

PRISCILLA NARCISO JUSTI

**MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DA POLPA DE PEQUI POR
COACERVAÇÃO COMPLEXA**

CAMPO GRANDE

2017

PRISCILLA NARCISO JUSTI

**MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DA POLPA DE PEQUI POR
COACERVAÇÃO COMPLEXA**

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Lígia Rodrigues Macedo

Co-orientadora: Profa. Dra. Eliana Janet Sanjinez-Argandoña

CAMPO GRANDE

2017

FOLHA DE APROVAÇÃO

PRISCILLA NARCISO JUSTI

MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DA POLPA DE PEQUI POR COACERVAÇÃO COMPLEXA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Resultado _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Maria Lígia Rodrigues Macedo

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof. Dra. Farayde Matta Fakhouri

Universidade Federal da Grande Dourados

Prof. Dra. Claucia Aparecida Honorato da Silva

Universidade Federal da Grande Dourados

Dr. Fernando Freitas de Lima

Universidade Federal da Grande Dourados

Dra. Ana Cristina Jacobowski

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ari e Maria

Meu esposo, Jean Marcos

Meus irmãos, Rejane e Bruno

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, autor da vida

Aos meus irmãos, Rejane Narciso Justi e Bruno Ary Narciso Justi.

Aos meus pais, pelo incentivo, carinho, força, atenção e apoio incondicional fornecidos durante estes quatro anos de estudo.

As minhas sobrinhas, Beatriz e Lorena

Ao meu esposo Jean Marcos Camargo pela paciência, apoio e motivação.

A minha segunda mãe (Bel), por toda força, apoio, incentivo, amizade, afeto. Agradeço a Deus todos os dias por ter tido a oportunidade de conhecê-la.

A minha orientadora, Maria Lígia Rodrigues Macedo pela paciência, confiança e motivação.

Ao professor Dr. Magno Aparecido Gonçalves Trindade pela assistência e auxílio nas análises de estabilidade oxidativa.

A minha co-orientadora, Eliana Janet Sanjinez-Argandoña pela amizade, carinho, paciência, compreensão, ajuda e incentivo.

Aos amigos de trabalho e de todas as horas, Wagner Shimada, Davi Vriesman, Elaine, José Carlos Venturin, Andressa Casari, Mariane Frantz, Lígia Boarin.

Aos integrantes do grupo GEPPAC, Aline Giunco, Denise Rubinho e Ariana Alves.

A João Zitkoski pela ajuda e auxílio nas extrações de óleo de pequi.

A Elaine Oliveira pela colaboração nas análises laboratoriais.

Aos meus irmãos de coração, Luan Ramos, Andressa Casari, Camila Correia, Fernando Lima, Vinicius Soares e Caroline Breda.

A Igreja Adventista da Promessa de Douradina- MS, por toda manifestação de carinho, apoio e orações.

A UFMS, UFGD e ao GEPPAC pelo espaço concedido para o desenvolvimento do doutorado.

RESUMO

JUSTI, P. N. Microencapsulação de óleo da polpa de pequi por coacervação complexa. Campo Grande; 2016. [Tese – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Caryocar brasiliense (pequi) é uma espécie nativa do cerrado brasileiro de grande importância econômica e nutricional. Da sua polpa são extraídos o óleo, rico em ácidos graxos insaturados e carotenoides, que apresentam ação antioxidante. O objetivo principal do estudo foi a microencapsulação de óleo da polpa de pequi por coacervação complexa. A encapsulação é uma técnica promissora para a proteção de compostos ativos que são facilmente degradados pelas condições ambientais adversas. Diferentes técnicas de microencapsulação estão disponíveis, dentre as quais a coacervação complexa se destaca para amostras lipofílicas. A técnica consiste na separação reversível de fases de dois polímeros e apresenta vantagens em relação a outras técnicas por trabalhar com biopolímeros de fontes renováveis, utilizar condições amenas de temperatura e não utilizar solventes orgânicos no processamento. Neste estudo foram avaliadas as condições em que a temperatura, velocidade de homogeneização e quantidade de recheio podem interferir na formação de microcapsulas por coacervação do óleo de pequi e a retenção de carotenoides no microencapsulado. Também foi analisado o comportamento de microcápsulas de óleo de pequi liofilizadas e acondicionadas em embalagens flexíveis de polipropileno durante 160 dias de armazenamento em duas condições ambientais controladas: 1) $aw= 0,84$ e $25^{\circ}C$ e 2) $aw= 0,84$ e $40^{\circ}C$. Foram determinadas em triplicata atividade de água, acidez, parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , carotenoides e estabilidade oxidativa. Os resultados mostraram que a microencapsulação por coacervação complexa foi eficiente produzindo de 67,07 a 97,07% de microcapsulas e 66,58% a 96,86% de óleo encapsulado. No delineamento composto central rotacional as variáveis estudadas (temperatura, velocidade de homogeneização e recheio) influenciaram significativamente no rendimento, eficiência e teor de carotenoides. A coacervação complexa auxiliou na preservação dos carotenoides, sendo observadas 3,86% de perdas na formulação localizada no ponto central do delineamento. A técnica de coacervação complexa e liofilização preservou em torno de 74% dos carotenoides no óleo microencapsulado em pó. A temperatura de $40^{\circ}C$ favoreceu a oxidação e degradação dos carotenoides no óleo e microcapsula de pequi.

Palavras-chave: Encapsulação, *Caryocar brasiliense*, Carotenoides, Vida útil

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1	Principais agentes encapsulantes utilizados na microencapsulação	27
----------	--	----

Artigo 1

Tabela 1	Níveis das variáveis independentes utilizadas no delineamento composto central rotacional experimental para a microencapsulação de óleo da polpa de pequi.....	49
Tabela 2	Respostas do delineamento composto central rotacional para microcapsula de óleo de pequi usando goma arábica e gelatina como encapsulantes.....	53
Tabela 3	Parâmetros de regressão para análises de variância do rendimento da microencapsulação do óleo de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>).....	54
Tabela 4	Parâmetros de regressão para análises de variância da eficiência da microencapsulação do óleo de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>).....	56
Tabela 5	Parâmetros de regressão para análises de variância de carotenoides da microencapsulação do óleo de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>).....	58

Artigo 2

Tabela 1	Composição de ácidos graxos do óleo, microcápsula úmida e liofilizada de pequi.....	75
Tabela 2	Valores médios de atividade de água da microcápsula e óleo de pequi.....	76
Tabela 3	Valores médios de acidez da microcápsula e óleo de pequi.....	76
Tabela 4	Valores médios do parâmetro L* da microcápsula e óleo de pequi.....	78
Tabela 5	Valores médios do parâmetro a* da microcápsula e óleo de pequi.....	79
Tabela 6	Valores médios do parâmetro b* da microcápsula e óleo de pequi.....	79

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1	Mapa de Biomas e de vegetação brasileira.....	19
Figura 2	Árvore do pequi (<i>Caryocar Brasiliense</i>).....	20
Figura 3	Fruto do pequi com casca, mesocarpo interno (polpa amarela) e mesocarpo externo (polpa branca).....	20
Figura 4	Óleo de pequi.....	22
Figura 5	Comparação entre os tipos de partículas: a) microcapsulas e b) microesferas.....	26
Figura 6	Principais técnicas de microencapsulação.....	28
Figura 7	Técnica de coacervação complexa.....	29

Artigo 1

Figura 1	Gráfico de Pareto e interações das variáveis temperatura (°C), recheio (g) e velocidade de homogeneização (rpm) sobre o rendimento na produção de microcapsulas.....	55
Figura 2	Gráfico de valores preditos e observados para eficiência de encapsulação do óleo de pequi.....	57
Figura 3	Superfície de resposta e gráfico de contorno da interação da velocidade, temperatura e recheio na influência da degradação de carotenoides em microcapsulas de óleo da polpa de pequi.....	59
Figura 4	Distribuição do tamanho das partículas.....	60

Artigo 2

Figura 1	Valores de carotenoides para microcápsula de óleo de pequi (a) e óleo de pequi (b).....	77
Figura 2	Variação de cor (ΔE) de microcápsulas (a) e do óleo (b) de pequi, armazenadas em diferentes embalagens e temperaturas	80
Figura 3	Estabilidade do óleo do pequi armazenadas em diferentes embalagens e temperaturas.....	81

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

AOCS – American Oil Chemists' Society pH – Potencial hidrogeniônico

APG – Angiosperm Phylogeny Group

aw – Atividade de água

BHA – Butil-hidroxi-anisol

BHT – Butil-hidroxi-tolueno

DCCR – Delineamento composto central rotacional

ERNs – Espécies reativas de nitrogênio

EROs – Espécies reativas de oxigênio

KOH – Hidróxido de potássio

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

MET – Embalagem de polipropileno revestido com papel alumínio

O – Oxigênio

N – Nitrogênio

PA – Padrão analítico

POL – Embalagem de polipropileno transparente

PP – Polipropileno

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RE – Retinol

RL – Radical livre

rpm – rotação por minuto

URE – Umidade relativa de equilíbrio

LISTA DE SÍMBOLOS

a* - Coordenada vermelho/ verde

b* - Coordenada amarelo/ azul

°C – grau Celsius

g – grama

h – hora

kg – quilograma

L* - Luminosidade

L – litro

M – mol

m – metros

meq – mileequivalente

mg – miligrama

mL – mililitros

mm – milímetros

ms – massa seca

m/s – metros por segundo

% - porcentagem

R² – coeficiente de correlação

µg – microgramas

µL – microlitros

µm – micrometros

α - alfa

β - beta

ω – Ômega

ΔE – Variação de cor

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Pequi.....	19
2.2 Utilidades do pequi.....	21
2.3 Aspectos nutricionais.....	21
2.4 Óleo de pequi.....	22
2.5 Carotenoides.....	24
2.6 Antioxidantes.....	24
2.7 Microencapsulação.....	26
2.8 Coacervação complexa.....	28
2.9 Gelatina e Goma arábica.....	30
2.10 Vida útil.....	31
3 OBJETIVOS.....	33
3.1 Objetivo Geral.....	33
3.2 Objetivos Específicos.....	33
REFERENCIAS.....	34
ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO.....
4. Artigo 1: Microencapsulação de óleo da polpa de pequi por coacervação complexa. Revista Brasileira de Fruticultura, 2017.....	45
RESUMO.....	45
ABSTRACT.....	46
1 INTRODUÇÃO.....	47
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3 RESULTADOS.....	52
4 CONCLUSÕES.....	61
REFERÊNCIAS.....	61

5. Artigo 2: Avaliação da vida útil de microcápsulas de óleo de pequi liofilizadas.....	67
RESUMO.....	67
ABSTRACT.....	68
1 INTRODUÇÃO.....	69
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	70
3 RESULTADOS.....	74
4 CONCLUSÕES.....	81
REFERÊNCIAS.....	82
5 CONCLUSÃO GERAL.....	88

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado é o segundo maior Bioma do Brasil, localizado em toda a região Centro Oeste e nos estados de Rondônia, Minas Gerais, Pará, Tocantins, Maranhão, Piauí, Bahia e Ceará (BATISTA et al., 2013), ocupando cerca de 25% do território nacional com uma fauna e flora diversificada. Dentre as frutíferas do cerrado, o pequi se destaca por seu elevado teor de óleo, proteína e carotenoides (FARIA-MACHADO et al, 2015)

O pequi é constituído por uma casca verde que representa 84% do peso total do fruto, 10% de polpa (rica em lipídios) e 6% de amêndoa (VILELA, 2009). Além de lipídios, proteínas, fibras e carboidratos, apresenta também diversos compostos antioxidantes como carotenoides que são precursores da vitamina A, vitamina C e E, sais minerais com relevância para o fósforo, potássio e magnésio e compostos fenólicos entre os quais estão presentes flavonoides e taninos (ALVES, 2007; VILELA, 2009).

À planta são atribuídas diversas propriedades medicinais, como a atividade antifúngica encontrada na folha e no óleo essencial da semente (PASSOS et al., 2002), atividade antioxidante associada à quantidade de carotenoides (LIMA et al., 2007) e atividade anti-inflamatória (TORRES et al., 2016) da polpa de pequi. A comercialização do pequi baseia-se na venda da polpa em fatias, amêndoas, doces, conservas, óleos da polpa e da amêndoa e licores. É uma espécie considerada economicamente viável devido ao aproveitamento integral da planta, como a utilização de sua madeira na indústria artesanal; o uso do óleo extraído dos frutos e das sementes na culinária regional e na produção de combustíveis e lubrificantes; da casca e da polpa se obtêm tinta e as flores e sementes são utilizadas na medicina popular (SANTANA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2008).

Entretanto uma das grandes dificuldades tecnológicas em relação aos óleos e aos componentes bioativos é a sua preservação, pois grande parte dos componentes são sensíveis ao calor e à oxidação. Entre as várias técnicas empregadas para prolongar a estabilidade dos óleos e outros componentes bioativos, destaca-se a microencapsulação (SUAVE et al., 2006; CARNEIRO et al., 2013; CELLI et al., 2015; DORDEVIC et al., 2015).

A microencapsulação é o processo de empacotamento com finas coberturas poliméricas aplicáveis em sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso, formando pequenas partículas denominadas microcápsulas ou micropartículas, que podem liberar seu conteúdo de forma controlada e aumentar a vida de prateleira de óleos e substâncias bioativas (NEDOVIC et al., 2011; TATAR et al., 2014).

Existem várias técnicas utilizadas para a preparação de micropartículas, que estão subdivididas em métodos químicos, físicos e físico-químicos. No entanto, a escolha do método depende de alguns fatores, como por exemplo, as propriedades do material do núcleo e das condições de produção (BANSODE et al., 2010). Dos diferentes métodos disponíveis para o encapsulamento de compostos lipofílicos, a coacervação complexa é considerada a mais simples, eficiente, isento de solventes e de fácil reprodução (DONG et al., 2011; JUN-XIA et al., 2011; XIÃO et al., 2014).

A técnica de coacervação complexa consiste na separação espontânea de fases que ocorre quando polieletrólitos de cargas opostas (proteína e polissacarídeo) são misturados em um único meio aquoso sendo influenciados pelo pH, força iônica e eletrostática (DUCEL et al., 2004; COMUNIAN et al., 2016). Os principais polímeros obtidos de fontes renováveis empregados como agentes encapsulantes são os polissacarídeos (amido, maltodextrina, goma arábica, alginato, quitosana, carragena) e proteínas (gelatina, caseína, soja, trigo) (GIBBS et al., 1999; MARTINS et al., 2014).

Considerando que muitos compostos bioativos são altamente degradáveis, perdendo suas propriedades de interesse e, conseqüentemente, seu valor biológico, as técnicas de microencapsulação podem proteger esses compostos, aumentando consideravelmente sua estabilidade e podem representar alto potencial no desenvolvimento de novos produtos. Porém, mesmo as microcápsulas, assim como a maioria dos alimentos tanto de origem vegetal como animal, está sujeita a deteriorações físicas, químicas e microbiológicas.

A perda de componentes em uma amostra durante o período de armazenamento pode ser avaliada realizando-se análises laboratoriais que irão prever ou estimar a vida de prateleira do produto (ALVES et al., 2010). A vida de prateleira pode ser definida como o tempo que se passa desde a produção e embalagem de um alimento até o momento em que ele se torna inaceitável para o consumo (SFACIOTTE et al., 2015; MA et al., 2017).

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi produzir microcápsulas de óleo de pequi pela técnica de coacervação complexa e avaliar a estabilidade de microcápsulas liofilizadas acondicionadas em diferentes embalagens em função do conteúdo de carotenoides.

Para tanto o trabalho conta com três capítulos, sendo o primeiro intitulado “Revisão da Literatura”, que aborda uma ampla revisão sobre o pequi. O Capítulo 2, e o Capítulo 3 intitulados “Microencapsulação de óleo da polpa de pequi por coacervação complexa” e “Avaliação da vida útil de microcápsulas de óleo de pequi liofilizadas”, respectivamente, abordam diferentes técnicas de obtenção e preservação desse óleo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pequi

A região do Cerrado corresponde a 24% do território Brasileiro (Figura 1). Possui uma área de 204 milhões de hectares distribuídos principalmente nos estados de: Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Bahia, Piauí, Maranhão e Distrito Federal (BATISTA et al., 2013)



Figura 1. Mapa de Biomas e de Vegetação Brasileira

Fonte: www.ibge.gov.br

O *Caryocar brasiliense* Cambess também conhecido como piqui, pequiá, amêndoa de espinho, grão de cavalo e pequi é uma árvore típica do Cerrado brasileiro (Figura 2) pertencente à família Caryocaraceae de acordo com o sistema de classificação baseado no *The Angiosperm Phylogeny Group* (APG) II (2003). Apresenta porte arbóreo, atingindo entre 8 a 12m de altura. A sua casca é escura e os seus galhos longos, grossos e pouco inclinados. A madeira é de cor amarelo-pardo, apresentando copa larga e galhos que se estendem pela lateral. As folhas

são compostas, trifoliadas, opostas, limbo oval, com ausência de pelos e de glândulas (SILVA et al., 1994; NASORRY et al., 2012)



Figura 2. Árvore do pequi (*Caryocar brasiliense*)

Fonte: www.correiodoestado.com.br

O fruto do pequi é drupáceo, globoso constituído do pericarpo (casca) de cor acizentado ou verde-amarelado; o mesocarpo (polpa) amarelo-claro (Figura 3), carnoso; endocarpo (envoltório do caroço) rígido e lenhoso por fora, recoberto por uma camada de espinhos finos e sementes oleaginosas de cor branca (amêndoa) (MELO JÚNIOR et al., 2004; RAMOS et al., 2011)



Figura 3. Fruto do pequi com casca, mesocarpo interno (polpa amarela) e mesocarpo externo (polpa branca).

Fonte: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/>

2.2 Utilidades do pequi

O *C. brasiliense* Cambess é uma espécie considerada economicamente viável devido à utilização de sua madeira na indústria artesanal; do óleo dos frutos e sementes na culinária regional e produção de combustíveis e lubrificantes; da tinta obtida da casca e da polpa e das flores e sementes utilizados na medicina popular (SANTANA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2008)

A madeira do pequi é utilizada na fabricação de estacas, pilares e pilões e na produção de carvão siderúrgico. Da polpa do fruto são extraídos o óleo utilizado em frituras, condimentos, elaboração de sorvetes e picolés, enquanto a castanha torrada é consumida como farofa, doce e paçoca (SILVA et al., 2001)

A indústria de tintas utiliza a casca e as folhas por causa do seu alto grau de taninos (DOMBROSKI, 1997). À planta e aos seus frutos são atribuídas diversas propriedades medicinais, como atividade antifúngica da folha, do óleo essencial da semente, além da ação dos óleos fixos da amêndoa e da semente de pequi sobre diversos microrganismos como por exemplo, *Cryptococcus neofarmans* var. *neofarmans* e *Cryptococcus neofarmans* var. *gatti* (PASSOS et al., 2002), atividade antioxidante associada à quantidade de carotenoides (LIMA et al., 2007) e atividade anti-inflamatória (TORRES et al., 2016) da polpa de pequi.

2.3 Aspectos nutricionais

O pequi é constituído por uma casca verde que representa 84% do peso total do fruto, 10% de polpa (rica em lipídeos) e 6% de amêndoa (VILELA, 2009). Além de lipídios, proteínas, fibras e carboidratos, apresenta também diversos compostos antioxidantes como carotenoides, vitaminas C e E, sais minerais (fósforo, potássio e magnésio) e compostos fenólicos (flavonoides e taninos) (VILELA, 2009; ALVES, 2007). A sua polpa contém uma significativa quantidade de ácidos graxos, vitamina A, proteínas e carotenoides. Os principais ácidos graxos encontrados no óleo de pequi são o oleico e o palmítico (BARRA et al., 2013; LIMA et al., 2007).

Os carotenoides são compostos lipossolúveis encontrados em plantas e alguns animais, responsáveis pela coloração que varia do amarelo ao vermelho em alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2010; AMORIM-CARRILHO et al., 2014). Sua importância está em sua função corante e antioxidante (OLIVEIRA et al., 2008; RODRIGUEZ-AMAYA, 2015)

2.4 Óleo de pequi

De acordo com a RDC 270 de 22 de setembro de 2005 (ANVISA, 2005), define-se óleo vegetal ao produto constituído principalmente de ácidos graxos de espécies vegetais, podendo conter pequenas quantidades de outros lipídeos como: fosfolipídio, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres presentes naturalmente no óleo. Os óleos vegetais devem ser líquidos na temperatura de 25°C. Também consta nos requisitos específicos desta portaria que o óleo vegetal não refinado deve apresentar o máximo de 4,0 mg KOH/g no teste de acidez e o máximo de 15 meq/kg para índice de peróxidos.

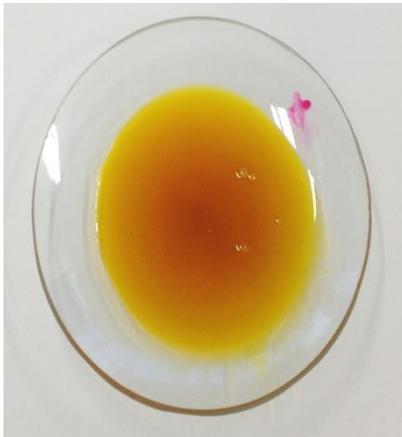


Figura 4. Óleo de pequi

Fonte: A autoria própria

O óleo de pequi (Figura 4) pode ser obtido por processo artesanal que emprega água quente, por solvente e por prensagem. No processo de extração do óleo da polpa deve ser avaliado o custo, a disponibilidade e a toxidez. A extração do óleo por aquecimento exige tempo e resulta em pouco rendimento, além da possibilidade de contaminação. Temperaturas elevadas promovem a oxidação dos ácidos graxos insaturados, formando aldeídos responsáveis pelo sabor indesejável no óleo (RABELO, 2008).

Na extração por solvente orgânico se obtém maior rendimento e o processo não exige aquecimento. No entanto, alguns solventes orgânicos são cancerígenos e devem ser evitados em óleos destinados à alimentação. A prensagem pela redução

de partículas e laminação promove a ruptura das células e liberação do óleo. Para isso a amostra é previamente desidratada com o intuito de evitar contaminação microbiana e perda da qualidade do extrato (AQUINO et al, 2009b).

O óleo originado “bruto ou fixo”, geralmente apresenta-se turvo e quimicamente instável a oxidação. O refino do óleo possibilita a eliminação de compostos polares, ácidos graxos livres, peróxidos, contaminantes e odores indesejáveis. Entretanto, altera a qualidade do produto, afetando compostos menores que possuem atividade terapêutica e nutricional importante como antioxidantes naturais e vitaminas lipossolúveis (PARMENTIER, 2004)

O óleo de pequi originário do Cerrado brasileiro é rico em carotenoides e ácidos graxos insaturados e vem sendo bastante utilizado na área alimentícia (preparo de frituras, temperos), indústria cosmética (fabricação de sabonetes e cremes) e na medicina (contra câncer, úlceras gástricas, hipovitaminose A, no tratamento de dores reumáticas e musculares). (PASSOS et al., 2002; ROESLER et al., 2007; AQUINO et al, 2009a)

Os ácidos graxos predominantes do óleo de pequi são os ácidos oleico e palmítico (SCHLEMMER et al, 2010). O ácido oleico destaca-se como um dos ácidos mais amplamente distribuídos na natureza. Na ausência dos ácidos graxos essenciais (ω -6 e ω -3), o metabolismo dos animais e humano, introduz uma ligação dupla localizada entre átomos de carbono 9, 10 do ácido esteárico para formar o ácido oleico. O ácido oleico através da eliminação de hidrogênio e aumento da cadeia carbônica funciona como precursor para os ácidos da família ω -9, ω -6 e ω -3 (VIANNI et al., 1996) O ácido palmítico ocorre em todos os óleos e gorduras de plantas e animais terrestres e aquáticos, atuando como precursor dos ácidos graxos naturais saturados e insaturados de cadeias mais longas.

Estudos metabólicos e epidemiológicos indicam que o ácido palmítico eleva a concentração plasmática de colesterol e do colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade), quando comparado à gordura poliinsaturada (LOTTENBERG, 2009). Já o ácido oleico apresenta propriedades benéficas à saúde, pois reduz os níveis de lipoproteínas LDL no sangue, suprime a tumorigênese e doenças inflamatórias, diminui a pressão sanguínea e previne aterosclerose. (LOPEZ-HUERTAS, 2010; AL-SHUDIEFAT et al., 2013; SALES-CAMPOS et al, 2013; GOLDSON et al., 2014; JONES et al., 2014). Vale ressaltar ainda que alguns desses ácidos graxos possuem capacidade antimicrobiana.

2.5 Carotenoides

Carotenóides são pigmentos orgânicos naturais que compreendem oito unidades de isopreno associadas a um esqueleto de 40 átomos de carbono. São classificados pela presença de oxigênio, isto é, xantofilas (criptoxantina, luteína, astaxantina) e hidrocarbonetos, isto é, carotenos (α -, β - caroteno, licopeno, fitoeno). Os carotenóides são sintetizados por todas as plantas e muitos microorganismos (bactérias e fungos). São responsáveis pela cor vermelha, amarela e laranja de frutas, legumes e flores (BRITTON, 1997; SOUKOULIS et al., 2015; RODRIGUEZ-AMAYA, 2015).

Dos cerca de 600 carotenoides identificados, somente 20 são encontrados em tecidos humanos, provenientes da dieta (CERQUEIRA et al., 2007). O principal papel de β -caroteno na saúde humana é como precursor da vitamina A e antioxidante e, portanto, amplamente utilizado em alimentos, cosméticos e na indústria farmacêutica (JAIN et al., 2015).

Os carotenoides são antioxidantes naturais que podem prevenir ou diminuir os danos oxidativos, pois possuem a capacidade de reagir com os radicais livres, apresentando propriedades benéficas à saúde, atuando na prevenção de carcinomas, arteriosclerose, doenças cardiovasculares, oftalmológicas, pulmonares e desordens neurodegenerativas (KRINSK et al., 2005; RAO et al., 2007; ALÓS et al., 2016).

A degradação oxidativa dos carotenoides é desencadeada pelo calor, luz, oxigênio, acidez e baixa atividade de água (RODRIGUEZ-AMAYA 1993), sendo necessário formas para preservar a ação bioativa desses constituintes. Os efeitos da degradação destes compostos podem ser minimizados por técnicas de microencapsulação.

2.6 Antioxidantes

Antioxidantes em alimentos representam a pequena quantidade necessária para prevenir ou retardar a oxidação de alimentos facilmente oxidáveis. A oxidação lipídica é uma alteração química que ocorre entre os lipídios e oxigênio. Os radicais

livres (RL), elétrons não pareados centrados no átomo de oxigênio (EROs) ou no átomo de nitrogênio (ERNs) são produtos do metabolismo dos seres vivos.

A oxidação dos lipídios está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em 3 fases: Iniciação (ocorre o ataque dos radicais livres a moléculas de ácido graxo); Propagação (reação iniciada no radical alquila, que reage com oxigênio, originando o radical peroxila, e Terminação (ocorre o rearranjo dos radicais formados entre si, originando produtos não reativos e polímeros) (MCCLEMENTS et al, 2008).

Vários fatores podem contribuir para a geração de espécies reativas de O e N, dentre eles podemos citar: irradiação de raios ultravioletas, raio X e raio gama, reação de poluentes metálicos no ambiente, em processos inflamatórios no organismo, exposição a toxinas e herbicidas (CRUZ, 2008).

As frutas, hortaliças e vegetais apresentam em sua composição compostos com atividade antioxidante, como vitamina A e C, carotenoides e compostos fenólicos que possuem efeito na prevenção do estresse oxidativo (PEREIRA et al., 2009)

A vitamina A é o termo genérico para descrever todos os compostos com atividade biológica do retinol, exercendo funções importantes no organismo tais como: ação protetora da pele, das mucosas, no funcionamento da normal da visão e estrutura do olho (SANO, 1998) Já a vitamina C, é um agente redutor que desempenha importantes funções metabólicas, além de atuar na reciclagem da vitamina E no processo de peroxidação lipídica das membranas e lipoproteínas (RAMALHO et al., 2006; CERQUEIRA et al., 2007)

Alimentos que apresentam propriedades antioxidantes são uma alternativa contra os efeitos oxidativos dos radicais livres. E eles vem sendo pesquisados, para substituir a utilização de antioxidantes sintéticos BHT (butil-hidroxi-tolueno) e BHA (butil-hidroxi-anisol) uma vez que estes apresentam propriedades carcinogênicas em animais (GALVÃO, 2008). No entanto, dificuldades podem ser encontradas, devido à instabilidade destes compostos.

A oxidação de óleos e gorduras pode ser evitada com a redução dos fatores que contribuem para a sua degradação. Para isso é necessário manter ao mínimo os níveis de energia (temperatura e luz) que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres, evitar ao máximo o contato com oxigênio e a presença de traços de metais no óleo e bloquear a

formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídios (RAMALHO et al., 2006)

2.7 Microencapsulação

O processo de microencapsulação é definido como um empacotamento ou aprisionamento de pequenas partículas (líquidas, sólidas ou gases). O material encapsulado é conhecido como material de recheio ou núcleo, e a parte externa que envolve a cápsula, parede, matriz ou cobertura (AUGUSTIN et al., 2009)



Figura 5. Comparação entre os tipos de partículas: a) microcapsulas e b) microesferas

Fonte: <http://www.ital.sp.gov.br/>

As cápsulas são classificadas de acordo com seu tamanho em macro ($>5000 \mu\text{m}$), micro ($0,2 - 5000 \mu\text{m}$) e nanocápsulas ($<0,2 \mu\text{m}$). Em relação a sua estrutura as capsulas podem ser divididas em dois grupos: microcapsulas, sistema reservatório contendo o núcleo revestido por polímeros que constituem a membrana da cápsula e microesferas, sistema matricial na qual o núcleo é uniformemente disperso em uma matriz (Figura 5) (BAKER et al., 1986; GIUNCHEDI et al., 1995; KAS et al., 2000)

Os agentes encapsulantes frequentemente utilizados na microencapsulação (Tabela 1) são: polissacarídeos, lipídios e proteínas (SHAHIDI et al, 1993; GIBBS et al, 1999; MARTINS et al, 2014). Essa tecnologia tem sido muito aplicada na indústria alimentícia, farmacêutica, agrícola e cosmética (SILVA et al, 2003)

Tabela 1. Principais agentes encapsulantes utilizados na microencapsulação

Fonte	Exemplos
Carboidratos	Amido, dextrinas, açúcar, celulose, acetatoftalado de celulose
Gomas	Goma arábica, alginato de sódio, carragena
Lipídeos	Monoglicerídeos e diglicerídeos, óleos e gorduras
Proteínas	Glúten, caseína, gelatina, albumina
Quitosana	Fonte alternativa extraída da casca de crustáceos

Fonte: Suave et al. (2006)

A microencapsulação além de proteger o recheio ou princípio ativo, tem por objetivo reduzir as interações do núcleo com fatores ambientais, retardar alterações que resultam na perda de cor, aroma e valor nutricional, mascarar compostos de sabor indesejável, promover melhor solubilidade do núcleo, aumentar a sua vida de prateleira e permitir a liberação controlada do material do núcleo (AHN et al., 2008; AUGUSTIN et al., 2009).

A retenção do material de recheio (núcleo) nas microcapsulas e sua estabilidade dependem de muitos fatores: a natureza química, o peso molecular, polaridade e volatilidade do ingrediente alimentar, a sua interação com o material de parede e a sua localização dentro da estrutura da microcápsula até a sua liberação que é desencadeada por um estímulo externo (AUGUSTIN et al., 2009).

A forma e o tamanho das partículas dependem dos materiais e métodos utilizados no processo de obtenção. As partículas são produzidas a partir de uma ampla variedade de polímeros e diferentes processos de microencapsulação (Figura 6).



Figura 6. Principais técnicas de microencapsulação

Fonte: SRI.S et al., 2012

2.8 Coacervação complexa

No processo de coacervação ocorre a separação de fases, devido a cargas opostas dos eletrólitos (proteína e polissacarídeo), que é influenciada pelo pH, força iônica, força eletrostática, proporção e concentração total de polímeros, peso molecular, densidade de carga, flexibilidade, conformação de biopolímeros, a agitação, pressão e temperatura (DUCEL et al, 2004; YE, 2006; SPRUIJT et al, 2010); GORJY et al., 2014); MCCLEMENTS, 2006; SCHMITT et al, 2011)

A técnica de microencapsulação por coacervação complexa vem sendo bastante utilizada em substâncias lipofílicas. O processo ocorre em 3 etapas sob constante agitação sendo que inicialmente, uma emulsão (água/óleo/água) deve ser preparada e dispersa em uma solução aquosa contendo um tensoativo hidrocolóide. Na segunda etapa ocorre a formação do revestimento (deposição do revestimento

de polímero sobre o material de núcleo) e na última a estabilização do revestimento. (NAKAGAWA et al, 2012; COMUNIAN et al, 2013; ZUANON et al, 2013; MARTINS et al, 2014)

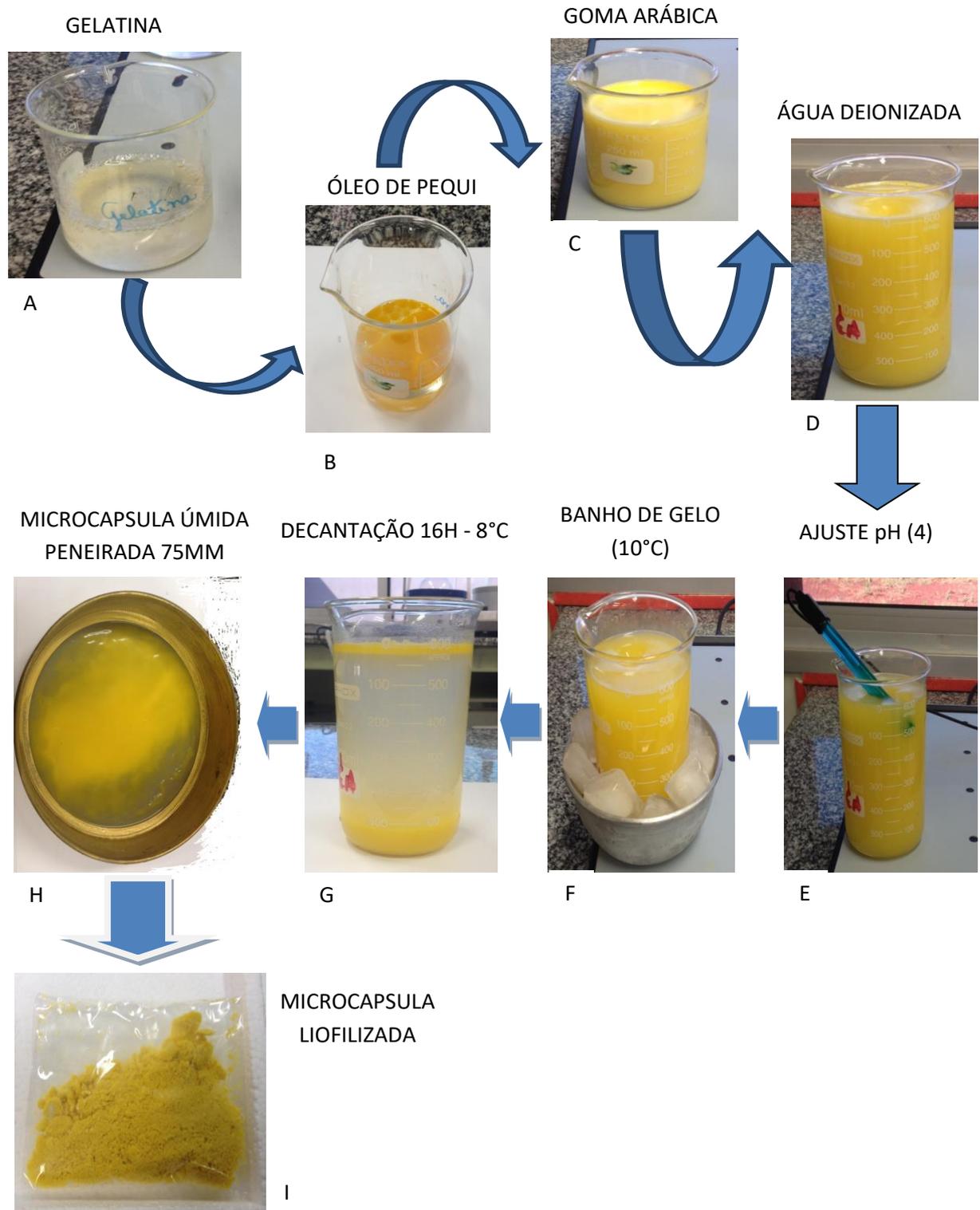


Figura 7. Técnica de coacervação complexa

O sistema gelatina-goma arábica é o sistema de coacervação complexa mais estudado (ZUANON et al., 2013; PRATA et al., 2015; PIACENTINI et al., 2013; COMUNIAN et al., 2013; LV et al., 2014). A coacervação complexa é possível apenas em valores de pH abaixo do ponto isoelétrico da gelatina. Nesses valores de pH que a gelatina se torna positiva, mas a goma arábica continua a ser carregada negativamente.

O processo de coacervação complexa típica, usando gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes, ocorre da seguinte maneira (Figura 7): o material do núcleo é emulsionado ou suspenso na gelatina. Em seguida, a goma arábica é adicionada ao sistema (Figura 7). A temperatura do sistema deve ser maior do que o gel ponto de uma solução aquosa de gelatina (maior do que 35 °C). O pH é ajustado para 3,8-4,3 e a mistura é mantida ao longo de todo o processo. O sistema é arrefecido a 50 °C e as paredes da cápsula de coacervato gelificada são insolubilizadas pelo ajuste do pH. As microcápsulas são lavadas, secas e recolhidas (GHULAN et al., 2009; AGNIHOTRY et al., 2012)

A coacervação complexa apresenta vantagens como alta eficiência de encapsulação, possibilidade de trabalhar com biopolímeros, ausência do uso de solventes orgânicos e condições amenas de temperatura que favorece à encapsulação de compostos bioativos (ASSIS et al., 2012; BAKRY et al., 2015). De acordo com Silva et al. (2003), dentre as limitações do processo está a necessidade do total controle das condições do processo, tendo como problema comum a aglomeração das micropartículas e custos elevados.

2.9 Gelatina e goma arábica

Um dos principais fatores que influenciam na estabilidade de compostos microencapsulados é a natureza do material encapsulante. Para a escolha do material devem ser consideradas: as propriedades físicas e químicas do recheio (porosidade, solubilidade) e da parede (viscosidade, propriedades mecânicas, capacidade de formar filme), a compatibilidade do núcleo com a parede, o mecanismo de controle e os fatores econômicos. Além disso, o material de parede deve ser insolúvel e não apresentar reação com o recheio (BRAZEL, 1999).

O sistema gelatina e goma arábica têm sido o mais estudado até o momento. A goma arábica é um polissacarídeo obtido a partir do exsudado de plantas. A

preferência por esse polímero deve-se à formação de emulsões estáveis com a maioria dos óleos e à formação de filme na interface do óleo. É um polímero que consiste no ácido D-glucurônico, L-ramnose, D-galactose e L-arabinose, com aproximadamente 2% de proteína. As propriedades de emulsificação da goma arábica são atribuídas à fração proteica de sua estrutura (DICKINSON, 2003). A goma é negativamente carregada em pH acima de 2,2 e valores menores suprimem a dissociação dos grupos carboxila. No entanto o alto custo e a oferta limitada da goma arábica têm feito com que pesquisadores procurem por novos biopolímeros em substituição à goma arábica (GHARSALLAOUI et al., 2007).

A gelatina é uma proteína de origem animal resultante da hidrólise do colágeno oriundo de osso, pele e tecidos de suínos e bovinos. O pH da gelatina pode ser ácido ou básico dependendo do meio. Em soluções ácidas, a gelatina apresenta carga positiva e o contrário ocorre em soluções alcalinas. O seu ponto isoelétrico pode variar em função do pré-tratamento utilizado na hidrólise do colágeno, ficando em torno de 4,5 a 5,3 para gelatinas tipo B (pré-tratamento com pH alcalino) e entre 7,0 a 9,4 na gelatina tipo A (pré-tratamento com pH ácido) (POPPE, 1997).

O interesse pela gelatina na indústria de alimentos é devido ao seu baixo custo, por ser abundante, aumentar a elasticidade, consistência e estabilidade dos alimentos e funcionar como um filme externo de proteção a fatores como desidratação, luz e oxigênio (BUENO, 2008).

2.10 Vida útil

A maioria dos alimentos tanto de origem vegetal como animal está sujeita a deteriorações físicas, químicas e microbiológicas. A perda de componentes em uma amostra durante o período de armazenamento pode ser avaliada realizando-se análises laboratoriais que irão predizer ou estimar a vida útil do produto (ALVES et al., 2010).

A vida útil ou vida de prateleira pode ser definida como o tempo que se passa desde a produção e embalagem de um alimento até o momento em que ele se torna inaceitável para o consumo (BATTISTELLA, 2008). Para se estimar a vida útil de um produto é necessário primeiramente identificar as principais alterações que influenciam em sua qualidade e determinar as condições em que o produto será armazenado (AZEREDO, 2012).

Os principais fatores que podem influenciar na vida útil são caracterizados em intrínsecos (atividade de água, pH, potencial redox, nutrientes, oxigênio disponível, microflora natural e utilização de conservantes na formulação do produto (como o sal) e extrínsecos (tempo, controle de temperatura e umidade relativa do ar, processamento, estocagem e transporte, atmosfera da embalagem, tratamento térmico utilizado e manipulação pelo consumidor) (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011; TEIXEIRA-NETO et al., 2004).

O método utilizado para determinação da vida útil pode ser direto ou indireto. No monitoramento direto as amostras são analisadas por um período superior ao estimado na vida de prateleira até que seja verificado o início da deterioração (NEW ZEALAND, 2005). O método indireto é baseado no estudo acelerado em tempo reduzido e em diferentes condições de armazenamento (GRIZOTTO et al., 2006). Com os testes acelerados é possível obter dados cinéticos nas condições estudadas e utilizá-los para estimar a vida útil de um produto em condições normais de estocagem (NEW ZEALAND, 2005; GARCIA-GARCIA et al., 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Produzir microcápsulas de óleo de pequi pela técnica de coacervação complexa e avaliar a estabilidade de microcápsulas liofilizadas acondicionadas em diferentes embalagens em função do conteúdo de carotenoides.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter micropartículas poliméricas contendo óleo de pequi pelo método de coacervação complexa a partir da mistura óleo e agente encapsulante, considerando a temperatura, velocidade de homogeneização e quantidade de recheio;
- Otimizar as condições de processo da coacervação complexa do óleo de pequi visando maior rendimento, eficiência da encapsulação e tamanho de partícula;
- Avaliar a vida útil do óleo de pequi e da microcápsula liofilizada;

REFERÊNCIAS

- AGNIHOTRI, N., MISHRA, R., GODA, C., ARORA, M. Microencapsulation – A novel approach in drug delivery: a review. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.2, n.1, 2012.
- AHN, J. H., KIM, Y. P., LEE, Y. M., SEO, E. M., LEE, K. W., KIM, H. S. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. *Food Chemistry*, v.107, n.1, 2008.
- ALÓS, E., RODRIGO, M. J., ZACARIAS, L. Manipulation of carotenoid content in plants to improve human health. C. Stange (ed.), *Carotenoids in Nature, Subcellular Biochemistry*, v. 79, 2016.
- AL-SHUDIEFAT, A. A. R., SHARMA, A. K., BAGCHI, A. K., DHINGRA, S., SINGAL, P. K. Oleic acid mitigates TNF- α -induced oxidative stress in rat cardiomyocytes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v.372, 2013.
- ALVES, Aline Medeiros, MENDONÇA, Aline Luiz, CALIARI, Márcio, CARDOSO-SANTIAGO, Raquel Andrade. Avaliação química e física de componentes do baru (*dipteryx alata* vog.) Para estudo da vida de prateleira. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 40, n. 3, 2010.
- ALVES, Cibele C. O. Pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada: higroscopicidade e microestrutura. [Dissertação]. Universidade Federal de Lavras; 2007.
- AMORIM-CARRILHO, K.T., CEPEDA, A., FENTE, C., REGAL, P. Review of methods for analysis of carotenoids. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, v.56, p. 49-73, 2014.
- ANVISA. Resolução RDC nº 270 de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal, 2005.
- AQUINO, L. P., FERRUA, F. Q., BORGES, S. V., ANTONIASSI, R., CORREA, J. L. G., CIRILLO, M. A. Influência da secagem do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na qualidade do óleo extraído. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, n.2, 2009(a).

- AQUINO, L. P., FERRUA, F. Q., BORGES, S. V., CIRILLO, M. A., VIEIRA, A. P. Influência do pré-tratamento da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) no rendimento do extrato lipídico. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v.20, n.2, 2009(b).
- ASSIS, L.M.; ZAVAREZE, E.R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA-SOARES, L.A. Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. *Brazilian Journal Food Technology*, v. 15, 2012.
- AUGUSTIN, M. A., HEMAR, Y. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, v.38, 2009.
- AZEREDO, H. M. C. Fundamentos de estabilidade de alimentos. 2. ed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.
- BAKER, R. Controlled release of biologically active agents. New York: John Wiley & Sons, 1986.
- BAKRY, A. M., ABBAS, S., ALI, B., MAJEED, H., ABOUELWAFI, M. Y., MOUSA, A., LIANG, L. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 15, 2015.
- BANSODE, S.S., BANARJEE, S.K., GAIKWAD, D.D., JADHAV, S.L. e THORAT, R. M. (2010). Microencapsulation: a review. *Internacional Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, v.1, n.2, 2010.
- BARRA, P.M.C.; OLIVEIRA, M.A.L.; NERY-ENES, B.; CARDOSO, L.M.; CESÁRIO, C.C.; MOREIRA, A.V.B.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M.; PELUZIO, M.C.G. Simultaneous Analysis of Saturated and Unsaturated Fatty Acids Present in Pequi Fruits by Capillary Electrophoresis. *Química Nova*, São Paulo, v.36, n.9, p.1430-1433, 2013.
- BATISTA, A. C. F., VIEIRA, A. T., RODRIGUES, H. S., BORGES, K. A., REZENDE, H. P., PORTELA, F. M., CHIALASTRI, R. A., HERNANDEZ-TERRONES, M. G. Caracterização físico-química do biodiesel de pequi (*Caryocar brasiliensis*). *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, v.7, n.1, p.23-26, 2013.

BATTISTELLA, Patrícia Moises Davila. [Dissertação]. Florianópolis: Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

BRAZEL, C.S. Microencapsulation: offering solutions for the food industry. *Cereal Foods World*, v.44, n.6, 1999.

BRITTON, G., HORNERO-MENDEZ, D. Carotenoids and colour in fruit and vegetables. In: F. A. Tomas-Barberan, & R. J. Robins (Eds.), *Phytochemistry of fruit and vegetables. Proceedings of the phytochemical society of Europe* (p. 11–27). Oxford: Clarendon Press, 1997.

BUENO, Camila M. M. Extração e caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação complexa [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 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, n.4, p.443-451, 2013.

CELLI, G. B., GHANEM, A., BROOKS, M. S-L. Bioactive Encapsulated Powders for Functional Foods – a Review of Methods and Current Limitations. *Food Bioprocess Technol*, v.8, n.9, p.1825-1837, 2015.

CERQUEIRA, F.; MEDEIROS, M.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Química Nova*, v. 30, n. 2, 2007.

COMUNIAN, T. A., THOMAZINI, M.; ALVES, A. J. G., JÚNIOR, F. E. M., BALIEIRO, J. C. C., FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. *Food Research International*, v.52, 2013.

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

CRUZ, Ana Paula Gil. Avaliação do efeito da extração e da microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, v.17, n. 1, 2003.

DOMBROSKI, J. L. D. Estudos sobre a propagação do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) [Dissertação]. Lavras: Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 1997.

DONG, Z., MA, Y., HAYAT, K., JIA, C., XIA, S., ZHANG, X. Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, v.104, nº3, p.455-460, 2011.

ĐORĐEVIĆ, V., BALANČ, B., BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A., LEVIC, S., TRIFKOVIĆ, K., KALUSEVIĆ, A., KOSTIĆ, I., KOMES, D., BUGARSKI, B., NEDOVIĆ, V. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. *Food Engineering Reviews*, v.7, nº4, p. 452-490, 2015.

DUCEL, V., RICHARD, J., SAULNIER, P., POPINEAU, Y., BOURY, F. Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: application to the microencapsulation of oil droplets. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects* 2004.

FARIA-MACHADO, A. F., TRES, A., VAN RUTH, S. M., ANTONIASSI, R., JUNQUEIRA, N. T. V., LOPES, P. S. N., BIZZO, H. R. Discrimination of Pulp Oil and Kernel Oil from Pequi (*Caryocar brasiliense*) by Fatty Acid Methyl Esters Fingerprinting, Using GC-FID and Multivariate Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 63, nº 45, p. 10064-10069, 2015.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Shelf Life: Uma pequena introdução. *Revista Food Ingredients Brasil*, São Paulo, n. 18, 2011.

GALVÃO, E.L.; SILVA, D.C.F.; SILVA, J.O.; MOREIRA, A.V.B.; SOUSA, E.M.B.D. Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.28, n.3, 2008.

- GARCIA-GARCIA, P., LÓPEZ-LÓPEZ, A., GARRIDO-FERNANDEZ, A. Study of the shelf life of ripe olives using an accelerated test approach. *Journal of Food Engineering*, v.84, p.569-575, 2008.
- GHARSALLAOUI, Adem., ROUDAUT, Gae"lle., CHAMBIN, Odile, VOILLEY, André'e, SAUREL, Re'mi. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, v.40, 2007.
- GHULAM, M., MAHMOOD, A., NAVEED, A., FATIMA, R. A comparative study of various microencapsulation techniques: effect of polymer viscosity on microcapsule characteristics. *Pakistan Journal Pharmaceutical Sciences*, v. 3, 2009.
- GIBBS, B. F., KERMASHA, S., ALLI, I., MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Science and Nutrition*, v.50, 1999.
- GIUNCHEDI, P.; CONTE, U. Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: overview. *STP Pharma Sciences, Paris*, v. 5, n. 4, 1995.
- GOLDSON, A., BREMMER, D., NELSON, K., MINOLT, D. Fat profile of Jamaican ackees, oleic acid content and possible health implications. *West Indian medical journal*, v.63 n.1, 2014.
- GORJI, S. G., GORJI, E. G., MOHAMMADIFAR, M. A. Characterisation of gum tragacanth (*Astragalus gossypinus*)/sodium caseinate complex coacervation as a function of pH in an aqueous médium. *Food Hydrocolloids*, v. 34, 2014.
- GRIZOTTO, Regina K., BERBARI, Shirley A. G., MOURA, Silvia C. S. R., CLAUS, Melissa L. Estudo da vida de prateleira de fruta estruturada e desidratada obtida de polpa concentrada de mamão. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, v. 26, n.3, 2006.
- JAIN, A., THAKUR, D., GHOSHAL, G., KATARE, O. P., SHIVHARE, U. S. Microencapsulation by Complex Coacervation Using Whey Protein Isolates and Gum Acacia: An Approach to Preserve the Functionality and Controlled Release of β -Carotene. *Food and Bioprocess Technology*, v.8, n. 8, 2015.

JONES, P. JH, SENANAYAKE, V. K, PU,S., JENKINS, D. JA, CONNELLY, P. W, LAMARCHE, B.,COUTURE, P., CHAREST, A., BARIL-GRAVEL, L., WEST, S. G, LIU, X., FLEMING, J. A, MCCREA, C. E., KRIS-ETHERTON, P. M. DHA-enriched high-oleic acid canola oil improves lipid profile and lowers predicted cardiovascular disease risk in the canola oil multicenter randomized controlled Trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v.100, 2014.

JUN-XIA, X.; HAI-YAN, Y.; JIAN, Y. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry*, v.125, n. 4, p.1267-1272, 2011.

KAS, H. S.; ONER, L. Microencapsulation using coacervation/ phase separation: an overview of the technique and applications. In: WISE, D. L., ed. *Handbook of Pharm.aceutical controlled release technology*. New York: Marcel-Dekker, 2000.

KRINSKY, N. I., JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 26, 2005.

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presents na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.29, n.3, p.695-698, 2007.

LOPEZ-HUERTAS, E. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research*, v.61, 2010.

LOTTENBERG, Ana Maria Pita. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. *Arquivos Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia*, São Paulo, v. 53, n. 5, 2009.

LV, Y., YANG, F., LI, X., ZHANG, X; ABBAS, S. Formation of heat-resistant nanocapsules of jasmine essential oil via gelatin/gum arabic based complex coacervation. *Food Hydrocolloids*, v.35, p.305-314, 2014.

MA, L., ZHANG, M., BHANDARI, B., GAO, Z. Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, v.64, p.23-38, 2017.

MARTINS, I. M., BARREIRO, M. F., COELHO, M., RODRIGUES, A. E. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. *Chemical Engineering Journal*, v. 245, 2014.

MCCLEMENTS, D. J. Non-covalent interactions between proteins and polysaccharides. *Biotechnology Advances*, v. 24, 2006.

MCCLEMENTS, D.J.; DECKER, E.A. Lipids. *In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. Fennema's: Food Chemistry*, 4 ed. Boca Raton: CRC Press, cap. 4, p. 155-216, 2008.

MELO-JUNIOR, A. F., CARVALHO, D., PÓVOA, J. S. R., BEARZOTI, E. Estrutura genética de populações naturais de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). *Scientia Forestalis*, n.66, p.56-64, 2004.

NAKAGAWA, K., NAGAO, H. Microencapsulation of oil droplets using freezing-induced gelatin-acacia complex coacervation. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v. 411, 2012.

NASORRY, D. C., CUNHA, M. F. Quebra da dormência e emergência de plântulas de sementes de pequi – *Caryocar brasiliense*. *Revista Verde*, v.7, n.1, p.11-14, 2012.

NEDOVIC, V., KALUSEVIC, A., MANOJLOVIC, V., LEVIC, S., BUGARSKI, B. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, v.1, p. 1806-1815, 2011.

NEW ZEALAND FOOD SAFETY AUTHORITY. *A Guide to Calculating the Shelf Life of Foods*. Wellington, New Zealand, 2005.

OLIVEIRA, M. E. B., GUERRA, N. B., BARROS, L. M., ALVES, R. E. Aspectos agrônômicos e de qualidade do pequi. 1 ed. Fortaleza: Embrapa agroindústria tropical, 2008.

PARMENTIER, M.; GUILLEMIN, S.; BARBAR, R.; LINDER, M. FANNI, J. De nouveaux procédés d'extraction des huiles pour des produits finis de haute qualité. *Oleagineux Corps Lipids*, Edinbourg, v. 11, n. 6, 2004.

PASSOS, X. S.; SANTOS, S. da C. FERRI, P. H.; FERNANDES, O. de F.L.; PAULA, T. de F.; GARCIA, A. C. F.; SILVA, M. do R. R. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 35, n. 6, 2002.

PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Dietary antioxidants: chemical and biological importance. *Revista Nutrire: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, v. 34, n. 3, 2009.

PIACENTINI, E., GIORNO, L., DRAGOSAVAC, M. M., VLADISAVLJEVIC, G. T., HOLDICH, R. G. Microencapsulation of oil droplets using cold water fish gelatine/gum arabic complex coacervation by membrane emulsification. *Food Research International*, v. 53, n.1, p.362-372, 2013.

POPPE, J. Gelatin, In: Thickening and gelling agents for food, New York, Ed. Alan Imeson, Blackie Academic & Professional, Cap. 7, p. 144-168, 1997.

PRATA, A.S.; GROSSO, C.R.F. Influence of the oil phase on the microencapsulation by complex coacervation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.92, n. 7, p.1063-1072, 2015

RABÊLO, A.M.S.; TORRES, M.C.L.; GERALDINE, R.M.; SILVEIRA, M.F.A. Extração, secagem e torrefação da amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*., Campinas, v.28, n.4, 2008.

RAMALHO, V.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Quimica Nova*, v. 29, n. 4, 2006.

RAMOS, K. M. C., SOUZA, V. A. B. Características físicas e químico-nutricionais de frutos de pequi (*Caryocar coriaceum* WITTM.) em populações naturais da região meio-norte do Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.33, n.2, p.500-508, 2011.

- RAO, A. V., RAO, L. G. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, v.55, 2007.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Stability of carotenoids during the storage of foods. In: CHARALAMBOUS, F. (Ed.). *Shelf life studies of foods and beverages: chemical, biological, physical and nutritional aspects*. Amsterdam: Elsevier Science, 1993.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. . *Food Carotenoids Chemistry, Biology and Technology*. 1. ed. Oxford: IFT Press - Wiley Blackwell, 2015. v. 1. 328p
- RODRIGUES-AMAYA, D. B. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids—A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 23, nº7, p. 726-740, 2010.
- ROESLER, R., MALTA, L. G., CARRASCO, L. C., HOLANDA, R. B., SOUSA, C. A. S., PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutos do cerrado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n.1, 2007.
- SALES-CAMPOS, H., SOUZA, P. R., PEGHINI, B. C., SILVA, J. S., CARDOSO, C. R. An Overview of the Modulatory Effects of Oleic Acid in Health and Disease. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, v. 13, 2013.
- SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. *Cerrado: ambiente e flora*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1998, 556p.
- SANTANA, João G., NAVES, Ronaldo V. Caracterização de ambientes de cerrado com alta densidade de pequizeiros (*Caryocar brasiliense* Camb.) na região Sudeste do estado de Goiás. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 33, n.1, 2003.
- SCHLEMMER, D., SALES, M. J. A. Thermoplastic starch films with vegetable oils of Brazilian Cerrado. *Journal of Thermal Analysis Calorimetry*, v.99, 2010.
- SCHMITT, Christophe., TURGEON, S. L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, v.167, 2011.
- SFACIOTTE, R. A. P., VIGNOTO, V. K. C., CARDOZO, R. M., MUNHOZ, P. M., PINTO, A. A., WOSIACKI, S. R., FERRARO, G. C., BARBOSA, M. J. B. Avaliação da

qualidade microbiológica e nutritiva de carnes exóticas. *Semina: Ciências Agrárias*, v.36, n.2, p.839-848, 2015.

SHAHIDI, F., HAN, X. Encapsulation of food ingredients. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. v. 33, n. 6, 1993.

SILVA, Catarina., RIBEIRO, Antonio., FERREIRA, Domingos., VEIGA, Francisco. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 39, n. 1, 2003.

SILVA, D B., SILVA, J. A., JUNQUEIRA, N. T. V., ANDRADE, L. R. M. Frutas do cerrado. Brasília: DF: Embrapa Informação Tecnológica, Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2001

SILVA, J. A.; SILVA D. B.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. Frutas Nativas dos Cerrados. Embrapa-CPAC, 1994.

SOUKOULIS, C., BOHN, T. A Comprehensive Overview on the Micro- and Nanotechnological Encapsulation Advances for Enhancing the Chemical Stability and Bioavailability of Carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2015.

SPRUIJT, E., SPRAKEL, J., STUART, M. A. C., VAN DER GUCHT, J. Interfacial tension between a complex coacervate phase and its coexisting aqueous phase. *SoftMatter*, v. 6, n. 1, 2010.

SRI.S, J., SEETHADEVI, A., PRABHA, K. S., MUTHUPRASANNA, P., PAVITRA, P. Microencapsulation: A review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, v.3, n.1, 2012.

SUAVE, J., DALLAGNOL, 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.

TATAR, F., TUNÇ, M. T., DERVISOGLU, M., CEKMECELIOGLU, D., KAHYAOGU, T. Evaluation of hemicellulose as a coating material with gum arabic for food microencapsulation. *Food Research International*, v. 57, p. 168-175, 2014.

TEIXEIRA NETO, R. O.; VITALI, A.; QUAST, D. G. Reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados. 3. ed. Campinas: ITAL, 2004. (Manual Técnico, 6).

TORRES, L. R. O., SANTANA, F. C., TORRES-LEAL, F. L.; MELLO, I. L. P., YOSHIME, L. T., MATOS-NETO, E. M., SEELAENDER, M. C. L., ARAÚJO, C. M. M., COGLIATI, B., MANCINI-FILHO, J. Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almond oil attenuates carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in rats: Antioxidant and anti-inflammatory effects. *Food and Chemical Toxicology*, v.97, p.205-216, 2016.

VIANNI, R., BRAZ-FILHO, R. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. *Química Nova*, v. 19, n. 4, 1996.

VILELA, Ana Luisa Miranda. Avaliação dos efeitos antigenotóxicos, antioxidantes e farmacológicos de extratos da polpa do fruto de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) [Tese]. Brasília: Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília; 2009.

XIAO, JUN-XIA., HUANG, GUO-QING., WANG, SHI-QING., SUN, YAN-TING. Microencapsulation of capsanthin by soybean protein isolate-chitosan coacervation and microcapsule stability evaluation. *Journal of Applied Polymer Science*, v.131, nº1, p.1-7, 2014.

YE A., FLANAGAN J., SINGH H. Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum arabic. *Biopolymers*, v.82, 2006.

ZUANON, L. A. C., MALACRIDA, C. R., TELIS, V. R. N. Production of turmeric oleoresin microcapsules by complex coacervation with gelatin-gum arabic. *Journal of Food Process Engineering*, v.36, 2013.

4 ARTIGO 1

Microencapsulação de óleo da polpa de pequi por coacervação complexa

Priscilla Narciso Justi; Eliana Janet Sanjinez-Argandoña; Maria Lígia Rodrigues
Macedo

RESUMO

O óleo da polpa de pequi, *Caryocar brasiliense*, é rico em carotenoides, composto antioxidante facilmente oxidado pela presença de calor, luz e oxigênio. Com o objetivo de melhorar sua estabilidade, o óleo de pequi foi microencapsulado por coacervação complexa utilizando gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes. Vinte formulações foram preparadas a partir do delineamento composto central rotacional 2³. Neste estudo foi avaliada a influência da temperatura, velocidade de agitação e material de núcleo na coacervação, a fim de preservar os carotenoides presentes no óleo. Os melhores valores de rendimento e carotenoides foram obtidos no ponto central do delineamento (7,5g de recheio, 15.000rpm e 50°C). As partículas apresentaram distribuição assimétrica com diâmetro de 15 a 145µm e a eficiência, obtida em função do óleo retido na microcapsula, variou entre 66,58 a 96,50%, comprovando a eficácia deste método de encapsulação.

Termos para indexação: *Caryocar brasiliense*, carotenoides, retenção.

Microencapsulation of pequi pulp oil by complex coacervation

Priscilla Narciso Justi; Eliana Janet Sanijinez-Argandoña; Maria Lúgia Rodrigues
Macedo

ABSTRACT

Pequi pulp oil, *Caryocar brasiliense*, is rich in carotenoids, antioxidant compounds which is easily oxidized by the presence of heat, light and oxygen. In order to improve its stability, pequi oil was microencapsulated by complex coacervation using gelatin and Arabic gum as encapsulating agents. Twenty formulations were prepared using the central composite rotational design 2^3 . The influence of temperature, stirring speed and core material in the oil coacervation were evaluated, aimed to preserve the carotenoids present on the oil. The best yield values and carotenoids content were obtained at the midpoint of design (7.5g core, 15.000rpm and 50°C). The particles showed an asymmetric distribution with diameter ranging from 15 to 145µm and the efficiency of the encapsulation process, obtained by the oil into the microcapsule, ranged from 66.58 to 96.50%, thus demonstrating the encapsulation efficiency of this method.

Index terms: *Caryocar brasiliense*, carotenoids, retention.

1 INTRODUÇÃO

O Bioma Cerrado corresponde a 24% do território brasileiro, concentrando um terço da biodiversidade nacional e 5% da flora e fauna mundial. Dentre as frutíferas nativas do cerrado de grande valor econômico e importante fonte nutricional, destaca-se o pequi (*Caryocar brasiliense*) muito utilizado na culinária do Centro-Oeste, especialmente no estado de Goiás. A polpa do pequi é rica em carotenoides, compostos fenólicos e ácidos graxos insaturados, com predominância do ácido oleico e palmítico (LIMA et al., 2007; BARRA et al., 2013).

Os carotenoides são antioxidantes naturais que podem prevenir ou diminuir os danos oxidativos, pois possuem a capacidade de reagir com os radicais livres, apresentando propriedades benéficas à saúde, atuando principalmente na prevenção de carcinomas, doenças cardiovasculares, oftalmológicas, pulmonares e desordens neurodegenerativas (RAO et al., 2007; LIMA et al., 2012; ALÓS et al., 2016).

Porém os carotenoides são sensíveis às condições ambientais adversas tais como calor, luz e oxigênio (SANTANA et al., 2013), fatores estes que aceleram a sua degradação sendo necessário a utilização de técnicas adequadas, capazes de preservar a ação bioativa desses constituintes. Os efeitos da deterioração destes compostos podem ser minimizados pelo processo de microencapsulação.

A microencapsulação oferece proteção do material encapsulado, mascaramento de sabores e odores, possibilidade de liberação controlada do recheio e aumento da estabilidade (AHN et al, 2008; AUGUSTIN et al, 2009). Neste método é imprescindível a escolha correta do material de parede. Os principais biopolímeros empregados são os polissacarídeos (amido, maltodextrina, goma arábica, alginato, quitosana, carragena), proteínas (gelatina, caseína, soja, trigo) (GIBBS et al, 1999; MARTINS et al, 2014).

Entre as técnicas utilizadas para microencapsulação, a coacervação complexa tem sido o método mais aplicado em substâncias lipofílicas. O processo consiste na separação espontânea de fases que ocorre quando polieletrólitos de cargas opostas (proteína e polissacarídeo) são misturados em um único meio aquoso sendo influenciados pelo pH, força iônica e eletrostática (DUCEL et al., 2004; COMUNIAN et al., 2016).

Estudos científicos mostram a importância e o efeito da microencapsulação por coacervação complexa na disponibilidade controlada do extrato de própolis (NORI et al., 2011) e da droga oral celecoxib (CHENG et al., 2010). A estabilidade da luteína e do ácido ascórbico foram estudados por Qv et al. (2011) e Comunian et al. (2013). A microencapsulação pode ser empregada na preservação de pigmentos como a cúrcuma (ZUANON et al., 2013; WANG et al., 2012), na retenção de sabor e aroma do óleo essencial de laranja (JUN-CHIA et al., 2011) e do xilitol (SANTOS et al., 2015). A conservação de carotenoides de frutos do cerrado foi estudada por LESCANO et al. (2014) e Lima (2014).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a retenção de carotenoides das microcápsulas produzidas a partir do óleo de pequi pela técnica de coacervação complexa.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

O pequi (*Caryocar brasiliense*) foi adquirido em Campo Grande (MS), latitude 20°26'34'' e longitude 54°38'47'', 532 m de altitude, durante o período de dezembro/janeiro de 2015 e 2016. Os frutos foram selecionados, higienizados, descascados e despolidos manualmente com o auxílio de facas de aço inoxidável. A polpa foi desidratada a 50°C em desidratador com velocidade de ar de 0,5m/s por 24 horas. Da polpa desidratada foi extraído o óleo por prensagem a temperatura ambiente em prensa tipo *expeller*. O óleo obtido foi centrifugado a 1.500rpm por 15 minutos para separação de impurezas.

2.2 Reagentes

Para o processo de microencapsulação foram utilizados gelatina (Fluka), goma arábica (Vetec) e ácido clorídrico (Vetec). Reagentes de grau analítico P.A. foram utilizados para as análises.

2.3 Obtenção das microcápsulas

As microcápsulas do óleo da polpa de pequi foram preparadas pelo método de coacervação complexa em meio aquoso de acordo com o procedimento descrito por Alvim et al. (2010) com modificações obtendo-se uma emulsão fina e estável do núcleo (óleo) na solução do material de parede. Para isto, uma alíquota de óleo (3,3g a 11,7g) foi misturada com 100mL de solução de gelatina (2,5%) previamente hidratada e aquecida (33,2°C a 66,8°C). A mistura foi homogeneizada em agitador ultraturrax com velocidade controlada (6.600rpm a 23.400rpm) por um minuto. Em seguida foram adicionadas 100mL de solução de goma arábica (2,5%) e 400mL de água deionizada, ambas aquecidas à mesma temperatura que a mistura anterior. Após esta etapa o pH da suspensão foi ajustado com solução de HCl (0,1M) até atingir um pH 4. O material então foi resfriado em banho de gelo, sob agitação constante até atingir 10°C, logo permaneceu em repouso, obtendo-se por decantação as partículas encapsuladas na forma de uma fina emulsão que foi mantida a 8°C por 16 horas.

2.4 Otimização do processo de microencapsulação

Os ensaios foram realizados de acordo com um delineamento composto central rotacional (DCCR) 2^3 para investigar os efeitos de três variáveis independentes (temperatura, velocidade de homogeneização e recheio) na eficiência e rendimento da microencapsulação e a retenção de carotenoides nas micropartículas. A Tabela 1 mostra os níveis utilizados no delineamento experimental. O delineamento consistiu de 20 experimentos incluindo 6 repetições do ponto central conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Níveis das variáveis independentes utilizadas no delineamento composto central rotacional experimental para a microencapsulação de óleo da polpa de pequi

Variáveis independentes	Variáveis codificadas	Nível				
		-1,68	-1	0	1	1,68
Temperatura (°C)	X ₁	33,2	40	50	60	66,8
Velocidade (rpm)	X ₂	6.600	10.000	15.000	20.000	23.400
Recheio (g)	X ₃	3,3	5	7,5	10	11,7

Os dados experimentais foram ajustados a uma equação polinomial de segunda ordem. Equação 1.

$$y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_3 x_3 + b_{11} x_1^2 + b_{22} x_2^2 + b_{33} x_3^2 + b_{12} x_1 x_2 + b_{13} x_1 x_3 + b_{23} x_2 x_3 \quad (1)$$

Onde **y** é a resposta (variável dependente); **b₀** a constante de regressão; **b₁**, **b₂** e **b₃** o coeficiente de regressão para o termo linear; **b₁₁**, **b₂₂** e **b₃₃** o coeficiente de regressão quadrático; **b₁₂** e **b₁₃**, **b₂₃** o coeficiente de interação dos termos e **x₁**, **x₂** e **x₃** representam os valores das variáveis independentes (temperatura, velocidade e recheio, respectivamente)

2.5 Rendimento

O rendimento das microcápsulas formadas foi calculado a partir da separação das fases obtidas na microencapsulação (sobrenadante e sedimento). Após o repouso do sistema por 16 horas, as microcápsulas foram centrifugadas a 1.500rpm e o sobrenadante coletado e tamisado em malha com abertura de 0,075mm para separação total do sobrenadante e sedimento (microcápsulas úmidas). As microcápsulas sedimentadas foram pesadas e o conteúdo de umidade foi determinado (AOAC, 2000) para calcular o rendimento pela Equação 2.

$$R (\%) = \frac{MS_{base\ seca}}{MTI_{base\ seca}} \times 100$$

(2)

Onde **R** é o rendimento de microcápsulas (%), **MS_{base seca}** a quantidade de microcápsula sedimentada (g) e **MTI_{base seca}** a massa teórica inicial constituída de goma arábica + gelatina + óleo (g).

2.6 Eficiência

A eficiência da encapsulação foi calculada a partir da quantidade de óleo presente em um grama de microcápsula (base seca) em relação à quantidade de

óleo inicialmente inserido no processo de microencapsulação pela Equação 3 (BUENO et al., 2011).

$$E (\%) = \frac{OEM}{OIM} \times 100 \quad (3)$$

Onde **E** é a eficiência da encapsulação (%), **OEM** a quantidade de óleo extraído das microcápsulas (g) e **OIM** a quantidade inicial de óleo utilizada na produção das microcápsulas (g).

2.7 Carotenoides totais

Os carotenoides totais foram quantificados no óleo da polpa de pequi e nas microcápsulas úmidas de acordo com a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001) baseado na extração com acetona e separação em éter de petróleo. As amostras (2,0g) foram maceradas com 0,5g de celite, e quantidade suficiente de acetona a 10°C até extração total dos carotenoides, em almofariz. O extrato obtido foi filtrado sob vácuo e transferido para um funil de separação, contendo 40mL de éter de petróleo. Água destilada foi incorporada à mistura obtendo-se duas fases: (carotenoides + éter de petróleo e água + acetona). A acetona foi retirada da mistura por arraste com água. O extrato (carotenoides + éter de petróleo) foi transferido para um balão volumétrico de 50mL e o volume completado com éter de petróleo. A absorbância da solução foi então determinada em espectrofotômetro UV-VIS (Biochrom, modelo Libra S60PC) a 450nm e o éter de petróleo utilizado como branco. A Equação 4 informa o percentual de carotenoides em 1g da amostra.

$$C \left(\frac{\mu g}{g} \right) = \frac{\lambda_{max} \times d \times 10^4}{\epsilon \times m} \quad (4)$$

Onde **λ_{max}** é a absorbância máxima (nm), **d** a diluição da amostra (ml), **ϵ** é o coeficiente de absorção do β - caroteno em éter de petróleo (2592) e **m** a massa da amostra (g).

2.8 Tamanho e distribuição das microcápsulas

Um microscópio óptico acoplado a uma câmera fotográfica (Nikon Eclipse – 200) foi utilizado para verificar a formação de microcápsulas. Uma alíquota de microcapsulas foi diluída em água destilada e a suspensão avaliada. Para cada amostra foram analisadas 200 microcápsulas. O tamanho foi determinado a partir das imagens obtidas pelo software Image Pro Plus 4.0.

2.9 Análise estatística

Os experimentos foram realizados de acordo com o delineamento composto central rotacional em triplicata. As diferenças entre os valores médios foram determinadas pela análise de variância (ANOVA) e a comparação das médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) utilizando o programa Statistica 7.0 (STATSOFT, Inc.2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimento

Os valores de rendimento do processo, eficiência da microencapsulação e a retenção de carotenoides nas microcápsulas são mostrados na Tabela 2. Os valores obtidos para o rendimento da formação de microcápsulas nos tratamentos do planejamento variaram entre 67,07% a 97,07% conforme condição aplicada (Tabela 2).

Esses valores foram semelhantes aos obtidos por Siow et al. (2013) na microencapsulação por coacervação complexa de óleo de alho empregando gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes. De acordo com os autores, este resultado pode estar relacionado com a proporção dos agentes encapsulantes utilizados no processo. Quando um dos coloides (goma ou gelatina) está em excesso no sistema, a presença de cargas não neutralizadas irá ocasionar a redução da atração entre os dois coloides reduzindo assim o rendimento dos coacervados.

Tabela 2. Respostas do delineamento composto central rotacional para microcápsula de óleo de pequi usando goma arábica e gelatina como encapsulantes.

Ensaio	A °C	B rpm	C g	Rendimento (%)	Eficiência (%)	Carotenoides (µg/gms) *
1	40	10.000	5	67,07	66,58	60,30
2	40	10.000	10	79,12	78,06	40,95
3	40	20.000	5	73,91	74,68	46,86
4	40	20.000	10	76,70	75,64	29,27
5	60	10.000	5	72,45	71,80	31,84
6	60	10.000	10	80,29	79,96	49,32
7	60	20.000	5	71,65	71,99	25,83
8	60	20.000	10	77,06	76,26	24,96
9	33,2	15.000	7,5	74,75	75,20	25,25
10	66,8	15.000	7,5	72,30	72,42	24,73
11	50	6.600	7,5	77,70	76,83	23,95
12	50	23.400	7,5	75,67	76,25	21,74
13	50	15.000	3,3	73,01	74,28	44,15
14	50	15.000	11,7	79,49	79,06	23,85
15 (0)	50	15.000	7,5	96,76	96,24	192,15
16 (0)	50	15.000	7,5	97,07	96,86	191,60
17 (0)	50	15.000	7,5	96,40	96,70	191,48
18 (0)	50	15.000	7,5	96,91	96,34	191,96
19 (0)	50	15.000	7,5	96,45	96,68	192,10
20 (0)	50	15.000	7,5	96,67	96,50	192,04

A, temperatura (°C); B, velocidade de homogeneização (rpm); C, recheio (g); 0, ponto central *, expresso em massa seca.

O rendimento indica que a interação dos agentes encapsulantes (goma arábica + gelatina) foi eficaz na formação de microcapsulas. O maior rendimento foi obtido nos ensaios do ponto central, isto é, na condição de processo realizada a 50°C com agitação de 15.000rpm e recheio (óleo de pequi) de 7,5g, obtendo-se em média 96,71%. Esses resultados mostram a influência da temperatura, velocidade de homogeneização e recheio na formação de microcapsulas do óleo de pequi.

A Tabela 3 mostra os coeficientes de regressão, o valor de F e o coeficiente de determinação (R^2) para o rendimento. Considerando as estimativas de cada parâmetro, o modelo de segunda ordem foi preditivo (Equação 5) com coeficiente de

determinação de (R_2) de 98%. Os resultados da análise estatística são também apresentados pelo gráfico de Pareto (Figura 1), onde os termos quadráticos da temperatura, recheio e velocidade e linear do recheio, bem como a interação linear da velocidade-recheio e temperatura-velocidade apresentaram-se significativos ($p \leq 0,05$).

Tabela 3. Parâmetros de regressão para análises de variância ANOVA do rendimento da microencapsulação do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*)

Fator	SQ	GL	MQ	F	p
(1) Temperatura (L)	0,042	1	0,042	0,048	0,828
Temperatura (Q)	1876,699	1	1876,699	2132,520	$\leq 0,05$
(2) Velocidade (L)	1,337	1	1,337	1,519	0,229
Velocidade (Q)	1392,399	1	1392,399	1582,204	$\leq 0,05$
(3) Recheio (L)	222,672	1	222,672	253,026	$\leq 0,05$
Recheio (Q)	1455,460	1	1455,460	1653,860	$\leq 0,05$
1L 2L	17,808	1	17,808	20,236	$\leq 0,05$
1L 3L	0,624	1	0,624	0,709	0,407
2L 3L	34,164	1	34,164	38,821	$\leq 0,05$
Falta de ajuste	44,974	5	8,995	10,221	$\leq 0,05$
Puro erro	22,001	25	0,880		
Total SS	4297,590	39			
R^2	0,9844				

SQ, soma dos quadrados; GL, graus de liberdade; MQ, média quadrática; F parâmetro de Fisher para o teste de significância dos efeitos; p (significância $\leq 0,05$); Q, quadrático; L, linear.

$$R(\%) = -272,11 + 8,46 \times A - 0,08 \times A^2 + 0,01 \times B - 2,8 \times 10^{-7} \times B^2 - 2,1 \times 10^{-5} \times A \times B - 7,9 \times 10^{-3} \times 7,5 \times A - 1,2 \times 10^{-4} \times 7,5 \times B + 88,74 \quad (5)$$

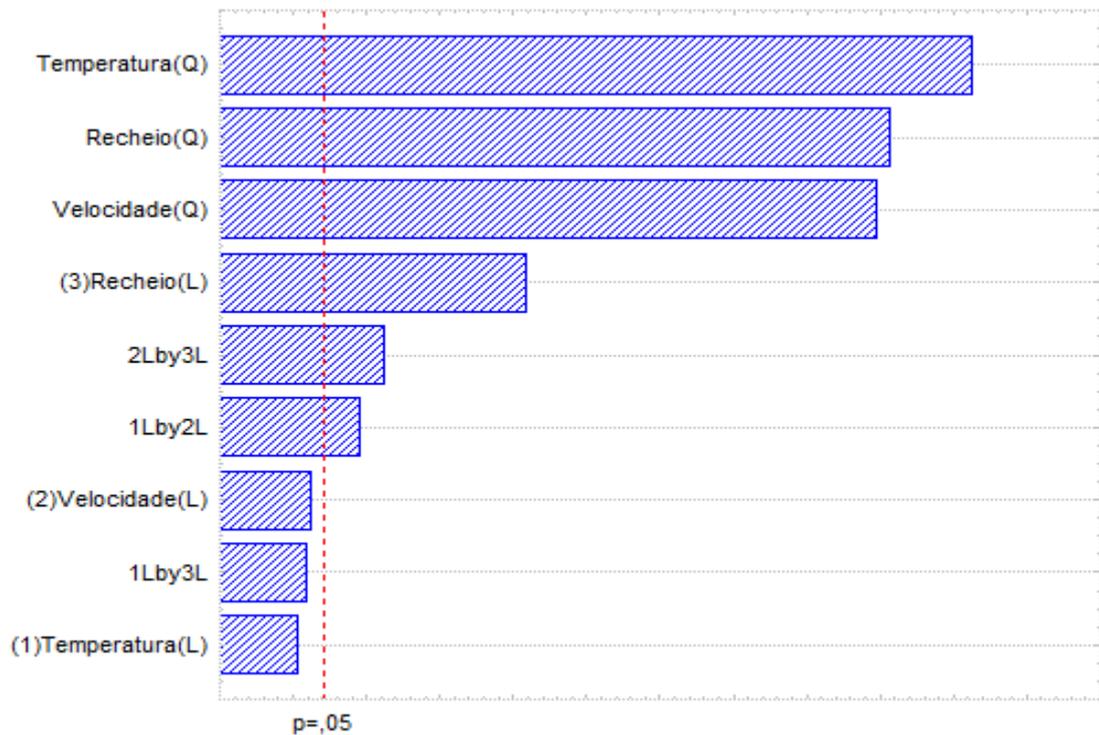


Figura 1. Gráfico de Pareto, efeitos e interações das variáveis temperatura (°C), recheio (g) e velocidade de homogeneização (rpm) sobre o rendimento na produção de microcápsulas.

Entretanto, a formação de microcápsulas não necessariamente significa que as mesmas apresentem o núcleo preenchido da substância que se deseja encapsular, portanto a eficiência da encapsulação deve ser considerada.

3.2 Eficiência

A eficiência de encapsulação corroborou com o rendimento, apresentando valores entre 66,58 e 96,86% (Tabela 2). De acordo com Assis et al. (2012) e Bakry et al. (2016), a coacervação é uma técnica que apresenta alta eficiência de encapsulação (até 99%). Prata et al. (2015) obtiveram 91,8% de eficiência na microencapsulação do óleo essencial de vetiver utilizando gelatina e goma arábica como encapsulantes e Santos et al. (2015) para a microencapsulação de xilitol obteve eficiência variando de 31,42 a 62,94% com os mesmos agentes utilizados neste estudo.

A variação na eficiência pode ser atribuída à proporção ativo-material, segundo Zuanon et al. (2013), quantidades menores de recheio aumentam a possibilidade dos polímeros cobrirem a gota do material, permitindo maior eficiência. Neste estudo

houve a influência pelas três variáveis independentes apresentando valores de aproximadamente 97% nos ensaios do ponto central do planejamento (50°C, 15.000rpm e 7,5g de recheio).

A eficiência da microencapsulação foi influenciada pelo modelo quadrático de temperatura, velocidade e recheio (Tabela 4), assim como a interação do termo linear de temperatura-velocidade e velocidade-recheio. O modelo de eficiência apresentou bom ajuste aos dados experimentais. Considerando os coeficientes significativos o modelo preditivo foi obtido com ajuste de 98% (Equação 6).

Tabela 4. Parâmetros de regressão para análises de variância ANOVA da eficiência da microencapsulação do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*)

Fator	SQ	GL	MQ	F	p
(1) Temperatura (L)	0,020	1	0,020	0,031	0,862
Temperatura (Q)	1864,557	1	1864,557	2917,342	≤0,05
(2) Velocidade (L)	0,208	1	0,208	0,325	0,573
Velocidade (Q)	1444,047	1	1444,047	2259,400	≤0,05
(3) Recheio (L)	158,626	1	158,626	248,192	≤0,05
Recheio (Q)	1424,986	1	1424,986	2229,576	≤0,05
1L 2L	21,045	1	21,045	32,928	≤0,05
1L 3L	0,000	1	0,000	0,000	0,997
2L 3L	51,876	1	51,876	81,167	≤0,05
Falta de ajuste	45,272	5	9,054	14,167	≤0,05
Puro erro	15,978	25	0,639		
Total SS	4253,893	39			
R ²	0,9856				

SQ, soma dos quadrados; GL, graus de liberdade; MQ, média quadrática; F parâmetro de Fisher para o teste de significância dos efeitos; p (significância ≤0,05); Q, quadrático; L, linear.

$$E = -205,35 + 6,79 \times A - 0,08 \times A^2 + 0,01 \times B - 2,8 \times 10^{-7} \times B^2 - 2,3 \times 10^{-5} \times 7,5 \times A - 1,4 \times 10^{-4} \times 7,5 \times B + 86,83 \quad (6)$$

A figura 2 apresenta os resultados experimentais e os preditos pelo modelo ajustado, mostrando boa concordância entre eles como esperado pelos resultados da análise de variância (Tabela 4).

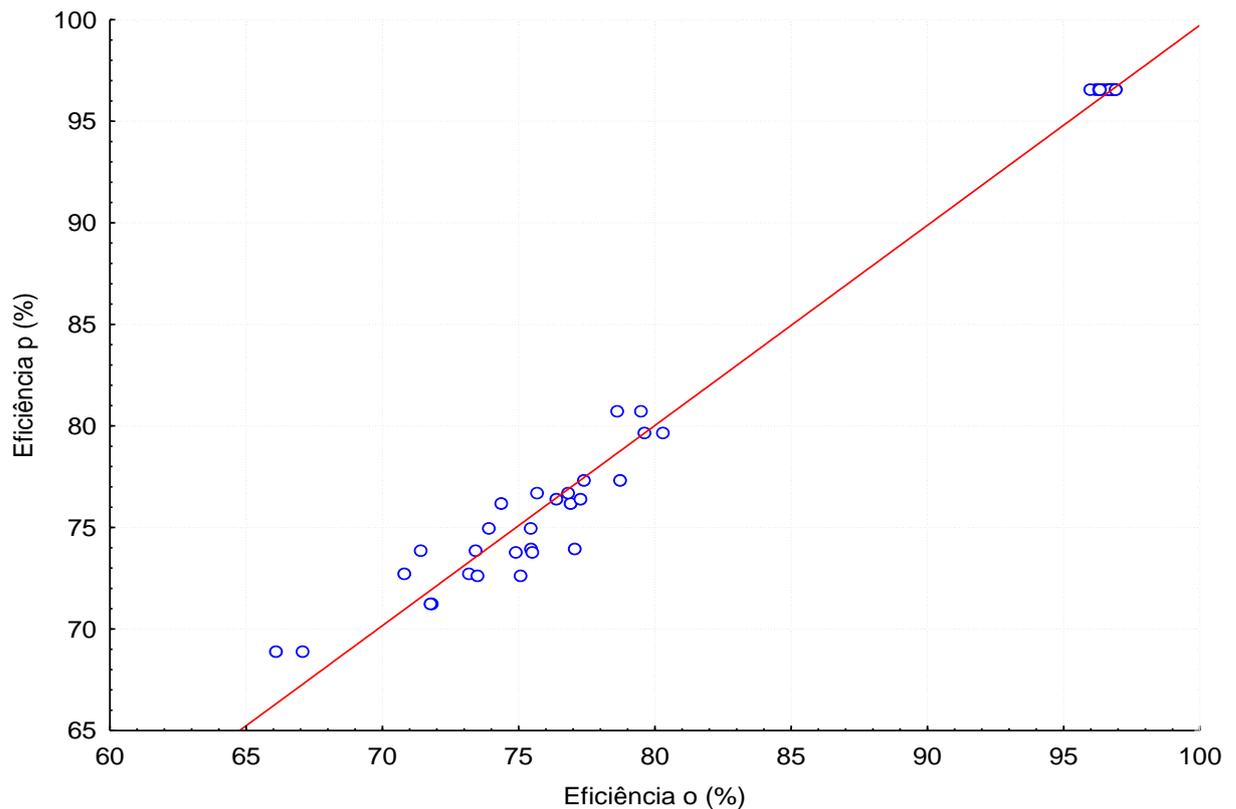


Figura 2. Gráfico de valores preditos e experimentais da eficiência de encapsulação do óleo de pequi. Eficiência p (%): valores de eficiência preditos pelo modelo matemático; Eficiência o (%): valores de eficiência obtidos experimentalmente.

3.3 Carotenoides

A retenção de carotenoides nas microcapsulas úmidas variou de 21,74 a 192,15 $\mu\text{g/gms}$ conforme Tabela 2. O conteúdo de carotenoides no óleo bruto de pequi foi de 333,03 $\mu\text{g/gms}$. Considerando a eficiência da encapsulação do óleo, pode se verificar que houve degradação dos carotenoides de 3,86% a 89,77%. Os menores valores de retenção foram verificados para os ensaios que apresentaram maior velocidade de homogeneização, provavelmente devido à exposição direta ao oxigênio durante a formação da emulsão ocasionada pela alta velocidade, o que provoca a oxidação deste biocompósito.

A análise de regressão dos resultados (Tabela 5) mostra que todas as variáveis estudadas (temperatura, velocidade de homogeneização e recheio) foram significativas ($p \leq 0,05$), gerando o modelo preditivo apresentado na (Equação 7). O

modelo se ajustou aos dados experimentais com coeficiente de determinação (R^2) de 98%.

Tabela 5. Parâmetros de regressão para análises de variância ANOVA de carotenoides da microencapsulação do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*)

Fator	SQ	GL	MQ	F	p
(1) Temperatura (L)	314,2	1	314,19	806,3	≤0,05
Temperatura (Q)	85430,0	1	85430,03	219238,5	≤0,05
(2) Velocidade (L)	513,7	1	513,66	1318,2	≤0,05
Velocidade (Q)	87827,9	1	87827,95	225392,3	≤0,05
(3) Recheio (L)	434,2	1	434,23	1114,4	≤0,05
Recheio (Q)	75720,1	1	75720,15	194320,1	≤0,05
1L 2L	6,9	1	6,88	17,6	≤0,05
1L 3L	716,5	1	716,50	1838,7	≤0,05
2L 3L	68,8	1	68,77	176,5	≤0,05
Falta de ajuste	3658,3	5	731,67	1877,7	≤0,05
Puro erro	9,7	25	0,39		
Total SS	213855,4	39			
R^2	0,9828				

SQ, soma dos quadrados; GL, graus de liberdade; MQ, média quadrática; F parâmetro de Fisher para o teste de significância dos efeitos; p (significância ≤0,05); Q, quadrático; L, linear.

$$Car = -2025,74 + 52,57 \times A - 0,54 \times A^2 + 0,068 \times B - 2,2 \times 10^{-6} - 1,3 \times 10^{-5} \times A \times B + 0,27 \times 7,5 \times A - 1,6 \times 10^{-4} \times B + 370,1 \quad (7)$$

A superfície de resposta e gráfico de contorno da retenção de carotenoides nas micropartículas estão apresentadas na Figura 3 (a,b). Pela análise de superfície de resposta gerada pelo modelo verificou-se que maiores retenções de carotenoides foram observadas na temperatura entre 35°C e 65°C aliado a velocidade de homogeneização entre 10.000rpm e 20.000rpm. Condições semelhantes a este estudo foram apresentadas por Lescano et al. (2014) na microencapsulação do óleo de bocaiúva utilizando os mesmos agentes encapsulantes. Segundo o autor, temperaturas elevadas e a incorporação de ar durante o processo de agitação contribuem para a degradação dos carotenoides. Em outro estudo Qv et al. (2011) observou que o aumento da temperatura no processo de encapsulação reduziu a

taxa de retenção da luteína em microcapsulas formadas com gelatina e goma arábica, corroborando com o presente estudo.

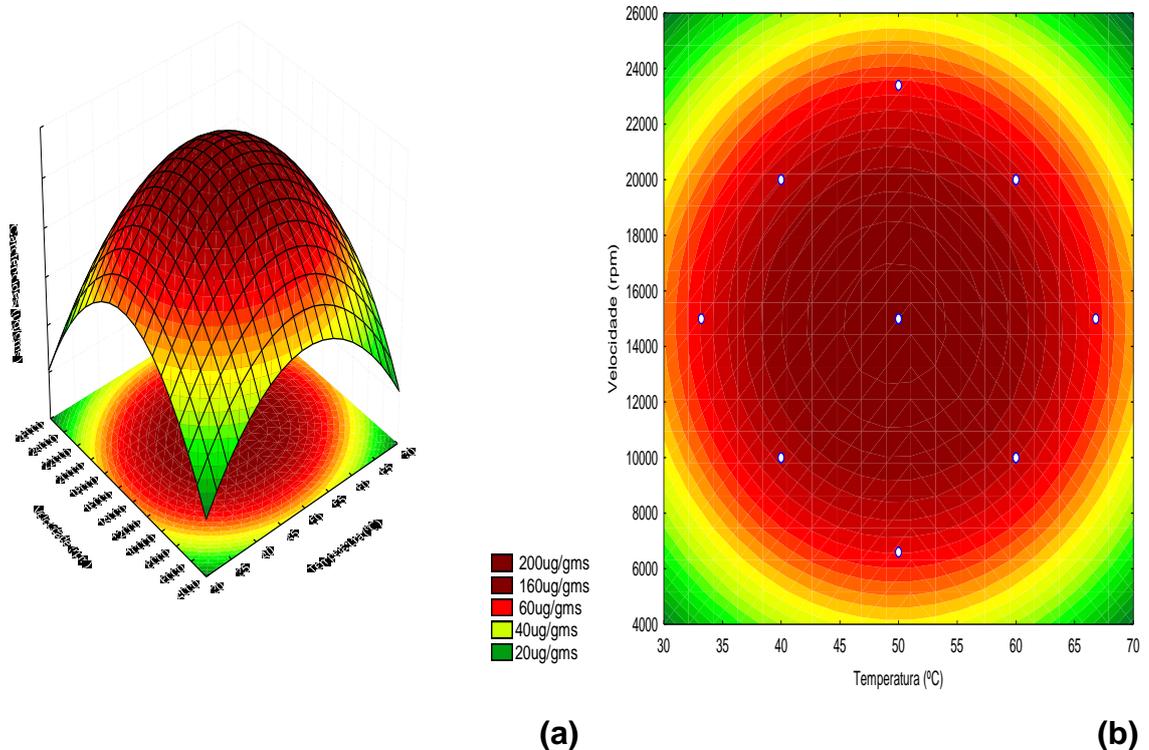


Figura 3. Superfície de resposta **(a)** e gráfico de contorno **(b)** da interação da velocidade, temperatura e recheio na influência da degradação de carotenoides em microcápsulas de óleo da polpa de pequi.

A região de maior retenção de carotenoides (Figura 3 a,b) encontra-se localizada no ponto central do delineamento, onde as condições de processo foram 50°C, 15.000rpm e 7,5g de recheio, observadas na superfície de resposta e no gráfico de contorno pela intensidade da cor vermelha.

3.4 Tamanho de partícula

O tamanho das microcapsulas úmidas contendo óleo de pequi são apresentados na Figura 4. Observa-se uma distribuição assimétrica do tamanho da partícula. O diâmetro das microcápsulas variou de 15 a 145µm, sendo que 71,06% das microcapsulas apresentaram tamanho entre 15 a 34µm. De acordo com Favaro-Trindade et al. (2008) os valores esperados para microcapsulas obtidas por coacervação complexa estão na faixa de 1 a 500 µm.

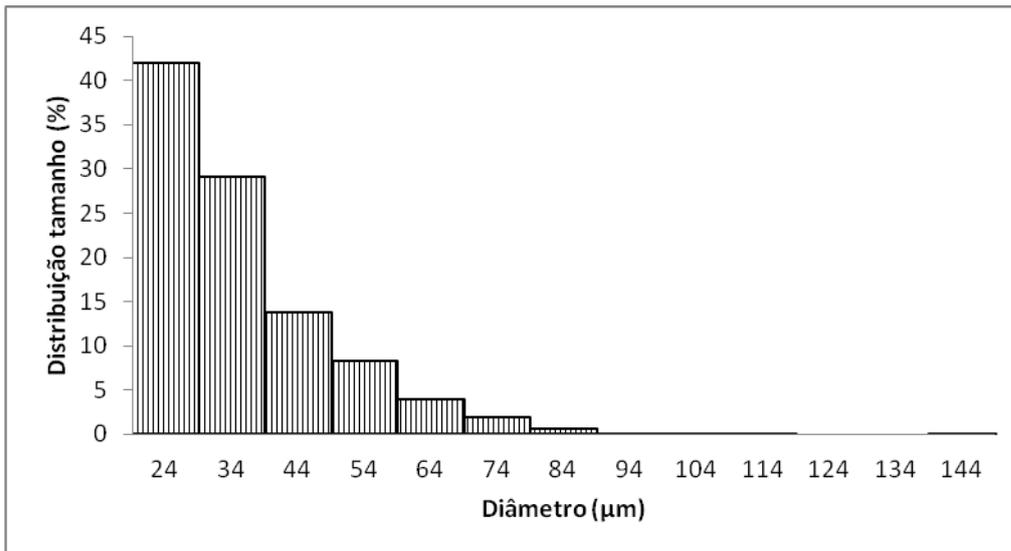


Figura 4. Distribuição do tamanho das partículas de microcapsula de pequi

Diâmetros de (50-100 μm) e (45,3-296,5 μm) foram observados na microencapsulação de brócolis (SANCHEZ et al., 2016) e no complexo de óleo de soja em ácido estearidônico (IFEDUBA et al., 2015), respectivamente. O tamanho de partícula pode ser influenciado por diversos fatores como taxa de agitação, viscosidade, quantidade de recheio-polímero, pH, taxa de resfriamento e secagem (LAMPRECHT et al., 2001; NAKAGAWA et al., 2004; KAUSHIK et al., 2015). Partículas de tamanho menor podem ser atribuídas a partículas de agente encapsulantes que não encapsularam (TONON et al., 2011). Entretanto Lee et al. (1999) ressalta que microcápsulas de tamanho menor apresentam maior área de superfície e membrana mais fina, tornando o material de núcleo mais fácil de ser difundido pela membrana das microcápsulas.

Segundo Kaushik et al. (2015) o tamanho de partículas recomendada para aplicação em produtos alimentares deve ser inferior a 100 μm afim de evitar a percepção sensorial na boca. Para a microencapsulação de drogas é recomendado que as partículas sejam menores que 200 μm (AZAGHESWARI et al., 2015). Portanto, as partículas obtidas neste estudo podem ser empregadas tanto em alimentos como em fármacos.

4 CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste estudo mostram que é possível microencapsular óleo de pequi por coacervação complexa. As variáveis independentes do processo de microencapsulação influenciaram significativamente no rendimento, eficiência e na retenção de carotenoides. Os modelos gerados pelo delineamento composto central rotacional foram preditivos apresentando coeficientes de correlação de 98%. O tamanho das partículas apresentou distribuição assimétrica dentro da faixa estabelecida pela literatura. A partir destes resultados, sugerem-se estudos futuros para avaliar a estabilidade das microcapsulas do óleo de pequi visando sua aplicação no setor alimentício e da saúde.

REFERENCIAS

AHN, J.H.; KIM, Y.P.; SEO, E.M.; LEE, K.W.; KIM, H.S. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. *Food Chemistry*, v.107, n.1, p.98-105, 2008.

ALÓS, E.; RODRIGO, M.J.; ZACARIAS, L. Manipulation of carotenoid content in plants to improve human health. C. Stange (ed.), *Carotenoids in Nature, Subcellular Biochemistry*, v.79, p.311-343, 2016.

ALVIM, I.D.; GROSSO, C.R.F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, v.30, n.4, p.1069-1076, 2010.

AOAC Official Methods of Analysis of the AOAC., Association of Official Analytical Chemists, 17th Edition, 2000.

ASSIS, L.M.; ZAVAREZE, E.R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA-SOARES, L. A. Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology, Campinas*, v.15, n.2, p.99-109, 2012.

AUGUSTIN, M.A.; HEMAR, Y. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, v.38, n.4, p.902-912, 2009.

AZAGHESWARI, B. K.; PADMA, S.; PRIYA, S.P. A review on microcapsules. *Global Journal of Pharmacology*, v.9, n.1, p.28-39, 2015.

BAKRY, A.M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v.15, n. 1, p.143-182, 2016.

BARRA, P.M.C.; OLIVEIRA, M.A.L.; NERY-ENES, B.; CARDOSO, L.M.; CESÁRIO, C.C.; MOREIRA, A.V.B.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M.; PELUZIO, M.C.G.

Simultaneous Analysis of Saturated and Unsaturated Fatty Acids Present in Pequi Fruits by Capillary Electrophoresis. *Química Nova*, São Paulo, v.36, n.9, p.1430-1433, 2013.

BUENO, C.M.; ALVIM, I.D.; KOBERSTEIN, T.C.R.D.; PORTELA, M.C.; GROSSO, C. Production of Tilapia Skin Gelatin and Its Use in the Production of Micro-Particles Containing Salmon Oil. *Brazil Journal of Food Technology*, v.14, n.1, p.65-73, 2011.

CHENG, S.Y.; YUEN, M. C-H.; LAM, Pik-Ling.; GAMBARI, R.; WONG, R. S-M.; CHENG, G.Y.M.; LAI, P.B.S.; TONG, S.W.; CHAN, K.W.; LAU, F.Y.; KOK, S.H.L.; LAM, K.H.; CHUI, C.H. Synthesis, characterization and preliminary analysis of in vivo biological activity of chitosan/celecoxib microcapsules. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.20, n.14, p.4147-4151, 2010.

COMUNIAN, T.A.; THOMAZINI, M.; ALVES, A.J.G.; JUNIOR, F.E.M.; BALIEIRO, J.C.C.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. *Food Research International*, v. 52, n.1, p.373-379, 2013.

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

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

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

GIBBS, B.F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C.N. Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Science and Nutrition*, v.50, n. 3, p.213-224, 1999.

KAUSHIK, P.; DOWLING, K.; BARROW, C.J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. *Journal of Functional Foods*, v.19, p.868-881, 2015.

IFEDUBA, E.A.; AKOH, C.C. Microencapsulation of stearidonic acid soybean oil in complex coacervates modified for enhanced stability. *Food Hydrocolloids*, v.51, p.136-145, 2015.

JUN-XIA, X.; HAI-YAN, Y.; JIAN, Y. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry*, v.125, n. 4, p.1267-1272, 2011.

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

LEE, S.J.; ROSENBERG, M. Preparation and properties of glutaraldehyde cross linked whey protein-based microcapsules containing theophylline. *Journal of Controlled Release*, v.61, n. 1-2, p.123-136, 1999.

LESCANO, C.H.; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E.J.; ARRUDA, E.J.; KASSUYA, C.A.L.; MORAES, I.C.F. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Oil Microencapsulation by

Complex Coacervation: Preservation of Bioactive Compounds. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, v.4, n.4, p.105-113, 2014.

LIMA, A.; SILVA, A.M.O.; TRINDADE, R.A.; TORRES, R.P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.29, n.3, p.695-698, 2007.

LIMA, J.P.; LOPES, C.O.; DIAS, N.A.A.; ANGELIS-PEREIRA, M.C. Atividade e biodisponibilidade dos carotenoides no organismo. *Revista Ciências em Saúde*, v.2, n 1, 2012.

LIMA, F.F. Microencapsulação do óleo de bacuri por coacervação complexa: obtenção, caracterização e avaliação biológica. 2014. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias, Universidade Federal da Grande Dourados, 2014.

MARTINS, I.M.; BARREIRO, M.F.; COELHO, M.; RODRIGUES, A.E. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. *Chemical Engineering Journal*, v.245, p.191-200, 2014.

NAKAGAWA, K.; IWAMOTO, S.; NAKAJIMA, M.; SHONO, A.; SATOH, K. Microchannel emulsification using gelatin and surfactant-free coacervate microencapsulation. *Journal of Colloid and Interface Science*, v.278, n.1, p.198-205, 2004.

NORI, M.P.; FAVARO-TRINDADE, C.S.; ALENCAR, S.M.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J.C.C.; CASTILLO, C.J.C. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT - Food Science and Technology*, v.44, n.2, p.429-435, 2011.

PRATA, A.S.; GROSSO, C.R.F. Influence of the oil phase on the microencapsulation by complex coacervation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.92, n. 7, p.1063-1072, 2015

- QV, X.Y.; ZENG, Z.P.; JIANG, J.G. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. *Food Hydrocolloids*, v. 25, n. 6, p.1596-1603, 2011.
- RAO, A.V.; RAO, L.G. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, v. 55, n. 3, p.207-216, 2007.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington: Ilsi, 2001, 64p.
- SANCHEZ, F.M.; GARCÍA, F.; CALVO, P.; BERNALTE, M.J.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. Optimization of broccoli microencapsulation process by complex coacervation using response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 34, p.243-249, 2016.
- SANTANA, A.A.; KUROZAWA, L.E.; OLIVEIRA, R.A.; PARK, K.J. Influence of Process Conditions on the Physicochemical Properties of Pequi Powder Produced by Spray Drying. *Drying Technology*, v. 31, n.7, p. 825-836, 2013.
- SANTOS, M.G.; BOZZA, F.T.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation. *Food Chemistry*, v.171, p.32-39, 2015.
- SLOW, L.F.; ONG, C.S. Effect of pH on garlic oil encapsulation by complex coacervation. *Journal of Food Processing & Technology*, v.4, n.1, 2013.
- STATSOFT. Software Statistica. Statsoft, v. 7.0, 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, n.1, p.282-289, 2011.
- WANG, Y.F.; SHAO, J.J.; ZHOU, C.H.; ZHANG, D.L.; BIE, X.M.; LV, F.X.; ZHANG, C.; LU, Z.X. Food preservation effects of curcumin microcapsules. *Food Control*, v.27, n.1, p.113-117, 2012.

ZUANON, L.A.C.; MALACRIDA, C.R.; TELIS, V.R.N. Production of turmeric oleoresin microcapsules by complex coacervation with gelatin-gum arabic. *Journal of Food Process Engineering*, v.36, n.3, p.364-373, 2013.

5 ARTIGO 2

AVALIAÇÃO DA VIDA ÚTIL DE MICROCAPSULAS DE ÓLEO DE PEQUI LIOFILIZADAS

Priscilla Narciso Justi; Eliana Janet Sanjinez-Argandoña; Maria Lígia Rodrigues
Macedo

RESUMO

O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é um fruto nativo do Cerrado brasileiro rico em lipídios, compostos fenólicos e carotenoides. Os carotenoides são pigmentos lipofílicos com propriedades nutritivas benéficas a saúde, devido a sua ação antioxidante. No entanto, os carotenoides são susceptíveis a degradação por condições ambientais adversas como: oxigênio, luz, calor e umidade. A microencapsulação é uma técnica que pode proteger e preservar a estabilidade dos óleos e compostos bioativos. O processo consiste no empacotamento de substâncias líquidas, sólidas ou gasosas por biopolímeros, formando cápsulas que influenciam na liberação controlada de seu conteúdo e aumentam a sua vida de prateleira. O óleo de pequi possui carotenoides, vitamina C e E, além de ácidos oleico e palmítico. Nesse contexto, objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento de microcápsulas de óleo de pequi liofilizadas e do óleo de pequi. O material foi dividido em dois grupos: embalagens flexíveis de polipropileno (PP) foram o grupo A e no grupo B as embalagens flexíveis de PP recobertas com papel alumínio. As condições controladas de armazenamento foram: (1) umidade relativa de 84% e temperatura de 25°C (condição ambiental) e (2) umidade relativa de 84% e temperatura de 40°C (condição acelerada). Foram determinadas em triplicata atividade de água, acidez, parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , saturação da cor (C^*), diferença da cor (ΔE), carotenoides e estabilidade oxidativa do óleo de pequi. O experimento foi casualizado com comparação das médias pelo teste de Tukey com nível de significância de $p \leq 0,05$. No estudo da vida útil das microcápsulas liofilizadas e do óleo de pequi, aproximadamente 74% dos carotenoides foram preservados no óleo microencapsulado em pó. A temperatura de 40°C favoreceu a oxidação e degradação dos carotenoides no óleo e microcápsula de pequi.

Palavras-chave: embalagem, *Caryocar brasiliense*, armazenamento

EVALUATION OF SHELF LIFE OF LYOPHILIZED PEQUI OIL MICROCAPSULES

Priscilla Narciso Justi; Eliana Janet Sanjinez-Argandoña; Maria Lúgia Rodrigues
Macedo

ABSTRACT

Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) is a native fruit from Brazilian Savanna, which is rich in lipids, phenolic compounds and carotenoids. Carotenoids are lipophilic pigments with beneficial properties to health, due to its antioxidant action. However, they are susceptible to degradation by some environmental conditions like oxygen, light, heat, and humidity. Microencapsulation is a technique that can protect and preserve the stability of oils and bioactive compounds. This process consist in packaging liquid, solid or gaseous substances by biopolymers, forming capsules that can influence on controlled release of its content and increase its shelf life. The pequi oil has carotenoids, vitamin C and E, as well as oleic and palmitic acid. In this context, the aim of this study was to evaluate the behavior of lyophilized pequi oil microcapsules. The material was divided in two groups: flexible packaging of polypropylene (PP), as group A, and flexible packaging of PP covered with aluminum foil, as group B. The controlled conditions of storage were: (1) relative humidity of 84% and temperature of 25°C (environmental condition), and (2) relative humidity of 84% and temperature of 40°C (accelerated condition). Water activity, acidity, color parameters of L*, a*, b*, color saturation (C*), color difference (ΔE), carotenoids, and oxidative stability of pequi oil was carried out in triplicate. The experiment was carried out in randomized with comparison of mean by Tukey test, with significance level of $p < 0.05$. On shelf life study of lyophilized microcapsules and pequi oil, about 74% of carotenoids were preserved by microencapsulation method. Temperature of 40°C increase the oxidation and degradation of carotenoids in both oil and microcapsules.

Key-words: Packaging, *Caryocar brasiliense*, Storage.

1 INTRODUÇÃO

O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é um fruto nativo do Cerrado brasileiro que se destaca por seu valor nutricional e propriedades bioativas (PINTO et al., 2016). O seu fruto é rico em lipídios, compostos fenólicos e carotenoides (LIMA et al., 2007; FARIA-MACHADO et al., 2015). Os carotenoides e compostos fenólicos atuam como antioxidantes, podendo diminuir a formação de radicais livres e atuar na prevenção de carcinomas, doenças cardiovasculares, oftalmológicas, pulmonares e desordens neurodegenerativas (RAO et al., 2007; LIMA et al., 2012; ALÓS et al., 2016). Aproximadamente 60% de sua polpa é constituída por ácidos graxos insaturados, com predominância do ácido oleico (BARRA et al., 2013) o que torna promissor a extração do seu óleo.

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis amplamente distribuídos na natureza, encontrado em concentrações elevadas em vegetais de folhas verdes e frutas de coloração amarela, laranja e vermelho (RODRIGUEZ-AMAYA, 2010; AMORIM-CARRILHO et al., 2014). Entretanto, os carotenoides são quimicamente instáveis e susceptíveis a deterioração oxidativa especialmente quando expostos ao oxigênio, luz, calor e umidade (CALVO et al., 2011; MACHADO et al., 2013; SZYDŁOWSKA-CZERNIAK et al., 2015; BAKRY et al., 2016). Uma alternativa para aumentar a estabilidade desses constituintes e preservar a sua atividade antioxidante e biodisponibilidade, é a microencapsulação (ETCHEPARE et al., 2015)

A microencapsulação é um método que protege o material e compostos bioativos das adversidades do meio ambiente (WANG et al., 2012; NG et al., 2013; DORDEVIC et al., 2015;). Entre os diferentes métodos disponíveis para o encapsulamento de compostos lipofílicos, a coacervação complexa é considerada a mais simples, eficiente, isenta de solventes e de fácil reprodução (DONG et al., 2011; JUN-XIA et al., 2011; XIÃO et al., 2014).

A coacervação complexa envolve a interação eletrostática de biopolímeros carregados com cargas opostas em condições específicas de pH, temperatura e força iônica (PRATA et al., 2015; SÁNCHEZ et al., 2016). Vários agentes encapsulantes oferecem estabilidade oxidativa, principalmente pela capacidade de inibir a transferência de oxigênio (KAUSNIK et al., 2014). Gomas e proteínas são os principais encapsulantes empregados em função de suas propriedades de carga.

Geralmente, as gomas apresentam carga negativa em ampla gama de pH e, as proteínas carga positiva abaixo de seu ponto isoelétrico (TIMILSENA et al., 2016), e em condições específicas favorecem à formação de microcápsulas. A vantagem das microcápsulas fundamenta-se principalmente na liberação controlada de seu conteúdo e maior estabilidade através da proteção dos compostos.

Para aumentar a estabilidade das microcápsulas a desidratação por liofilização tem sido comumente empregada. O processo de liofilização consiste na eliminação da água por congelamento e posterior sublimação, o que mantém as estruturas pré-formadas intactas. Além disso, a baixa temperatura utilizada no processo e a ausência de ar evitam a deterioração do produto (GONZALEZ et al., 2016), sendo indicadas para materiais sensíveis ao calor, como o óleo.

Contudo, durante o período de armazenamento ocorre degradação de alguns constituintes, reduzindo o seu efeito ou ação. Estimar o tempo que se passa desde a produção e embalagem de um produto até o momento em que ele se torna inaceitável para o consumo (SFACIOTTE et al., 2015) é fundamental para predizer o efeito da ação.

Diante o exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade de microcapsulas liofilizadas de óleo de pequi acondicionadas em diferentes embalagens em função do conteúdo de carotenoides.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Óleo de pequi, gelatina tipo B (Fluka), goma arábica (Vetec) e ácido clorídrico (Vetec). Reagentes de grau analítico P.A. foram utilizados para as análises.

2.2 Métodos

2.2.1 Extração do óleo de pequi e obtenção de microcápsulas

O óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) foi obtido por prensagem a temperatura ambiente em prensa tipo *expeller*. Após extração, o óleo foi

centrifugado a 1.500rpm por 15 minutos para separação de impurezas e posteriormente microencapsulado. As microcápsulas do óleo da polpa de pequi foram preparadas pelo método de coacervação complexa em meio aquoso de acordo com o procedimento descrito por Justi et al. (2017) com modificações obtendo-se uma emulsão fina e estável do núcleo (óleo) na solução do material de parede. Para isto, uma alíquota de óleo (7,5g) foi misturada com 100mL de solução de gelatina (2,5%) previamente hidratada e aquecida (50°C). A mistura foi homogeneizada em agitador ultraturrax com velocidade controlada (15.000rpm) por um minuto. Em seguida foram adicionadas 100mL de solução de goma arábica (2,5%) e 400mL de água deionizada, ambas aquecidas à mesma temperatura que a mistura anterior. Após esta etapa o pH da emulsão foi ajustado com solução de HCl (0,1M) até atingir um pH 4. O material então foi resfriado em banho de gelo, sob agitação constante até atingir 10°C, logo permaneceu em repouso, obtendo-se por decantação as partículas encapsuladas na forma de uma fina emulsão que foi mantida a 8°C por 16 horas. As microcápsulas úmidas foram armazenadas a -18°C por 48 horas e depois liofilizadas a -50°C.

2.2.2 Determinação de ácidos graxos

Os ácidos graxos foram caracterizados por cromatografia gasosa. Para a transesterificação, aproximadamente 100mg das amostras foram transferidos para tubos falcon de 15mL, aos quais foram adicionados de 2mL de n-heptano. A mistura foi agitada até a completa dissolução da matéria graxa e 2mL de KOH 2mol/L em metanol foram adicionados. A mistura foi agitada por aproximadamente 5 minutos e após a separação das fases, 1mL da fase superior (heptano e ésteres metílicos de ácidos graxos) foi transferido para frascos eppendorf de 1,5mL. Os frascos foram hermeticamente fechados, protegidos da luz e armazenados em freezer a -18°C, para posterior análise cromatográfica (FERNANDES et al., 2009)

Os ésteres de ácidos graxos foram analisados por um cromatógrafo a gás com coluna capilar de sílica fundida Restek RT 2560 (100,0mm de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,20µm) e detector de ionização de chama. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste, à vazão de 2,0mL por minuto, nitrogênio (30mL por minuto), hidrogênio (30mL por minuto) e ar sintético (300mL por minuto). A temperatura foi programada para iniciar em 130°C e foi mantida assim por 1 minuto,

quando foi elevada a 170°C a 5,0°C/minuto. Posteriormente, outra elevação de 170 a 215°C foi realizada a 2°C/minuto e a temperatura foi mantida por 15 minutos. Finalmente, uma última elevação foi realizada de 215 para 230°C a 30°C/minuto. As temperaturas do injetor e detector foi de 280°C. O volume de injeção foi de 1,0µL com split 1:10. A identificação dos ácidos graxos foi realizada por comparação do tempo de retenção dos padrões de ésteres metílicos com as amostras e a quantificação foi realizada pela técnica de normalização empregando a área dos picos.

2.2.3 Vida útil

Para o estudo da vida útil foram avaliadas duas condições de embalagem e duas condições de armazenamento. Embalagens flexíveis de polipropileno (PP) com dimensões de 120 x 120mm contendo 20g (óleo ou microcapsulas liofilizadas) foram o grupo A e o grupo B embalagens flexíveis de PP (120 x 120mm) contendo 20g (óleo ou microcapsulas liofilizadas) recobertas com papel de alumínio. As condições controladas de armazenamento foram: (1) umidade relativa de 84% e temperatura de 25°C (condição ambiental) e (2) umidade relativa de 84% e temperatura de 40°C (condição acelerada). As condições escolhidas foram as de Manaus, AM.

As condições de umidade ambiental e acelerada foram reproduzidas por meio de soluções saturadas de cloreto de potássio com atividade de água de 0,84, colocadas em dessecadores, criando o microambiente com 84% de URE. As condições de temperatura foram mantidas constantes colocando os dessecadores em uma estufa incubadora BOD (demanda bioquímica do oxigênio). O período de armazenamento foi de 160 dias e as amostras foram analisadas no tempo 0, 40, 70, 100, 130 e 160 dias para a avaliação da atividade de água, acidez titulável, cor e carotenoides. As análises realizadas em tempo zero foram consideradas a condição padrão.

2.2.4 Análises físicas e químicas

A umidade foi determinada por secagem de acordo com a metodologia proposta pela AOAC (2000). A atividade de água foi determinada por leitura direta em higrômetro (Aqualab); índice de acidez AOCS (2009); cor determinada em

colorímetro Minolta utilizando o espaço de cor CIELAB, onde L^* é a luminosidade, a^* coordenada vermelho/verde (+ a indica vermelho e – a indica verde), b^* coordenada amarelo/azul (+ b indica amarelo e – b indica azul), saturação da cor (C^*) e diferença da cor (ΔE).

2.2.5 Carotenoides

Os carotenoides totais foram quantificados no material (óleo da polpa de pequi ou microcápsulas liofilizadas) de acordo com Rodriguez-Amaya (2001), baseada na extração com acetona e separação em éter de petróleo. A amostra (2,0g) foi macerada com 0,5g de celite, e quantidade suficiente de acetona a 10°C até extração total dos carotenoides, em almofariz. O extrato obtido foi filtrado sob vácuo e transferido para um funil de separação, contendo 40mL de éter de petróleo. Água destilada foi incorporada à mistura obtendo-se duas fases: (carotenoides + éter de petróleo e água + acetona). A acetona foi retirada da mistura por arraste com água, após sucessivas lavagens. O extrato (carotenoides + éter de petróleo) foi transferido para um balão volumétrico de 50mL e o volume completado com éter de petróleo. A absorbância da solução foi então determinada em espectrofotômetro UV-VIS (Biochrom, modelo Libra S60PC) a 450nm e o éter de petróleo utilizado como branco. O conteúdo de carotenoides foi calculado pela Equação 1 em mg por g da amostra.

$$C \left(\frac{\mu g}{g} \right) = \frac{\lambda_{max} \times d \times 10^4}{\epsilon \times m} \quad (1)$$

Onde λ_{max} é a absorbância máxima (nm), d a diluição da amostra (ml), ϵ é o coeficiente de absorção do β - caroteno em éter de petróleo (2592) e m a massa da amostra (g).

2.2.6 Estabilidade oxidativa

Foi realizado de acordo com AOCS (2009), utilizando o aparelho Rancimat. As amostras de óleo (3g) foram transferidas para os tubos de reação a temperatura de 100°C com fluxo de ar de 20L/h. A curva de condutividade elétrica *versus* tempo foi

automaticamente registrada com o decorrer da reação de oxidação e o período de indução, expresso em horas.

2.2.7 Análise estatística

Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente utilizando-se análise de variância ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) usando a versão 7.0 do programa Statistica (STATSOFT, Inc.2007)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ácidos graxos

A tabela 1. apresenta a composição de ácidos graxos do óleo, da microcápsula úmida e da microcápsula liofilizada de óleo de pequi. Observa-se a predominância do ácido oleico nas amostras analisadas, seguida pelo ácido palmítico. O mesmo foi verificado por Lima et al. (2007) e Barra et al. (2013) na polpa de pequi.

O ácido oleico apresenta propriedades benéficas à saúde, pois reduz os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue, suprime a tumorigênese e doenças inflamatórias, diminui a pressão sanguínea e previne aterosclerose. (LOPEZ-HUERTAS, 2010; AL-SHUDIEFAT et al., 2013; SALES-CAMPOS et al, 2013; GOLDSON et al., 2014; JONES et al., 2014). Estudos metabólicos e epidemiológicos indicam que o ácido palmítico eleva a concentração plasmática de colesterol e do colesterol LDL, quando comparado à gordura poliinsaturada (LOTTENBERG, 2009).

O processo de encapsulação e liofilização não alterou o conteúdo de ácidos graxos presentes nas amostras. Cheon et al. (2014) e Listenberger et al. (2003) em seus estudos apontam sobre a importância da mediação do ácido palmítico sobre o mecanismo de proteção dos ácidos graxos insaturados.

Tabela 1 – Composição de ácidos graxos do óleo, microcápsula úmida e liofilizada de pequi.

Composto	Óleo de pequi (%)	Microcápsula úmida (%)	Microcápsula liofilizada (%)
Ácido mirístico (C 14:0)	0,48	0,44	0,45
Ácido miristoleico (C 14:1)	0,02	0,02	0,02
Ácido pentadecílico (C 15:0)	0,03	0,03	0,03
Ácido palmítico (C 16:0)	38,78	37,98	38,03
Ácido palmitoleico (C 16:1)	0,45	0,43	0,44
Ácido margárico (C 17:0)	0,05	0,04	0,05
Ácido heptadecanoico (C 17:1)	0,11	0,10	0,11
Ácido esteárico (C 18:0)	7,34	7,22	7,29
Ácido oleico (C 18:1)	45,67	45,59	45,61
Ácido vacênico (C 18:1)	1,12	1,03	1,05
Ácido linolênico (C 18:3)	0,25	0,21	0,23
Ácido araquídico (C 20:0)	0,03	0,03	0,03
Ácido timnodônico (C 20:5)	0,03	0,03	0,03
Ácido behêncio (C 22:0)	0,68	0,61	0,65
Ácido docosahexaenoico (C 22:6)	0,13	0,11	0,12
Ácidotricosanoico (C 23:0)	0,20	0,18	0,20
Ácido lignocérico (C 24:0)	0,12	0,11	0,12
Ácido nevônico (C 24:1)	0,35	0,33	0,33

3.2 Vida útil do óleo e microcápsula liofilizada

Observa-se na Tabela 2 o aumento crescente da atividade de água, tanto no óleo como na microcápsula liofilizada. O aumento deste parâmetro está relacionado com a temperatura de armazenamento do produto, a umidade relativa do ar foi de 84% para ambas as condições testadas.

Segundo Chaisait et al. (2007) e Jorge (2009), em muitos alimentos, as taxas de oxidação lipídica são mais lentas nas atividades de água de 0,2 - 0,4. Nos valores de atividade de água mais elevados (0,55 a 0,85), a velocidade de oxidação aumenta devido à presença de metais que agem como catalisadores acelerando as reações químicas e bioquímicas. Os metais de transição podem reagir com

hidroperóxidos lipídicos para produzir radicais livres de alta energia que podem promover a oxidação de ácidos graxos insaturados.

Tabela 2 – Valores médios de atividade de água (A_w) da microcápsula e do óleo de pequi.

Tempo	Aw microcapsula óleo de pequi				Aw óleo de pequi			
	25°C		40°C		25°C		40°C	
	25°C POL	MET	POL	40°C MET	POL	MET	POL	MET
0	0,449 ^{Eb}	0,399 ^{Fd}	0,555 ^{Ea}	0,422 ^{Ec}	0,474 ^{Cb}	0,502 ^{Fa}	0,449 ^{Dc}	0,472 ^{Fb}
40	0,484 ^{Dd}	0,496 ^{Ec}	0,562 ^{Eb}	0,572 ^{Da}	0,477 ^{Cb}	0,528 ^{Ea}	0,469 ^{Db}	0,475 ^{Fb}
70	0,539 ^{Cc}	0,624 ^{Dab}	0,611 ^{Db}	0,629 ^{Ca}	0,480 ^{Cd}	0,552 ^{Db}	0,562 ^{Ca}	0,511 ^{Ec}
100	0,672 ^{Bb}	0,633 ^{Cd}	0,677 ^{Ca}	0,652 ^{Bc}	0,680 ^{Bab}	0,671 ^{Cbc}	0,689 ^{Ba}	0,660 ^{Dc}
130	0,779 ^{Aa}	0,674 ^{Bd}	0,695 ^{Bc}	0,723 ^{Ab}	0,682 ^{Ba}	0,685 ^{BCa}	0,687 ^{Ba}	0,685 ^{Ba}
160	0,782 ^{Aa}	0,768 ^{Ab}	0,769 ^{Ab}	0,726 ^{Ac}	0,687 ^{Bb}	0,689 ^{Bb}	0,855 ^{Aa}	0,700 ^{Bb}

Médias seguidas da mesma letra minúscula (na linha) e médias seguidas da mesma letra maiúscula (na coluna) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5%. POL, embalagem de polipropileno; MET, embalagem de polipropileno recoberta com papel alumínio.

O índice de acidez é um parâmetro que indica a qualidade de óleos e gorduras. Diante disso, verifica-se na Tabela 3 que a acidez das amostras a 25°C não apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) entre as embalagens. Porém, as microcápsulas armazenadas a 40°C apresentaram aumento significativo ($P < 0,05$). Mesmo comportamento foi observado no óleo após 100 dias de armazenamento.

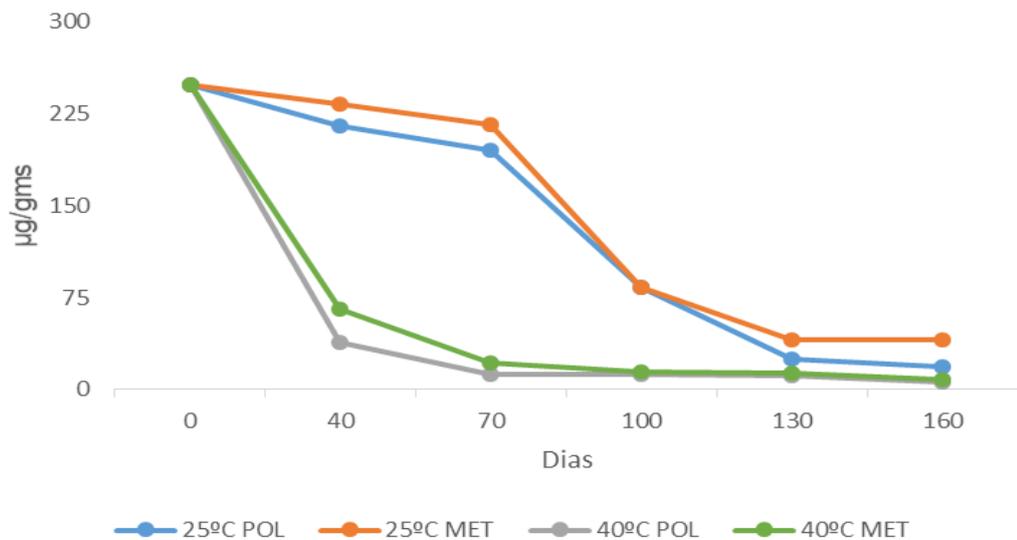
A acidez dos óleos e gorduras extraídas por esmagamento ou prensagem é decorrente da hidrólise enzimática que ocorre na semente ou na polpa em condições de alta umidade e, a decomposição dos glicerídeos é acelerada pelo aquecimento e pela luz (MACHADO et al., 2006; RAMALHO et al., 2013).

Tabela 3 – Valores médios de acidez da microcápsula e óleo de pequi.

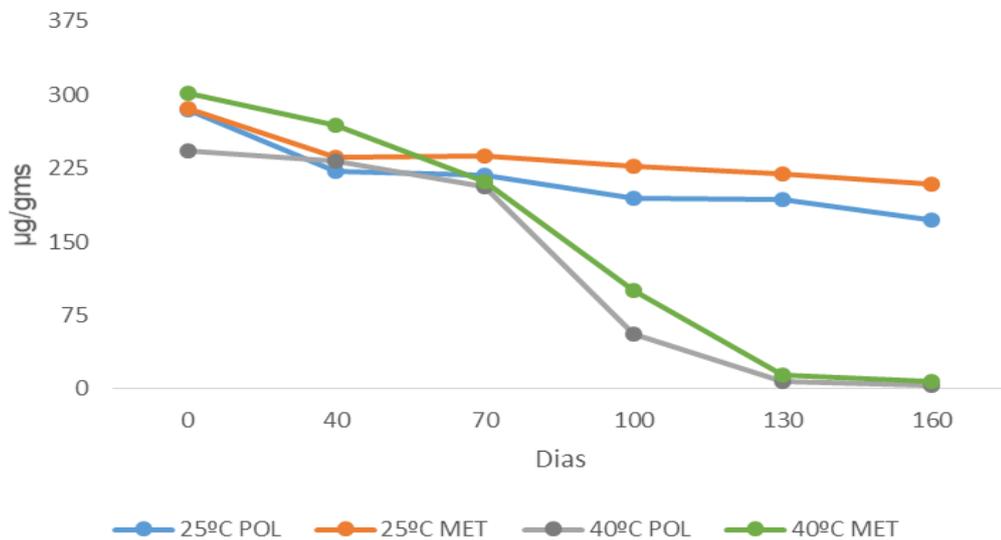
Tempo (dias)	Acidez microcapsula óleo de pequi				Acidez óleo de pequi			
	25°C		40°C		25°C		40°C	
	POL	MET	POL	MET	POL	MET	POL	MET
0	1,25 ^{Da}	1,24 ^{Cab}	1,24 ^{Fab}	1,18 ^{Fb}	0,30 ^{CDa}	0,31 ^{BCa}	0,29 ^{Da}	0,30 ^{DEa}
40	1,47 ^{Ca}	1,50 ^{Ba}	1,48 ^{Ea}	1,46 ^{Ea}	0,33 ^{BCa}	0,31 ^{BCa}	0,29 ^{Db}	0,31 ^{DEa}
70	1,46 ^{Cc}	1,49 ^{Bc}	2,21 ^{Da}	1,96 ^{Db}	0,34 ^{Ba}	0,30 ^{BCb}	0,30 ^{Db}	0,33 ^{Da}
100	1,51 ^{Cc}	1,51 ^{Bc}	3,12 ^{Ca}	2,74 ^{Cb}	0,33 ^{BCb}	0,33 ^{Bb}	0,49 ^{Ca}	0,37 ^{Ca}
130	1,73 ^{Bc}	1,67 ^{Ac}	3,40 ^{Ba}	3,25 ^{Bb}	0,36 ^{Bb}	0,38 ^{Ab}	0,85 ^{Ba}	0,74 ^{Ba}
160	1,95 ^{Ac}	1,71 ^{Ad}	3,67 ^{Aa}	3,45 ^{Ab}	0,45 ^{Ab}	0,40 ^{Ab}	1,14 ^{Aa}	1,02 ^{Aa}

Médias seguidas da mesma letra minúscula (na linha) e médias seguidas da mesma letra maiúscula (na coluna) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5%. POL, embalagem de polipropileno; MET, embalagem de polipropileno recoberta com papel alumínio.

As Figuras 1a e 1b mostram o conteúdo de carotenoides durante o armazenamento. As amostras armazenadas a 40°C e em embalagem transparente apresentaram maior degradação de carotenoides, isto devido à sensibilidade destes compostos frente às condições ambientais (CALVO et al., 2011; BAKRY et al., 2016).



a)



b)

Figura 1 – Valores de carotenoides para microcápsula de óleo de pequi (a) e óleo de pequi (b).

Arévalo-Pinedo et al. (2010) ressalta que a oxidação dos ácidos graxos com consequente degradação de carotenoides e perda de coloração no estudo da

estabilidade da pasta de pequi está diretamente relacionada com a embalagem de polipropileno utilizada.

A liofilização é um método bastante indicado para a desidratação de materiais sensíveis ao calor. Entretanto, durante o processo de liofilização pode ocorrer a formação de estruturas porosas na amostra, aumentando a exposição dos carotenoides ao oxigênio, afetando a estabilidade do agente ativo (CELLI et al., 2015). No presente estudo 74% dos carotenoides foram preservados no pó microencapsulado e liofilizado contendo óleo de pequi.

No Regulamento técnico nº 269 de setembro de 2005 (ANVISA, 2005) consta que a quantidade diária recomendada de betacaroteno para um adulto é de 600µg de RE (retinol). No tempo zero do estudo da vida útil, o óleo de pequi apresentou 55,66µg de RE e a microcápsula liofilizada 41,58µg de RE. Após 160 dias de armazenamento, o óleo mantido a 25°C em embalagem protegida da luz preservou 62,86% de µg de RE e a microcápsula de óleo liofilizada 16,13% de µg de RE.

Em relação à cor (Tabelas 4, 5 e 6), os valores do parâmetro L* diminuíram devido à oxidação e degradação dos carotenoides. Os valores de a* para as microcápsulas liofilizadas foram menores em função dos agentes encapsulantes empregados no processo de coacervação complexa. Em pequis submetidos ao congelamento, Gonçalves et al. (2010) observaram alteração de cor provocada pelo armazenamento e Vilas-Boas et al. (2012) redução da cromaticidade atribuída pela degradação dos carotenoides. Fato semelhante foi observado no desenvolvimento do presente estudo.

Tabela 4 - Valores médios do parâmetro L* da microcápsula e óleo de pequi

Tempo (dias)	Cor L* microcapsula óleo de pequi				Cor L* óleo de pequi			
	25°C		40°C		25°C		40°C	
	POL	MET	POL	MET	POL	MET	POL	MET
0	76,60 ^{Ba}	76,40 ^{Ba}	76,06 ^{Aa}	76,24 ^{Aa}	55,95 ^{Dab}	60,97 ^{Cab}	62,52 ^{Da}	55,36 ^{Eb}
40	76,12 ^{Ba}	76,99 ^{Ba}	76,37 ^{Aa}	76,48 ^{Aa}	59,12 ^{Cd}	61,01 ^{Cc}	66,54 ^{Ca}	63,15 ^{Db}
70	76,50 ^{Ba}	76,30 ^{Ba}	71,50 ^{Bb}	71,79 ^{Bb}	59,77 ^{BCc}	62,93 ^{BCb}	69,65 ^{Ba}	69,36 ^{Ca}
100	77,57 ^{Ba}	77,68 ^{Ba}	71,91 ^{Bb}	72,09 ^{Bb}	61,92 ^{Bc}	63,65 ^{BCb}	70,02 ^{Ba}	70,88 ^{Ca}
130	79,87 ^{Aa}	80,54 ^{Aa}	60,75 ^{Cc}	70,11 ^{Bb}	64,30 ^{Ab}	65,36 ^{ABb}	82,75 ^{Aa}	79,16 ^{Ba}
160	81,27 ^{Aa}	80,71 ^{Aa}	46,29 ^{Dc}	66,29 ^{Cb}	64,63 ^{Ac}	67,77 ^{Ab}	84,69 ^{Aa}	86,26 ^{Aa}

Médias seguidas da mesma letra minúscula (na linha) e médias seguidas da mesma letra maiúscula (na coluna) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5%. POL, embalagem de polipropileno; MET, embalagem de polipropileno recoberta com papel alumínio.

Tabela 5 - Valores médios do parâmetro a* da microcápsula e óleo de pequi

Tempo (dias)	Cor a* microcapsula óleo de pequi				Cor a* óleo de pequi			
	25°C POL	25°C MET	40°C POL	40°C MET	25°C POL	25°C MET	40°C POL	40°C MET
0	3,37 ^{Ba}	3,48 ^{Ba}	1,42 ^{Fb}	1,48 ^{Db}	32,45 ^{Aa}	31,38 ^{Ba}	25,80 ^{Bb}	30,19 ^{Ba}
40	2,90 ^{BCa}	2,49 ^{Cb}	0,69 ^{Gd}	1,39 ^{Dc}	27,68 ^{Ba}	28,55 ^{Ca}	18,25 ^{Cc}	22,34 ^{Cb}
70	2,75 ^{Ca}	2,79 ^{Ca}	2,44 ^{Ea}	2,54 ^{Ca}	26,69 ^{Ba}	27,93 ^{CDa}	18,04 ^{Cc}	21,31 ^{Cb}
100	2,72 ^{Ca}	2,54 ^{Ca}	2,75 ^{Da}	2,67 ^{Ca}	25,36 ^{Ba}	26,44 ^{Da}	6,03 ^{Dc}	20,32 ^{Cb}
130	-1,09 ^{Db}	-0,82 ^{Db}	3,46 ^{Ca}	3,39 ^{Ba}	24,35 ^{Ba}	21,81 ^{Eb}	-9,14 ^{Ed}	-4,40 ^{Dc}
160	-1,59 ^{Ec}	-1,52 ^{Ec}	5,97 ^{Aa}	4,53 ^{Ab}	14,97 ^{Cb}	18,40 ^{Fa}	-2,78 ^{Fc}	-2,30 ^{Dc}

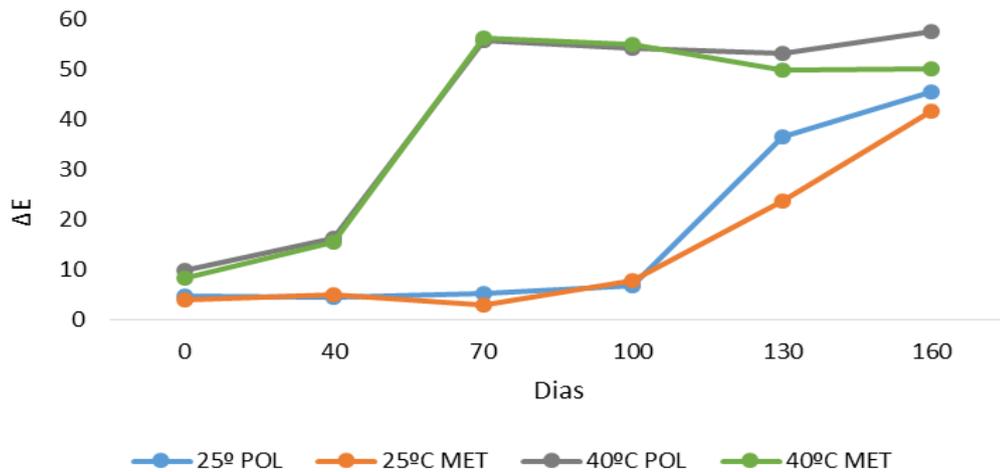
Médias seguidas da mesma letra minúscula (na linha) e médias seguidas da mesma letra maiúscula (na coluna) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5%. POL, embalagem de polipropileno; MET, embalagem de polipropileno recoberta com papel alumínio.

Tabela 6 - Valores médios do parâmetro b* da microcápsula e óleo de pequi

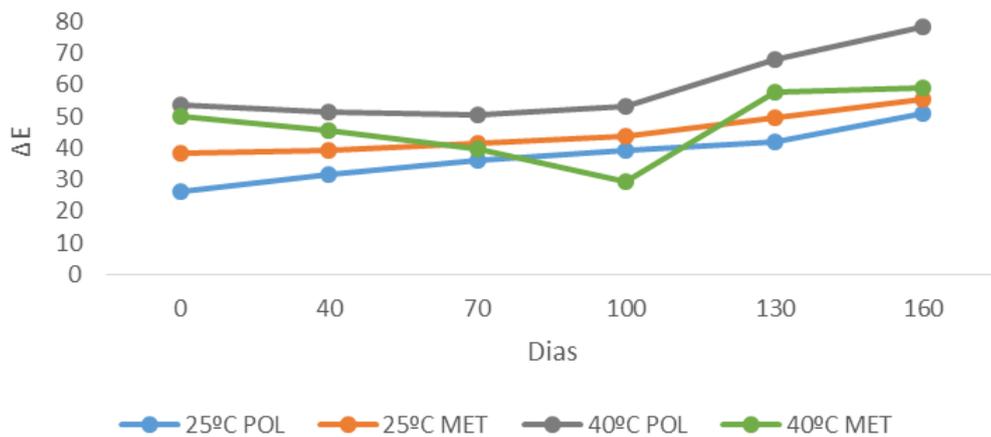
Tempo (dias)	Cor b* microcapsula óleo de pequi				Cor b* óleo de pequi			
	25°C POL	25°C MET	40°C POL	40°C MET	25°C POL	25°C MET	40°C POL	40°C MET
0	71,98 ^{Bab}	72,65 ^{Ba}	66,93 ^{Bc}	68,62 ^{Bbc}	88,79 ^{Cc}	99,59 ^{Cb}	115,24 ^{Aa}	116,42 ^{Aa}
40	72,09 ^{Ba}	71,90 ^{BCa}	60,56 ^{Cb}	61,19 ^{Cb}	92,40 ^{BCb}	100,26 ^{Cb}	108,98 ^{ABa}	112,05 ^{Ba}
70	71,46 ^{Ba}	73,88 ^{ABa}	20,92 ^{Db}	20,29 ^{Db}	97,12 ^{BCb}	102,01 ^{Cab}	105,64 ^{BCa}	106,26 ^{Ca}
100	69,89 ^{Ba}	68,87 ^{Ca}	22,44 ^{DEb}	21,59 ^{Db}	99,22 ^{Bab}	103,94 ^{BCa}	101,56 ^{bCa}	95,82 ^{Db}
130	40,56 ^{Cb}	53,56 ^{Da}	25,76 ^{EFc}	27,13 ^{Ec}	100,74 ^{ABb}	108,56 ^{ABa}	33,33 ^{Ec}	8,73 ^{Fd}
160	31,62 ^{Dab}	35,40 ^{Ea}	27,42 ^{Fb}	27,55 ^{Eb}	108,12 ^{Ab}	112,88 ^{Aa}	11,83 ^{Fc}	7,33 ^{Fd}

Médias seguidas da mesma letra minúscula (na linha) e médias seguidas da mesma letra maiúscula (na coluna) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5%. POL, embalagem de polipropileno; MET, embalagem de polipropileno recoberta com papel alumínio.

A variação de cor (ΔE) foi avaliada considerando como padrão o tempo zero da vida útil da microcápsula ($L^*=76,62$, $a^*=4,07$ e $b^*=76,55$) e do óleo de pequi ($L^*=42,34$, $a^*=34,32$ e $b^*=66,33$). Observa-se nas Figuras 2a e 2b. que a variação da cor acompanha a degradação dos carotenoides da microcápsula e do óleo de pequi. Esta mudança de cor também se justifica pelo aumento da atividade de água (Tabela 2), uma vez que o aumento da umidade no alimento favorece a diluição dos constituintes e fornece significativa alteração no pigmento, verificado pela cor do produto.



(a)



(b)

Figura 2 - Variação da cor (ΔE) de microcápsulas (a) e do óleo (b) de pequi, armazenadas em diferentes embalagens e temperaturas.

A oxidação lipídica é uma das principais causas da degradação de alimentos naturais e processados, afetando no sabor, cor, textura e valor nutritivo dos alimentos. Além de produzir compostos potencialmente tóxicos à saúde (CHAYSAIT et al., 2007). No estudo da estabilidade do óleo de pequi, observa-se a influência da temperatura (40°C) na oxidação do óleo (Figura 3). No tempo zero, a microcápsula liofilizada de óleo de pequi apresentou estabilidade de 15,45 horas. Considerando que a microcápsula liofilizada contém 60% de óleo em sua formulação, o óleo encapsulado apresenta 1,8 vezes mais estabilidade que o óleo bruto de pequi (14,64 horas).

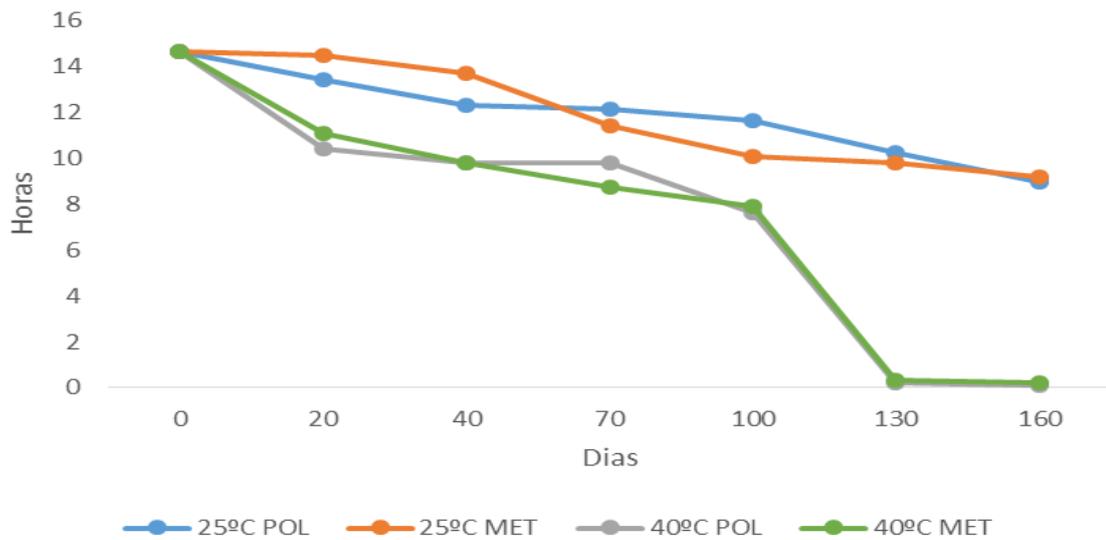


Figura 3 - Estabilidade do óleo do pequi armazenados em diferentes embalagens e temperaturas.

4 CONCLUSÕES

Foi possível obter óleo de pequi microencapsulado e liofilizado.

A técnica de microencapsulação por coacervação complexa e liofilização não alterou o conteúdo de ácidos graxos do óleo de pequi. Aproximadamente 74% dos carotenoides foram preservados no óleo microencapsulado em pó.

A temperatura de armazenamento das amostras influenciou de forma significativa a diferença de cor das microcapsulas, uma vez que para as amostras armazenadas a 25°C, maior diferença foi observada a partir do centésimo dia de armazenamento, enquanto que para as armazenadas a temperatura de 40 °C, um aumento significativo da diferença de cor ocorreu aos quarenta dias de armazenamento. Essa temperatura mais elevada também provocou uma maior degradação de carotenoides uma vez que quando as microcápsulas foram estocadas a 25 °C uma maior estabilidade dos carotenoides foi observada até os 70 dias de armazenamento.

REFERÊNCIAS

- AL-SHUDIEFAT, A. A. R., SHARMA, A. K., BAGCHI, A. K., DHINGRA, S., SINGAL, P. K. Oleic acid mitigates TNF- α -induced oxidative stress in rat cardiomyocytes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v.372, 2013.
- ALÓS, E.; RODRIGO, M.J.; ZACARIAS, L. Manipulation of carotenoid content in plants to improve human health. C. Stange (ed.), *Carotenoids in Nature, Subcellular Biochemistry*, v.79, p.311-343, 2016.
- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (AOCS). Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society: including additions and revisions. 6th ed. Champaign: AOCS Press, 2009.
- AMORIM-CARRILHO, K.T., CEPEDA, A., FENTE, C., REGAL, P. Review of methods for analysis of carotenoids. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v.56, p. 49-73, 2014.
- ANVISA. Resolução RDC nº 269 de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais, 2005.
- AOAC Official Methods of Analysis of the AOAC. Association of Official Analytical Chemists, 17th Edition, 2000.
- ARÉVALO-PINEDO, A., MACIEL, V. B. V., CARVALHO, K. M., COELHO, A. F. S., GIRALDO-ZUÑIGA, A. D., ARÉVALO, Z. D. S., ALVIM, T. C. Processamento e estudo da estabilidade de pasta de pequi (*Caryocar brasiliense*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.30, n.3, p.664-668, 2010.
- BAKRY, A.M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v.15, n. 1, p.143-182, 2016.
- BARRA, P. M. DE C., OLIVEIRA, M. A. L. DE, NERY-ENES, B., CARDOSO, L. DE M., CESÁRIO, C. DO C., MOREIRA, A. V. B., PINHEIRO-SANT'ANA, H. M., PELUZIO, M. DO C. G. Simultaneous analysis of saturated and unsaturated fatty

acids present in pequi fruits by capillary electrophoresis. *Quím. Nova, São Paulo*, v.36, n. 9, p. 1430-1433, 2013.

CALVO, P. C., ÁNGEL, L., HERNÁNDEZ, M.T. Effects of microcapsule constitution on the quality of microencapsulated walnut oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v.113, n.10, p. 1273-1280, 2011.

CELLI, G. B., GHANEM, A., BROOKS, M. S-L. Bioactive Encapsulated Powders for Functional Foods – a Review of Methods and Current Limitations. *Food Bioprocess Technol*, v.8, n.9, p.1825-1837, 2015.

CHAIYASIT, W., ELIAS, R. J., MCCLEMENTS, D. J., DECKER, E. A. Role of Physical Structures in Bulk Oils on Lipid Oxidation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.47, n.3, p.299-317, 2007.

CHEON, H. G., CHO, Y. S. Protection of palmitic acid-mediated lipotoxicity by arachidonic acid via channeling of palmitic acid into triglycerides in C2C12. *Journal of Biomedical Science*, v.21, n.13, 2014.

DONG, Z., MA, Y., HAYAT, K., JIA, C., XIA, S., ZHANG, X. Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, v.104, nº3, p.455-460, 2011.

ĐORĐEVIĆ, V., BALANČ, B., BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A., LEVIC, S., TRIFKOVIĆ, K., KALUSEVIC, A., KOSTIC, I., KOMES, D., BUGARSKI, B., NEDOVIC, V. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. *Food Engineering Reviews*, v.7, nº4, p. 452-490, 2015.

ETCHEPARE, M. DE A., MENEZES, M. F. DA S. C., RODRIGUES, L. Z., CODEVILLA, C. F., MENEZES, C. R. Microencapsulação de compostos bioativos pelo método de extrusão. *Ciência e Natura, Santa Maria* v.37, p.97-105, 2015.

FARIA-MACHADO, A. F., TRES, A., VAN RUTH, S. M., ANTONIASSI, R., JUNQUEIRA, N. T. V., LOPES, P. S. N., BIZZO, H. R. Discrimination of Pulp Oil and Kernel Oil from Pequi (*Caryocar brasiliense*) by Fatty Acid Methyl Esters Fingerprinting, Using GC-FID and Multivariate Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 63, nº 45, p. 10064-10069, 2015.

FERNANDES, A. R. M., SAMPAIO, A. A. M., HENRIQUE, W., TULLIO, R. R., OLIVEIRA, E. A., SILVA, T. M. Composição química e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos de diferentes condições sexuais recebendo silagem de milho e concentrado ou cana de açúcar e concentrado contendo grãos de girassol. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.4, p.705-712, 2009.

GOLDSON, A., BREMMER, D., NELSON, K., MINOLT, D. Fat profile of Jamaican ackees, oleic acid content and possible health implications. *West Indian medical journal*, v.63 n.1, 2014.

GONÇALVES, G.A.S. et al. Qualidade do pequi submetido ao cozimento após congelamento por diferentes métodos e tempos de armazenamento. *Revista Ceres, Viçosa*, v.57, n.5, p.581-588, 2010.

GONZÁLEZ, A., MARTÍNEZ, M. L., PAREDES, A. J., LEÓN, A. E., RIBOTTA, P. D. Study of the preparation process and variation of wall components in chia (*Salvia hispanica* L.) oil microencapsulation. *Powder Technology*, v.301, p. 868-875, 2016.

JONES, P. JH, SENANAYAKE, V. K, PU,S., JENKINS, D. JA, CONNELLY, P. W, LAMARCHE, B.,COUTURE, P., CHAREST, A., BARIL-GRAVEL, L., WEST, S. G, LIU, X., FLEMING, J. A, MCCREA, C. E., KRIS-ETHERTON, P. M. DHA-enriched high-oleic acid canola oil improves lipid profile and lowers predicted cardiovascular disease risk in the canola oil multicenter randomized controlled Trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v.100, 2014.

JORGE, N. *Química e Tecnologia de Óleos Vegetais*. São Paulo: Cultura Acadêmica, 165p, 2009.

JUN-XIA, X.; HAI-YAN, Y.; JIAN, Y. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry*, v.125, n. 4, p.1267-1272, 2011.

JUSTI, P. N., SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J., MACEDO, M. L. R. Microencapsulação de óleo da polpa de pequi por coacervação complexa. *Revista Brasileira de Fruticultura*. “No prelo”, 2017.

- KAUSHIK, P.; DOWLING, K.; BARROW, C.J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. *Journal of Functional Foods*, v.19, p.868-881, 2015.
- LIMA, A. DE., SILVA, A. M. DE O., TRINDADE, R. A., TORRES, R. P., MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.
- LIMA, J.P.; LOPES, C.O.; DIAS, N.A.A.; ANGELIS-PEREIRA, M.C. Atividade e biodisponibilidade dos carotenoides no organismo. *Revista Ciências em Saúde*, v.2, n 1, 2012.
- LISTENBERGER, L.L., HAN, X., LEWIS, S.E., CASES, S., FARESE, R.V.Jr., ORY, D.S., SCHAFFER, J.E. Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.100, n.6, p. 3077–3082, 2003.
- LOPEZ-HUERTAS, E. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research*, v.61, 2010.
- LOTTENBERG, Ana Maria Pita. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. *Arquivos Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia*, São Paulo, v. 53, n. 5, 2009.
- MACHADO, G. C., CHAVES, J. B. P., ANTONIASSI, R. Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. *Revista Ceres*, v.53, n.308, p.463-470, 2006.
- MACHADO, M. T. C., MELLO, B. C. B. S., HUBINGER, M. D. Study of alcoholic and aqueous extraction of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) natural antioxidants and extracts concentration by nanofiltration, *Journal of Food Engineering*, vol. 117, nº4, p.450-457, 2013.
- NG, S.-K., WONG, P.-Y., TAN, C.-P., LONG, K. AND NYAM, K.-L. Influence of the inlet air temperature on the microencapsulation of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 115: 1309–1318, 2013.

PINTO, L. C. L., MORAIS, L. M. O., GUIMARÃES, A. Q., ALMADA, E. D., BARBOSA, P. M., & DRUMOND, M. A. Traditional knowledge and uses of the *Caryocar brasiliense* Cambess. (Pequi) by “quilombolas” of Minas Gerais, Brazil: subsidies for sustainable management. *Brazilian Journal of Biology*, v. 76, n. 2, p. 511-519, 2016.

PRATA, A.S. & GROSSO, C.R. Influence of the oil phase on the microencapsulation by complex coacervation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 92, nº7, p. 1063-1072, 2015.

RAMALHO, H. F., SUAREZ, P. A. Z. A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino. *Revista Virtual de Química*, v.5, n.1, p.2-15, 2013.

RAO, A.V.; RAO, L.G. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, v. 55, n. 3, p.207-216, 2007.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids—A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 23, nº7, p. 726-740, 2010.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington: Ilsi, 2001, 64p.

SALES-CAMPOS, H., SOUZA, P. R., PEGHINI, B. C., SILVA, J. S., CARDOSO, C. R. An Overview of the Modulatory Effects of Oleic Acid in Health and Disease. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, v. 13, 2013.

SANCHEZ, F.M.; GARCÍA, F.; CALVO, P.; BERNALTE, M.J.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. Optimization of broccoli microencapsulation process by complex coacervation using response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 34, p.243-249, 2016.

SFACIOTTE, R. A. P., VIGNOTO, V. K. C., CARDOZO, R. M., MUNHOZ, P. M., PINTO, A. A., WOSIACKI, S. R., FERRARO, G. C., BARBOSA, M. J. B. Avaliação da qualidade microbiológica e nutritiva de carnes exóticas. *Semina: Ciências Agrárias*, v.36, n.2, p.839-848, 2015.

STATSOFT. Software Statistica. Statsoft, v. 7.0, 2004.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A., LASZEWSKA, A. Effect of refining process on antioxidant capacity, total phenolics and prooxidants contents in rapeseed oils. *LWT - Food Science and Technology*, v.64, n.2, p. 853-859, 2015.

TIMILSENA, Y. P., ADHIKARI, R., BARROW, C. J., ADHIKARI, B. Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate chia seed gum complex coacervates. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 91, p. 347-357, 2016.

VILAS BOAS, B. M., GONÇALVES, G. A. S., ALVES, J. A., VALÉRIO, J. M., ALVES, T. C., RODRIGUES, L. J., PICOLLI, R. H., VILAS BOAS, E. V. B. Qualidade de pequis fatiados e inteiros submetidos ao congelamento. *Ciência Rural*, v.42, n.5, p.904-910, 2012.

WANG, Y.F.; SHAO, J.J.; ZHOU, C.H.; ZHANG, D.L.; BIE, X.M.; LV, F.X.; ZHANG, C.; LU, Z.X. Food preservation effects of curcumin microcapsules. *Food Control*, v.27, n.1, p.113-117, 2012.

XIAO, JUN-XIA., HUANG, GUO-QING., WANG, SHI-QING., SUN, YAN-TING. Microencapsulation of capsanthin by soybean protein isolate-chitosan coacervation and microcapsule stability evaluation. *Journal of Applied Polymer Science*, v.131, nº1, p.1-7, 2014.

CONCLUSÃO GERAL

Foi possível microencapsular o óleo de pequi através da coacervação complexa utilizando a gelatina e goma arábica como material de parede.

A técnica foi eficiente produzindo de 67,07 a 97,07% de microcapsulas e 66,58% a 96,86% de óleo encapsulado. No delineamento composto central rotacional as variáveis independentes investigadas (temperatura, velocidade de homogeneização e recheio) influenciaram significativamente no rendimento, eficiência e no teor de carotenoides.

Os modelos gerados pelo delineamento composto central rotacional foram preditivos apresentando coeficientes de correlação de 98%. As microcápsulas apresentaram distribuição assimétrica e o seu diâmetro médio variou de 15 a 145 μm . A coacervação complexa auxiliou na preservação dos carotenoides, sendo observada 3,86% de perdas na formulação localizada no ponto central do planejamento experimental (7,5g de recheio, 15.000rpm e 50°C).

O conteúdo dos ácidos graxos existente no óleo de pequi não foi alterado pelo processo de liofilização das microcápsulas e aproximadamente 74% dos carotenoides foram preservados no óleo microencapsulado em pó.

A temperatura de armazenamento das microcápsulas liofilizadas e do óleo de pequi influenciou de forma significativa a diferença de cor das microcapsulas, uma vez que para as amostras armazenadas a 25°C, maior diferença foi observada a partir do centésimo dia de armazenamento, enquanto que para as armazenadas a temperatura de 40°C, um aumento significativo da diferença de cor ocorreu aos quarenta dias de armazenamento. Essa temperatura mais elevada também provocou uma maior degradação de carotenoides uma vez que quando as microcápsulas foram estocadas a 25°C uma maior estabilidade dos carotenoides foi observada até os 70 dias de armazenamento.