
Araquídico 20:0	< 1,0
Saturados	40,4 - 56,9
Insaturados	43,0 - 62,5

FONTE: BRASIL (1999).

O óleo de palma pode ser fracionado em dois principais componentes: fração líquida (65 – 70 %), que é a oleína de palma (ponto de fusão 18 – 20 °C) e a fração sólida (30 – 35 %) que é a estearina (ponto de fusão 48 – 50 °C). No Estado da Bahia, a parte sólida (estearina) que se deposita no fundo da embalagem é conhecida como “bambá” e a líquida (oleína) como “flor” (LODY, 2009).

Além dos constituintes citados, o óleo de palma bruto possui ainda os componentes minoritários, que podem ser separados em dois grupos: derivados de ácidos graxos, tais como gliceróis (mono e diacilgliceróis), fosfatídeos, ésteres, esteróis e compostos não relacionados quimicamente a ácidos graxos, dentre eles hidrocarbonetos, álcoois alifáticos, esteróis livres, tocoferóis, tocotrienóis, pigmentos e traços de metais. As duas classes de compostos minoritários de maior relevância são os carotenoides e os isômeros de vitamina E (tocoferóis, tocotrienóis e derivados) (CODEX, 2013; LODY, 2009; SAMBANTHA MURTHI et al., 2000).

Considerando a composição em ácidos graxos e antioxidantes (carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis) o óleo de palma bruto é amplamente utilizado na culinária, principalmente para a fritura de alimentos. Dentre os ingredientes da culinária baiana, o dendê é uma das marcas mais importantes, sendo amplamente utilizado em moquecas, caruru, vatapá, bobó de camarão, farofa, feijão fradinho, xinxim de galinha, acarajé, entre outros (AMAYA, 1996).

Dessa forma, cerca de 80 % da produção do azeite de dendê é destinado ao consumo humano. Na indústria, o óleo de palma é utilizado em frituras, biscoitos, bolos, pães, produtos lácteos, margarinas, entre outros (CARR e HOGG, 2005; JEYARANY e REDDY, 2003). Os 20 % restantes são destinados à produção de ração animal e vários processos industriais, como matéria-prima na fabricação de sabões, sabonete, sabão em pó, detergentes e amaciantes de roupa biodegradáveis, e está sendo pesquisado seu potencial como *biodiesel* (FROEHNER et al., 2007; MENDONÇA et al., 2007).

É importante ressaltar que além do poder corante, os carotenoides apresentam propriedades funcionais que formam a base de diversas funções e ações em seres vivos. Alguns possuem importante função nutricional na dieta de humanos como precursores de vitamina A, ou seja, podem ser convertidos em vitamina A no organismo por ação enzimática, embora alguns possam ser absorvidos intactos e depositados em vários tecidos. O termo “vitamina A” é utilizado para denotar compostos químicos específicos, como o retinol e seus ésteres e ainda é amplamente empregado para referir-se a compostos que exibem as propriedades biológicas do retinol. Assim, 1  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno, por exemplo, corresponde a 0,167 equivalente de retinol (RE) (SUNDRAM et al., 2003).

Outras ações benéficas como proteção contra certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares, catarata, degeneração macular, como também participação no fortalecimento do sistema imunológico também tem sido associadas ao consumo periódico de carotenoides (BENDICH, 1994; KRINSKY, 1994; OLSON, 1999).

O interesse por estes pigmentos naturais, os carotenoides, tem aumentado muito nos últimos anos devido à descoberta de suas propriedades antioxidantes, através do sequestro e extinção de radicais livres, os quais se relacionam à estrutura destes compostos, principalmente devido ao seu longo sistema de ligações duplas conjugadas (EDGE et al., 1997).

A vitamina E é também encontrada no dendê em concentrações de 500 - 1000  $\mu\text{g/g}$ , na forma de tocoferóis (18 – 22 %), e especialmente o  $\gamma$ -tocotrienóis (78 – 82 %) (Quadro 02). Na natureza, a vitamina E ocorre sob forma de quatro tocoferóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ )

e quatro tocotrienóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), que diferem dos primeiros por apresentarem uma cadeia lateral insaturada e são raros em óleos vegetais, à exceção do azeite de dendê e farelo de arroz. Estas moléculas contribuem para a estabilidade do óleo, por inibirem a fase de propagação da oxidação lipídica por reação com os hidroperóxidos, impedindo a formação de aldeídos (SUNDRAM et al., 2003). Entretanto, seu teor é reduzido dependendo do processamento ou método de cocção empregado.

Quadro 02: Níveis de tocoferóis e tocotrienóis do óleo de palma bruto.

Tocoferóis e tocotrienóis	$\mu\text{g/g}$
$\alpha$ -tocoferol	4-193
$\beta$ -tocoferol	0-234
$\gamma$ -tocoferol	0-526
$\delta$ -tocoferol	0-123
$\alpha$ -tocotrienol	4-336
$\gamma$ -tocotrienol	14-710
$\delta$ -tocotrienol	0-377
Total	150-1500

FONTE: CODEX (2013).

## 2. Antioxidantes

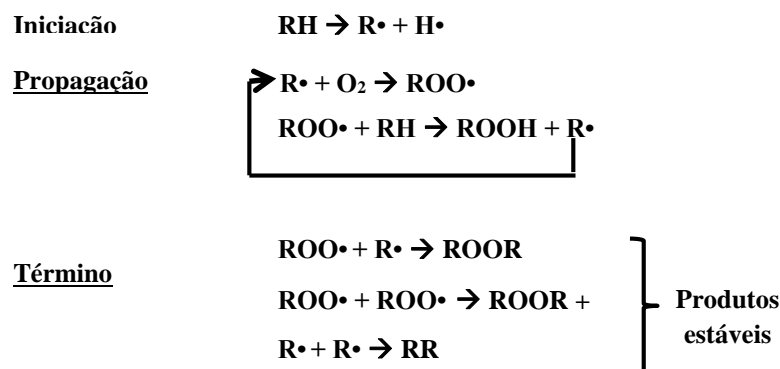
Os antioxidantes podem ser definidos como quaisquer substâncias que, presentes em baixas concentrações, quando comparada a um substrato oxidável, atrasam ou inibem a oxidação desse substrato de maneira eficaz. O uso de antioxidantes na indústria de alimentos e seus mecanismos de ação têm sido muito estudados, uma vez que estes são amplamente empregados, principalmente, com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos (RAMALHO e JORGE, 2006).

Os óleos e gorduras podem ser oxidados por diferentes caminhos: reações hidrolíticas, termoxidação, fotoxidação, oxidação enzimática e principalmente, pela autooxidação (RAMALHO e JORGE, 2006).

A autooxidação lipídica está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre por meio de uma reação de propagação em cadeia (Figura 01). Na primeira etapa, iniciação, acontece a retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo e a consequente formação de radicais livres, em condições favorecidas por luz e calor. Na segunda etapa, propagação, ocorre a conversão dos radicais livres susceptíveis ao ataque do oxigênio a outros radicais (peróxidos e



hidroperóxidos), que são produtos primários da oxidação lipídica e cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Esse processo é autocatalítico, uma vez que os radicais formados atuam como propagadores da reação. Por fim, ocorre a etapa do término, na qual dois radicais se combinam, formando produtos estáveis (produtos secundários da reação), obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis) (RAMALHO e JORGE, 2006).



Onde: RH – Ácido graxo insaturado; R• - Radical livre; ROO• - Radical peróxido e ROOH – hidroperóxido

Figura 01: Representação esquemática do processo de oxidação lipídica (RAMALHO E JORGE, 2006).

## 2.1. Atividade Antioxidante dos Carotenoides

Os antioxidantes podem ser divididos em dois tipos: sintéticos (BHA-butil hidroxi anisol, BHT- butil hidroxi tolueno, PG- propil galato e TBHQ- terbutil hidroxi quinona) e naturais, encontrados largamente na natureza (pigmentos, vitamina E, flavonoides, ácido ascórbico, fenois, ácidos fenólicos, fosfolipídios, aminoácidos, ácidos fítico e esteróis) (RAMALHO e JORGE, 2006; CASTELO-BRANCO e TORRES, 2011).

Dos antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos, em óleos e gorduras, estão o BHA, BHT, PG e TBHQ. Estes antioxidantes possuem uma estrutura fenólica que doa um próton a um radical livre, regenerando, a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres. O TBHQ é mais utilizado para retardar a oxidação de óleos utilizados para fritura, pois resiste ao calor, enquanto o BHA, BHT e PG são menos estáveis em altas temperaturas, sendo mais utilizados em gorduras (RAMALHO e JORGE, 2006).

Os antioxidantes naturais presentes nos óleos vegetais são principalmente: tocoferóis e tocotrienóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) carotenoides, compostos fenólicos e os esteróis (CASTELO-BRANCO e TORRES, 2011).

Os carotenoides apresentam ainda a capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio, como o radical peroxil ( $\text{ROO}\bullet$ ) e o oxigênio *singlete*  $^1\text{O}_2$ , estabilizando o elétron desemparelhado do radical por ressonância, atuando dessa forma, como antioxidantes, protegendo as células de danos oxidativos (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008).

Ao combaterem as espécies reativas do oxigênio, os carotenoides podem interagir de três maneiras diferentes: transferência de elétrons; remoção de íons de hidrogênio e remoção de radicais livres, respectivamente (Figura 02):



Onde:  $\text{ROO}\bullet$ : radical; CAR.: carotenoides (YOUNG e LOWE, 2001).

Figura 02: Representação esquemática da interação dos carotenoides com os radicais livres.

Por outro lado, a estrutura química altamente insaturada dos carotenoides os torna propensos à isomerização e oxidação. Agentes, como, calor, luz e ácidos, promovem a isomerização dos mesmos da forma *trans* para a *cis* (principalmente 9-, 13- e 15-*cis*-carotenoides), resultando na perda de cor e atividade de pró vitamina A (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008). A oxidação é a principal causa de perdas de carotenoides, sendo ocasionada por fatores como, oxigênio, luz, enzimas, metais e co-oxidação com hidroperóxidos lipídicos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

O mecanismo de reação da oxidação de carotenoides ainda é pouco conhecido, sendo muitas vezes acompanhado de isomerização. A teoria mais aceita é que nas fases iniciais da oxidação ocorre uma epoxidação e clivagem formando os apocarotenoides, epóxi e hidróxi carotenoides (Figura 03), com fragmentações subsequentes, gerando compostos com baixo peso molecular. Geralmente são formados:  $\alpha$ - e  $\beta$ -iononas,  $\beta$ -13 e  $\beta$ -14-apocarotenais, que não possuem cor e nem atividade biológica (SAMBANTHA MURTHI et al., 2000; RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

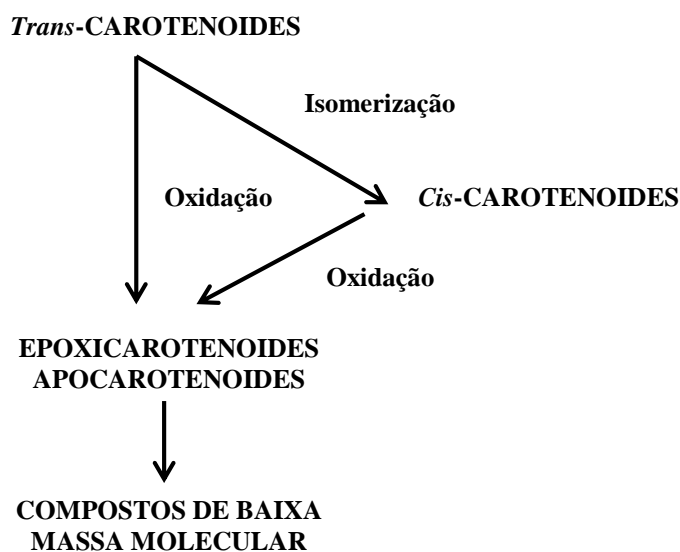


Figura 03: Mecanismo de isomerização e oxidação dos carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

Diversos tipos de óleos vegetais apresentam carotenoides na sua composição, sendo que as concentrações não ultrapassam 100 µg/g. No óleo de palma bruto a concentração de carotenoides é bem elevada, quando comparada a outros alimentos, por isso, sua coloração é vermelho-alaranjada. As concentrações de carotenoides no óleo de palma variam de acordo com o genótipo e o grau de amadurecimento (LODY, 2009; CURVELO et al., 2011), podendo chegar a uma concentração de 500-2000 µg/g (CODEX, 2013).

Os carotenoides mais importantes no óleo de palma são o  $\beta$ - e o  $\alpha$ -caroteno, com teores acima de 80-90 % dos carotenoides totais. O  $\alpha$ -caroteno representa aproximadamente 32,70-54,35 % e o  $\beta$ -caroteno 51,64-60,53 % no óleo de palma (SAMBANTHA MURTHI e SUDRAM, 2000).

### 3. Microencapsulamento

O microencapsulamento é uma técnica que tem sido utilizada pela indústria por mais de 60 anos, desde 1954 (FANG e BHANDARI, 2010), para obtenção de compostos na forma de pó estável, dispersível em água e de fácil incorporação aos alimentos. Além disso, trata-se de uma técnica promissora para preservação de óleos contra a oxidação, uma vez que limita influências indesejáveis do ambiente, como oxigênio, luz, umidade,

entre outros, aumentando assim a vida útil (FANG e BHANDARI, 2010; AGHBASHLO et al., 2013a; SHEN et al., 2010).

Em termos de arquitetura, as cápsulas podem ser divididas em dois grupos: aquelas onde o núcleo é nitidamente concentrado na região central, circundado por um filme definido e contínuo do material de parede, e aquelas onde o núcleo é uniformemente disperso em uma matriz. O primeiro grupo pode ser classificado como sistema do tipo reservatório, e caracteriza as “verdadeiras” microcápsulas, enquanto o segundo, classificado como sistema matricial, resulta nas chamadas microsferas (RÉ, 1998). A principal diferença entre as microcápsulas e as microsferas está no fato de que, nas microsferas, uma pequena fração do material “encapsulado” permanece exposta na superfície, o que é evitado pela “verdadeira” encapsulação. No entanto, o termo ‘encapsulação’ tem sido usado em seu sentido mais amplo, englobando tanto a formação de microcápsulas quanto de microsferas (DEPYPERE et al., 2003). As microcápsulas podem ter ainda mais de um núcleo, ou várias paredes para um mesmo núcleo (CONSTANT e STRINGHETA, 2002). A Figura 04 apresenta alguns dos principais modelos de microcápsulas.

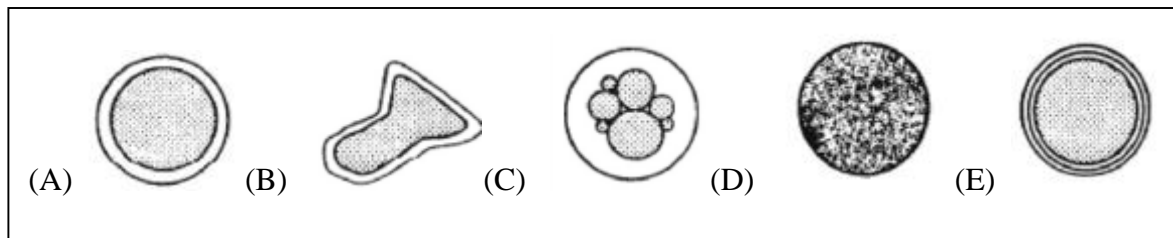


Figura 04: Morfologia dos diferentes tipos de microcápsulas. Microcápsulas: Simples regular (A); Simples irregular (B); Vários núcleos (C); Matriz (microesfera) (D); Várias paredes (E). (GIBBS et al., 1999).

Além de bastante utilizada pela indústria alimentícia, a microencapsulação vem sendo estudada e empregada em outras áreas industriais, sobretudo no setor farmacêutico, o qual permitiu o desenvolvimento de fórmulas de liberação controlada de fármacos que apresentam a capacidade de liberar o agente ativo apenas no local ou órgão onde deve agir. Outra área de intensa pesquisa é o setor de agrotóxicos, que busca diminuir a toxicidade e a contaminação ambiental com a criação de fórmulas de liberação controlada de defensivos agrícolas. A microencapsulação ainda encontra inúmeras aplicações nos

setores de cosméticos, pigmentos, adesivos, encapsulação de células vivas, entre outros (SUAVE et al., 2006).

Essa tecnologia consiste em empacotar partículas em tamanhos que podem ir de 0,2  $\mu\text{m}$  a 5000  $\mu\text{m}$ , tais como compostos de sabor, pigmentos, acidulantes, nutrientes, enzimas, conservantes, dentre outros (AGHBASHLO et al., 2013a), onde o material encapsulado é denominado de recheio, núcleo ou *core*, e o material que forma a cápsula, de encapsulante, cobertura, parede ou carreador (AZEREDO, 2005; PARIZE, 2009; REBELLO, 2009). A parede tem como principal função, o aumento da vida útil do *core*, retardando a isomerização e oxidação desses compostos, preservando dessa forma, suas características. Além disso, outro importante objetivo do microencapsulamento é permitir que a liberação do encapsulado ocorra lentamente com o tempo, ou a partir da ocorrência de um certo evento. A liberação controlada ajuda a evitar a utilização desnecessária e a perda de compostos durante o processamento (AZEREDO, 2005).

Existem inúmeras técnicas de microencapsulamento, tais como *spray-drying*, *spray-cooling*, coacervação, extrusão, extrusão centrífuga, recobrimento em leito fluidizado, lipossomas, complexação por inclusão e nanoprecipitação (GOUIN, 2004; TRINDADE et al., 2008). No entanto, *spray-drying* é a técnica mais utilizada na indústria de alimentos (CARNEIRO et al., 2013; MOREIRA, 2007) por ser considerado um processo econômico e flexível, realizado em um equipamento de fácil acesso, o *spray-dryer*, tendo como resultado partículas de boa qualidade (DZIEZAK, 1988). O Quadro 02 descreve as vantagens e desvantagens do uso da técnica de *spray-drying*.

Quadro 03: Vantagens e desvantagens do uso da técnica de microencapsulamento por *spray-drying*.

Vantagens	Desvantagens
Baixo custo de operação	Não produz materiais com tamanho uniforme
Alta qualidade das partículas obtidas	Limita a escolha do encapsulante (baixa viscosidade em altas concentrações)
Bom rendimento de processo	Não é uma boa técnica para materiais sensíveis ao calor (enzimas)
Produção de matéria com boa solubilidade	Custo do equipamento
Tamanho pequeno de partícula	-
Alta estabilidade dos materiais obtidos	-

Fonte: GOUIN, 2004, DESAI e PARK, 2005; MADENE et al., 2006; SANTOS et. al. 2003.

Os materiais de parede mais utilizados são as gomas, especialmente goma arábica ou acácia, maltodextrinas de diferentes equivalentes de dextroses (DE), amidos modificados, caseinato de sódio, proteína do leite, proteína isolada da soja e suas misturas (AGHBASHLO et al., 2013a).

### 3.1. *Spray-dryer*

O *spray-dryer* é o equipamento utilizado no processo de microencapsulamento por *spray-drying* ou atomização. Ele é empregado na desidratação de alimentos líquidos, como leite ou café solúvel, ou alimentos pastosos, e consiste basicamente de uma câmara, geralmente cônica, de diâmetro e altura devidamente calculados, na qual o fluido a ser desidratado é introduzido por aspersão sob pressão, por meio de bicos atomizadores, resultando em microgotículas. Estas, por sua vez, recebem uma corrente de ar aquecido, que supre o calor necessário à evaporação, havendo, assim, a formação de partículas secas (SILVA, 2000; AZEREDO et al., 2004).

O ar utilizado para a atomização de alimentos encontra-se sob temperaturas que variam de 160°C a 230°C, porém a construção da câmara de secagem e as condições de trabalho são projetadas de forma a atender condições de tempo de permanência mínimo do material no secador, evitando assim que o alimento sofra a influência de altas temperaturas. A temperatura de saída do material seco encontra-se, geralmente, entre 60°C e 80°C (SILVA, 2000).

O esquema básico de um *spray-dryer* está apresentado na Figura 05. A emulsão ou solução do material a ser encapsulado (núcleo) com a matriz encapsulante é bombeada através de um bico atomizador, na forma de gotículas (*spray*), para uma câmara de secagem, por onde passa um fluxo de ar quente. Em contato com o ar aquecido, a alta relação área de superfície:volume das gotículas promove rápida evaporação da água, e as gotículas transformam-se em partículas (pó). Com isso, o tempo de exposição do material ao calor é curto (geralmente 1-2 segundos), e a temperatura do núcleo geralmente não ultrapassa 100° C, o que reduz a ocorrência de alterações indesejáveis em compostos termo sensíveis (DZIEZAK, 1988). As microcápsulas produzidas por atomização são geralmente do tipo matricial, com o núcleo distribuído na forma de micropartículas na matriz seca do material encapsulante (RÉ, 1998). A matriz encapsulante, além de proteger o núcleo contra degradações químicas, atua como um estabilizante das propriedades

físicas do produto, já que evita a aglomeração dos pós, muito comum no caso de produtos ricos em açúcar (BHANDARI et al., 1997).

Quanto maior o teor de sólidos da emulsão a ser atomizada, menor o tempo necessário para formação das cápsulas, o que favorece a retenção dos voláteis. Outros fatores que afetam: massa molar e concentração do óleo; tipo e massa molar do encapsulante; velocidade e temperatura do ar de secagem e dimensão das gotículas atomizadas (REINECCIUS, 1988).

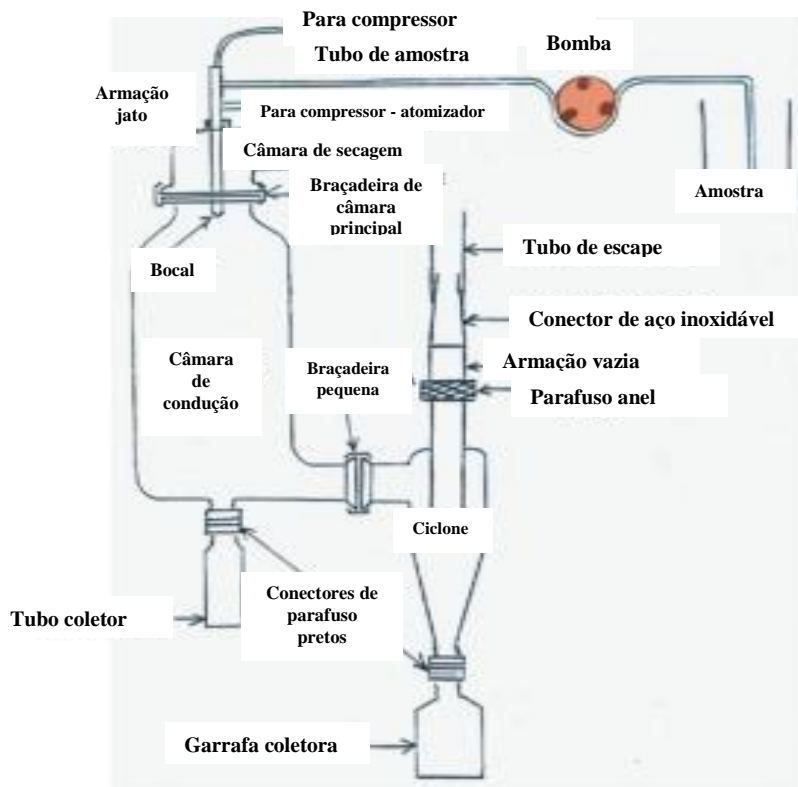


Figura 05: Esquema da instalação de secagem por atomização (RÉ et al., 1988).

Os principais fatores que devem ser estudados são: temperatura de alimentação, temperatura de entrada de ar, e temperatura de saída de ar. De fato, a temperatura de alimentação modifica a viscosidade da emulsão e, assim, a sua capacidade de secar homoganeamente. Quando a temperatura de alimentação é baixa, a viscosidade aumenta e o tamanho das cápsulas deve diminuir, mas altas temperaturas podem causar volatilizações ou degradações de alguns ingredientes sensíveis ao calor. A alimentação é ajustada para assegurar que cada partícula atinja o nível de secagem desejado antes de entrar em contato com a câmara de secagem (RÉ, 1998).

A microencapsulação de um óleo envolve as seguintes etapas: escolha de material de parede adequado ao óleo a encapsular, preparo da emulsão constituída pela solução do

material de parede e do óleo e homogeneização da emulsão. Finalmente, a secagem da emulsão por atomização em secador que formará as micropartículas (AZEREDO, 2005).

### 3.2. Material de Parede

A escolha do material de parede a ser utilizado para processos de microencapsulação envolve, geralmente, caros e demorados procedimentos de tentativa e erro, baseado em vários critérios, entre os quais: eficiência de encapsulação, estabilidade durante o armazenamento, proteção do material ativo e características de superfície da micropartícula (PÉRES-ALONSO et al., 2003; SUAVE et al., 2006).

O tipo de material de parede utilizado irá influenciar tanto a estabilidade da emulsão antes da secagem, quanto a capacidade de proteção do produto em pó. O material de parede ideal deve ter propriedades emulsificantes; ser um bom formador de filme na interface; ter baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos; exibir baixa higroscopicidade; liberar o material encapsulado quando desejável no produto final; ter baixo custo; apresentar alta disponibilidade e, por fim, oferecer boa proteção ao encapsulado. Como quase nenhum material de parede possui todas essas propriedades listadas, na prática, eles são utilizados em combinação (CARNEIRO, 2011).

Os materiais mais utilizados como encapsulantes incluem: carboidratos (amido, dextrinas, açúcar, xarope de milho, celulosos); gomas (goma arábica, alginato de sódio, carragena); lipídios (cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, monoglicérides e diglicérides, óleos e gorduras hidrogenadas); poliésteres naturais (poli hidroxialcanoatos, tais como poli 3-hidroxitirato, poli 3 hidroxivalerato e seus copolímeros); polímeros sintéticos (poli D, L-ácido láctico, poliacrilatos, copolímeros de polietileno co-propileno, poli  $\epsilon$ -caprolactona); proteínas (glúten, caseína, gelatina, albumina) e quitosana (fonte alternativa extraída da casca de crustáceos) (SUAVE et al., 2006).

A goma arábica é um dos materiais de parede mais tradicionais utilizado na microencapsulação de óleos e *flavours*. Trata-se de um excelente emulsificante natural, que apresenta a maioria das características de um bom material encapsulante. Porém, problemas como o alto custo de produto e limitada disponibilidade levaram pesquisadores a buscarem materiais alternativos para serem utilizados em substituição à goma arábica. Dentre estes materiais, destacam-se a maltodextrina, os amidos modificados (HiCap™ 100, Capsul e N-LOK), as proteínas (caseinato de sódio, proteína do soro do leite e



proteína da soja) e as combinações desses encapsulantes (CHARVE e REINNECIUS, 2009).

### **3.2.1. Fécula ou Amido**

Na legislação brasileira, fécula e amido são sinônimos. Na maioria dos países existe apenas uma palavra, amido, como designação geral, seguida de especificação da fonte botânica. Denomina-se amido a fração amilácea encontrada nos órgãos aéreos, tais como grãos e frutos, e fécula é encontrada em órgãos subterrâneos como raízes e tubérculos (BRASIL, 1978). Se a fécula é extraída da mandioca, dá-se o nome de fécula de mandioca. A diferenciação não ocorre na composição química, mas sim na origem do produto e em propriedades funcionais e tecnológicas (VEIGA-SANTOS et al., 1994).

A fécula de mandioca possui vantagens frente a outras fontes de amido como: facilidade de extração (MOORTHY, 2004), taxa de retrogradação menor em relação ao amido de outras fontes, resultando em materiais mais estáveis ao longo do tempo (MALI et al., 2004), baixo custo (FAMÁ et al., 2006), clareza da sua pasta, baixa temperatura de gelatinização e boa estabilidade do gel além de ser atóxica e possuir uma ampla gama de aplicações (MALI et al., 2006; SOUZA et al., 2010).

A produção mundial de amido em 2005 foi de 70 milhões de toneladas, sendo 46% desta produção oriunda da extração de milho. A fécula de mandioca representa 4,5% da produção mundial. O Brasil, em 2009, produziu 583 mil toneladas de fécula de mandioca (ABAM, 2009).

O cultivo da mandioca é de grande relevância econômica, uma vez que esta é a principal fonte de carboidratos para milhões de pessoas, especialmente nos países em desenvolvimento. O Brasil, com aproximadamente dois milhões de hectares, é um dos maiores produtores mundiais, com produção de 23 milhões de toneladas de raízes frescas de mandioca em 2008 (FRAIFE-FILHO & BAHIA, 2009).

Dados estimam que existam mais de 150 subprodutos provenientes das raízes de mandioca, sendo o polvilho azedo, a farinha e o amido (fécula ou polvilho doce) os mais conhecidos. As indústrias de alimentos representam o maior mercado, com 69% do consumo total de amido, sendo o restante aplicado nas indústrias de papel e celulose, têxtil, farmacêutica, de cosméticos e em lamas para perfuração de poços de petróleo, entre outros (LEONEL, et al., 1998; MOORE, 2001).

A fécula da mandioca é facilmente extraída, resultando em um produto de cor branca sem necessidade de se usar agentes de clareamento, uma vez que os tubérculos contêm baixa quantidade de proteínas (< 0,20 %), lipídios (< 0,15 %), cinzas (< 0,21 %) e fósforo (< 0,007 %) (MOORTHY, 2004). Ela apresenta coloração branca, é insípida e inodora (HOSENEY, 1999).

Segundo Zobel (1988), os grânulos de amido, que são específicos de cada planta, são compostos principalmente de 2  $\alpha$ -poliglucanas, a amilose e a amilopectina, as quais apresentam diferentes propriedades físico-químicas.

A amilose e amilopectina estão presentes numa taxa aproximada de 1 para 4, respectivamente, para a maioria dos amidos. O amido deve muito de sua funcionalidade a estas duas macromoléculas, assim como a organização física das mesmas dentro da estrutura granular. Entretanto, essa relação é específica para cada planta e pode variar para plantas naturais e as modificadas geneticamente (SOUZA, 2010).

A amilose é um polímero linear com unidades de D-glicose ligadas por ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) que conferem à molécula uma estrutura helicoidal, composta por aproximadamente 20 g de amilose/100 g de amido, com grau de polimerização de 200 a 3000, dependendo da fonte do amido. O grão de amido proveniente da fécula de mandioca é composto por 16 % - 20 % de amilose (ARENAS, 2012).

A amilopectina é um polímero altamente ramificado, menos hidrossolúvel do que a amilose, com unidades de D-glicose ligadas através de ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) e as ramificações em  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6). Constitui aproximadamente 80 % dos polissacarídeos existentes no grão de amido (ARENAS, 2012).

Como material de parede para microencapsulação, a fécula de mandioca é usualmente utilizada na sua forma modificada (LOKSUWAN, 2007; KANAKDANDE et al., 2007; VARAVINIT et al., 2001).

Amidos nativos têm sido amplamente utilizados na indústria de alimentos, no entanto, os mesmos apresentam algumas desvantagens, como insolubilidade em água fria e perda de viscosidade durante o processo, o que têm limitado sua aplicação. Estas deficiências do amido nativo podem ser superadas pela modificação desta substância, que pode ser realizada por meio físico (tratamento térmico, exposição a radiações), meio químico (reagentes específicos para alterar a estrutura das macromoléculas) e biotecnológico (processo enzimático) (CARNEIRO, 2011).

Os objetivos da modificação dos amidos são: diminuir retrogradação e a tendência das pastas em formar géis; aumentar a estabilidade ao resfriamento, ao descongelamento

e a adesividade; melhorar a textura das pastas ou géis e a formação de filmes; adicionar grupamentos hidrofóbicos e, conseqüentemente, introduzir poder emulsificante (CARNEIRO, 2011).

Amidos modificados utilizados na microencapsulação devem ser modificados quimicamente para incorporação de grupamentos lipofílicos em suas moléculas. Eles oferecem excelente retenção de voláteis durante a secagem por atomização e podem ser usados em altas concentrações de sólidos na alimentação, além de formar uma emulsão muito estável (SHAHIDI e HAN, 1993).

### **3.2.2. Goma Arábica**

A goma arábica é um polímero constituído por ácido D-glucurônico, L-ramnose, D-galactose e L-rabinose, com aproximadamente 2% de proteína. As propriedades emulsificantes da goma arábica são atribuídas à presença da fração proteica em sua estrutura (GHARSALLAOUI et al., 2007).

Trata-se, portanto, de um material heterogêneo, e geralmente consiste de duas frações: a primeira, composta de cadeias de polissacarídeos com pouco ou nenhum material nitrogenado (correspondendo a aproximadamente 70% da molécula); e a segunda, com alto peso molecular, tem a proteína como uma parte integral de sua estrutura. A fração proteica do polissacarídeo é heterogênea também com respeito ao conteúdo de proteína. Algumas frações específicas podem conter até 25% de proteína. As estruturas polissacarídicas são covalentemente ligadas ao componente proteico através da hidroxiprolina, ou ainda de unidades de serina, dois aminoácidos predominantes no polipeptídeo (CARNEIRO, 2011).

A goma arábica tem sido o agente encapsulante mais utilizado nos últimos anos, principalmente, por apresentar características específicas de boa formação de filme na interface e propriedade emulsificante (GOUIN, 2004).

Ela é usualmente utilizada, pois produz emulsões estáveis com a maioria dos óleos. Por essa razão, essa goma é bastante empregada para encapsular lipídios (GHARSALLAOUI et al., 2007). A substituição parcial (50%) de goma arábica com glicose foi relatado por aumentar a eficiência da microencapsulação do óleo de soja de 74% para 92% (Mc NAMEE et al., 2001).

Shaikh et al., (2006) estudaram a microencapsulação de óleo de pimenta preta usando goma arábica e amido modificado como materiais de parede. Como resultado,

verificaram que a goma arábica ofereceu maior proteção ao material ativo do que o amido modificado.

### 3.2.3. Proteínas

As excelentes propriedades funcionais das proteínas permitem que elas sejam uma boa opção para microencapsular alimentos por *spray-drying*, sendo as proteínas do leite (ou soro) e gelatina as mais utilizadas para encapsular ingredientes alimentares (GHARSALLAOUI et al., 2007).

As proteínas são moléculas formadas por diferentes grupos químicos, são anfifílicas, têm habilidade de se associar e interagir com uma variedade de diferentes tipos de substâncias de alto peso molecular e possuem uma cadeia molecular flexível (MADENE et al., 2006). Suas propriedades funcionais incluem capacidade de formação de filme na interface, solubilidade em água, capacidade de emulsificar e estabilizar gotas de emulsões. Enfim, exibem uma variedade de características desejáveis para um material de parede (JAFARI et al., 2008).

As proteínas do soro de leite têm demonstrado melhor proteção contra oxidação que os carreadores tradicionais (goma arábica e amido modificado), sendo menos permeáveis ao oxigênio (CHARVE e REINECCIUS, 2009); proporcionando uma excelente base para a microencapsulação por *spray-drying*. A  $\beta$ -lactoglobulina é a proteína de soro de leite mais importante, já que possui propriedades emulsificantes e é amplamente utilizada na indústria de alimentos (JOUENNE e CROUZET, 2000; CHARVE e REINECCIUS, 2009).

De acordo com Charve e Reineccius (2009), os isolados proteicos de soro e soja, utilizados como material de parede para encapsulação de ingredientes alimentícios mostraram os melhores resultados no que diz respeito à oxidação do material de recheio durante o armazenamento.

### 3.3. Propriedades das Microcápsulas

As propriedades de um pó podem ser classificadas como propriedades físicas ou químicas. As propriedades físicas incluem a forma da partícula, densidade, porosidade, características superficiais, dureza, diâmetro e tamanho de partícula. Já as propriedades químicas dos pós estão relacionadas com a composição e a interação com outras substâncias, tais como solventes ou algum outro componente dentro da estrutura do pó (BARBOSA-CÁNOVAS e JULIANO, 2005).

A atividade de água ( $a_w$ ) é uma função termodinâmica, definida como a razão entre a fugacidade da água na mistura ( $f_w$ ) e a fugacidade da água pura no estado padrão ( $f_o$ ) ambos à mesma temperatura. Essa grandeza pode ser interpretada como a tendência da água migrar para o estado gasoso (GAL, 1975). No equilíbrio, a atividade de água está relacionada com a umidade relativa (UR) do ambiente, através da Equação 01, que relaciona a pressão de vapor de água em equilíbrio no alimento ( $P_w$ ) com a pressão de vapor da água pura ( $P_v$ ), à mesma temperatura:

$$A_w = \frac{P_w}{P_v} = \frac{UR}{100} \quad \text{Equação 01}$$

Praticamente todos os processos deteriorativos que ocorrem nos alimentos são influenciados pela concentração e mobilidade da água em seu interior (WOLF et al., 1985). Dentro do alimento, a água pode ser encontrada em duas formas: água fracamente ligada ao substrato, facilmente eliminada, que funciona como solvente, permitindo o crescimento dos microrganismos e reações químicas, e água combinada, fortemente ligada ao substrato, mais difícil de ser eliminada, e que não é utilizada como solvente, não permitindo o desenvolvimento microbiano e retardando as reações químicas (BOBBIO e BOBBIO, 1992).

É de grande importância para a indústria de alimentos o conhecimento da umidade de equilíbrio de um material na armazenagem, manuseio e na secagem. Se um alimento é seco a uma umidade inferior àquela que ele normalmente possui quando em equilíbrio com o ambiente, ela irá retornar ao valor da umidade de equilíbrio durante a armazenagem ou manuseio (TONON, 2009), a menos que seja feito um controle físico do local de estocagem.

### 3.4. Microencapsulamento de Óleos

As condições de microencapsulação de óleos vegetais e animais variam conforme relacionado no Quadro 04. Neste contexto, constata-se que o óleo de peixe entre as fontes animais (AGHBASHLO et al., 2013a; AGHBASHLO et al., 2013b; BARRET et al., 2001; DRUSCH et al., 2007; HEINELMANN e FRANKE, 1999; JAFARI et al., 2008; KAGAMI et al., 2003; KEOGH et al., 2001; POLARAVAPU et al., 2011; WANG et al., 2011) e o óleo de linhaça (CARNEIRO et al., 2013; GALLARDO et al., 2013; QUISPE-CONDORI et al., 2011; TONON et al., 2011), entre as fontes vegetais, são os mais estudados. Além disso, há estudos que relacionam o encapsulamento de óleo de palma (DIAN et al., 1996), azeite de oliva (CALVO et al., 2010), óleo de girassol (AHN et al., 2008; DOMIAN et al., 2014), óleo de cânfora (CHANG et al., 2006), entre outros.

Constata-se que os encapsulantes mais utilizados são a maltodextrina, goma arábica, amido modificado, proteína do soro do leite e caseinato de sódio isolados ou combinados entre si, sendo que as maiores associações acontecem entre a maltodextrina e a proteína do soro do leite e não há uma predominância em relação às proporções empregadas (Quadro 04).

As temperaturas comumente empregadas são respectivamente, 180°C, 160°C e 140°C e as eficiências variam de 29,53% (goma arábica : inulina) a 98% (amido modificado : xarope de glicose) (Quadro 04).

Quadro 04: Metodologias de microencapsulamento por *spray-drying* de alguns óleos vegetais.

Encapsulado/ Referência	Encapsulantes/ Proporções	Temperatura de entrada de ar (°C)	Resultados (Eficiência)
Mistura de oleína de palma vermelha e refinada; e estearina branqueada e desodorizada (DIAN et al., 1996)	Maltodextrina : Caseinato de sódio ou Maltodextrina : Goma arábica, ambas na proporção de 80:20. Proporção de oleína de palma vermelha e refinada: estearina branqueada e desodorizada (60:40)	180	Maior retenção carotenoides – Maltodextrina : caseinato de sódio (94,3%); Maltodextrina : goma arábica (81,5%) após a estocagem de 2 semanas)
Óleo de peixe (DRUSCH et al., 2007)	1) 27% de derivado de amido n-octenil succinato (n-OSA) tipo 1 2) Derivado de amido n-OSA tipo 1 : xarope de glicose (4,5:22,5) 3) 27% de derivado de amido n-OSA tipo 2	180	Menor eficiência: 96,3% (Pectina da beterraba : xarope de glicose) Maior eficiência: 98% (n-OSA tipo 2; n-OSA tipo 2 :

Encapsulado/ Referência	Encapsulantes/ Proporções	Temperatura de entrada de ar (°C)	Resultados (Eficiência)
	4) Derivado de amido n-OSA tipo 2 : xarope de glicose (4,5:22,5) 5) Derivado de amido n-OSA : goma arábica : xarope de glicose (6,7:13,5:6,7) 6) Goma arábica : xarope de glicose (18:9) 7) Pectina da beterraba : xarope de glicose (1:26) 8) Caseinato de sódio : xarope de glicose (5,4:21,6) 9) Caseinato de sódio : xarope de glicose (1,3:25,6) Todas as emulsões foram preparadas utilizando 45% de sólidos.		xarope de glicose; caseinato de sódio : xarope de glicose)
Óleo de girassol (AHN et al., 2008)	Concentração de óleo de girassol: de 20 a 40%; proporção dos encapsulantes (proteína do soro do leite isolada, dextrose): de 10 a 30%; concentração de lecitina de soja (como emulsificante): 0,5 - 2,5%	160	Maior eficiência: 94,6%, com o uso de 23,6% de óleo de girassol; 19% de proteína do soro do leite isolada e dextrose; 54,8% de dextrose; 2,5% de lecitina de soja Menor eficiência: 70,2%, com o uso de 40% de óleo de girassol; 20% de proteína do soro do leite isolada e dextrose; 1,5% de lecitina de soja
Azeite de oliva extra virgem (CALVO et al., 2010)	1) Óleo : água : gelatina : maltodextrina : goma arábica (1,81 : 90,93 : 2,18 : 4,72 : 0,36) 2) Óleo : água : caseinato de sódio : lactose (5,88 : 82,36 : 5,88 : 5,88) 3) Óleo : água : maltodextrina : amido modificado (5,88 : 82,36 : 5,88 : 5,88) 4) Óleo : água : amido modificado : lactose (6,41 : 64,1 : 23,08 : 6,41)	165	Menor eficiência: 33,43% (Óleo : água : amido modificado : lactose) Maior eficiência: 52,98% (Óleo : água : caseinato de sódio : lactose)
Óleo de linhaça (TONON et al., 2011)	Goma arábica (10 – 30%)	138, 150, 170, 190, 202	Menor eficiência: 51,5%, a 170°C, 10% de goma arábica, 20% de óleo de linhaça Maior eficiência: 92%, a 170°C, 20% de goma arábica e 10% de óleo de linhaça
Óleo de peixe (AGHBASHLO et al., 2013a)	Óleo de peixe : leite em pó : água (10:20:70)	140, 160, 180	Menor eficiência: 59,05% (140°C) Maior eficiência: 85,67% (180°C)
Óleo de peixe	1) Proteína do soro do leite concentrada (100%)	140, 160, 180	Menor eficiência: 40,59% (proteína

Encapsulado/ Referência	Encapsulantes/ Proporções	Temperatura de entrada de ar (°C)	Resultados (Eficiência)
(AGHBASHLO et al., 2013b)	Proteína do soro do leite isolada (100%) 3) Leite em pó desnatado (100%) 80% de Proteína do soro do leite isolada : 20 % de caseinato de sódio 80% de Proteína do soro do leite isolada : 20% de proteína do leite concentrada		do soro do leite concentrada a 140°C) Maior eficiência: 81,94% (Leite em pó desnatado a 180°C)
Óleo de linhaça (CARNEIRO et al., 2013)	1) Maltodextrina : amido modificado (HiCap) 2) Maltodextrina : Proteína do soro do leite concentrada 3) Maltodextrina + goma arábica 4) Maltodextrina + amido modificado (Capsul) Proporção dos encapsulantes: 75/25	180	Maior eficiência: 95,7% (25 Maltodextrina : 75 HiCap)
Óleo de linhaça (GALLARDO et al., 2013)	1) Goma arábica (100%) 2) Goma arábica : Maltodextrina (56 : 44) 3) Goma arábica : Maltodextrina : Proteína do soro do leite isolada (17 : 66 : 17) 4) Maltodextrina : Metilcelulose (33 : 66)	175	Menor eficiência: 25,5% (Maltodextrina : Metilcelulose) Maior eficiência: 91,4% (Goma arábica : Maltodextrina)
Óleo de girassol (DOMIAN et al., 2014)	1) Proteína do soro do leite isolada : trealose : fosfatos : água : óleo de girassol (4 : 13,6 : 0,4 : 60 : 22) 2) Caseinato de sódio : trealose : fosfatos : água : óleo de girassol (4 : 13,6 : 0,4 : 60 : 22)	150	
Óleo essencial de alecrim (FERNANDES et al., 2014)	1) Goma arábica (205gx100g <sup>-1</sup> ) Amido modificado – Capsul (205gx100g <sup>-1</sup> ) 3) Amido modificado : Maltodextrina (10 : 10) 4) Amido modificado - Capsul : inulina (10 : 10) 5) Goma arábica : Maltodextrina (10 : 10) 6) Goma arábica : Inulina (10 : 10) Teor de óleo fixo: 5gx100g <sup>-1</sup>	170	Menor eficiência: 29,53% (Goma arábica : Inulina) Maior eficiência: 60,22% (Amido modificado : Maltodextrina)

A comparação entre os estudos torna-se difícil em virtude da diversidade de matérias-primas submetidas ao encapsulamento, dos materiais de parede, dos processos de extração e também porque muitos trabalhos só avaliam a estabilidade oxidativa do óleo encapsulado através do índice de peróxido e não dos compostos bioativos (carotenoides, fenólicos, vitaminas, ácidos graxos essenciais).



### 3.5. Estabilidade Oxidativa de Óleos Microencapsulados

Como mencionado anteriormente, devido à alta susceptibilidade à oxidação que os óleos vegetais estão propensos, alguns estudos que microencapsularam essas matrizes avaliaram a estabilidade oxidativa destes ao longo do tempo, como demonstrado no Quadro 05:

Quadro 05: Estudos que envolveram a avaliação da estabilidade oxidativa de microcápsulas de óleos vegetais.

Encapsulado/ Referência	Análises e métodos realizados	Temperatura de estocagem (°C)	Tempo de estocagem	Resultados
Mistura de oleína de palma vermelha e refinada; e estearina branqueada e desodorizada (DIAN et al., 1996)	Carotenoides totais – espectrofotometria (PORIM Test Methods, 1988)	60	2 semanas	Maior retenção carotenoides – Maltodextrina : caseinato de sódio (94,3%) – antes: 215,28 µg/g; depois: 203,05 µg/g Maltodextrina : goma arábica (81,5%) – antes: 194,65 µg/g; depois: 158,58 µg/g
Óleo de peixe (WANG et al., 2011)	Índice de peróxidos – espectrofotometria - IDF método (Bae e Lee, 2008)	40	8 semanas	Óleo puro: depois de 5 semanas – 350 meq kg-1 óleo Óleo encapsulado: até a quarta semana – 45-76 meq kg-1 óleo; a partir da quinta semana – 6,6 – 15 meq kg-1 óleo
Óleo de peixe (AGHBASHLO et al., 2013b)	Eficiência (Tonon et al., 2011) Índice de peróxidos (IP) – titulação (AOCS Official Method, 1993)	25	4 semanas	Eficiência: reduziu de 82 % para 59,35% IP: aumentou de 6,4 para 8,35 meq kg-1 óleo
Óleo de linhaça (CARNEIRO et al., 2013)	Índice de peróxidos (IP) – espectrofotometria - IDF método (Partanen et al., 2008) Compostos voláteis – Cromatografia gasosa por <i>headspace</i>	45	4 semanas	IP: aumentou de 6,12 para 8,77 meq kg-1 óleo

De maneira geral, pode-se concluir que ao longo do tempo, quando submetidos a uma temperatura elevada, os óleos encapsulados apresentam um aumento do índice de

peróxidos em relação ao tempo zero. No entanto, quando comparado ao óleo puro, esse aumento é geralmente inferior. Dessa forma, o encapsulamento dos óleos parece ser uma opção para o aumento da estabilidade oxidativa destes. Apesar disso, é importante destacar que os fatores como temperatura de entrada de ar, material de parede, temperatura da estufa e tempo do teste podem influenciar diretamente nos resultados e, portanto, não devem ser desconsiderados.

## Referências

ABAM – Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca (2014). Dados de produção (2009). Disponível em: <<http://www.abam.com.br>>, acessado em: 05 de Março de 2014.

ABOISSA, 2010. Matérias-primas para bicompostíveis. Disponível em: <<http://materiaprimas.blogspot.com/2008/07/leo-de-palma.html>> Acesso em: 03 de Março de 2014.

AGHBASHLO, M.; MOBLI, H.; MADADLOU, A.; RAFIEE, S. Fish oil microencapsulation as influenced by spray dryer operational variables. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 02, p. 1707 – 1713, 2013a.

AGHBASHLO, M.; MOBLI, H.; MADADLOU, A.; SHAHIN, R. Influence of Wall Material and Inlet Drying Air Temperature on the Microencapsulation of Fish Oil by Spray Drying. **Food Bioprocess Technol**, v. 6, p. 1561 - 1569, 2013b.

AHN, J.; KIM, Y.; YU-MI L.; SEO, E.; LEE, K.; KIM, H. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 107, p. 98 – 105, 2008.

ALMEIDA, J. R. Criação de valor sustentável e o óleo de palma no Brasil. Dissertação (Mestrado). 119 p. Escola de Administração de Empresas de São Paulo, **Fundação Getúlio Vargas**, São Paulo, 2012.

AMAYA, D. B. R. Assessment of the Provitamin A Contents of Foods — The Brazilian Experience. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 9, p. 196 - 230, 1996.

ARENAS, A. M. Z. Filme biodegradável à base de fécula de mandioca como potencial indicador de mudança de pH. 2012. 131p. Dissertação (Escola Politécnica da Universidade de São Paulo) – **Universidade de São Paulo**, São Paulo.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 1, p. 8 - 97, 2005.

AZEREDO, H. M. C.; BRITO, E. S.; BRUNO, L. M.; PINTO, G. A. S. Métodos de conservação de alimentos. In: AZEREDO, H.M.C. (Ed.). **Fundamentos de**

**Estabilidade de Alimentos.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p. 97 – 128, 2004.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; JULIANO, P. Compression and compaction characteristics of selected food powders. **Advances in Food Nutrition and Research**, v. 49, n. 6, p. 233 - 307. 2005.

BARRET, A. H.; PORTER, W. L.; MARANDO, G.; CHINACHOTI, P. Effect of various antioxidants, antioxidants levels, and encapsulation on the stability of fish and flaxseeds oil: assessment by fluorometric analysis. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 35, p. 349 - 358, 2001.

BENDICH, A. Recent advances in clinical research involving carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, p. 1017 - 1024, 1994.

BHANDARI, B. R.; DATTA, N.; HOWES, T. Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. **Drying Technology**, v. 15, n. 2, p. 671 – 684, 1997.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos.** São Paulo, Ed. Varela, 151p. 1992.

BRASIL, Resolução nº 12/78 da **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos.** Diário Oficial, Brasília, 24 de julho de 1978 (seção 1, parte 1).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio 2010/2011 a 2010/2021.** Brasília: Assessoria de Gestão Estratégica, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA. **Resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999.** Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a2190900474588939242d63fbc4c6735/RDC\\_482\\_1999.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a2190900474588939242d63fbc4c6735/RDC_482_1999.pdf?MOD=AJPERES) > Acesso em: 03 de Março de 2014.

CALVO, P.; HERNANDEZ, T; LOZANO, M.; GONZALEZ-GOMEZ, D. Microencapsulation of extra-virgin olive oil by *spray-drying*: Influence of wall material and olive quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 112, p. 852 - 858, 2010.

CARNEIRO, H. C. F. Microencapsulação de óleo de linhaça por *spray-drying*: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede. (Dissertação de Mestrado). Campinas – SP. Faculdade de Engenharia de Alimentos. **Universidade Estadual de Campinas**, 2011.

CARNEIRO, H. C. F; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v. 115, p. 443 - 451, 2013.

CARR, N. O; HOGG, F. W. A manufacturer's perspective on selected palm-based products. **Asia Pacific Journal Clinical Nutrition**, v. 14, p. 381 - 386, 2005.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, v. 24, p. 173 - 187, 2011.

CHANG, C.; LEUNG, T.; LIN, S.; HSU, C. Release properties on gelatin-gum arabic microcapsules containing camphor oil with added polystyrene. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 50, p. 136 -140, 2006.

CHARVE, J.; REINECCIUS, G. A. Encapsulation Performance of Proteins and Traditional Materials for Spray Dried Flavors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 57, n. 6, p. 2486 - 2492, 2009.

CLEGG, A. J. Composition and Related Nutritional and Organoleptic Aspects of Palm Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 50, p. 321 - 323, 1973.

CODEX STAN 210. CODEX ALIMENTARIUS (FAO/WHO) (2013). **Codex Standard for named vegetable oils**. Roma, 2013. Disponível: <  
<http://www.codexalimentarius.org/standards/>> Acesso em: 09 de Março de 2014.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 36, n. 1, p. 12 - 18, 2002.

CURVELO, F. M.; ALMEIDA, D. T.; NUNES, I. L.; FEITOSA, S. Qualidade do óleo de palma bruto (*Elaeis guineensis*): matéria-prima para fritura de acarajés. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, p. 641 - 646, 2011.

DEPYPERE, F.; DEWETTINCK, K.; RONSSE, F.; PIETERS, J.G. Food powder microencapsulation: principles, problems and opportunities. **Applied Biotechnology, Food Science and Policy**, v. 1, n. 2, p. 75 - 94, 2003.

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

DIAN, N. L. H. M.; SUDIN, N.; YUSOFF, M. S. A. Characteristics of Microencapsulated Palm-Based Oil as affected by type of wall material. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 70, p. 422 - 426, 1996.

DOMIAN, E.; SUŁEK, A.; CENKIER, J.; KERSCHKE, A. Influence of agglomeration on physical characteristics and oxidative stability of spray-dried oil powder with milk protein and trehalose wall material. **Journal of Food Engineering**, v. 125, p. 34 - 43, 2014.

DRUSCH, S.; SERFERT, Y.; SCHMIDT-HANSBERG, B.; SCAMPICCHIO, M.; SCHWARZ, K. Impact of Physicochemical Characteristics on the Oxidative Stability of Fish Oil Microencapsulated by Spray-Drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 11044 - 11051, 2007.

DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, v. 42, n. 4, p. 136 - 148, 1988.

EDEM, D. O. Palm oil: biochemical, physiological, nutritional, hematological and toxicological aspects: A review. **Plants Foods for Human Nutrition**, v. 57, p. 319 - 341, 2002.

EDGE, R.; MCGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. G. The carotenoids as antioxidants – a review. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 41, p. 189 - 200, 1997.

FAMÁ, L.; FLORES, S. K.; GERSCHENSON, L.; GOYANES, S. Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, n. 01, p. 08 – 15, 2006.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols - a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 510 - 523, 2010.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases. Agricultural Data. 2014. Disponível em:  
<<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 05 de Março de 2014.

FAS. Foreign Agricultural Service. United States Department of Agriculture (USDA). **Oilseeds and Products Annual: Brazil**, 2013. Disponível em:  
<[http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual\\_Brasilia\\_Brazil\\_3-28-2013.pdf](http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual_Brasilia_Brazil_3-28-2013.pdf)>. Acesso em: 03 de Março de 2014.

FAS. Foreign Agricultural Service. United States Department of Agriculture (USDA). **Oilseeds: World Markets and Trade**, 2014. Disponível em:  
<[http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual\\_Brasilia\\_Brazil\\_02-10-2014.pdf](http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual_Brasilia_Brazil_02-10-2014.pdf)> Acesso em: 03 de Março de 2014.

FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 524 - 532, 2014.

FRAIFE-FILHO, G. A.; BAHIA, J. J. S. Mandioca (2009). CEPLAC, - Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. Disponível em:  
<<http://www.ceplac.gov.br/radar/mandioca.htm>>. Acesso em: 05 de Março de 2014.

FROEHNER, S.; LEITHOLD, J.; LIMA JÚNIOR, L. F. Transesterificação de óleos vegetais: caracterização por cromatografia em camada delgada e densidade. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 2016 - 2019, 2007.

GALLARDO, G.; GUIDA, L.; MARTINEZ, V.; LÓPEZ, M. C.; BERNHARDT, D.; BLASCO, R.; PEDROZA-ISLAS, R.; HERMIDA, L. G. Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. **Food Research International**, v. 52, p. 473 – 482, 2013.

- GEE, P. T. Analytical characteristics of crude and refined palm oil and fractions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 373 - 379, 2007.
- GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of *spray-drying* in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107 - 1121, 2007.
- GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, p.213 - 224, 1999.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 330 - 347, 2004.
- HEINZELMANN, K.; FRANKE, K. Using freezing and drying techniques of emulsions for the microencapsulation of fish oil to improve oxidation stability. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 12, p. 223 - 229, 1999.
- HOSENEY, R. **Principles of Cereal: Science and Technology**, 2<sup>a</sup> edição, USA: American Association of Cereal Chemists, 1999.
- JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; BHANDARI, B.; HE, Y. Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. **Food Research International**, v. 41, p. 172 - 183, 2008.
- JEYARANI, T.;REDDY, S. Y. Preparation of Plastic Fats with Zero *trans* FA from Palm Oil. **JAOCs - Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, p. 1107 - 1113, 2003.
- JOUENNE, E.; CROUZET, J. Effect of pH on retention of aroma compounds by  $\beta$ -Lactoglobulin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p.1273 - 1277, 2000.
- KAGAMI, Y.; SUGIMURA, S.; FUJISHIMA, N.; MATSUDA, K.; KOMETANI, T.; MATSUMURA Y. Oxidative Stability, Structure, and Physical Characteristics of Microcapsules Formed by Spray Drying of Fish Oil with Protein and Dextrin Wall Materials. **Journal of Food Science**, v. 68, p. 2248 - 2255, 2003.
- KANAKDANDE, D.; BHOSALE, R.; SINGHAL, R. S. Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 536 - 541, 2007.
- KEOGH, M. K.; O'KENNEDY, B. T.; KELLY, J.; AUTY, M. A.; KELLY, P. M.; FUREBY A.; HAAHR, A. Stability to Oxidation of Spray-Dried Fish Oil Powder Microencapsulated Using Milk Ingredients. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 2, p. 217 - 224, 2001.
- KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, p. 1003 - 1010, 1994.

LEONEL, M.; JACKEY, S.; CEREDA, M. P. Processamento Industrial de Fécula de mandioca e batata doce. Um estudo de caso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 343 - 345, 1998.

LODY, R. **Dendê símbolo e sabor**. São Paulo. Ed. SENAC, 2009.

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

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

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITSKY, N. E. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 453 - 460, 2006.

MALI, S.; KARAM, L. B.; RAMOS, L. P.; GROSSMANN, M. V. Relationship among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7720 - 7725, 2004.

MC NAMEE, B. F.; WHITE, L. E.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Effect of partial replacement of gum arabic with carbohydrates on its microencapsulation properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 3385 – 3388, 2001.

MENDONÇA, C. G. de; RAETANO, C. G.; MENDONÇA, C. G. Tensão superficial estática de soluções aquosas com óleos minerais e vegetais utilizados na agricultura. **Revista Engenharia Agrícola**, v.27, p.16-23, 2007.

MOORE, G. R. P. Amido de milho e mandioca na produção de Maltodextrinas. 2001. 85p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Departamento de Ciência de Alimentos, **Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis-SC.

MOORTHY, S. N. Tropical sources of starch. In: ELIASSON, A.C. **Starch in Food: Structure, function and applications**. Boca Raton: CRC Press., p. 321 - 359, 2004.

MOREIRA, G. E. G. Obtenção e caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). **Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, 2007.

OLIVEIRA, H. P. **Dendê: aspectos botânicos, agronômicos, ecológicos e econômicos**. In: Lody, R (Ed.) **Dendê: símbolo e sabor**, pg.30. São Paulo: SENAC, 2009.

OLSON, J. A. Carotenoids and human health. **Archivos Latino Americanos de Nutrición**, v. 49, p. 7S-11S, 1999.

- PARIZE, A. L. Desenvolvimento de sistemas microparticulares e de filmes a base de quitosina e corante natural cúrcuma. Tese (Doutorado em Química), **Universidade Federal de Santa Catarina**, 2009.
- PÉRES-ALONSO, C.; BAÉZ-GONZÁLEZA, J. G.; BERISTAIN, C. I.; VERNON-CARTER, E. J.; VIZCARRA-MENDOZA, M. G. Estimation of the activation energy of carbohydrate polymers blends as selection criteria for their use as wall material for spray-dried microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, v. 53, n. 2, p. 197 - 203, 2003.
- POLAVARAPU, S.; OLIVER, C. M.; AJLOUNI, S.; AUGUSTIN, M. A. Physicochemical characterisation and oxidative stability of fish oil and fish oil–extra virgin olive oil microencapsulated by sugar beet pectin. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1694 - 1705, 2011.
- QUISPE-CONDORI, S.; SALDAÑA, M. D. A.; TEMELLI, F. Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p.1880 - 1887, 2011.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, p. 755 - 760, 2006.
- RÉ, M. J. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, 1195 - 1236, 1998.
- REBELLO, F. F. P. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Revista Agrogeoambiental**, v. 01, n. 03, p. 134 – 144, 2009.
- REINECCIUS, G. A. Spray-drying of food flavors. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. **Flavor encapsulation**. Washington, DC: ACS, p. 55 - 66, 1988.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in food**. Washington, DC: International Life Sciences Institute Press, 2001, p.64.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **Harvest plus handbook for carotenoid analysis**. Washington, DC e Cali: International Food Policy Research Institute e International Center for Tropical Agriculture, 2004, p.58.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; FARF NA, J. A. FONTES BRASILEIRAS DE CAROTENOIDES: Tabela Brasileira de Composição de Carotenoides em Alimentos. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, 2008, p. 101.
- SAMBANTHA MURTHI, R.; SUNDRAN, K.; TAN, Y. Chemistry and biochemistry of palm oil. **Progress in Lipid Research**, v. 39, p. 507 - 558, 2000.
- SANTOS, A. C. A.; SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. **Estudo de processos de extração de óleos essenciais e bioflavonóides de frutas cítricas**. Caxias do Sul: EDUCS, p. 19 - 29, 2003.



SEAGRI – Secretaria da Agricultura, Pecuária, Irrigação, Pesca e Aquicultura, 1999. Disponível em: <http://www.seagri.ba.gov.br/dende.htm>. Acesso em: 03 de Março de 2014.

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

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

SHEN, Z.; AUGUSTIN, M. A.; SANGUANSRI, L.; CHENG, L. J. Oxidative stability of microencapsulated fish oil powders stabilized by blends of chitosan, modified starch, and glucose. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 58, p. 4487 - 4493, 2010.

SILVA, J.A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2000. 227p.

SOUZA, A. C.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Biodegradable films based on biopolymers for food industries. In M. L. Passos, & C. P. Ribeiro (Eds), **Innovation in Food Engineering: New Techniques and Products**, Boca Raton, (Eds.). CRC Press, p. 511 - 537, 2010.

SOUZA, C. O. DE. Preparação, caracterização e avaliação da eficácia de biofilmes a base de fécula de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) e incorporados com polpas de manga (mangifera indica l) e de acerola (*Malpighia emarginata L*) como aditivos antioxidantes. 2010. 143p. Dissertação (mestrado em Ciência de Alimentos) – **Universidade Federal da Bahia**, Bahia.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2, 2006.

SUNDRAM, KALYANA; SAMBANTHAMURTHI, RAVIGADEVI; TAN, YEW-AI. Palm fruit chemistry and nutrition. **Asia pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 12, p. 355 - 362, 2003.

TONON, R. V. GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, p. 282 - 289, 2011.

TONON, R. V. Secagem por atomização do suco de açaí: Influência das variáveis. 2009. 212 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, **Universidade Estadual de Campinas**, Campinas. 2009.

TRIGUEIRO, I. N. S.; PENTEADO, M. V. C. Características físicas, químicas e estado de oxidação de óleos de dendê brasileiros. **Boletim Centro de Pesquisas de Processamento de Alimentos**, v. 11, n.2, p. 103 - 112, 1998.

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

VARAVINIT, S.; CHAOKASEM, N.; SHOBSNGOB, S. Studies of Flavor encapsulation by Agents Produced from Modified Sago and Tapioca Starches. **Starch**, v. 53, p. 281 - 287, 2001.

VEIGA-SANTOS, P.; VILPOUX, O., CEREDA, M.P. Possíveis usos da fécula de mandioca. **Critérios de qualidade**. Botucatu: Cerat/Unesp, 1994, 25p.

WANG, R., TIAN, Z.; CHEN, L. A Novel Process for Microencapsulation of Fish Oil with Barley Protein. **Food Research International**, v. 44, p. 2735 – 2741, 2011.

WOLF, W.; SPIESS, W. E. L.; JUNG, G. Sorption isotherms and water activity of food material. New York, **Elsevier Science**, 239 p. 1985.

YOUNG, A. J.; LOWE, G. M. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 385, p. 20 - 27, 2001.

ZOBEL, H. F. Molecules to granules: a comprehensive starch review. **Starch**, v. 40, n. 2, p. 44 - 50, 1988.

## CAPÍTULO II

---

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND OXIDATIVE STABILITY OF  
MICROENCAPSULATED CRUDE PALM OIL BY SPRAY DRYING

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the possibility of crude palm oil microencapsulation by spray drying to preserve the oil's characteristics such as carotenoid content, antioxidant activity, fatty acid, peroxide value, thermal stability and oxidative stability for possible use as a food fortifier. Capsules were generated from emulsions with different wall material combinations and then dried at 180 °C. The best wall material combination was cassava starch with gum arabic because it provided good encapsulation efficiency and yield, and moisture content. Thermogravimetric analysis and differential scanning calorimetry analyses indicated that the microcapsules had satisfactory thermal stability. The fatty acid profile and color parameters did not change with oil microencapsulation. However, total carotenoids, antioxidant activity and peroxide value changed with encapsulation. In conclusion, crude palm oil remains an important source of bioactive compounds, such as pro-vitamin A, which have various functions in the body.

Keywords: Efficiency encapsulation, yield encapsulation, bioactive compounds, scanning electron microscopy.

## 1. Introduction

Crude palm oil is derived from the fleshy mesocarp fruit of the oil palm (*Elaeis guineensis*) (Codex 2013). In 2014, palm oil was the most consumed oil worldwide, with a total production of 58.4 million tons. On a global scale, the largest producers of palm oil are Indonesia, Malaysia and Thailand, accounting for just over 87% of production in 2014. In Latin America, the largest palm oil producer is Colombia (FAS 2014) and, in Brazil, the production was approximately 275,000 tons in 2012, ranking 13th among the countries producing crude palm oil (FAS 2013).

The major constituents of palm oil are triacylglycerols (95%), composed of approximately 40.4 to 56.9% saturated fatty acids and 43.0 to 62.5% unsaturated fatty acids, all in the *cis* configuration (Gee 2007). Palmitic (35.0 to 47.0%), oleic (36.0 to 47.0%) and linolenic (6.5 to 15.0%) acid are the major fatty acids of this oil. Furthermore, this oil has high levels of carotenoids, especially  $\beta$ -carotene (500 – 2000 ppm) (Codex 2013). Carotenoids are commonly used as food additives and are strongly recommended due to their pro-vitamin A content and antioxidant activity. Furthermore, carotenoids are

being investigated as promising candidates for the prevention of cancer, heart disease and deleterious effects of aging (Ribeiro et al. 2011; Wang et al. 2014).

However, carotenoids are rather unstable substances because they are very sensitive to oxygen, light and heat. In their natural form, they are insoluble in water and slightly soluble in oil at room temperature. Increasing the oil temperature increases the solubility of carotenoids, although water-soluble forms are obtainable by saponification of oleoresins. It has been established that oxidation of carotenoid pigments depends on temperature and oxygen pressure as well as the structural properties of the pigment. Furthermore, peroxides are generated as products of lipid oxidation and carotenoids can bring health problems. It has been proposed that microencapsulation may improve carotenoid stability (Rascón et al. 2011).

Among many techniques, such as spray drying, spray cooling/chilling, extrusion, fluidized bed coating, coacervation and liposome entrapment (Aghbashlo et al. 2013a; Fang and Bhandari 2010), spray drying is the most commonly used method to encapsulate food ingredients due to its low cost and the availability of equipment (Gharsallaoui et al. 2007).

A variety of food ingredients, especially oils, have been encapsulated using different encapsulating wall materials and encapsulation methods for various purposes. For example, encapsulation can afford protection from deterioration, preservation of functional characteristics, extended shelf storage stability, controlled release, targeted delivery and/or alleviation of formulation and processing problems (Aghbashlo et al. 2013a; Aghbashlo et al. 2013b; Ahn et al. 2008; Domian et al. 2014; Drusch and Mannino 2009). Microencapsulated oil powder can be dry-blended with other dry ingredients, reconstituted as a stable emulsion in an aqueous solution or added directly to wet food products. A range of foods are reported to be able to be formulated with microencapsulated oils including beverages, dressings and sauces, baked goods, dairy products and powdered products (Domian et al. 2014).

The selection of wall materials for spray drying is vital for efficient encapsulation. The most common wall materials are gum arabic, maltodextrin, emulsifying starches (Fernandes et al. 2014; Kanakdande et al. 2007; Krishnan et al. 2005) and proteins such as whey proteins, sodium caseinate and gelatin. Among these materials, gum arabic is preferred because of its encapsulation efficiency and stability (Loksuwan 2007). Gum arabic produces stable emulsions with most oils over a wide pH range and forms a visible film at the oil interface.

Special attention has been given to the studies aiming at improving the encapsulation efficiency during spray drying of food flavors and oils by minimizing the amount of unencapsulated oil present at the surface of powder particles. Maximizing the encapsulation efficiency thus prevents lipid oxidation and volatile losses and extends the product's shelf. The main factors that affect encapsulation efficiency of microencapsulated oils and flavors are: the type of wall material, the properties of the core materials (i.e., concentration, volatility), the characteristics of the emulsion (i.e., total solids, viscosity, droplet size) and the conditions of the spray drying process (i.e., atomization type, inlet air temperature, air flow, humidity). Thus, it is important to optimize the drying process to obtain the minimal surface oil in the powder particles (Tonon et al. 2011).

Most studies of oil microencapsulation involve fish oil (Aghbashlo et al. 2013a; Aghbashlo et al. 2013b; Jafari et al. 2008; Kagami et al. 2003; Wang et al. 2011), though several previous studies investigated the encapsulation of olive oil (Calvo et al. 2012), linseed oil (Anh et al. 2008; Carneiro et al. 2013; Gallardo et al. 2013; Quispe-Condori et al. 2011; Tonon et al. 2011), sunflower oil (Domian et al. 2014) and palm oil (Dian et al. 1996). There is only one article available on refined palm oil microencapsulation (Dian et al. 1996) and it brings only the impact of oil microencapsulation on the carotenoids content and the encapsulation efficiency over two weeks. Moreover, there are no published studies reporting the effects of microencapsulation on the oxidative stability, antioxidant activity, carotenoids identity and fatty acid profile of crude palm oil.

The aim of the present study was to evaluate the possibility of crude palm oil microencapsulation by spray drying to preserve the oil's characteristics such as carotenoid amount, antioxidant activity, fatty acid, peroxide value, thermal stability and oxidative stability. Favorable properties of spray-dried, microencapsulated palm oil would encourage future use for food fortification.

## **2. Materials and Methods**

### **2.1. Materials**

Crude palm oil was supplied by the Agropalma Group (Pará, Brazil). The wall materials were: cassava starch (CS) (Cargill, São Paulo, Brazil); whey protein concentrate (WPC) (Kerry do Brasil, Minas Gerais, Brazil), which contained a minimum of 33 %

(w/w) milk protein and a maximum of 6 % (w/w) milk fat, and gum arabic (GA) (Instantgum BA, Nexira, São Paulo, Brazil).

## **2.2. Emulsion Preparation**

Six composite wall materials were prepared: 20% CS + 80% WPC; 20% CS + 80% GA; 50% CS + 50% GA; 20% GA + 80% WPC; 50% GA + 50% WPC and 80% GA + 20% WPC. The wall materials were added to distilled water at 25°C and the mixture was stirred until completely dissolved. The wall material and oil concentrations (total solids) were fixed at 40% and 10%, respectively. Emulsions were formed using a rotor-stator blender (TE-102, Ultra-Turrax Tecnal, São Paulo, Brazil) operating at 15,000 g for 5 min and were used as the feed liquid for spray drying (Aghbashlo et al. 2013b; Carneiro et al. 2013).

## **2.3. Microencapsulation by Spray Drying**

The spray drying process was performed in a laboratory-scale mini spray dryer (MSDi 1.0, Labmaq, São Paulo, Brazil) with a nozzle atomization system and a 1.0 mm diameter nozzle. The operational conditions of the spray drying were as follows: inlet drying air temperature, 180 °C; feed rate, 0.9 L·h<sup>-1</sup> (Fernandes et al. 2014); air pressure, 2 kgf/cm<sup>2</sup>; and spraying air flow rate, 4 m<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>. Before each experiment, the dryer was run with distilled water for 15 min to achieve desirable steady-state conditions. The finished microcapsules into the product vessel were stored in an amber glass bottle for further analysis.

## **2.4. Powder Analysis**

### **2.4.1. Moisture Content**

The moisture contents of the microcapsules (3 g) were determined at 105 °C using a weighting balance with a built-in heating element (MOC-120H, Shimadzu Corporation, São Paulo, Brazil) (Polavarapu et al. 2011).

### 2.4.2. Encapsulation Efficiency and Encapsulation Yield

Surface oil was based on the method described by Aghbashlo et al. (2013b) by mixing 15 mL hexane with 2 g dried microcapsule and shaking the mixture for 2 min at room temperature. The slurry was then filtered through a Whatman no. 1 filter paper; each filter paper with collected microparticles was rinsed three times with 20 mL hexane. The filtrate solution containing the extracted oil was transferred to an oven at 70 °C for 6 h for complete evaporation of the hexane. The surface oil of the microcapsule was computed by recording the initial and final weights of the solution container. Powder analyses were replicated three times. The encapsulation efficiency (EE) and encapsulation yield (EY) were calculated by Equations 1 and 2:

$$EE (\%) = \left( (W_{total\ oil} - W_{surface\ oil}) \times 100 \right) \div W_{total\ oil} \quad (\text{Equation 1})$$

Where:

$W_{surface\ oil}$  represents the weight of oil on the surface of the microcapsule and  $W_{total\ oil}$  represents the oil added initially in the particle formation mixture.

$$EY (\%) = (W_{microencapsulated\ oil} \times 100) \div W_{solids\ before\ encapsulation} \quad (\text{Equation 2})$$

Where:

$W_{microencapsulated\ oil}$  represents the total mass of microcapsules obtained after encapsulation and  $W_{solids\ before\ encapsulation}$  represents the total mass of solids before encapsulation.

### 2.4.3. Scanning Electron Microscopy (SEM)

Microscopy was kindly performed at Oswaldo Cruz Foundation of Bahia (Fiocruz – Bahia - Brazil) on microcapsules with the best characteristics. Microcapsules were observed with a Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive X-ray (SEM) (JSM – 6390LV, LEO Electron Microscopy, Oxford, England) operating at 3 nm resolution at 15 kV and at 4 nm resolution at 30 kV. The samples were fixed directly on door-metallic specimens (stubs) and then subjected to metallization (sputtering) with a thin layer of gold in a critical equipment Leica (EM CPD 030, Austria) at a coverage rate



of 0.51 Å/s for 180 s, a current of 3.5 mA, 1 V and  $2 \times 10^{-2}$  Pa. After metallization, the samples were observed with 2,500 x magnification. Image acquisition was performed by the LEO software, version 3.01 (Carneiro et al. 2013).

#### **2.4.4. Thermogravimetric Analysis (TG-DTG) and Differential Scanning Calorimetry (DSC)**

Thermogravimetric curves (TG) and differential thermogravimetric curves (DTG) of crude palm oil (CPO); cassava starch (CS) and gum arabic (GA) encapsulated without oil (white - CS:GA), and microparticles containing crude palm oil (CPO:CS:GA) were kindly performed at the Chemical Institute by the Group of Energy and Materials Science (Federal University of Bahia – Bahia, Brazil). Each sample was wrapped in platinum micro-crucibles and pre-weighed on a thermobalance (Shimadzu, TGA 50H, Brazil). The analysis conditions were: sample mass, 11.5 mg; nitrogen gas flow rate, 50 mL/min; heating rate, 10 °C/min and temperature range, 25°C to 600 °C.

DSC curves were obtained on a differential scanning calorimeter (Seiko, DSC 6220, Japan). Each sample was weighed on an analytical balance (Shimadzu, AY 220, Brazil) and packed in an aluminum micro-crucible. An empty crucible was used as reference. In this analysis, the weight sample was 11.5 mg, the nitrogen gas had a flow rate of 50 mL/min, the heating rate was 10 °C/min and the temperature range was 25 °C to 600 °C.

#### **2.5. Encapsulated and Un-encapsulated Crude Palm Oil Chemical Characterization**

To evaluate the influence of the microencapsulation process on the oil chemical composition, the crude palm oil was chemically characterized. Total carotenoids (TC), color parameters, peroxide value (POV), antioxidant activity (AA), major carotenoid identity, fatty acid profile and oxidative stability were studied before (oil control) and after the microencapsulation process. The oil extraction of the powder was performed according to Partanen et al. (2008). For this purpose, 20 g of microcapsuled crude palm oil was transferred to a 250-mL Erlenmeyer flask with a stopper, 200 mL distilled water was added and then the sample was swirled in a shaker (TE 424, Tecnal, São Paulo) for 30 min. Subsequently, 40 mL iso-octane and 20 mL isopropyl alcohol were added to the solution and the solution was centrifuged (4,000 g, 4 min) (5702 R, Eppendorf, Germany).

Finally, the supernatant was collected, filtered and incubated in a 45°C oven for 3 h to completely evaporate the solvent.

### 2.5.1. Total Carotenoids

Crude palm oil carotenoid quantification was performed on a spectrophotometer (UV - Vis Lambda 25, Perkin Elmer, Waltham, US) by reading the maximum wavelength of absorption of  $\beta$ -carotene (450 nm) in petroleum ether and the concentration calculated considering an absorptivity ( $A^{1\%}_{1\text{ cm}}$ ) of 2592 (Rodriguez-Amaya and Kimura 2004).

$$\text{Total carotenoids } \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = [\text{Ab} \times 100000 \div 2595] \div W_{oil} \quad (\text{Equation 3})$$

Where:

Ab represents the oil absorbance and  $W_{oil}$  represents the oil weight.

### 2.5.2. Major Carotenoids Identification by HPLC

The carotenoid extract was prepared according to Zeb and Murkovic (2013). Carotenoids were extracted from crude palm oil (the oil control) and from the oil microcapsule (5 mg samples). The oil was dissolved in 5 mL of acetone and sonicated for 20 s. The samples were then kept at -20 °C for 24 h. The triacylglycerols crystallized and the carotenoids moved into the acetone fraction. The samples were then quickly filtered. This method removes approximately 90 % of the lipids. Saponification was avoided in order to reduce the formation of artifacts (e.g., hydrolysis of epoxides).

High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis was performed using a HPLC system (Agilent 1100 Series, Germany) equipped with a quaternary solvent pumping system G1311A – DE14917573 (Agilent, 1100 Series, Germany) and a UV/Vis detector G1314B – DE71358944 (Agilent 1100 Series, Germany). A C30 reversed-phase polymeric column (250 mm x 4.6 mm x 3  $\mu\text{m}$  i.d.; YMC, Japan) was used. The wavelength was adjusted to 450 nm. The mobile phase was a linear gradient of water/methanol/methyl *tert*-butyl ether (J. T. Baker-Mallinckrodt, United States) starting at a ratio of 5:90:5. The ratio was changed to 0:95:5 in 12 min, then to 0:89:11 by 25 min, then finally to 0:75:25 by 40 min at a flow rate of 1.0 ml/min at 33°C. The final solvent ratio was maintained until the completion of the 60 min run. (Nunes and Mercadante

2007; Zanatta and Mercadante 2007). Standard curves were constructed from all-*trans*- $\beta$ -carotene (5-50  $\mu\text{g/ml}$ ), all-*trans*- $\alpha$ -carotene (2-25  $\mu\text{g/ml}$ ) and cryptoxanthin (4-100  $\mu\text{g/ml}$ ) (7235-40-7, Sigma-Aldrich, United States). The limits of quantification (LOQ) and detection (LOD) were  $10.89 \times 10^{-2}$  mg/kg and  $6.53 \times 10^{-2}$  mg/kg for all-*trans*- $\beta$ -carotene;  $3.51 \times 10^{-2}$  mg/kg and  $2.11 \times 10^{-2}$  mg/kg for cryptoxanthin; and  $3.28 \times 10^{-2}$  mg/kg and  $1.97 \times 10^{-2}$  mg/kg for all-*trans*- $\alpha$ -carotene, respectively. Areas under peaks were compared with calibration curves. Results were expressed in  $\mu\text{g}$  of carotenoids per g sample.

### 2.5.3. Color Parameters

Color determinations were made using a Minolta colorimeter (CR-400, Minolta, Osaka, Japan) with an illuminant D<sub>65</sub> and observer angle of 2°. Color data are presented as CIELab coordinates, which define the color in a three dimensional space. L\* is an approximate measurement of luminosity, which is the property according to which each color can be considered as equivalent to a member of the gray scale, between black and white, taking values within the range 0–100; a\* takes positive values for reddish colors and negative values for the greenish ones, whereas b\* takes positive values for yellowish colors and negative values for the bluish ones. C\* is chroma  $[(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}]$  and is 0 at the center of a color sphere and increases according to the distance from the center. Finally, h<sub>ab</sub> is the hue angle  $[\tan^{-1}(b^*/a^*)]$  (Andreu-Sevilla et al. 2008).

### 2.5.4. Peroxide Value (POV)

Crude palm oil was subjected to peroxide value determination based on the AOCS method (AOCS Official Method 1993). The peroxide value was computed as follows by Equation 4:

$$\text{POV} \left( \frac{\text{meq}}{\text{Kg}} \right) = [(S - B) \times N \times 1000] \div W \quad (\text{Equation 4})$$

Where:

S is the titration of the sample (in mL); B is the titration of blank (in mL); N is the normality of the sodium thiosulfate solution; and W is the weight of sample (in g).

### **2.5.5. Antioxidant Activity (AA)**

Measurement of 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity was performed according to the methodology described by Brand - Williams et al. (1995). The DPPH solution (100  $\mu$ M) was prepared in ethyl acetate, homogenized and kept in the dark for 30 min to allow the formation of free radicals. The samples were weighed (approximately 100 mg) in test tubes on an analytical balance (M214A, Bel Engineering, Italy). DPPH was added in 4000  $\mu$ L increments, followed by vortex mixing for 10 s. The absorbance readings were performed in a UV-Vis spectrophotometer (Lambda 25, Perkin Elmer, United States) at a wavelength of 515 nm after 30 min. To evaluate the radical scavenging activity, the percent of inhibition was obtained, according to the equation by Mensor et al. (2001):

$$AA(\%) = (A_a - A_b) \times 100 \div A_c \quad (\text{Equation 5})$$

Where:

$A_a$  = absorbance of the DPPH solution without addition of sample;  $A_b$  = absorbance of the mixture of solution of DPPH and sample;  $A_c$  = absorbance of the blank solution without DPPH

### **2.5.6. Palm Oil Fatty Acid Profile by Gas Chromatography (GC)**

Fatty acids profile was determined by the capillary column gas chromatographic method applied to the oil methyl esters (Joseph and Ackman 1992). The amount of total fatty acids (sum of free and bounded fatty acids) of each oil was obtained by transesterification into the corresponding methyl esters (fatty acid methyl esters - FAME), through saponification with NaOH in methanol, followed by methylation with  $BF_3$  catalyst (12 % in methanol). The FAME were extracted with iso-octane and stored in an inert atmosphere (N) in freezer at  $-18^\circ\text{C}$ . The FAME separation was performed on a gas chromatograph (3800, Varian, United States) equipped with a flame ionization detector

and a fused silica capillary column (58 FFAP, Elite-WAX, United States) (30 m × 0.32 mm × 0.25 mm). The analysis parameters were: injector temperature of 250 °C and detector temperature of 280°C. The following thermal program was used: 150°C for 16 min, then increasing 2 °C/min up to 180°C, held for 25 min, following an increase of 5 °C/min up to 210°C, held for 25 min more. Helium was used as carrier gas at 1.3 ml min<sup>-1</sup>. Nitrogen gas was used as make up gas (30 ml min<sup>-1</sup>); flow of hydrogen gas and synthetic air were provided at 30 and at 300 ml min<sup>-1</sup>, respectively. The injections were performed in duplicate for each extraction in volume of 1 µl. FAME were identified by comparing their retention times with those of authentic standards (189-19, Sigma-Aldrich, United States). The quantification of fatty acids, expressed in milligrams per gram of lipids, was performed by adding internal standard (C23:0, Sigma, United States) and calculating the extracted lipids according to Equation 6. Reported yields were averaged from three replicate extractions (Nascimento et al. 2013):

$$\text{Concentration (mg /g)} = (A_x \times W_{is} \times CF_x) \div (A_{is} \times W_s \times CF_s) \times 1000 \text{ (Equation 6)}$$

Where:

$A_x$ : Area of methyl ester fatty acid peak in the chromatogram of the sample;  $W_{is}$ : Weight (in milligrams) of internal standard added to the sample;  $CF_s$ : Conversion factor of fatty acid methyl ester to fatty acid;  $A_{is}$ : Area of internal standard methyl ester of fatty acid peak in the chromatogram of the sample;  $W_s$ : Sample weight (in milligrams);  $CF_x$ : Correction factor response of each fatty acid methyl ester ionization detector, relative to C23:0.

### 2.5.7. Oxidative Stability Test

The prepared microcapsules were stored at 45 °C for 5 weeks in an incubator in order to accelerate the oxidation process. Aliquots (250.0 g) of each sample were poured into each PYREX glass vessels. Samples were taken at intervals for encapsulation efficiency, peroxide value (POV) and total carotenoids were determined weekly. Crude palm oil was used as control.

## 2.6. Statistical Analysis

Moisture content, efficiency and yield of microcapsules were evaluated in triplicates by analysis of variance (ANOVA) and Turkey's test  $p < 0.05$  using SPSS (ver. 15). For analysis of total carotenoids, carotenoids identification, color parameters, peroxide value, antioxidant activity, fatty acids profile and oxidative stability test oil before and after encapsulation was used paired t-test  $p < 0.05$  using as well SPSS (ver.15). All these experiments were replicated fivefold.

## 3. Results and Discussion

### 3.1. Moisture Content of Microcapsules

The characteristics of the generated microcapsules are reported in Table 1. The moisture content of the capsules varied from 0.74% to 2.79%. This finding was somewhat different from the moisture content of encapsulated rosemary essential oil reported by Fernandes et al. (2014) (1.40% to 3.56%) that used combinations of gum arabic, modified starch, maltodextrin and inulin as wall materials and used inlet drying air temperature of 180 °C. Aghbashlo et al. (2013b) also reported slightly higher moisture contents (1.41% to 4.36%) of microencapsulated fish oil with wall material combinations of whey protein concentrate, whey protein isolated, skimmed milk powder and sodium caseinate and 140 °C (4,36 %), 160 °C and 180 °C (1,41%) as the inlet drying air temperatures. The slight discrepancies have several explanations. For example, the air inlet temperature used in this study was 180 °C, which is slightly higher than that in Aghbashlo et al. 2013a).

In general, the capsules did not show significant differences with respect to the moisture content when made with different wall material combinations. One exception was that the microcapsules made with GA: WPC (80: 20) had a significantly lower moisture content ( $p < 0.05$ ) compared to other combinations (Table 1). The relatively low moisture content of the capsules is promising for shelf stability because a high moisture content seems to promote fat oxidation (Dian et al. 1996). According to Aghbashlo et al. (2013b), Drusch et al. (2007) and Wang et al. (2011), a high inlet temperature of 180 °C accelerates the evaporation rate, resulting in microcapsules with low moisture.

Table 1: Characteristics of the generated crude palm oil microcapsules using different wall materials at 180°C.

Wall Material			Moisture Content (%)	Encapsulation Efficiency (%)	Encapsulation Yield (%)
CS (%)	GA (%)	WPC (%)			
20	-	80	2.26 ± 0.105 <sup>a</sup>	93.47 ± 2.406 <sup>a</sup>	28.66 ± 0.781 <sup>c</sup>
20	80	-	2.35 ± 0.115 <sup>a</sup>	96.53 ± 0.504 <sup>a</sup>	40.97 ± 2.055 <sup>a</sup>
50	50	-	2.79 ± 0.100 <sup>a</sup>	92.77 ± 2.909 <sup>ab</sup>	56.96 ± 3.091 <sup>b</sup>
-	20	80	1.64 ± 0.978 <sup>a</sup>	92.99 ± 1.938 <sup>a</sup>	54.54 ± 2.902 <sup>b</sup>
-	50	50	2.58 ± 0.394 <sup>a</sup>	94.15 ± 1.060 <sup>a</sup>	39.10 ± 1.102 <sup>a</sup>
-	80	20	0.74 ± 0.780 <sup>b</sup>	97.89 ± 0.112 <sup>ac</sup>	47.03 ± 1.945 <sup>d</sup>

CS: Cassava Starch; GA: Gum Arabic; WPC: Whey Protein Concentrate (Derived from Milk). Different letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

### 3.2. Encapsulation Efficiency and Yield

Encapsulation efficiency varied significantly between wall material combinations ( $p < 0.05$ ) and ranged from 92.77% to 97.89%. These results are above the levels reported by Aghbashlo et al. (2013a) (59.05% - 85.67%), Aghbashlo et al. (2013b) (40.59% - 81.94%) and Gallardo et al. (2013) (25.5% - 91.4%). Thus, the particles in this study likely exhibit greater protection against lipid oxidation, given that there is less surface oil.

Encapsulation efficiency determines the degree of oil protection and is dependent upon numerous factors; the two most frequently cited factors are inlet air temperature and wall material (Gallardo et al. 2013). The temperature used for drying microcapsules in this study, 180 ° C, may have contributed to the high efficiencies that we observed. According to Aghbashlo et al. (2013b), high inlet temperatures contribute to fast formation of the microcapsules and a firm membrane that reduces migration of the oil to the encapsulated surface.

Furthermore, the wall material combinations WPC + CS, CS + GA and GA + WPC, in relation to the oil amount used, may have contributed to our high observed encapsulation efficiency. This outcome occurred because, in general, the ratio of wall material relative to the core should be between 2 and 4 and, in this study, it was 4:1 (wall material: oil). A ratio lower than 2 can lead to increased surface oil, while a ratio greater than 4 results in a capsule with a very low content of encapsulated oil. A low content of encapsulated oil is typically not desirable for food applications (Gallardo et al. 2013).

Microcapsules with 80% GA and 20% WPC showed the highest efficiency. It is argued that the presence of the disaccharide lactose in the concentrated whey protein may alter wall properties, thus facilitating wall formation and reducing oil retained on the inner

surface of the particles. The development of nitrogenous polymers and melanoidins, as a result of the reaction between the amino groups of proteins and the carbonyl groups of lactose (the Maillard reaction), may also contribute to formation of the wall. In a previous study, protein-carbohydrate conjugates formed by the Maillard reaction stabilized fish oil microcapsules by changing the physical properties of the wall (Aghbashlo et al. 2013b). Furthermore, according to Gharsallaoui et al. (2007), lactose in its amorphous state acts as a hydrophilic sealant that significantly limits the diffusion of oil through the hydrophobic wall core, thus leading to high levels of microencapsulation efficiency.

As presented in Table 1, the microencapsulation yield ranged from 28.66% to 56.96%. There are few studies involving oil encapsulation and the process yield. Calvo et al. (2012) and Nunes and Mercadante (2007) both obtained a maximum encapsulation yield of approximately 51% with extra virgin olive oil in a maltodextrin and modified starch capsule, and lycopene in a gum arabic and sucrose capsule, respectively. Low temperatures do not promote proper drying, though the drying temperature was not a problem in this study. However, the dust removal process in the drying chamber was complicated and may have contributed to the relatively low yield.

In general, the values obtained for efficiency met or exceeded those reported in other studies. The microcapsule with CS: GA - 50: 50 demonstrated the highest process yield ( $p < 0.05$ ). Furthermore, the addition of 50% cassava starch to the wall material provides a significant economic benefit when considering production on an industrial scale because the CS is cheaper than most other wall materials (all of the materials used in this study). In addition, with cassava starch-encapsulated palm oil, the potential exists to increase the commercial value of both CS and crude palm oil.

### **3.3. SEM Image**

Figure 1 shows the SEM image of crude palm oil microcapsules produced with 50% CS and 50% GA by spray drying at an air inlet temperature of 180 °C. The encapsulate has a spherical shape without visible cracking, and these characteristics indicate that the capsules are less permeable to gases, oxidative processes and undesirable oil leakage to the particle surface. Furthermore, they showed different diameters ranging 12  $\mu\text{m}$  – 32  $\mu\text{m}$ . Carneiro et al. (2013), Drusch et al. (2007) and Gallardo et al. (2013)



microencapsulated linseed oil, fish oil and linseed oil, respectively, and observed similar microcapsule morphology.

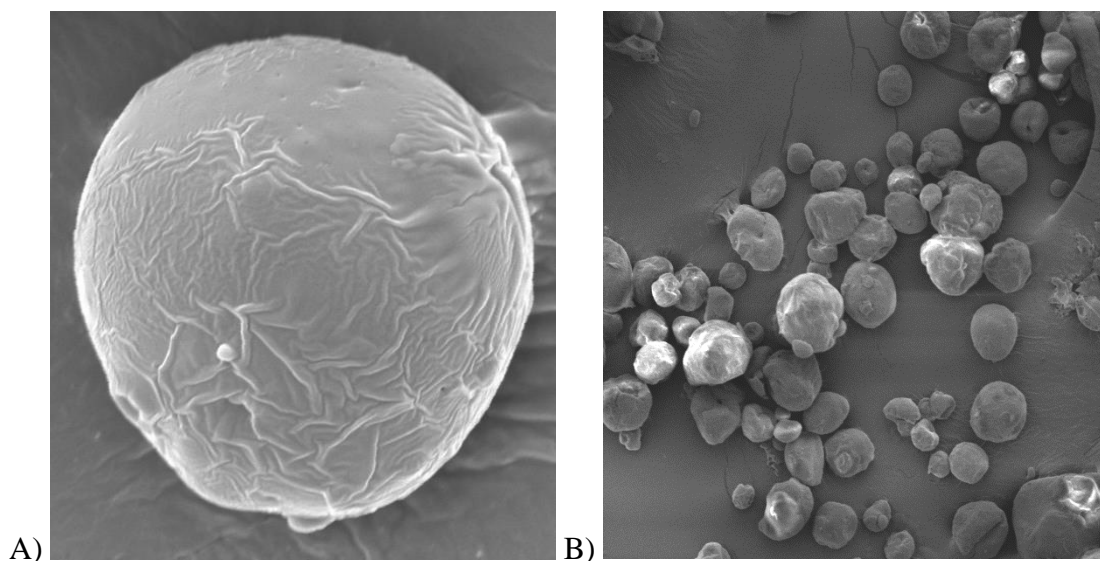


Fig. 1: SEM image of crude palm oil microencapsulated by spray drying with 50% CS and 50% GA as wall materials in two different magnification: 2500 x (A) and 300 x (B).

### 3.4. Thermogravimetric Analysis (TG-DTG) and Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Thermogravimetric curves (Fig. 2 A and B) show crude palm oil thermal analysis decomposition between 217°C to 495°C, with approximately 1.5% residue (Fig. 2 A). When microencapsulated with cassava starch and gum arabic and spray dried, the decomposition temperature increased to the range of 244°C to 569°C (Fig. 2 A and B) with a residue percentage of approximately 16% (Fig. 2 A). Without oil, the CS/GA decomposition was in the range of 250°C to 492°C C (Fig. 2 A and B) with a residue of approximately 22% (Fig. 2 A), indicating that the microcapsules increased the thermal stability of pure crude palm oil. Fernandes et al. (2014) found that gum arabic as a wall material increases the glass transition temperature ( $T_g$ ) of oil in studies of oil microencapsulation. The increase in  $T_g$  is because encapsulation increases the maximum molar mass (from 47,000 to 3,000,000  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), and  $T_g$  is positively associated with molar mass. Thus, gum arabic as an encapsulating material provides increased microcapsule thermal resistance, which makes it a promising wall material for applications in the food industry.

Phase transitions can be obtained from DSC curves from the peak temperatures. As shown in Figure 3, crude palm oil has an endothermic peak at 422°C, corresponding to oil evaporation. Comparing the calorimetric curve of crude palm oil microcapsules with the materials without oil, it was observed that the presence of crude palm oil influences the thermal microspheres performance. Microcapsulated palm oil showed an endothermic event at 72 °C, while the wall materials alone showed an endothermic event at 82°C, thus demonstrating similar thermal behavior. Thus, it appears that the microspheres obtained by the spray-drying process retained the thermal performance of the carbohydrates used as wall materials.

There was a little change in the crude palm oil thermal resistance, which suggests no modification or interaction between crude palm oil and carbohydrates such as wall materials used in the crude palm oil microcapsule structure.

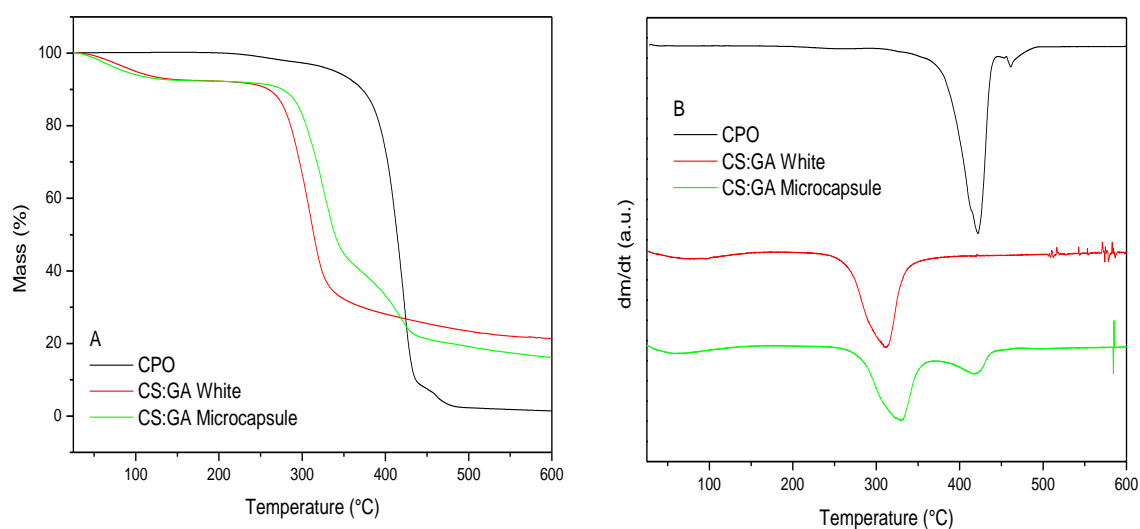


Fig. 2: TG (A) and DTG (B) scans of crude palm oil (CPO); cassava starch (CS): gum arabic (GA) encapsulated without oil (white) and with crude palm oil.

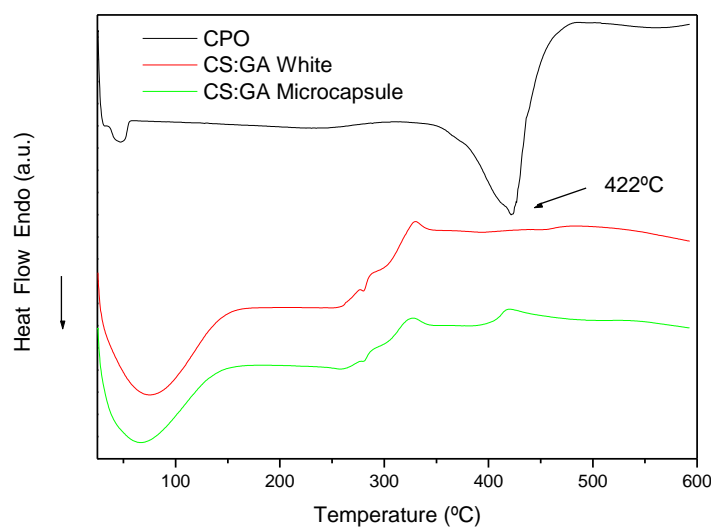


Fig. 3: DSC scans of crude palm oil (CPO) and cassava starch (CS): gum arabic (GA) encapsulated without oil (white) and with crude palm oil.

### 3.5. Microencapsulation Effects on the Crude Palm Oil Characteristics

#### 3.5.1. Total Carotenoids, Major Carotenoids Identification, Color Parameters, Peroxide Value and Antioxidant Activity

Average carotenoid content found in crude palm oil before and after the encapsulation was  $608.39 \pm 32.94 \mu\text{g/g}$  and  $600.52 \pm 16.05 \mu\text{g/g}$ , respectively (Table 2), indicating that the spray-drying processing conditions preserved the bioactive compounds and furthermore were within the range established by Codex (2013) ( $500\text{-}2,000 \mu\text{g/g}$ ). Similar values for the carotenoid content in crude palm oil without heating were found by Almeida et al. (2013) ( $578.26 \pm 5.99 \mu\text{g/g}$ ), Baharin et al. (2001) ( $632 \pm 15.5 \mu\text{g/g}$ ), and Choo et al. (2005) ( $550 \pm 10$  and  $600 \pm 20 \mu\text{g/g}$ ). Dian et al. (1996) reported  $215.18 \mu\text{g/g}$  carotenoids in microencapsulated refined palm oil, while their crude palm oil control contained  $358.3 \mu\text{g/g}$  carotenoids.

The major carotenoids in the crude palm oil before and after encapsulation were all-*trans*- $\beta$ -carotene and all-*trans*- $\alpha$ -carotene. However, there was a significant reduction of these carotenoids when subjected to microencapsulation ( $p < 0.05$ ). All-*trans*- $\beta$ -carotene and all-*trans*- $\alpha$ -carotene were measured in the following concentrations, respectively:  $233.44 \pm 21.40 \mu\text{g/g}$  and  $88.78 \pm 10.65 \mu\text{g/g}$  for crude palm oil (control) and  $170.50 \pm 17.15 \mu\text{g/g}$  and  $67.37 \pm 6.93 \mu\text{g/g}$  for the oil extracted from the microcapsule.

Despite the well-known phenomenon of carotenoid degradation, the mechanisms involved have not been elucidated. In contrast, for lipid oxidation, the different reactions and the initial, intermediate and final products are known.

According to Rodriguez-Amaya and Kimura (2004), knowledge of underlying mechanisms of oxidative reactions and degradation of carotenoids is necessary not only to avoid the loss of these beneficial compounds during processing and storage of food, but also to assess the implications in biological processes. Studies performed by Aust et al. (2003) indicated that lycopene degradation products enhance cell-cell communication via gap junctions, and this process is implicated in the protective mechanisms of carotenoids against cancer.

Table 2: Total carotenoids, color parameters, peroxide values and antioxidant activity characteristics of the crude palm oil (CPO) when encapsulated with 50:50 CS and GA as wall materials.

	Total carotenoids ( $\mu\text{g/g}$ )	Color parameters					Peroxide Value (meq/Kg)	Antioxidant activity (%)
		L*	a*	b*	C	$h_{ab}$		
CPO before encapsulation	608.39 $\pm$ 32.94	34.96 $\pm$ 0	17.97 $\pm$ 0	28.88 $\pm$ 0	34.02 $\pm$ 0	58.11 $\pm$ 0	3.56 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	56.83 $\pm$ 2.49 <sup>a</sup>
-control		.31 <sup>a</sup>	.24 <sup>a</sup>	.43 <sup>a</sup>	.49 <sup>a</sup>	.10 <sup>a</sup>		
CPO after encapsulation	600.52 $\pm$ 16.05	33.51 $\pm$ 0	16.89 $\pm$ 1	26.48 $\pm$ 1	32.45 $\pm$ 1	50.98 $\pm$ 0	11.16 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	29.25 $\pm$ 1.13 <sup>b</sup>
		.70 <sup>a</sup>	.82 <sup>a</sup>	.52 <sup>b</sup>	.29 <sup>b</sup>	.26 <sup>b</sup>		

Different letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

For crude palm oil,  $b^*$ ,  $C^*$  and  $h_{ab}$  coordinates before and after encapsulation were statistically different ( $p < 0.05$ ) (Table 2). In general, the oil retained its luminosity (i.e.,  $L^*$  was maintained), and showed the same redness (i.e.,  $a^*$  was maintained), perhaps indicating preservation of carotenoids after microencapsulation. However, encapsulation led to a reduced  $b^*$  value, signifying less yellow.

The peroxide value increased significantly ( $p < 0.05$ ) due to microencapsulation (Table 2). The POV of palm oil extracted from capsules was  $11.16 \pm 0.00$  meq/Kg oil while the POV of crude palm oil before encapsulation was  $3.56 \pm 0.19$  meq/Kg oil. The increase in POV can be explained by the high oil temperature during the drying process. Aghbashlo et al. (2013b) explained that the higher the processing temperature, the higher the amount of generated peroxides due to the rapid oxidation of lipids from the intensive energy present at higher drying temperatures. Importantly, crude palm oil after encapsulation remained within the parameters set by Codex (2013) for this analysis (15 meq/kg oil), indicating the quality of the oil was preserved.

Percent inhibition of DPPH• by palm oil was significantly reduced with microencapsulation ( $p < 0.05$ ) (Table 2). This result is possibly due to the increase of the peroxide value because the latter indicates a higher degree of oxidation of the oil and also due to the reduction of antioxidants such as vitamin E (Ramadan et al. 2006). Furthermore, although total carotenoids did not change, the spray-dryer heat could have promoted isomerization of *trans* carotenoids to their less common *cis* forms. Isomerization results in some loss of color and provitamin A activity, which ultimately reduces antioxidant activity.

Arana-Sánchez et al. (2010) microencapsulated essential oregano oil and obtained an increase in antioxidant activity in the oil after encapsulation. They attributed this increase to changes in the composition of pure oils in the microencapsulation process, given that there was less degradation of the oils. The inlet temperature that they used for microencapsulation (105 °C) was lower than that used in this study, which may account for the different in results.

### 3.5.2. Fatty Acid Profile

The fatty acid (FA) profile was evaluated to assess the effects of the microencapsulation process (i.e., microcapsule emulsion and oil inclusion) on the oil composition according to the different wall components. In general, few differences were observed among the un-encapsulated oil and the oil from the microcapsule model (Table 3). Only the levels of palmitic acid and oleic acid showed significant differences after the oil encapsulation. However, all fatty acids found before and after encapsulation were within the standards published by CODEX (2013). Calvo et al. (2012) reported that fish oil microencapsulated in a wall material of basic protein retained high concentrations of monounsaturated fatty acids. In addition, they reported that wall material composed of carbohydrates could also protect encapsulated mono and polyunsaturated fatty acids. This factor may explain the reduction of oleic acid after the crude palm oil encapsulation. In addition, this result may be explained in terms of the structure of the FAs. Generally, the greater the number of double bonds in the FA, the greater the ease of its oxidation, for example by oxygen or light (Polavarapu et al. 2011).

Table 3: Characteristics of encapsulated and un-encapsulated (control) crude palm oil on the fatty acid profile.

Fatty acid (mg/g)	Crude palm oil before encapsulation - control	Crude palm oil after encapsulation
Lauric acid (C12:0)	0.48±0.06 <sup>a</sup>	0.00±0.06 <sup>a</sup>
Myristic acid (C14:0)	0.79±0.04 <sup>a</sup>	0.79±0.10 <sup>a</sup>
Palmitic acid (C16:0)	40.57±0.26 <sup>a</sup>	40.89±0.15 <sup>b</sup>
Palmitoleic acid (C16:1)	0.12±0.01 <sup>a</sup>	0.13±0.00 <sup>a</sup>
Stearic acid (C18:0)	4.81±0.04 <sup>a</sup>	4.77±0.06 <sup>a</sup>
Oleic acid (C18:1)	43.84±0.18 <sup>a</sup>	43.29±0.26 <sup>b</sup>
Linoleic acid (C18:2)	8.86±0.16 <sup>a</sup>	8.67±0.04 <sup>a</sup>
Linolenic acid (C18:3)	0.23±0.02 <sup>a</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>
Eicosadienoic acid (C20:0)	0.31±0.03 <sup>a</sup>	0.30±0.03 <sup>a</sup>

Different letters in different columns indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

### 3.5.3. Oxidative Stability Test

Capsules were stored for 5 weeks at 45°C and their residual encapsulated oil (the amount of oil retained within the capsules), peroxide value and total carotenoids were monitored (Fig. 4). The residual encapsulated oil decreased from  $92.77 \pm 0.37\%$  to  $90.62 \pm 1.21\%$  (Fig. 4 A); the peroxide value of encapsulated oil increased from  $11.16 \pm 0.00$  meq/kg oil to  $12.54 \pm 0.00$  meq/kg oil ( $p < 0.05$ ) (Fig. 4 B) and total carotenoids (Fig. 4 C) of encapsulated oil decreased from  $600.52 \pm 2,67$  ppm to  $378.44 \pm 10.67$  ppm ( $p < 0.05$ ). Thus, 63.02% of carotenoids were retained in the microcapsules.

Ahn et al. (2008) assessed the peroxide value and the values of encapsulation efficiency of encapsulated flaxseed oil at accelerated storage conditions at  $60 \pm 1^\circ\text{C}$  for 30 days and observed a reduction in carotenoids and increase of peroxides with storage time. Moreover, Aghbashlo et al. (2013b) corroborated their findings under accelerated storage conditions of  $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  for 4 weeks with fish oil. Although the encapsulation efficiency decreased in week 1, this reduction was not significant at weeks 2 and 3. Tonon et al. (2011) reported the lowest peroxide value of 0.017 meq/kg oil and the highest encapsulation efficiency (91.97%) when investigating the effect of emulsion composition and inlet drying air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil.

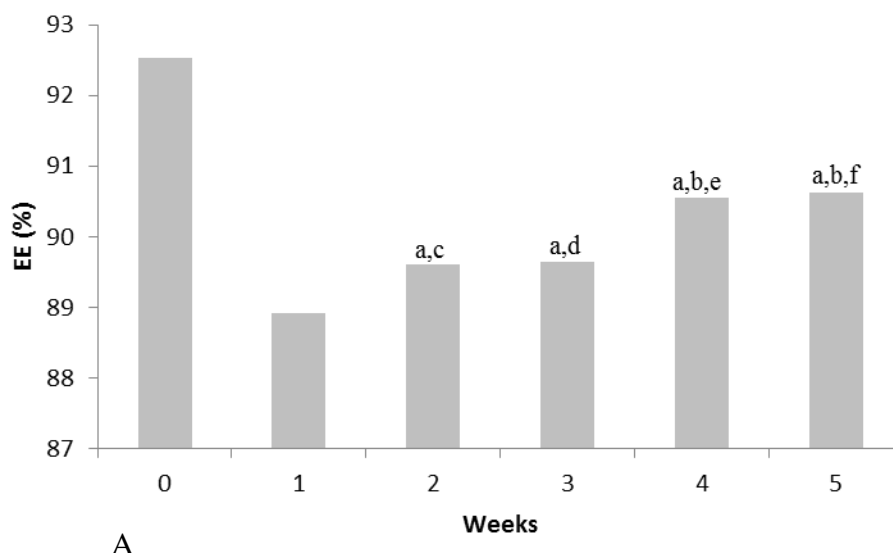
Oil can be released to the surface of the microcapsule during storage, leading to a poorer oil protection against oxidation. This release may be related to physical and chemical changes of the capsule wall and molecular diffusion of oil. The released oil, when in contact with oxygen, is much more susceptible to oxidation than its encapsulated form. However, with increasing storage time, the amount of permeated oxygen from the wall to the inside of the particle dramatically increases, and therefore the peroxide

formation can occur in the interior of the capsule (Aghbashlo et al. 2013b, Wang et al. 2011 and Ahn et al. 2008).

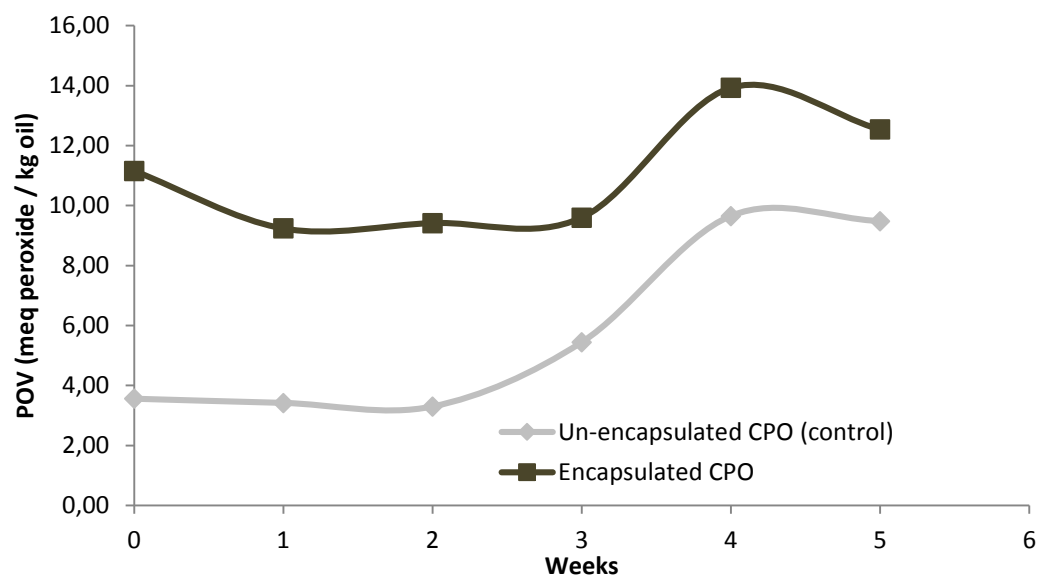
Despite these results, the POV values after the encapsulation process remained within the maximum limit set by Codex (2013), which is 15 meq/kg oil. However, as observed in thermal analysis, the microcapsules withstood very high temperatures. Thus, although there was a significant reduction in carotenoids in the oxidative stability test, compared to other oils, crude palm oil remains an important source of carotenoids and pro-vitamin A activity. Therefore, these microcapsules can be applied to fortify foods which, for example, are not subjected to heating and oxygen.

Regarding the differences found with respect to the oil before and after encapsulation, in microcapsules, carotenoids reduced ( $608.39 \pm 5.41 \mu\text{g/g}$  –  $580.16 \pm 10.02 \mu\text{g/g}$  – before encapsulation) ( $600.52 \pm 2.67 \mu\text{g/g}$  –  $378.44 \pm 10.67 \mu\text{g/g}$  – after encapsulation) and peroxides increased ( $3.56 \pm 0.19 \text{ meq/kg oil}$  –  $9.48 \pm 0.46 \text{ meq/kg oil}$  – before encapsulation) ( $11.16 \pm 0.0 \text{ meq/kg oil}$  –  $12.54 \pm 0.0 \text{ meq/kg oil}$  – after encapsulation) more than in the control oil possibly the question of porosity of the powder. When the material is porous, there is a space between the particles is filled by air, then carotenoids reduced over the dust as it acted in the deactivation of more oxygen. In oil, the penetration of oxygen is slower. However, when microencapsulated, the oil becomes dispersible in water, allowing mixing it in foods, especially solid without sensory changes.

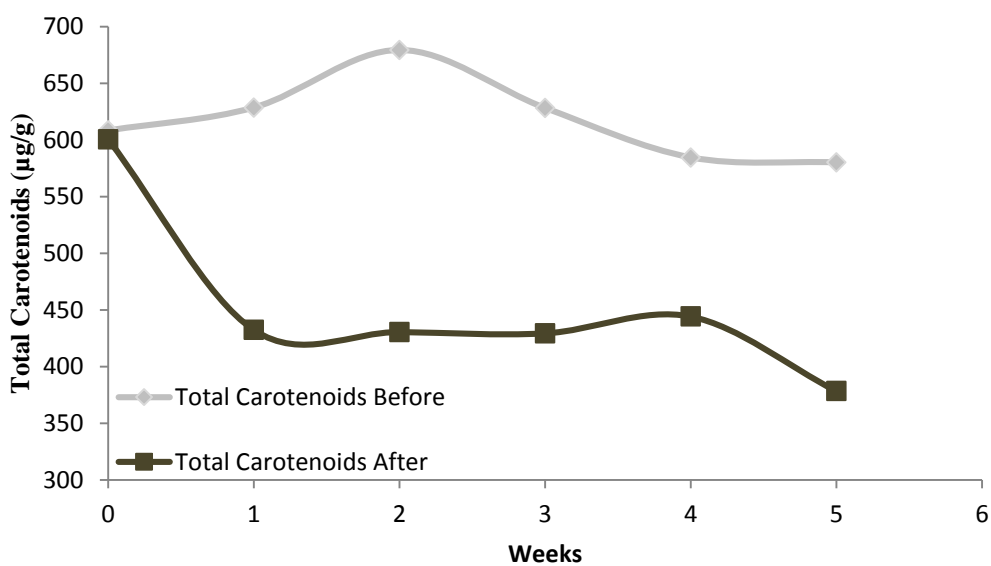
Carotenoids act by sequestering reactive oxygen species, such as the peroxide radical ( $\text{ROO}\bullet$ ) and singlet oxygen ( $^1\text{O}_2$ ) (Ribeiro et al. 2011; Rodriguez-Amaya and Kimura 2004). Changes in these compounds can be attributed to degradation by heat, which can cause carotenoid isomerization and oxidation (Andreu-Sevilla et al. 2008).



A



B



C

Fig. 4: The effect of storage time on the encapsulation efficiency (A), peroxide value (B) and total carotenoids (C) of microencapsulated crude palm oil. In A, different letters indicate significant differences between the weeks ( $p < 0.05$ ).

In B and C, different letters indicate significant differences between un-encapsulated and encapsulated crude palm oil for each storage time ( $p < 0.05$ ). EE: encapsulation efficiency; POV: peroxide value.



#### 4. Conclusion

Spray drying is a suitable method to encapsulate crude palm oil within cassava starch and gum arabic wall materials. The presence of these wall materials in a 50: 50 blend, specifically, improved the encapsulating capability. This process promotes satisfactory results of encapsulation efficiency and yield, fatty acid profile, color parameters and total carotenoids, but decreased the antioxidant activity and increased the peroxide value. Thermal analyses revealed a good resistance of crude palm oil to encapsulation. Although there was a reduction of carotenoids in the oxidative stability test, they acted as excellent antioxidant in the stability test and furthermore, compared to other oils, crude palm oil remains an important source of bioactive compounds and has the potential to be applied in the food fortification industry, especially in foods that do not need to be heated and stored in the absence of oxygen.

#### Acknowledgements

The authors thank CNPq (Process n° 482846/2012-7/2012) and FAPESB (Term n°: BOL2924/2013) for the financial support; SENAI, Salvador-Bahia, Brazil, for the partnership and Fiocruz, Salvador-Bahia, Brazil, for the electronic scanning microscopy.

#### References

AGHBASHLO, M.; MOBILI, H.; MADADLOU, A. AND RAFIEE, S. Fish oil microencapsulation as influenced by spray dryer operational variables. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 8, p. 1707–1713, 2013a.

AGHBASHLO, M.; MOBILI, H.; MADADLOU, A.; SHAHIN, R. Influence of Wall Material and Inlet Drying Air Temperature on the Microencapsulation of Fish Oil by Spray Drying. **Food Bioprocess Technology**, v. 6, n. 1561–1569, 2013b.

AHN, J.; KIM, Y.; YU-MI, L.; SEO, E.; LEE, K.; KIM, H. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 107, p. 98–105, 2008.

ALMEIDA, D. T. de; NUNES, I. L.; CONDE, P. L.; ROSA, R. P. S.; ROGÉRIO, W. F.; MACHADO, E. R. A quality assessment of crude palm oil marketed in Bahia, Brazil. **Grasas y Aceites**, v. 64, n. 4, p. 387-394, 2013.

ANDREU-SEVILLA, A.; HARTMANN, A.; SAYAS, E.; BURLÓ-CARBONELL, F.; DELGADO-ESTRELLA, P.; VALVERDE, J. M.; CARBONELL-BARRACHINA, A. Mathematical quantification of total carotenoids in Sioma oil using color coordinates and multiple linear regression during deep-frying simulations. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 1283 – 1291, 2008.

AOCS. AOCS Official method Cd 8-53. In F. Gunstone (Ed.), *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society method Cd 8-53. Peroxide value acetic acid–chloroform method (4th ed.)*. Champaign, IL: AOCS Press, 1993.

ARANA-SÁNCHEZ, A.; ESTARRÓN-ESPINOSA, M.; OBLEDO-VÁZQUEZ, E. N.; PADILLA-CAMBEROS, E.; SILVA-VÁZQUEZ, R.; LUGO-CERVANTES, E. Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in  $\beta$ -cyclodextrin. **Letters in Applied Microbiology**, 50, 585–590, 2010.

AUST, O.; ALE-AGHA, N.; ZHANG, L.; WOLLERSEN, H.; SIES, H.; STAHL, W. Lycopene oxidation product enhances gap junctional communication. **Food Chem Toxicol**, v. 41, n. 1399–1407, 2003.

BAHARIN, B. S.; LATIP, R. A.; CHE MAN Y. B.; RAHMAN, A. The Effect of Carotene Extraction System on Crude Palm Oil Quality, Carotene Composition, and Carotene Stability During Storage. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 78, p. 851-855, 2001.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT- Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CALVO, P.; CASTAÑO, Á. L.; LOZANO, M.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. Influence of the microencapsulation on the quality parameters and shelf-life of extra-virgin olive oil encapsulated in the presence of BHT and different capsule wall components. **Food Research International**, v.45, p. 256–261, 2012.

CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v.115, p.443 – 451, 2013.

CHOO, Y. M.; NG, M. H.; MA, A. N.; CHUAH, C. H.; HASHIM, M. A. Application of supercritical fluid chromatography in the quantitative analysis of minor components (carotenes, vitamin E, sterols, and squalene) from palm oil. **Lipids**, v. 40, p. 429-432, 2005.

CODEX ALIMENTARIUS (FAO/WHO). (2013). Codex Standard for named vegetable oils. CODEX STAN 210. Roma, 2013. Available: <<http://www.codexalimentarius.org/standards/>> Access: March 9th 2014.

- DIAN, N. L. H. M.; SUDIN, N.; YUSOFF, M. S. A. Characteristics of Microencapsulated Palm-Based Oil as Affected by Type of Wall Material. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 70, p. 422 – 426, 1996.
- DOMIAN, E.; SUŁEK, A.; CENKIER, J.; KERSCHKE, A. Influence of agglomeration on physical characteristics and oxidative stability of spray-dried oil powder with milk protein and trehalose wall material. **Journal of Food Engineering**, v. 125, p. 34 – 43, 2014.
- DRUSCH, S.; MANNINO, S. Patent-based review on industrial approaches for the microencapsulation of oils rich in polyunsaturated fatty acids. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 237 – 244, 2009.
- DRUSCH, S.; SERFERT, Y.; SCHMIDT-HANSBERG, B.; SCAMPICCHIO, M.; SCHWARZ, K. Impact of Physicochemical Characteristics on the Oxidative Stability of Fish Oil Microencapsulated by Spray Drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 11044 – 11051, 2007.
- FANG, Z., BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols e a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 510 – 523, 2010.
- FAS. (2013). Foreign Agricultural Service. United States Department of Agriculture (USDA). Oilseeds and Products Annual: Brazil, 2013. Available: <[http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual\\_Brasilia\\_Brazil\\_3-28-2013.pdf](http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual_Brasilia_Brazil_3-28-2013.pdf)>. Access: March 3th 2014.
- FAS. (2014). Foreign Agricultural Service. United States Department of Agriculture (USDA). Oilseeds: World Markets and Trade, 2014. Available: <[http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual\\_Brasilia\\_Brazil\\_02-10-2014.pdf](http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual_Brasilia_Brazil_02-10-2014.pdf)> Access: March 3th 2014.
- FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 524 – 532, 2014.
- GALLARDO, G.; GUIDA, L.; MARTINEZ, V.; LÓPEZ, M. C.; BERNHARDT, D.; BLASCO, R.; PEDROZA-ISLAS, R.; HERMIDA, L. G. Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. **Food Research International**, v.52, p. 473 – 482, 2013.
- GEE, P. T. Analytical characteristics of crude and refined palm oil and fractions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.109, p. 373 – 379, 2007.
- GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v.40, p. 1107 – 1121, 2007.
- JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; BHANDARI, B.; HE, Y. Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. **Food Research International**, v. 41, p. 172 – 183, 2008.

JOSEPH J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International**, v. 75, p. 488 – 506, 1992.

KAGAMI, Y.; SUGIMURA, S.; FUJISHIMA, N.; MATSUDA, K.; KOMETANI, T.; MATSUMURA, Y. Oxidative Stability, Structure, and Physical Characteristics of Microcapsules Formed by Spray Drying of Fish Oil with Protein and Dextrin Wall Materials. **Journal of Food Science**, v. 68, p. 2248 – 2255, 2003.

KANAKDANDE, D.; BHOSALE, R.; SINGHAL, R. S. Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 536 – 541, 2007.

KRISHNAN, S.; KSHIRSAGAR, A. C.; SINGHAL, R. S. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 62, p.309 – 315, 2005.

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

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 127 – 130, 2001.

NASCIMENTO, I. A.; MARQUES, S. S. I.; CABANELAS, I. T. D.; PEREIRA, S. A.; DRUZIAN, J. I.; SOUZA, C. O.; VICH, D. V.; CARVALHO, G. C.; NASCIMENTO, M. A. Screening Microalgae Strains for Biodiesel Production: Lipid Productivity and Estimation of Fuel Quality Based on Fatty Acids Profiles as Selective Criteria. **Bioenergy Research**, v. 6, p. 1 – 13, 2013.

NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Encapsulation of Lycopene Using Spray-Drying and Molecular Inclusion Processes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p. 893 – 900, 2007.

PARTANEN, R.; RAULA, J.; SEPPÄNEN, R.; BUCHERT, J.; KAUPPINEN, E.; FORSSELL, P. Effect of relative humidity on oxidation of flaxseed oil in spray dried whey protein emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 5717 – 5722, 2008.

POLAVARAPU, S.; OLIVER, C. M.; AJLOUNI, S.; AUGUSTIN, M. A. Physicochemical characterisation and oxidative stability of fish oil and fish oil–extra virgin olive oil microencapsulated by sugar beet pectin. **Food Chemistry**, v. 127, p.1694 – 1705, 2011.

QUISPE-CONDORI, S.; SALDAÑA, M. D. A.; TEMELLI, F. Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 1880 – 1887, 2011.

RAMADAN, M. F.; AMER, M. M. A.; SULIEMAN, A. E. M. Correlation between physicochemical analysis and radical-scavenging activity of vegetable oil blends as affected by frying of French fries. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 108, p. 670 – 678, 2006.

RASCÓN, M. P.; BERISTAIN, C. I.; GARCÍA, H. S.; SALGADO, M. A. Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum Arabic and Soy protein isolate as wall materials. **Food Science and Technology**, v. 44, p.549 – 557, 2011.

RIBEIRO, B. D.; BARRETO, D. W.; COELHO, M. A. Z. Technological aspects of  $\beta$ -carotene production. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 5, p. 693 - 701, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. Harvest Plus Handbook for Carotenoid Analysis. Harvest Plus Technical Monograph 2, 2004.

TONON, R. V. GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, p. 282 - 289, 2011.

WANG, R.; TIAN, Z.; CHEN, L. A novel process for microencapsulation of fish oil with barley protein. **Food Research International**, v. 44, p. 2735 – 2741, 2011.

WANG, Y.; CHUNG, S.; MCCULLOUGH, M. L.; SONG, W. O.; FERNANDEZ, M. L.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Dietary Carotenoids Are Associated with Cardiovascular Disease Risk Biomarkers Mediated by Serum Carotenoid Concentrations. **The Journal of Nutrition**, v. 144, p. 1067 – 1074, 2014.

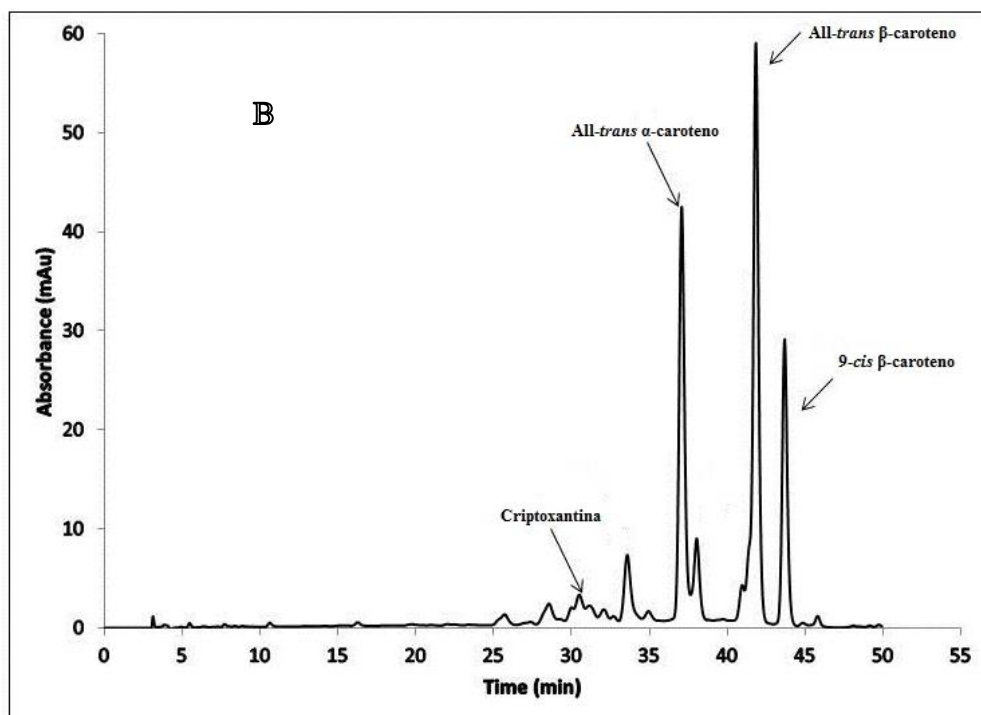
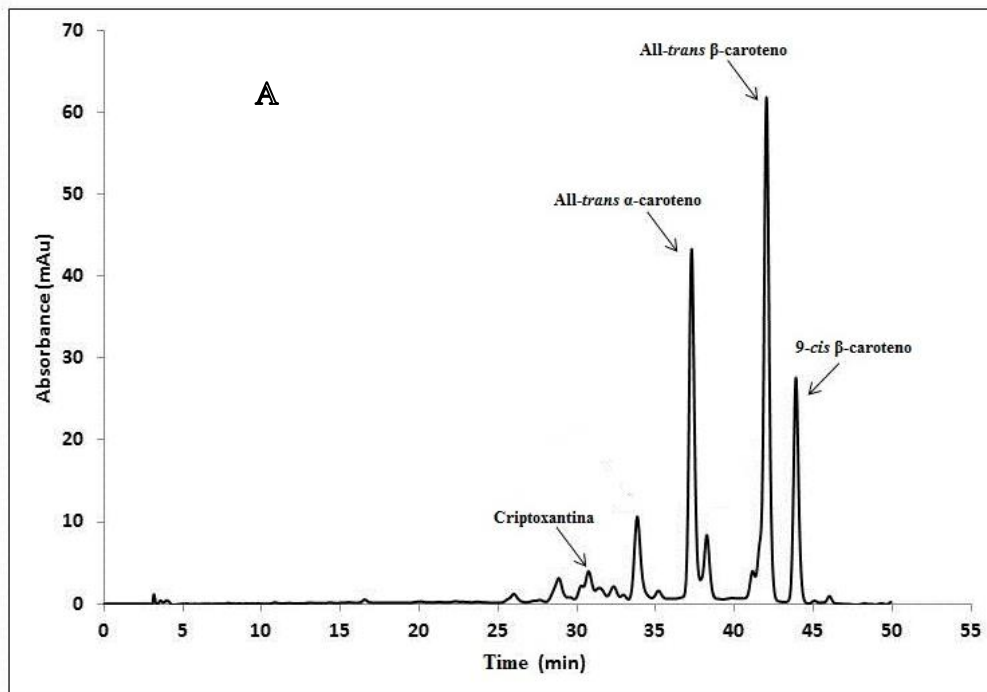
ZANATTA C. F.; MERCADANTE A. Z. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 101, p. 1526 - 1534, 2007.

ZEB, A.; MURKOVIC, M. Determination of thermal oxidation and oxidation products of  $\beta$ -carotene in corn oil triacylglycerols. **Food Research International**, v. 50, p. 534 – 544, 2013.

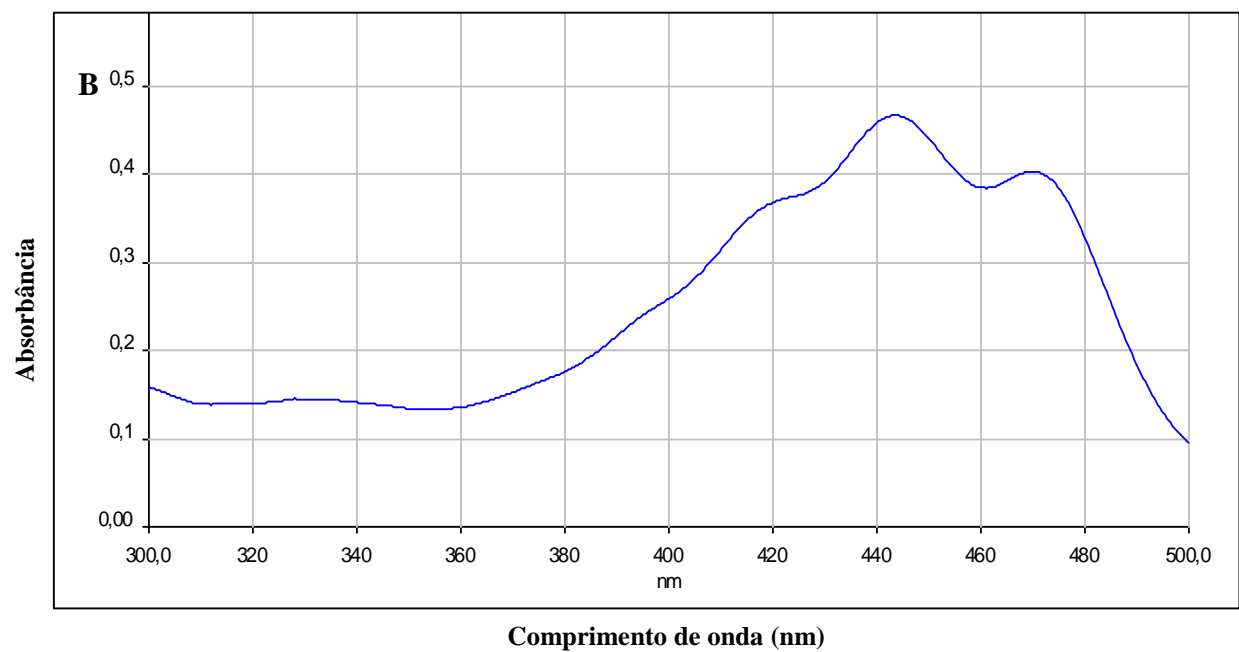
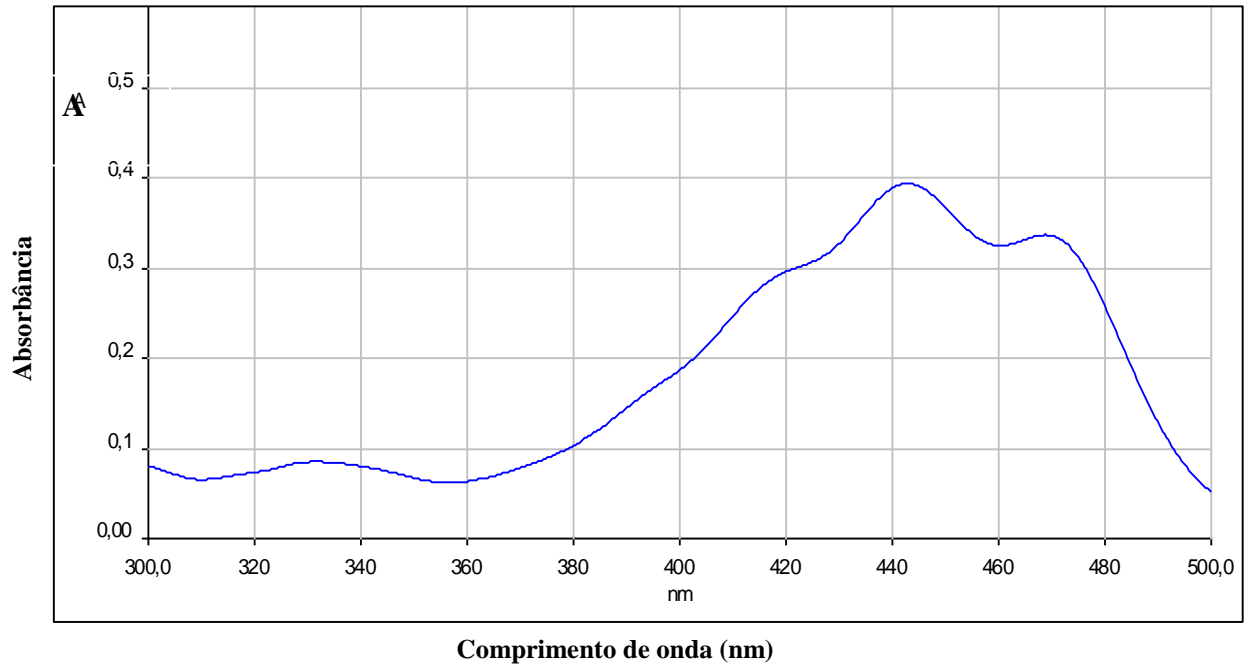
## Conclusão Geral

Os resultados apresentados ao longo deste estudo demonstram que o óleo de palma bruto pode ser microencapsulado por *spray-drying* exibindo como materiais de parede fécula de mandioca e goma arábica pelo fato de esta combinação apresentar elevada eficiência e principalmente rendimento do processo, além de umidade e atividade de água satisfatórias em relação às combinações de fécula de mandioca e proteína do soro do leite concentrada e, goma arábica e proteína do soro do leite concentrada. Além disso, as microcápsulas formadas com a melhor combinação referida possuem uma boa morfologia, considerando que sua parede não possui fissuras ou rachaduras, o que possibilita teoricamente maior proteção do material encapsulado. As microcápsulas possuem ainda boa estabilidade térmica, retém os ácidos graxos de forma não seletiva, e, preservaram a cor e os carotenoides totais do óleo. No entanto, assim como no controle, a atividade antioxidante reduziu e índice de peróxidos do óleo aumentou após o encapsulamento, embora em menor proporção. Quando submetidas ao teste de estabilidade oxidativa em temperatura de 45°C, sob presença de oxigênio, as microcápsulas apresentam uma redução do teor de carotenoides, mas apesar disso, quando comparado com outros óleos, o óleo de palma bruto microencapsulado ainda possui quantidades significativas de carotenoides, podendo essa técnica ser empregada na preservação desses compostos bioativos e as microcápsulas serem então uma alternativa para a fortificação de alimentos como provedores de provitâmnicos A, especialmente naquelas matrizes alimentícias que não requerem aquecimento quando armazenadas e que são voltadas para o público infantil.

Anexo 1. Cromatogramas dos carotenoides majoritários do óleo de palma bruto antes (A) e após (B) o encapsulamento, obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

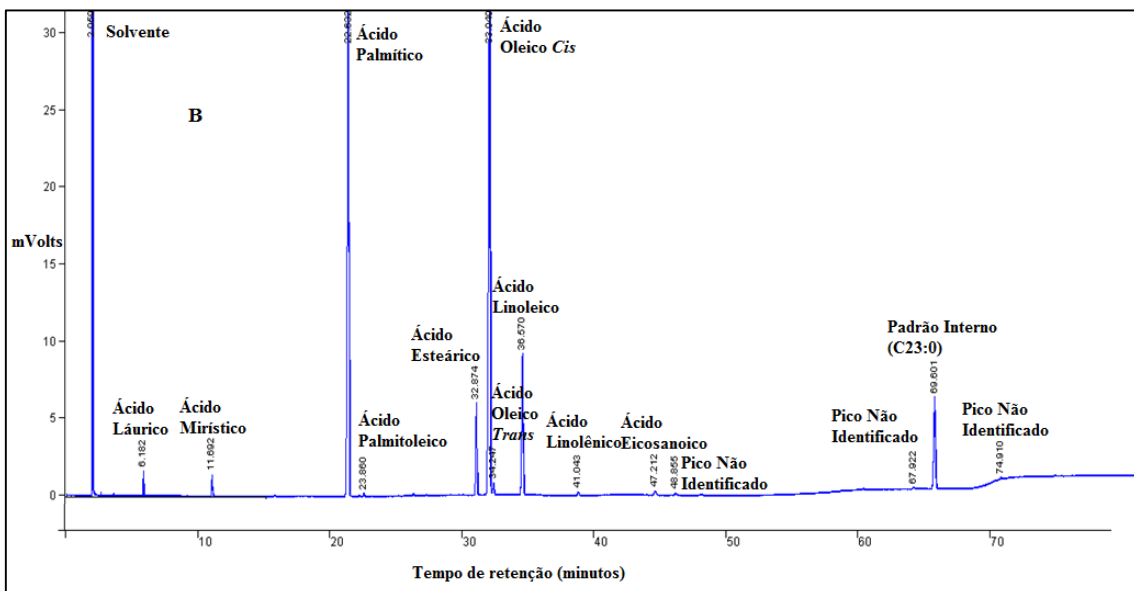
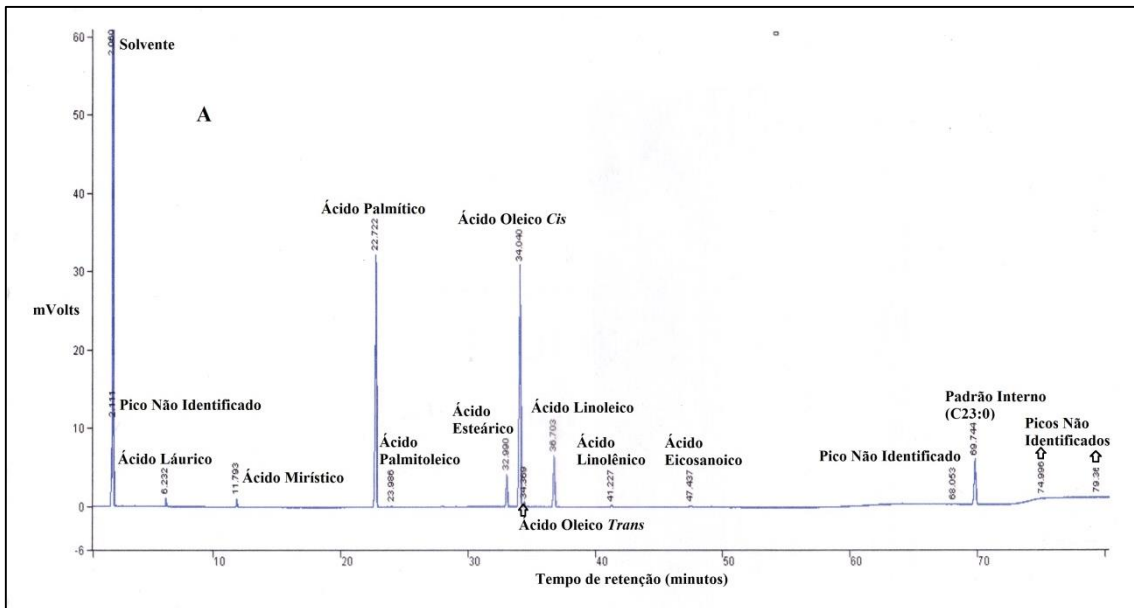


Anexo 2. Espectros dos carotenoides do óleo de palma bruto antes (A) e após (B) o encapsulamento.





Anexo 3. Cromatogramas do perfil de ácidos graxos do óleo de palma bruto antes (A) e após (B) o encapsulamento, obtidos por cromatografia gasosa (CG).



## Anexo 4. Microscopias Eletrônicas de Varredura (MEV).

As microcápsulas abaixo possuem dois aumentos, sendo estes:

300x (A, E, I) e seus respectivos brancos (C, G, L);

2500x (B, F, J) e seus respectivos brancos (D, H, M).

FM: Fécula de mandioca; GA: Goma arábica; WPC: Proteína do soro do leite concentrada.

