UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MILLA GABRIELA DOS SANTOS

**Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de xilitol e
mentol por coacervação complexa e sua aplicação em gomas de
mascar**

**Pirassununga
2014**

MILLA GABRIELA DOS SANTOS

Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de xilitol e mentol por coacervação complexa e sua aplicação em gomas de mascar

Versão corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Carmen Sílvia Fávaro-Trindade

**Pirassununga
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

Santos, Milla Gabriela dos

S237d

Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas
de xilitol e mentol por coacervação complexa e sua aplicação em gomas de mascar / Milla Gabriela dos Santos. --
Pirassununga, 2014.

212 f.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de
Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Carmem Sílvia Fávaro
Trindade.

1. TPA 2. Emulsão dupla 3. Tempo-intensidade
4. Controle de liberação 5. Refrescância. I. Título.

Dedico esse trabalho à minha orientadora,
Carmen Silvia Favaro-Trindade, por ter o
dom de transformar sonhos em realidade.

BIOGRAFIA

Milla Gabriela dos Santos, filha de Milo Santos Junior e Maria de Fátima Borges Santos, nasceu na cidade de Patos de Minas, Minas Gerais, no dia 09 de dezembro de 1984.

Graduada em Engenharia de Alimentos pela Faculdade Associada de Uberaba (FAZU) em 2006. Durante a graduação fez estágios em diversas indústrias e iniciação científica na área de produtos lácteos.

Mestre em Ciências de Alimentos pela Escola Superior “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) em 2009. Durante o mestrado desenvolveu projeto na área de microbiologia em produtos lácteos.

Entre o mestrado e o doutorado trabalhou em uma indústria de produtos lácteos na cidade de Patos de Minas por nove meses e atuou como professora temporária na Universidade Federal de Viçosa (UFV) na cidade de Rio Paranaíba, lecionando para o curso de Ciências de Alimentos durante dois anos.

Em 2012 ingressou no doutorado na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), onde trabalhou com microencapsulação por coacervação complexa.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida, sempre iluminando meu caminho e acima de tudo colocando pessoas na minha vida, as quais eu posso chamar de anjos.

A começar pela minha família... O que seria de mim sem o exemplo e a determinação do meu pai, o astral e o otimismo da minha mãe. Obrigada pai, mãe, Milo e Fátima, por estarem segurando minha mão a todo instante, sim, porque mesmo de longe vocês acompanharam passo a passo mais uma etapa da minha vida, me dando conselhos e me apoiando, e isso me dá um conforto incalculável. Mãe, obrigada por sonhar meus sonhos comigo... Pai, obrigada por acreditar e confiar em mim.

Quero agradecer minhas irmãs, Anelise e Aline, minhas princesas que eu tanto amo e que tenho certeza, torcem muito por mim. Aos meus avós, vô Milo, vó Alba, vô Tião e vó Maria, agradeço pelo carinho e por me colocarem em suas orações.

Agradeço ao Tiago, meu amor, minha alma gêmea. Sua presença constante na minha vida foi indiscutivelmente essencial para que eu conseguisse concluir essa etapa. Obrigada por me escutar falando durante horas sobre esse projeto, por me transmitir tanta paz e tranquilidade, por me acalmar e renovar minhas energias. Obrigada pela família incrível que você tem, a qual me trata como filha. Sr. Milton, Dona Ilza, Marina e André, obrigada por todo o carinho que vocês têm por mim, saibam que é recíproco.

De novo agradeço a Deus por me dar a oportunidade de ser orientada pela professora Carmen. Sim, porque só pode ter sido coisa Dele esse presente que eu recebi! Obrigada Carmen, por sempre me atender com prontidão, pela paciência e pela confiança em mim. Você é uma profissional exemplar. Não, você é muito mais que isso... você é uma pessoa exemplar, e é esse seu lado humano que faz de você essa pessoa iluminada e amada por todos. Aprendi muito com você, e vou tentar seguir seu exemplo pelo resto da minha vida.

Não bastando ter ganhado de presente a orientadora dos sonhos, veio com ela uma equipe maravilhosa, a equipe Laprof. Obrigada Laprof, por ter sido mais do que apenas uma equipe, por ter sido uma família. Como foi bom ter tido a oportunidade de conviver com vocês durante esse tempo. Vai ser difícil não ter mais vocês no meu dia a dia. Obrigada Talitinha, por ser essa amiga tão prestativa e preocupada, você se tornou muito, muito, muito especial pra mim. Obrigada Adja por me contagiar com sua alegria, por me transmitir tanta energia boa. Volnei, como retribuir tudo que

você já fez por mim? Você nunca mediu esforços para me ajudar, e por isso serei eternamente grata a você. Marcelo, obrigada pela paciência em me ensinar tanta coisa. Andressa, Julio, Fernando e toda a equipe Laprof, muito obrigada!

Quero agradecer também a Paulinha, minha amiga mais que iluminada que apareceu na minha vida e me trouxe tanta coisa boa, tantos ensinamentos bons. À Mari, por ter me acolhido desde o primeiro momento em que pisei na FZEA... Sou muito grata a vocês.

Aos amigos FZEA, Grazi, Daniel, Flavia, Lucas, Camila, Carol, Vitor, Diane, Keli, Naty, Taise, Tiara, Débora, Lu e Vitor. Aos amigos distantes, que nem por isso deixaram de acompanhar cada passo da minha vida, Emiliane, Bruna, Pri, Ju, Rachel, Lavyne, Matheus e Thiago.

Quero agradecer de coração toda a equipe que participou da análise sensorial, vocês foram muito importantes para a conclusão desse projeto. Agradeço às minhas queridas estagiárias, Débora, Fer e Poli, que tanto me ajudaram.

Várias pessoas foram essenciais para que algumas análises realizadas nesse projeto fossem possíveis. Por isso, gostaria de agradecer de coração à Grazi, pela ajuda nas análises ZETA. À Mariana (INFABIC) por permitir a realização das análises no microscópio confocal da Unicamp. Ao Rodrigo, pelas análises MEV. À Ednely pela ajuda nas análises de tamanho e cor. À Carla pela ajuda nas análises de textura. À Ana Monica pelas análises de DSC. À Keila pelas análises no CG. Ao Arnaldo pela instalação do programa de análise sensorial.

Quero agradecer a todos os professores do ZEA, que sempre estiveram dispostos a me ajudar, mas em especial à professora Bel, pelas análises reológicas e por me tratar com tanto carinho e paciência. À professora Cris, pelas análises cromatográficas e pela disposição em ajudar. À professora Judite que tornou possível a instalação do programa da análise sensorial. À professora Samantha, pela prontidão em tirar as minhas dúvidas todas as vezes que eu a procurei.

Agradeço também à indústria de alimentos, Riclan, na pessoa do Sr. Aparecido, por permitir a produção das gomas de mascar. À Glaucia Rocha-Selmi por me dar base para desenvolver esse projeto. Ao professor Cleiton Nunes por fornecer o programa de Análise sensorial e pela disposição em ajudar.

Agradeço à Fapesp pela concessão da bolsa de doutorado.

Muito obrigada!!!!

“Procuro semear otimismo e plantar sementes de paz e justiça. Digo o que penso, com esperança. Penso no que faço, com fé. Faço o que devo fazer, com amor. Eu me esforço para ser cada dia melhor, pois bondade também se aprende. Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir.” Cora Coralina

“Há duas formas de viver a sua vida:
uma é acreditar que não existe milagre.
A outra é acreditar que todas as coisas
são um milagre.” Fernando Pessoa.

“O sucesso vem não tentando ser o
melhor, mas fazendo o seu melhor a
cada momento.” Mark Weber.

RESUMO

SANTOS, M. G. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de xilitol e mentol por coacervação complexa e sua aplicação em gomas de mascar.** 2014. 212 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

O processo de microencapsulação vem sendo bastante aplicado em alimentos e um dos objetivos que vem se destacando atualmente é o controle da liberação do agente ativo no tempo e local desejado. Portanto, o objetivo do trabalho foi microencapsular agentes refrescantes (xilitol e mentol) e aplicá-los em gomas de mascar, objetivando prolongar a duração da sensação de refrescância. Xilitol e mentol foram microencapsulados utilizando o método de coacervação complexa. As microcápsulas foram caracterizadas quanto ao tamanho médio, morfologia (microscopia ótica, confocal e eletrônica de varredura), cor instrumental, higroscopicidade, umidade, atividade de água (Aw), solubilidade em água, isotermas de sorção, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), comportamento térmico (por Caloria Diferencial de Varredura - DSC), eficiência de encapsulação e controle de liberação. As gomas de mascar foram produzidas no laboratório de pesquisa e desenvolvimento de uma indústria de alimentos. Oito formulações foram produzidas, sendo quatro com as microcápsulas e quatro com os ingredientes livres. As gomas foram analisadas em relação à umidade, Aw e cor instrumental; por meio da análise do perfil de textura (TPA) avaliou-se a dureza, elasticidade, mastigabilidade e a coesividade das gomas. Análise de tempo-intensidade (TI) das gomas de mascar foi realizada com 19 provadores treinados para avaliar a duração da sensação de refrescância fornecida por esses ingredientes. As microcápsulas obtidas apresentaram características adequadas para aplicação em alimentos, como tamanho médio de partículas de aproximadamente 100 μm e baixos valores de umidade, Aw, solubilidade e higroscopicidade. Por meio da microscopia confocal e da análise de FTIR confirmou-se que os núcleos foram completamente encapsulados pelo material de parede, demonstrando o sucesso da técnica empregada. A eficiência de encapsulação foi alta para o mentol, mas relativamente baixa para o xilitol. Por meio da análise de

DSC constatou-se que o xilitol e o mentol passam do estado cristalino para o estado amorfo após o processo de microencapsulação, o que não interfere nas propriedades do mentol, mas no caso do xilitol sim, pois sua refrescância é atribuída ao seu calor de dissolução endotérmico. As gomas de mascar apresentaram baixos valores de A_w e umidade, o que favorece a estabilidade microbiológica. Em relação ao perfil de textura, observou-se que a presença do xilitol melhorou os parâmetros de textura das gomas, pois as gomas produzidas com este composto apresentaram os menores valores de dureza, mastigabilidade e elasticidade. A presença das microcápsulas não interferiu significativamente em nenhum dos parâmetros de textura analisados. A análise de TI confirmou que as microcápsulas foram hábeis para promover liberação gradual do mentol e do xilitol, pois a refrescância das gomas de mascar contendo as microcápsulas durou mais tempo que as gomas de mascar com os ingredientes livres.

Palavras-chave: emulsão dupla, tempo-intensidade, controle de liberação, refrescância

ABSTRACT

SANTOS, M. G. **Development and characterization of menthol and xylitol microcapsules by complex coacervation and its application in chewing gum.** 2014. 212 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

The microencapsulation process has been widely applied in food and one of the aims that have been highlighted is to control the release of the active agent at the desired time and local. Therefore, the objective was to microencapsulate cooling agents (menthol and xylitol) to apply them in chewing gum, aiming to prolong the feeling of freshness. Xylitol and menthol were microencapsulated using complex coacervation method. The microcapsules were characterized by particle size, morphology (optical microscopy, confocal and scanning electron), instrumental color parameter, hygroscopicity, moisture, water activity (A_w), solubility, sorption isotherms, Fourier transform Infrared Spectroscopy (FTIR), thermal behavior (Differential Scanning Calorie - DSC), encapsulation efficiency and release control. The chewing gums were produced in the research and development laboratory of a food industry. Eight formulations were produced, four with microcapsules and four with free ingredients. The gums were analyzed for moisture, A_w and instrumental color parameter; by texture profile analysis (TPA) was evaluated hardness, springiness, chewiness and cohesiveness of the gum. Analysis of time-intensity (TI) of chewing gum was conducted with 19 trained panelists to evaluate the duration of the freshness sensation provided by such ingredients. The microcapsules obtained had characteristics suitable for application in foods such as average particle size of approximately 100 μm and low levels of humidity, A_w , solubility and hygroscopicity. By confocal microscopy and FTIR analysis it was confirmed that the cores were completely encapsulated by wall material, ensuring the success of the technique. The encapsulation efficiency was high in menthol microcapsules but relatively low for xylitol microcapsules. By the DSC analysis it was found that xylitol and menthol crystalline state transform to the amorphous state after the microencapsulation process, which does not affect the properties of menthol, but in the xylitol yes, because their freshness is attributed to its endothermic heat of dissolution. Chewing

gums showed low values of A_w and moisture, which favors the microbiological stability. Through TPA, was observed that the presence of xylitol improved the texture parameters of the gums because the gums produced with this compound showed the lowest hardness, chewiness and elasticity. The presence of the microcapsules was not significantly influenced the texture parameters analyzed. Time-Intensity analysis confirmed that the microcapsules were able to promote gradual release of menthol and xylitol, because the freshness of chewing gum containing microcapsules lasted longer than the chewing gum free ingredients.

Keywords: double emulsion, time-intensity, release control, freshness

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Fórmula estrutural do xilitol	30
Figura 2. Fórmula estrutural do L-Mentol	32
Figura 3. Gotícula de emulsão dupla A/O/A	39
Figura 4. Produção de emulsões.....	40
Figura 5. Representação esquemática dos princípios da estabilização de emulsão.....	42
Figura 6. Fórmula estrutural do PGPR	42
Figura 7. Possíveis interações em um sistema de biopolímeros.....	45

CAPÍTULO 2

Figura 8. Emulsão simples com diferentes óleos e emulsificantes após 15 minutos de formação (a) e após 24 horas (b).	68
Figura 9. Curvas de distribuição de tamanho das gotículas da emulsão simples (A/O) homogeneizadas a diferentes velocidades.	72
Figura 10. Relação entre viscosidade vs. taxa de deformação das emulsões simples homogeneizadas a diferentes velocidades	74
Figura 11. Microscopia da emulsão simples obtida por microscópio ótico (100x).	75
Figura 12. Distribuição do tamanho das gotículas da emulsão dupla de todos os tratamentos estudados.	77
Figura 13. Emulsões duplas produzidas com diferentes concentrações de gelatina e núcleo.....	78

CAPÍTULO 3

Figura 14. Processo de coacervação complexa.....	86
Figura 15. Efeito do pH na formação de microcápsulas de xilitol no T5.	95
Figura 16. Processo de coacervação do xilitol: (a) gotículas da emulsão dupla; (b) emulsão dupla e goma arábica em pH 5,5; (c) coacervados após abaixamento do pH para 4,0.	97

Figura 17. Micrografias das microcápsulas de xilitol obtidas por microscopia ótica.	100
Figura 18. Microcápsulas de xilitol coacervadas (T5) obtidas por microscopia confocal de varredura utilizando corante Nile Red. A cor vermelha indica a presença de óleo.	102
Figura 19. Micrografia dos cristais de xilitol obtidas por MEV	103
Figura 20. Micrografias obtidas por microscópio eletrônico de varredura (MEV) das microcápsulas coacervadas e liofilizadas produzidas com diferentes proporções de polímeros (goma arábica e gelatina) e núcleo.....	103
Figura 21. Coordenadas de cor de acordo com o sistema CIELab	104
Figura 22. Imagem para visualização da cor do xilitol (1), das microcápsulas liofilizadas produzidas com a formulação controle - sem xilitol (2) e das microcápsulas liofilizadas produzidas com a formulação T1 (3).....	106
Figura 23. Isotermas de sorção de todos os tratamentos estudados ajustadas pelo modelo PELEG.....	117
Figura 24. Espectros de infravermelho dos ingredientes e das microcápsulas	118
Figura 25. Curvas de DSC obtidas nos tratamentos estudados.....	121
Figura 26. Curvas de DSC obtidas para o xilitol puro (cristalino), óleo de milho, gelatina suína, goma arábica e microcápsula do T7	122
Figura 27. Perfil de liberação do xilitol das microcápsulas coacervadas e liofilizadas utilizando diferentes concentrações de material de parede:núcleo, sendo T2 (2,5:2,5); T5 (5,0:5,0) e T8 (7,5:7,5).	127

CAPÍTULO 4

Figura 28. Micrografia das microcápsulas de mentol obtidas por microscopia ótica.	141
Figura 29. Micrografia das microcápsulas de mentol obtidas por microscopia confocal de varredura.	142
Figura 30. Micrografia das microcápsulas de mentol obtidas por microscopia eletrônica de varredura.	143
Figura 31. Isotermas de sorção de todos os tratamentos estudados ajustadas pelo modelo GAB	150

Figura 32. Espectros de infravermelho dos ingredientes e das microcápsulas de mentol	151
Figura 33. Curvas de DSC obtidas nos tratamentos 1 ao 3	152
Figura 34. Curvas de DSC obtidas para o mentol puro (cristalino), óleo de milho, gelatina suína, goma arábica e a microcápsula de mentol obtida no T1	153

CAPÍTULO 5

Figura 35. Micrografia das microcápsulas obtidas por microscopia ótica.....	166
Figura 36. Micrografia das microcápsulas obtidas por microscopia confocal de varredura. A concentração de mentol foi de 4,0% (T2). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo foi de 1:1:1. O corante utilizado foi o Nile Red.	167
Figura 37. Micrografia das microcápsulas obtidas por microscopia eletrônica de varredura. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3).	168
Figura 38. Isotermas de sorção de todos os tratamentos estudados ajustadas pelo modelo GAB.....	173
Figura 39. Espectros de infravermelho dos ingredientes e das microcápsulas	175
Figura 40. Curvas de DSC obtidas nos tratamentos 1 ao 3	176
Figura 41. Curvas de DSC obtidas para o xilitol puro (cristalino), mentol puro (cristalino), óleo de milho, gelatina suína, goma arábica e a microcápsula obtida no T1.	177

CAPÍTULO 6

Figura 42. Produção das gomas de mascar: misturador com aquecimento (A); ingredientes (B); gomas base (C); adição dos ingredientes na goma base fundida (D); molde da massa (E); gomas de mascar (F).	185
Figura 43. Teste sequencial triangular para a seleção de provadores com $p_0=0,33$, $p_1=0,66$, $\alpha=0,05$ e $\beta=0,10$	188
Figura 44. Amostras servidas aos provadores	189
Figura 45. Parâmetros da curva Tempo-Intensidade. Adaptado de Nunes e Pinheiro (2013).	190
Figura 46. Perfil de textura das diferentes formulações de gomas de mascar.	197

Figura 47. Curvas de tempo-intensidade geradas pelos provadores das gomas de mascar contendo mentol na forma livre e microencapsulada.....	200
Figura 48. Curvas de tempo-intensidade geradas pelos provadores das gomas de mascar contendo xilitol e mentol na forma livre e microencapsulada.....	200

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Tamanho médio das gotículas da emulsão simples.....	71
Tabela 2. Viscosidade média das emulsões simples obtidas em diferentes velocidades de homogeneização	73
Tabela 3. Tamanho médio das gotículas e índice de polidispersão (ID) das emulsões duplas obtidas nas diferentes formulações estudadas.....	76

CAPÍTULO 3

Tabela 4. Resumo das condições operacionais utilizadas durante a coacervação complexa.....	87
Tabela 5. Formulação das microcápsulas analisadas	87
Tabela 6. Soluções salinas e suas respectivas atividades de água à temperatura ambiente (25 °C)	91
Tabela 7. Modelos para isotermas de sorção em alimentos.....	92
Tabela 8. Tamanho médio das partículas dos coacervados obtidos nas diferentes formulações estudadas	97
Tabela 9. Parâmetros L^* , a^* e b^* para o xilitol e para as microcápsulas obtidas nas diferentes formulações estudadas.....	105
Tabela 10. Atividade de água das microcápsulas obtidas nas diferentes formulações estudadas.....	106
Tabela 11. Umidade das microcápsulas obtidas nas diferentes formulações após processo de liofilização	108
Tabela 12. Higroscopicidade dos ingredientes utilizados e das microcápsulas liofilizadas obtidas nas diferentes formulações estudadas	109
Tabela 13. Solubilidade em água dos ingredientes utilizados e das microcápsulas obtidas nas diferentes formulações estudadas	111
Tabela 14. Umidade de equilíbrio dos pós obtidos armazenados em diferentes condições de umidade relativa a 25°C.	114

Tabela 15. Parâmetros de ajuste para o modelo PELEG de isotermas de sorção de umidade a 25°C.....	115
Tabela 16. Eficiência de Encapsulação (EE) das microcápsulas de xilitol obtidas por coacervação complexa.....	124

CAPÍTULO 4

Tabela 17. Tamanho médio das partículas dos coacervados de mentol obtidos nas diferentes formulações estudadas.....	139
Tabela 18. Parâmetros L^* , a^* e b^* para as microcápsulas de mentol obtidas nas diferentes formulações estudadas.....	145
Tabela 19. Propriedades das microcápsulas de mentol coacervadas e liofilizadas.....	146
Tabela 20. Umidade de equilíbrio dos pós obtidos armazenados em diferentes condições de umidade relativa a 25 °C.....	147
Tabela 21. Parâmetros de ajuste para o modelo GAB de isotermas de sorção de umidade a 25°C.....	148
Tabela 22. Eficiência de Encapsulação (EE) das microcápsulas de mentol obtidas por coacervação complexa.....	154

CAPÍTULO 5

Tabela 23. Tamanho médio das partículas dos coacervados obtidos nas diferentes formulações estudadas	164
Tabela 24. Parâmetros L^* , a^* e b^* para os pós obtidos nas diferentes formulações estudadas.....	170
Tabela 25. Propriedades das microcápsulas de xilitol e mentol coacervadas e liofilizadas.....	171
Tabela 26. Umidade de equilíbrio dos pós armazenados em diferentes condições de umidade relativa a 25 °C.....	172
Tabela 27. Parâmetros de ajuste para o modelo GAB de isotermas de sorção de umidade a 25 °C.....	172
Tabela 28. Eficiência de Encapsulação (EE) das microcápsulas de xilitol e mentol obtidas por coacervação complexa	178

CAPÍTULO 6

Tabela 29. Formulações das gomas de mascar	186
Tabela 30. Umidade e atividade de água (A_w) das diferentes gomas de mascar ...	192
Tabela 31. Parâmetros L^* , a^* e b^* para as gomas de mascar obtidas nas diferentes formulações estudadas	193
Tabela 32. Análise do Perfil de Textura (TPA) das diferentes gomas de mascar.....	195
Tabela 33. Valores médios dos parâmetros obtidos da curva de TI para as diferentes gomas de mascar analisadas.....	198
Tabela 34. Duração aproximada da sensação de refrescância das gomas de mascar	199

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A/O = Emulsão simples água em óleo

O/A = Emulsão simples óleo em água

A/O/A = Emulsão dupla água em óleo em água

ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APCI-MS = Espectrometria de Massa Sequencial com Ionização Química a Pressão Atmosférica

A_w = Atividade de água

b.s. = Base seca

BET = *Brunauer–Emmett–Teller*

BHL = Balanço hidrofílico-lipofílico

DBO = Demanda Bioquímica de Oxigênio

DR = Desvio relativo médio

DSC = Caloria Diferencial de Varredura (*Differential Scanning Calorimetry*)

EE = Eficiência de Encapsulação

FTIR = Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

GAB = *Guggenheim–Anderson–de Boer*

CLAE = Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

ID = Índice de Dispersão

INFABIC = Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fotônica Aplicada à Biologia Celular

IPS = Isolado Proteico de Soja

MAPA = Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MEV = Microscopia Eletrônica de Varredura

min = Minutos

NACMC = Carboximetilcelulose de sódio

nm = Nanômetros

mm = Milímetros

m = Massa

mg = Miligramas

PGPR = Polirricinoleato de Poliglicerol

pl = Ponto Isoelétrico

PLA = Polilático

rpm = Rotações por minuto

SAS = Statistical Analysis System

SDS = Sulfato de Dodecil de Sódio

Tg = Temperatura de transição vítrea

TI = Tempo-Intensidade

TPA = Análise do Perfil de Textura (Texture Profile Analysis)

UR = Umidade relativa

X_m = Umidade na monocamada molecular

C_{GAB} e K_{GAB} = são as constantes do modelo GAB da Equação 4

C_{BET} = constante do modelo BET da Equação 5

K_1 , N_1 , K_2 , N_2 = são as constantes do modelo PELEG da Equação 6

LISTA DE SÍMBOLOS

μ = micro

$^{\circ}\text{C}$ = graus Celsius

a^* = cromaticidade no eixo variando do vermelho/verde

b^* = cromaticidade no eixo variando do amarelo/azul

L^* = luminosidade

$\dot{\gamma}$ = taxa de deformação (s^{-1})

σ = tensão de cisalhamento (Pa)

η = viscosidade (Pa/s)

J = joules

W = watt

ΔH = variação de entalpia

$\leq$ = menor ou igual

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	28
CAPÍTULO 1. Revisão Bibliográfica	30
1.1 Xilitol	30
1.2 Mentol	32
1.3 Microencapsulação	34
1.3.1 Controle de Liberação.....	35
1.3.2 Métodos de microencapsulação	36
1.3.3 Material de parede	43
1.3.4 Microencapsulação de Xilitol	47
1.3.5 Microencapsulação de mentol	48
1.4 Análise Sensorial	49
1.5 Goma de Mascar.....	50
REFERÊNCIAS.....	52
CAPÍTULO 2. Estudo das emulsões simples (A/O) e duplas (A/O/A) de xilitol	62
RESUMO	62
2.1 INTRODUÇÃO	63
2.2 OBJETIVOS.....	63
2.2.1 Objetivo geral:.....	63
2.2.2 Objetivos específicos:	64
2.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	64
2.3.1 Materiais	64
2.3.2 Equipamentos.....	64
2.3.3 Preparo das soluções aquosas de xilitol.....	65
2.3.4 Preparo das Emulsões.....	65
2.3.5 Caracterização das Emulsões	66
2.3.6 Forma de Análise dos Resultados	67
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
2.4.1 Soluções aquosas de xilitol.....	67
2.4.2 Emulsão Simples	68

2.4.3 Emulsão Dupla.....	75
2.5 CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS.....	80

CAPÍTULO 3. Microencapsulação de xilitol por emulsão dupla seguida de coacervação complexa.....	82
RESUMO	82
3.1 INTRODUÇÃO	83
3.2 OBJETIVOS	84
3.2.1 Objetivo geral.....	84
3.2.2 Objetivos específicos	84
3.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	85
3.3.1 Materiais	85
3.3.2 Equipamentos	85
3.3.3 Coacervação complexa	86
3.3.4 Caracterização das microcápsulas	88
3.3.5 Forma de Análise dos Resultados	94
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
3.4.1 Ajuste do pH	95
3.4.2 Tamanho de partículas	97
3.4.3 Microscopia ótica	99
3.4.4 Microscopia confocal de varredura	101
3.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	102
3.4.6 Cor	104
3.4.7 Atividade de Água.....	106
3.4.8 Umidade	107
3.4.9 Higroscopicidade	109
3.4.10 Solubilidade	110
3.4.11 Isotermas de Sorção	112
3.4.12 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) ..	117
3.4.13 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	120
3.4.14 Eficiência de Encapsulação (EE)	124
3.4.15 Controle de Liberação.....	126

3.5 CONCLUSÃO	128
REFERÊNCIAS.....	129
 CAPÍTULO 4. Microencapsulação de mentol por coacervação complexa	134
RESUMO	134
4.1 INTRODUÇÃO	135
4.2 OBJETIVOS	136
4.2.1 Objetivo geral.....	136
4.2.2 Objetivos específicos	136
4.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	136
4.3.1 Materiais	136
4.3.2 Equipamentos	137
4.3.3 Microencapsulação de Mentol	137
4.3.4 Quantificação de mentol	138
4.3.5 Eficiência de encapsulação do mentol.....	138
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	139
4.4.1 Tamanho de partículas	139
4.4.2 Microscopia ótica	140
4.4.3 Microscopia confocal de varredura	142
4.4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	143
4.4.5 Cor instrumental.....	145
4.4.6 Atividade de água, Umidade, Solubilidade e Higroscopicidade	146
4.4.7 Isotermas de sorção	147
4.4.8 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	150
4.4.9 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	152
4.4.10 Eficiência de Encapsulação (EE)	154
4.5 CONCLUSÃO	155
REFERÊNCIAS.....	156
 CAPÍTULO 5. Co-encapsulação de mentol e xilitol por emulsão dupla seguida de coacervação complexa.....	160
RESUMO	160
5.1 INTRODUÇÃO	161

5.2 OBJETIVOS.....	162
5.2.1 Objetivo geral.....	162
5.2.2 Objetivos específicos	162
5.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	162
5.3.1 Materiais	162
5.3.2 Equipamentos.....	162
5.3.3 Co-encapsulação de mentol e xilitol	163
5.3.4 Caracterização das microcápsulas	164
5.3.5 Eficiência de Encapsulação (EE)	164
5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	164
5.4.1 Tamanho de partículas	164
5.4.2 Microscopia ótica	165
5.4.3 Microscopia confocal de varredura	167
5.4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	168
5.4.5 Cor instrumental.....	169
5.4.6 Atividade de água, Umidade, Solubilidade e Higroscopicidade	170
5.4.7 Isotermas de sorção	171
5.4.8 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	174
5.4.9 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	176
5.4.10 Eficiência de Encapsulação (EE)	178
5.5 CONCLUSÃO	179
REFERÊNCIAS.....	180

CAPÍTULO 6. Aplicação das microcápsulas de xilitol e mentol em gomas de mascar	182
RESUMO	182
6.1 INTRODUÇÃO	183
6.2 OBJETIVOS.....	184
6.2.1 Objetivo geral.....	184
6.2.2 Objetivos específicos	184
6.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	184
6.3.1 Materiais	184
6.3.2 Elaboração das gomas de mascar.....	185

6.3.3 Caracterização das gomas de mascar.....	187
6.3.4 Análise Sensorial das gomas de mascar	188
6.3.5 Forma de Análise dos Resultados	191
6.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	191
6.4.1 Umidade e atividade de água das gomas de mascar	191
6.4.2 Cor das gomas de mascar	193
6.4.3 Perfil de Textura Instrumental das gomas de mascar	194
6.4.4 Perfil de Tempo-Intensidade das gomas de mascar.....	198
6.5 CONCLUSÃO	202
REFERÊNCIAS.....	202
 CONCLUSAO GERAL	 205
 APÊNDICES	 206
 ANEXOS	 210

INTRODUÇÃO GERAL

O xilitol é um poliálcool que além do poder edulcorante possui um efeito de refrescância devido ao seu calor de dissolução endotérmico. O mentol é um álcool monoterpênico cíclico que possui agradável sabor e aroma de menta, sendo considerado um dos mais importantes aromatizantes utilizados na indústria de alimentos. Xilitol e mentol são aplicados em alimentos como balas, gomas de mascar, licores, chocolates, sorvetes, geleias e sobremesas.

O processo de microencapsulação vem sendo utilizado há muitos anos pela indústria farmacêutica, onde já é bastante consolidado e desenvolvido. Nas últimas décadas a microencapsulação tem se destacado também na indústria de alimentos, sendo aplicada para diversas finalidades, tais como proteção, mudanças de textura, controle de liberação, entre outras.

Dentre os métodos empregados na produção de microcápsulas, o processo de coacervação complexa é bastante indicado quando objetiva-se controlar a liberação do núcleo, uma vez que este processo produz uma cápsula verdadeira, recobrando completamente o material ativo dentro do material de parede. O processo consiste na mistura de dois polímeros a um pH no qual um polímero é negativamente carregado e o outro é positivamente carregado, levando a separação de fases e formação de partículas insolúveis em água.

A goma de mascar é um produto constituído por uma base gomosa, elástica, mastigável e não deglutível, sendo ideal para aplicação de microcápsulas, devido às suas propriedades físico-químicas e às suas condições de preparo, como ausência de estresse pelo calor ou excesso de umidade. Por isso, um grande número de patentes foram depositadas sobre a aplicação de ingredientes encapsulados em gomas de mascar com o objetivo de prolongar o sabor.

Porém, não existem artigos publicados na área de alimentos sobre a aplicação de microcápsulas em gomas de mascar. Também não foram encontrados artigos publicados sobre a microencapsulação de xilitol e mentol utilizando o método de coacervação complexa, tão pouco utilizando os dois ingredientes em uma mesma cápsula.

Diante disso, o objetivo do trabalho foi desenvolver e caracterizar microcápsulas de xilitol e mentol, utilizando a técnica de coacervação complexa, e

aplicá-las em gomas de mascar, avaliando, por meio da análise sensorial de tempo-intensidade, a efetividade das microcápsulas em prolongar a sensação de refrescância fornecida pelo mentol e xilitol.

Esse trabalho foi dividido em seis capítulos, sendo o capítulo 1 a revisão bibliográfica, onde é apresentada uma revisão de literatura sobre os principais temas abordados no projeto. No capítulo 2 constam os testes preliminares que foram realizados para definir os parâmetros utilizados no processo de microencapsulação por coacervação complexa. Os capítulos 3 e 4 são referentes à microencapsulação do xilitol e do mentol, respectivamente. O capítulo 5 se refere à microencapsulação desses dois componentes, xilitol e mentol, juntos. E por fim, o capítulo 6 é sobre a aplicação dessas microcápsulas nas gomas de mascar.

CAPÍTULO 1. Revisão Bibliográfica

1.1 Xilitol

O xilitol é um poliálcool cuja fórmula estrutural está apresentada na Figura 1.

Figura 1. Fórmula estrutural do xilitol

Fonte: Asare-Addo et al. (2013)

O xilitol apresenta ponto de fusão na faixa de 92 a 96 °C; é praticamente insolúvel em etanol (1,2 g/100 g solução a 25 °C), mas altamente solúvel em água (164 g/100 g de água a 20 °C) (SCHIFFMAN; GATLIN, 1993), sendo que essa solubilidade pode ser maior à medida que se aumenta a temperatura (ASARE-ADDO et al. 2013).

Trata-se de um pó branco e cristalino que pode ser obtido por síntese química, por meio da hidrogenação catalítica da xilose, a qual é obtida da hidrólise da hemicelulose (IKEUCHI et al. 1999). Entretanto, o processo químico é caro, pois a xilose deve ser purificada antes da reação química. Outro meio é a produção de xilitol por via microbiológica, utilizando microrganismos tais como *Candida guilliermondii*, *Pichia stipitis*, *Pachysolen tannophilus* e *Candida tropicalis* (WALTHER; HENSIRISAK; AGBLEVOR, 2001).

Vários trabalhos estudam a produção de xilitol utilizando resíduos lignocelulósicos, tais como bagaço de cana-de-açúcar (ALVES et al. 2002; BRANCO; SANTOS; SILVA, 2011; CARVALHO et al. 2005; FELIPE; VITOLO; MANCILHA, 1996; PAIVA, 2000; SANTOS et al. 2008), palha de arroz (RAMBO, 2009), fibra de milho (RAO et al. 2006) e resíduos florestais (TAMANINI; HAULY, 2004), os quais representam fontes abundantes de celulose e hemicelulose.

O xilitol tem muitas vantagens na aplicação em alimentos, uma vez que a incorporação deste poliálcool nas formulações não causa mudanças indesejáveis no produto. Isso porque não possui grupos aldeídicos ou cetônicos em sua molécula, e

por isso ele não participa de reações com aminoácidos, conhecidas como reações de Maillard (MUSSATTO; ROBERTO, 2002), responsável pelo escurecimento e redução do valor nutricional de proteínas (PARAJÓ; DOMINGUÉZ; DOMINGUÉZ, 1998).

O xilitol tem se tornado um substituto atrativo do açúcar, devido ao seu alto poder adoçante (IKEUCHI et al. 1999) e por ser considerado anticariogênico (GAZZANI; DAGLIA; PAPETTI, 2012). É tão doce quanto a sacarose, com somente dois terços do seu conteúdo calórico (BRANCO; SANTOS; SILVA, 2011). De acordo com Gliemmo et al. (2008), o xilitol é o mais doce de todos os poliálcoois. O metabolismo do xilitol em humanos é independente da insulina, possibilitando sua utilização como adoçante para diabéticos (PARAJÓ; DOMINGUÉZ; DOMINGUÉZ, 1998). É considerado extremamente seguro para aplicação em alimentos (BIÇER; SARI, 2012).

Além disso, em razão do seu elevado calor de solução endotérmico (34,8 cal/g), o xilitol produz um agradável efeito refrescante na boca quando entra em contato com a saliva (BRANCO; SANTOS; SILVA, 2011; MUSSATTO; ROBERTO, 2002). Portanto, além do poder adoçante, tem capacidade de proporcionar a sensação de refrescância. Devido a essa propriedade organoléptica, o xilitol realça o efeito refrescante dos produtos com sabor de menta, tais como balas e gomas de mascar (PEPPER; OLINGER, 1988¹ apud MUSSATTO; ROBERTO, 2002).

Entre os produtos com xilitol disponíveis no mercado brasileiro, enumeram-se, na área de comestíveis, as gomas de mascar, balas, confeitos, compotas, caramelos, chocolates, geleias, sobremesas e pudins, e na área de dentifrícios, os cremes dentais e as soluções para enxague bucal (MUSSATTO; ROBERTO, 2002). O seu uso em alimentos é regulamentado pela Resolução nº18/2008 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2008) onde é considerado um aditivo natural, e por isso não possui limite máximo de uso.

¹ PEPPER, T.; OLINGER, P. M. Xylitol in sugar-free confections. **Food technology**, v.42, n.10, 1988.

1.2 Mentol

O mentol ($C_{10}H_{20}O$) é um álcool monoterpeneo cíclico composto por três átomos de carbono assimétricos (CROTEAU et al. 2005), cuja fórmula estrutural está representada na Figura 2.

Figura 2. Fórmula estrutural do L-Mentol

Fonte: Croteau et al. (2005)

Dos oito possíveis isômeros do mentol, o L-mentol é o mais abundante na natureza e, por isso, quando se usa o termo “mentol”, refere-se ao L-mentol (MORTENSON; REINECCIUS, 2008). É encontrado na forma sintética (sintetizado normalmente de outros terpenos) ou naturalmente presente em plantas da espécie *Mentha* (KAMATOU et al. 2013; MORTENSON; REINECCIUS, 2008).

O gênero *Mentha* (*Lamiaceae*), consiste de mais de 25 espécies das quais *M. arvensis*, *M. piperita*, *M. spicata* e *M. pulegium* tem óleos essenciais compostos por monoterpeneos como mentol, mentona, carvona e pulegona como seus principais constituintes (PHATAK; HEBLE, 2002). As espécies mais cultivadas no Brasil são a *Mentha arvensis* e a *Mentha spicata*, pois ambas são bem adaptadas ao clima subtropical, com temperaturas oscilando entre 18 e 24 °C, apesar de suportarem temperaturas de até 40 °C na máxima e 5 °C na mínima (WATANABE et al. 2006).

Comercialmente, o mentol é o isolado natural mais importante e estima-se que entre 30 e 32.000 toneladas métricas de mentol são consumidas anualmente (KAMATOU et al. 2013).

De acordo com a legislação brasileira do Ministério da Agricultura e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 1976) o mentol cristalizado é o composto químico obtido de óleo natural de menta, praticamente isento de impurezas. Ainda, segundo

essa portaria, o mentol cristalizado deverá ter ponto de fusão entre 41 a 44 °C, sendo, portanto, sólido a temperatura ambiente e bastante volátil. O mentol é ligeiramente solúvel em água (cerca de 0,04%) mas bastante solúvel em etanol, propileno glicol, éter etílico, clorofórmio e parafina líquida (cerca de 90%) (HOPP; LAWRENCE, 2006).

O mentol possui agradável sabor e aroma, sendo considerado um dos mais importantes aromatizantes utilizados na indústria de alimentos, perdendo apenas para os aromas de baunilha e cítricos (KAMATOU et al. 2013; RAO, 1999).

É bastante empregado também na área farmacêutica, pois apresenta várias propriedades biológicas, tais como atividade antimicrobiana, anticâncer, anti-inflamatória (KAMATOU et al. 2013) e atividade inseticida contra mosquitos (SAMARASEKERA; WEERASINGHE; HEMALAL, 2008).

O mentol possui um efeito de arrefecimento-anestésico, ou seja, transmite uma sensação de refrescância quando entra em contato com a pele. De acordo com Hopp e Lawrence (2006) o mentol ativa os receptores do frio por interferir com os canais de cálcio nas membranas sensoriais neurais.

A maioria dos estudos encontrados na literatura é com óleo de menta. Existem poucos estudos com o mentol em si, mas considerando que o mentol é o principal componente do óleo essencial, pode-se considerar que ele possui as mesmas propriedades deste. Estudos com óleo essencial de menta (*Mentha piperita* L.) comprovam suas propriedades antifúngicas (RIAHI et al. 2013), antibacterianas (IŞCAN et al. 2002; LV et al. 2012; RIAHI et al. 2013) anti-inflamatórias (LV et al. 2012) e repelente contra mosquitos (ANSARI et al. 2000). É considerado um composto não tóxico para humanos, mas altamente letal para patógenos (BEYKI et al. 2014; DEBBAB et al. 2007). Portanto, os óleos essenciais de menta são amplamente usados nas indústrias de alimentos, farmacêuticas e formulações de aromas e fragrâncias (PHATAK; HEBLE, 2002).

Na indústria de alimentos o mentol é aplicado em alimentos como balas, gomas de mascar, licores, chocolate e sorvetes (LV et al. 2012). Também é bastante aplicado em produtos não alimentícios, como por exemplo, cigarros, produtos de cuidados da saúde bucal, cosméticos, perfumes, xampus, sabonetes e outros produtos de higiene pessoal, bem como em produtos de limpeza, como detergentes (BHATIA et al. 2008; CIOBANU et al. 2013; CROTEAU et al. 2005).

1.3 Microencapsulação

Microencapsulação é o processo de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas extremamente pequenas (DESAI; PARK, 2005; FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008). Ela possui um elevado nível de aplicações no setor de fármacos (68%), seguido pela setor alimentício (13%) e cosméticos (8%) (MARTINS et al. 2014).

Os primeiros registros de tentativa de aplicação dessa ideia datam dos anos 30. O primeiro produto com material microencapsulado surgiu em 1954, com a patente do papel de cópia sem carbono comercializado pela empresa norte-americana National Cash Register, que consistia no recobrimento de papel comum por uma fina camada de microcápsulas contendo tinta incolor. As microcápsulas quando rompidas (por pressão) liberavam a tinta que, ao entrar em contato com uma segunda folha previamente banhada num revelador, produzia a cópia nos pontos pressionados. As primeiras pesquisas na área farmacêutica, realizadas pela Universidade de Wisconsin (Estados Unidos), também datam dos anos 50 (RÉ, 2003² apud PRATA, 2006).

Na indústria de alimentos o processo de encapsulação tem sido utilizado para diversas finalidades, como para proteger substâncias que são sensíveis a temperatura, luz, oxigênio e umidade (DESAI; PARK, 2005; ONWULATA, 2012), transformar um composto líquido em pó, melhorar a segurança (reduz a inflamabilidade de voláteis como aromas e óleos voláteis), criar efeitos de textura e efeitos visuais, ajustar as propriedades de componentes ativos (tamanho de partícula, estrutura, solubilidade e cor), mascarar sabores indesejáveis e controlar a liberação (ZUIDAM; SHIMONI, 2010). No caso da microencapsulação do xilitol e do mentol, o controle de liberação é o fator mais importante com o objetivo de prolongar a sensação de refrescância e o dulçor, no caso do xilitol.

² RÉ, M.I. Microencapsulação em busca de produtos inteligentes. Último acesso em 28/11/2003. <<http://www2.uol.com.br/cienciahoje/chmais/pass/ch162/microcap.pdf>>

1.3.1 Controle de Liberação

Controle de liberação é a modificação da taxa e/ou lugar no qual o agente ativo é liberado, e é possível alcançar tal objetivo adicionando uma barreira ao redor dele (LAKKIS, 2007a). A liberação controlada pode retardar ou prolongar a liberação.

A liberação é retardada quando o agente ativo é disponibilizado no local e no tempo desejado (DESAI; PARK, 2005; LAKKIS, 2007a). Exemplos dessa categoria incluem a encapsulação de probióticos para proteção da acidez gástrica e liberação tardia no intestino delgado (LAKKIS, 2007a).

A liberação é prolongada quando o agente ativo é liberado a uma taxa específica (DESAI; PARK, 2005), podendo prolongar a percepção sensorial na boca (SANGUANSRI; AUGUSTIN, 2006). Exemplos desse tipo de liberação incluem a encapsulação de aromas e adoçantes para aplicação em gomas de mascar, onde a taxa de liberação é reduzida para manter o efeito de sabor desejável durante todo o tempo de mastigação (LAKKIS, 2007a).

A liberação pode ser promovida por mudança de pH, estresse mecânico, temperatura, atividade enzimática, tempo, força osmótica, entre outros (GOUIN, 2004). A liberação térmica ocorre devido ao derretimento do material de parede a uma dada temperatura, normalmente durante o cozimento do alimento, liberando assim o ingrediente ativo. Alterando o tipo e a espessura do material de parede, é possível liberar o ativo com poucos graus de temperatura (LAKKIS, 2007a).

A liberação física requer uma desestruturação física da microcápsula, por exemplo, por meio da mastigação. Fatores que podem ser alterados para prolongar a liberação incluem o tamanho das cápsulas e a resistência e flexibilidade do material de parede (LAKKIS, 2007a). A liberação por dissolução ocorre em uma solução aquosa ou a química do material de parede pode ser designada para que isto ocorra somente em um pH particular (LAKKIS, 2007a).

Os principais fatores que afetam as taxas de liberação do agente ativo estão relacionados a interações entre o material encapsulante e o núcleo, portanto a matriz das microcápsulas pode ser modificada de acordo com o gatilho de liberação desejado, por exemplo, quando se deseja utilizar a temperatura para liberação do agente normalmente se usa cápsulas de matriz lipídica; umidade (matriz hidrofílica); pH (cobertura entérica); enzimas (cobertura entérica, matriz lipídica, amido ou

proteína); e estresse, mastigação, fratura física, trituração (cobertura entérica, matriz lipídica, amido ou proteína) (LAKKIS, 2007a).

Além disso, outras variáveis influenciam a liberação, tais como, volatilidade do núcleo, proporção entre núcleo e encapsulante, tamanho das partículas, morfologia, grau de viscosidade do polímero encapsulante e solubilidade (AZEREDO, 2005).

O uso da microencapsulação de ingredientes alimentícios objetivando a liberação controlada é uma alternativa promissora para resolver muitos problemas enfrentados pela indústria de alimentos (DESAI; PARK, 2005; ONWULATA, 2012), uma vez que amplia o âmbito de aplicação de ingredientes e garante a dosagem desejada (GOUIN, 2004).

1.3.2 Métodos de microencapsulação

Os processos de microencapsulação mais comumente utilizados podem ser divididos em métodos físicos: *spray drying*, *spray-chilling/cooling*, leiteo fluidizado, injeção, extrusão centrífuga com múltiplos orifícios, co-cristalização e liofilização; métodos químicos: inclusão molecular e polimerização interfacial; e métodos físico-químicos: emulsificação, coacervação simples e complexa, pulverização em agente formador de reticulação e lipossomas (DESAI; PARK, 2005; ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

A seleção de processos de microencapsulação é feita por propriedades (físicas e químicas) dos materiais de recheio e cobertura e a aplicação desejada do ingrediente alimentício (DESAI; PARK, 2005). O processo de coacervação complexa é bastante indicado quando se objetiva controlar a liberação do agente.

1.3.2.1 Coacervação Complexa

A palavra coacervado deriva do latim "co" (juntos) e "acerv" (um monte) (MENDER; SYKES, 1998). Segundo Menger e Sykes (1998), o químico holandês, Bungenberg de Jong, deve ser considerado o pai da coacervação química (de JONG et al. 1930³; de JONG, 1949⁴ apud MENDER; SYKES, 1998). Ele identificou a

³ de JONG, H. G. B.; KRUYT, H. R. *Kolloid Z.*, 1930.

⁴ de JONG, H. G. B.; KRUYT, H. R. *Colloid Science*, 1949.

relevância dos coacervados na biologia, escrevendo em 1936 uma monografia intitulada "*Les coacervados et Leur Importância en Biologie*". Mas foi Oparin, um bioquímico russo, que popularizou os coacervados; ele propôs que a vida se formou pela primeira vez em gotículas de coacervados (OPARIN et al. 1977⁵ apud MENDER; SYKES, 1998).

A coacervação consiste de uma separação espontânea de fases pela formação de um complexo insolúvel de polímeros, resultado de interações eletrostáticas entre as macromoléculas (JACKSON; LEE, 1991). De acordo com os tipos de polímeros presentes, o processo pode ser definido como coacervação (simples) quando somente um tipo de polímero é envolvido ou coacervação complexa quando dois ou mais tipos de polímeros de cargas iônicas opostas estão presentes (ZUIDAM; SHIMONI, 2010). Na área de microencapsulação, a coacervação complexa é mais utilizada do que a coacervação simples (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

Em solução aquosa, a coacervação complexa ocorre entre dois polímeros de cargas opostas devido a atrações eletrostáticas (KRUIF; WEINBRECK; VRIES, 2004). Por exemplo, complexação entre proteínas e polissacarídeos aniônicos ocorre abaixo do ponto isoelétrico da proteína (TOLSTOGUZOV, 1991).

Proteínas são positivamente carregadas abaixo do seu ponto isoelétrico (PI) e negativamente carregadas acima do PI (McCLEMENTS, 2005). Já os polissacarídeos contendo carboxilas aniônicas, por sua vez, atuam como poliânions e em contato com as proteínas formam complexos eletrostáticos em pHs variando, geralmente, de 2 a 5 (PRATA, 2006), dependendo do tipo de proteína.

Porém, nem toda a mistura de polieletrólitos opostos forma coacervados e nem todo coacervado é microcápsula. Para ocorrer a microencapsulação por coacervação complexa, deve-se garantir que os complexos sejam formados ao redor do ativo que se deseja encapsular (PRATA, 2006).

Vários fatores podem influenciar o processo de coacervação complexa, dentre eles a concentração de polímeros, pH do meio, turbulência do sistema, tamanho das

⁵ OPARIN, A. I.; GLADILIN, K. L.; KIRPOTIN, D. B.; CHERTIBRIM, G. V.; ORLOVSKY, A. F. DOKL. Acad. Nauk., 1977.

gotículas da emulsão, força iônica e temperatura do processo (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

A microencapsulação por coacervação vem sendo utilizada para microencapsulação de componentes alimentícios, como ácido ascórbico (COMUNIAN et al. 2013), oleoresina de páprica (ALVIM, 2005), óleo de soja (ALVIM, 2005), óleo de pimenta de hortelã (DONG et al. 2011), óleo de laranja (JUN-XIA; HAI-YAN; JIAN, 2011), hidrolisado de caseína (MENDANHA et al. 2009), β -caroteno (NAKAGAWA; NAGAO, 2012), extrato de própolis (NORI et al. 2011), aspartame (ROCHA-SELMÍ et al. 2013a), sucralose (ROCHA-SELMÍ et al. 2013b) e licopeno (SILVA et al. 2012).

Uma das limitações da coacervação complexa é a dificuldade para encapsular compostos hidrofílicos, uma vez que esta técnica é mais apropriada para compostos hidrofóbicos como material de recheio. Para encapsular compostos hidrofílicos, é necessário fazer adaptações no método, tais como, incluir a etapa de emulsão dupla no início do processo (MENDANHA et al. 2009).

1.3.2.2 Emulsões

Uma emulsão consiste de no mínimo dois líquidos imiscíveis, com um dos líquidos sendo dispersos como pequenas gotículas no outro. Um sistema que consiste de gotículas de óleo dispersas na fase aquosa é chamado de emulsão óleo em água (O/A), enquanto que um sistema que consiste de gotículas de água dispersas na fase oleosa é chamado de emulsão água em óleo (A/O).

A partir dessas emulsões simples (O/A ou A/O) é possível preparar vários tipos de múltiplas emulsões, tais como O/A/O, A/O/A ou O/A/A (McCLEMENTS et al. 2009). Emulsões múltiplas são sistemas complexos de dispersão de líquidos, conhecidos como “emulsão de emulsões”, no qual as gotículas dispersas em um líquido são dispersas em outro líquido (BENICHO; ASERIN; GARTI, 2004).

Emulsões duplas são conhecidas há mais de três décadas e vêm sendo extensivamente estudadas nos últimos anos (BENICHO; ASERIN; GARTI, 2004; GUZEY; McCLEMENTS, 2006; LAUGEL et al. 2000; McCLEMENTS, 2012; UEDA; MATSUMOTO, 1991). A fase interna pode ser um excelente reservatório para um agente ativo que precisa de proteção contra um meio adverso e pode ter liberação

controlada. Entretanto, o tamanho das gotículas e a instabilidade termodinâmica são uma significativa desvantagem desta tecnologia (BENICHOU; ASERIN; GARTI, 2004). Emulsões múltiplas são altamente susceptíveis a desestabilização durante a estocagem ou quando expostas em ambientes de estresse comumente utilizados em ambientes industriais, tais como forças mecânicas, processamento térmico, congelamento e desidratação (McCLEMENTS, 2012).

A Figura 3 representa esquematicamente gotículas de emulsão dupla do tipo A/O/A.

Figura 3. Gotícula de emulsão dupla A/O/A (adaptado de Benichou, Aserin e Garti, 2004)

O processo de formação de emulsões duplas pode ser visualizado na Figura 4, onde (i) uma emulsão A/O é produzida por homogeneização de água, óleo e um agente emulsificante solúvel em óleo, (ii) uma emulsão A/O/A é então produzida por homogeneização da emulsão A/O com uma solução aquosa contendo um emulsificante solúvel em água.

Figura 4. Produção de emulsões (adaptado de McClements, 2012)

A maioria das emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis que tendem a se desestabilizar com o tempo devido a uma variedade de mecanismos físico-químicos, incluindo cremação, sedimentação, floculação e coalescência (ARAÚJO, 2011). Cremação e sedimentação são formas de separação gravitacional. A cremação descreve o movimento ascendente das gotículas devido o fato de possuírem densidade menor que os fluidos da fase contínua, enquanto a sedimentação descreve o movimento descendente das gotículas, devido o fato de possuírem uma densidade maior. Floculação e coalescência são tipos de agregação de gotículas. A floculação ocorre quando duas ou mais gotículas se juntam para formar um agregado em que as gotículas preservam sua integridade individual, enquanto que a coalescência é o processo em que duas ou mais partículas se juntam para formar uma única gotícula maior (McCLEMENTS, 2005).

O sistema emulsionado deve ser estável até o momento da sua aplicação (ZUIDAM; SHIMONI, 2010). É possível formar emulsões que são cineticamente estáveis por um período razoável de tempo, adicionando substâncias conhecidas como emulsificantes (ARAÚJO, 2011).

1.3.2.2.1 Emulsificantes

Segundo McClements et al. (2009) emulsificantes absorvem gotículas recentemente formadas durante a homogeneização, formando uma camada de proteção que previne a quebra dos agregados. Um sistema emulsificante é formado por um único componente químico ou mistura deles tendo a capacidade de promover a formação da emulsão e estabilizá-la (BENICHOU; ASERIN; GARTI, 2002).

A estabilização das gotículas de uma emulsão pode ser alcançada principalmente de três formas: estabilização eletrostática, estabilização por partículas sólidas e/ou estabilização estérica (NIEUWENHUYZEN; SZUHAJ, 1998).

A estabilização eletrostática utiliza um composto com carga (positiva ou negativa) que geralmente fica adsorvido sobre a superfície das gotículas, conferindo-lhes, portanto, potencial eletrostático (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; GOODWIN; HUGHES, 2008). O emulsificante, com uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica, concentra-se na interface reduzindo a tensão superficial (NIEUWENHUYZEN; SZUHAJ, 1998).

A estabilização por partículas sólidas pode ser na forma de cristais de gordura, partículas inorgânicas ou estabilização por *Pickering*. A estabilização na forma de cristais de gorduras é aplicada em alimentos como manteiga, margarina e sorvete. Os cristais formam uma rede resistente no qual óleo líquido é embebido (NIEUWENHUYZEN; SZUHAJ, 1998).

Na estabilização estérica, emulsificantes não iônicos ou polímeros solúveis cobrem parte da interface e reduzem a tensão interfacial (NIEUWENHUYZEN; SZUHAJ, 1998). A estabilização estérica cria uma barreira mecânica que impede a aproximação entre as partículas (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; GOODWIN; HUGHES, 2008).

A Figura 5 ilustra os principais princípios de estabilização de emulsões.

Estabilização Eletrostática

Figura 5. Representação esquemática dos princípios da estabilização de emulsões (adaptado de Nieuwenhuyzen e Szuhaj, 1998)

Selecionar o emulsificante apropriado para um determinado sistema emulsionado é um dos mais importantes fatores pra determinar a vida de prateleira e as propriedades físico-químicas de uma emulsão (McCLEMENTS et al. 2009). Inúmeras tentativas têm sido feitas para encontrar propriedades e combinações mais adequadas de emulsificantes para reduzir o tamanho das gotículas e melhorar a estabilidade das emulsões duplas (BENICHO; ASERIN; GARTI, 2004).

O polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) é um emulsificante que foi desenvolvido principalmente para a produção de emulsões água em óleo, no setor de panificação. No entanto, seu principal uso é na produção de chocolates, onde, além das propriedades emulsificantes, confere propriedades importantes na modificação da viscosidade, alterando, assim o ponto de fusão do chocolate (WILSON; SMITH 1998). É um éster de glicerol condensado com ácidos graxos de óleo de rícino, cuja fórmula estrutural está ilustrada na Figura 6.

Figura 6. Fórmula estrutural do PGPR

Fonte: Wilson e Smith (1998)

A lecitina é um importante emulsificante natural obtida da gema de ovo e de diversas fontes de óleos vegetais, sendo a lecitina comercial uma mistura de diversos fosfolípidios dissolvidos em óleo (ARAÚJO, 2011).

1.3.3 Material de parede

Os materiais de parede podem ser selecionados de uma ampla variedade de polímeros naturais ou sintéticos, dependendo do material a ser encapsulado e das características desejadas nas microcápsulas (DESAI; PARK, 2005). Quando se objetiva microencapsular ingredientes alimentícios, as opções ficam mais restritas, uma vez que o material de parede selecionado deve ser de grau alimentício.

Para a formação de partículas utilizando biopolímeros (proteínas, polissacarídeos e outros componentes), uma série de fatores deve ser levada em consideração, como por exemplo, a capacidade dos componentes em formarem partículas, requisito funcional para as partículas (por exemplo, tamanho, carga e estabilidade às condições ambientes), status legal, custo, facilidade de utilização, consistência dos ingredientes e operações de processamento (MATALANIS; JONES; McCLEMENTS, 2011).

Além disso, o material de parede ideal deve apresentar boas propriedades reológicas sob altas concentrações, ser de fácil manipulação durante o processo, ter habilidade para dispersar ou emulsificar o material ativo e estabilizar a emulsão produzida, não ser reativo com o material a ser encapsulado durante o processamento ou estocagem, ter habilidade de selar e segurar o material ativo dentro da estrutura da cápsula, liberar completamente o solvente ou outros materiais utilizados durante o processo de encapsulação, proporcionar máxima proteção ao material ativo contra condições adversas, tais como luz, pH, oxigênio e ingredientes reativos, ser solúvel em solventes comumente usados, possuir baixa higroscopicidade (para facilitar a manipulação e evitar aglomeração) e não apresentar sabor desagradável (DESAI; PARK, 2005).

Para muitas aplicações, é importante delinear partículas de biopolímeros de modo que suas composições conduzam às desejadas características físico-químicas e funcionais. Por exemplo, a formação de partículas de biopolímeros para encapsular um aroma, deve ser projetada para romper na boca e liberar as

moléculas do aroma encapsulado. Por outro lado, se foram formadas partículas de biopolímeros para encapsular um componente que deve ser liberado apenas no cólon, por exemplo, então ele deve ser hábil para resistir a ruptura na boca, estômago e intestino delgado, mas ser rompido no cólon (MATALANIS; JONES; McCLEMENTS, 2011).

A interação global entre dois biopolímeros envolve um grande número de forças intermoleculares. Dependendo das condições do ambiente aquoso e da distribuição de diferentes tipos de grupos (cargas, hidrofobicidade, ligação de hidrogênio, etc.), a interação global da relação entre eles pode ser atrativa ou repulsiva (DICKINSON, 1998).

Na interação atrativa (Figura 7), o exemplo mais comum entre diferentes biopolímeros em alimentos é a atração eletrostática que ocorre entre as moléculas com cargas elétricas opostas, resultando em um sistema bifásico, onde uma fase é rica em biopolímeros e a outra é pobre; a fase rica em biopolímeros pode formar um coacervado ou um precipitado, dependendo da força de atração e da natureza dos polímeros envolvidos (MATALANIS; JONES; McCLEMENTS, 2011).

Na interação repulsiva (Figura 7), existe uma forte repulsão entre os dois tipos de biopolímeros, ou seja, existe uma energia livre positiva relativamente alta na mistura (desfavorável). Este tipo de separação frequentemente ocorre quando os dois biopolímeros não possuem carga, ou quando ambos têm cargas similares. Concentrações baixas de biopolímeros formam um sistema de uma fase, enquanto em altas concentrações, duas fases são formadas, com cada fase sendo rica em um tipo de biopolímero (MATALANIS; JONES; McCLEMENTS, 2011).

Figura 7. Possíveis interações em um sistema de biopolímeros (adaptado de Matalanis, Jones e McClements, 2011)

Um amplo número de materiais encapsulantes têm sido analisados para aplicação na microencapsulação por coacervação (gelatina/goma arábica, alginato/polilisina, gelatina/carboximetilcelulose, albumina/goma arábica, etc. (QV; ZENG; JIANG, 2011), mas o mais estudado e bem entendido é o sistema gelatina/goma arábica (DESAI; PARK, 2005; THIES, 2007; WANDREY; BARTKOWIAK; HARDING, 2010).

1.3.3.1 Goma Arábica

Goma arábica ou goma acácia é o mais antigo e mais conhecido exsudato de árvores e tem sido comercializada por mais de 5.000 anos (WHISTLER; BEMILLER, 1993). A goma é uma secreção de árvores de acácia, das quais existem várias espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, sendo Sudão e Nigéria as

principais áreas de produção (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; ISLAM et al. 1997).

A goma arábica é encontrada na natureza misturada com cálcio, magnésio e sal de potássio (ISLAM et al. 1997). É considerada um polissacarídeo complexo aniônico (MATALANIS; JONES; McCLEMENTS, 2011). Por não possuir odor, sabor e cor não afeta as características do sistema o qual será adicionada (WANDREY; BARTKOWIAK; HARDING, 2010).

Trabalho realizado por Randall, Phillips e Williams (1988) demonstrou a presença de proteína na goma arábica, e concluíram que essa fração é responsável pela propriedade emulsificante da goma. Atualmente é bem documentado que a goma arábica possui excelente propriedade emulsificante (BENICHO; ASERIN; GARTI, 2002), sendo utilizada para estabilizar emulsões alimentícias e dispersões. Trata-se da goma de escolha para a emulsificação de óleos cítricos, outros óleos essenciais e imitações de flavorizantes, usados como concentrados em refrigerantes e para emulsões usadas em panificação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Uma propriedade única da goma arábica, comparado às outras gomas alimentícias, é sua alta solubilidade, podendo fazer soluções com concentração de 50%, sendo que acima dessa concentração, as dispersões se assemelham a géis (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Uma comparação da viscosidade da goma arábica com goma xantana (ISLAM et al. 1997) demonstrou que a goma arábica exibe comportamento Newtoniano a altas concentrações (50%) tendo uma viscosidade similar a baixas concentrações de goma xantana (1,5%). Com essas características, alta solubilidade e baixa viscosidade, a goma arábica é extensivamente aplicada em produtos de confeitaria (ISLAM et al. 1997).

1.3.3.2 Gelatina

Gelatina é uma proteína derivada do colágeno, o qual está presente no tecido animal (WANDREY; BARTKOWIAK; HARDING, 2010). É um polímero natural de alto peso molecular, com propriedades surfactantes (BENICHO; ASERIN; GARTI, 2002), e alta capacidade de formação de espuma (DICKINSON, 1998).

Gelatinas mamíferas dissolvem em água quente formando soluções viscosas, as quais gelificam em temperaturas abaixo de 35-40 °C, sendo que as gelatinas de peixe tem temperatura de gelificação mais baixa (em torno de 5 °C) (WANDREY; BARTKOWIAK; HARDING, 2010).

Gelatinas formadas por hidrólise ácida do colágeno são classificadas como Tipo A ou gelatina precursor ácido; enquanto hidrólise alcalina resulta no Tipo B ou gelatina precursor alcalina (THIES, 2007). Ambas tem caráter anfótero, ou seja, pode ter carga positiva ou negativa, dependendo do meio (WANDREY; BARTKOWIAK; HARDING, 2010). A gelatina tipo A apresenta ponto isoelétrico em torno de 8-9 e a gelatina tipo B de 4-5 (MATALANIS; JONES; McCLEMENTS, 2011; THIES, 2007). Embora os dois tipos de gelatina produzam coacervados complexos adequados para a formação de microcápsulas, a gelatina Tipo A, historicamente tem sido mais usada (THIES, 2007).

1.3.4 Microencapsulação de Xilitol

De acordo com Wolf et al. (2008), agentes refrescantes podem ser modificados fisicamente, por meio de revestimento e secagem. Uma vez modificados, estas partículas melhoram a estabilidade do sabor e/ou produzem uma liberação controlada do agente refrescante. Neste contexto, estes autores depositaram uma patente onde agentes refrescantes como xilitol, foram encapsulados pelos processos *spray drying*, extrusão e leiteo fluidizado e a funcionalidade dessas microcápsulas foi avaliada com sua aplicação em goma de mascar. O resultado foi uma sinergia entre os agentes fisiológicos de refrescância e sabor, o que proporcionou um alto impacto de sabor com uma menor concentração de agentes. Além disso, a goma de mascar proporcionou a sensação de refrescância por um período mais longo.

Um estudo sobre microencapsulação de xilitol foi desenvolvido na França (SALAÜN et al. 2009; SALAÜN et al. 2011a; SALAÜN et al. 2011b) utilizando-se a técnica de polimerização interfacial. Neste estudo foram realizados inúmeros ensaios de caracterização das microcápsulas, mas não foi estudada a aplicação das microcápsulas em alimentos. Apesar da importância do xilitol para a indústria de alimentos, são raros os trabalhos envolvendo este componente nesta área. Não foi

encontrado nenhum trabalho publicado, cujo objetivo tenha sido a aplicação de microcápsulas de xilitol em alimentos.

1.3.5 Microencapsulação de mentol

A encapsulação de aromas é uma das mais importantes aplicações na indústria de alimentos (BARANAUSKIENE et al. 2007), sendo principalmente relevante devido à alta volatilidade da maioria deles.

O processo de microencapsulação pode ser usado para aumentar a estabilidade do mentol, seja na forma pura, seja presente em óleos essenciais, uma vez que este método tem a capacidade de aprisionar o ativo dentro de uma camada protetora. Além disso, o processo pode garantir liberação controlada, prolongando a sensação de refrescância fornecida por este composto.

Foram encontrados alguns trabalhos na literatura sobre a microencapsulação de mentol (*L*-mentol), porém nenhum deles utilizou o método de coacervação complexa. Alguns autores utilizaram o método de complexação interfacial, utilizando amido e secagem por liofilização (ADES et al. 2012) ou ciclodextrinas e secagem em *spray dryer* (LIU et al. 2000). Outros utilizaram o método por *spray drying* utilizando como carreadores goma arábica e amido modificado (SOOTTITANTAWAT et al. 2005) ou dextrina e goma arábica (MORTENSON; REINECCIUS, 2008).

O número de trabalhos publicados sobre microencapsulação de mentol são bastante limitados. A maioria deles encapsula o óleo essencial de menta. Dentre eles podemos citar trabalho realizado por Dong et al. (2011), que microencapsularam óleo de menta por coacervação complexa utilizando goma arábica e gelatina e segundo os autores as microcápsulas coacervadas apresentaram excelente estabilidade em água fria.

Outros métodos utilizados no processo de microencapsulação de óleo essencial de menta encontrados na literatura foram *spray drying* (BARANAUSKIENE et al. 2007; SARKAR et al. 2012; SARKAR et al. 2013); complexação interfacial (BEYKI et al. 2014; CIOBANU et al. 2013) e microemulsões (ZHONG et al. 2009).

1.4 Análise Sensorial

A análise sensorial é uma ciência que utiliza os sentidos humanos (visão, olfato, tato, paladar audição), para avaliar as características ou atributos de um produto. É uma ferramenta bastante utilizada pelas indústrias de alimentos, bebidas, cosméticos, perfumes, produtos de limpeza, automóveis e outros.

Um teste sensorial bastante utilizado quando se deseja selecionar e monitorar julgadores quanto à habilidade em discriminar certas diferenças sensoriais é o teste triangular. Ele é aplicável quando se quer estabelecer se existe ou não uma diferença sensorial entre dois produtos (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

Para analisar o processo de seleção dos provadores, uma opção é a análise de Wald. A vantagem do uso desta técnica reside na economia de tempo e de material, já que os candidatos com maior potencial podem ser selecionados com um menor número de testes. O método consiste em estipular os valores de α e β (geralmente 5%) e das probabilidades p_0 (máxima habilidade inaceitável do candidato) e p_1 (mínima habilidade aceitável) e traçar as curvas-limites ou tabelas de aceitação e rejeição do candidato (FERREIRA, 2000).

Métodos sensoriais convencionais, tais como a análise descritiva quantitativa consideram as propriedades sensoriais como um fenômeno estático. No entanto, é bem conhecido que a percepção de aroma, sabor e textura dos alimentos é um processo dinâmico, onde cada passo deve ser considerado para compreendê-lo totalmente (CLIFF; HEYMANN, 1993; GALMARINI et al. 2014). Diante disso, muitas técnicas sensoriais vêm sendo desenvolvidas para tentar descrever as sensações geradas pelos alimentos, levando em consideração o seu aspecto dinâmico.

Um exemplo desta técnica é o método sensorial conhecido como Tempo-Intensidade (TI), que foi desenvolvido com o objetivo de registrar a mudança de intensidade percebida de um atributo com o decorrer do tempo (DELARUE; LOESCHER, 2004). De acordo com Cliff e Heymann (1993) a avaliação sensorial de TI é uma extensão do método de escalonamento clássico fornecendo informação temporal sobre as sensações percebidas.

A metodologia de Tempo-Intensidade (TI) tem sido usada por mais de meio século em estudos sensoriais. Sjiistriim (1954)⁶ apud Cliff e Heymann (1993) foi o primeiro a quantificar a resposta temporal, analisando o amargor da cerveja em intervalos de um segundo, usando um cartão de pontuação e um relógio para indicar o tempo, traçando assim as curvas de TI em um papel milimetrado. Foi apenas em 1984, 20 anos depois, que Takagaki e Asakura⁷ apud Cliff e Heymann (1993) publicaram pela primeira vez o desenvolvimento de um sistema informatizado de TI.

Desde então, inúmeros estudos tem sido publicados utilizando a análise de TI para avaliar diferentes produtos (CLIFF; HEYMANN, 1993). Goma de mascar é um bom exemplo de um produto onde alterações na intensidade do sabor são percebidas ao longo do tempo. Diversos trabalhos utilizam a técnica de TI na avaliação de gomas de mascar (DAVIDSON et al. 1999; DUIZER; BLOOM; FINDLAY, 1996; GALMARINI et al. 2014; GUINARD et al. 1997; HAAHR et al. 2004; McGOWAN; LEE, 2006; NEYRAUD; PRINZ; DRANSFIELD, 2003; OVEJERO-LÓPEZ; BRO; BREDIE, 2005).

1.5 Gomas de Mascar

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2005) goma de mascar é o produto constituído por uma base gomosa, elástica, mastigável e não deglutível, podendo conter outros ingredientes, desde que não descaracterizem o produto.

Os principais componentes da goma de mascar são goma base, glicose, aromas, cor e glicerina. No caso de gomas livres de açúcar, a glicose é substituída por edulcorantes, como sorbitol, manitol, xilitol, entre outros (LAKKIS, 2007b). Além desses ingredientes, é comum adicionar umectantes na goma de mascar, a fim de reduzir a perda de água; como glicerol e sorbitol (EDWARDS, 2000). De acordo com Rassing (1994) agentes como glicerol e lecitina agem como emulsificantes e promovem a absorção da saliva na goma de mascar durante a mastigação

⁶ SJIISTRIIM, L. B. The descriptive analysis of flavor. In: PERYAN, D.; PILGRIM, F.; PETERSON, M. **Food Acceptance Testing Methodology**. Chicago: Quartermaster Food & Container Institute, p.25-61, 1954.

⁷ TAKAGAKI, M.; ASAKURA, Y. Taste time-intensity measurements using a new computerized system. In: K. UEDA. **Proceedings of the 18th Japanese Symposium on Taste and Smell**. JASTS, p.105-108, 1984.

A goma base é tecnicamente uma borracha, e os ingredientes originais são substâncias naturais, como por exemplo, resina de árvore (EDWARDS, 2000). Os principais polímeros sintéticos utilizados na goma base são ésteres de vinilo, em especial, poli (acetato de vinilo), além de borracha de estireno-butadieno, copolímero de poli-isobutileno e isobutileno-isopreno (EDWARDS, 2000).

Tanto os ingredientes quanto o processo de fabricação da goma de mascar é muito particular de cada indústria, mas as principais etapas de fabricação são: (i) a goma base é colocada em um misturador com lâminas e fundida a 50-70 °C; (ii) os outros ingredientes são adicionados, sendo que os agentes aromatizantes são acrescentados apenas no final do processo; (iii) a massa é, então, enviada para extrusoras, onde passa de uma massa volumosa para tiras finas, as quais são cortadas, resfriadas e embaladas (LAKKIS, 2007b; RASSING, 1994).

Sabor de longa duração é o principal parâmetro de qualidade em gomas de mascar (FISKER; NISSEN, 2006). Diante disso, trabalhos têm sido publicados visando analisar a intensidade do sabor ao longo do tempo neste produto. Duizer, Bloom e Findlay (1996) analisaram dois parâmetros ao mesmo tempo em gomas de mascar, doçura e sabor de menta, utilizando a metodologia de tempo-intensidade. Fisker e Nissen (2006) analisaram o quanto a doçura do xilitol, manitol e sorbitol realçam o aroma de frutas artificiais aplicadas em goma de mascar. Os autores mediram a liberação dos compostos aromáticos das gomas de mascar durante a mastigação utilizando APCI-MS (espectrometria de massa sequencial com Ionização Química a Pressão Atmosférica).

Comparado com outros artigos de confeitaria em geral, gomas de mascar propicia o mais adequado ambiente para ingredientes encapsulados ou não, devido as suaves condições de preparo, principalmente ausência de estresse pelo calor ou excesso de umidade (LAKKIS, 2007b). Além disso, as propriedades físico-químicas da goma podem ser usadas efetivamente para retardar/prolongar a liberação do ativo (LAKKIS, 2007b). Na área de fármacos, a goma de mascar vem recebendo cada vez mais atenção como um eficiente sistema de veiculação de drogas (JÓJÁRT et al. 2013).

Porém, na área de alimentos, não foi encontrado nenhum artigo publicado sobre aplicação de microcápsulas em gomas de mascar, apenas uma tese de

doutorado onde aplicou-se microcápsulas de edulcorantes neste produto (ROCHA-SELMÍ, 2014).

Por outro lado, inúmeras patentes têm sido depositadas demonstrando significativas vantagens na aplicação de microcápsulas em gomas de mascar. Dentre elas, destacam-se a aplicação em gomas de mascar de microcápsulas contendo açúcar (YASUHIKO, 1992), substâncias nutricionais (MAGGI, 1994), agentes refrescantes (WOLF et al. 2008) e aspartame (BUNCZEK; URNEZIS, 1993). Outros autores patentearam o método de produção das microcápsulas para aplicação em gomas de mascar (BELL; CARROLL, 1994; BRODERICK; RECORD, 1992; JING, 2013; SONG, 1990).

REFERÊNCIAS

- ADES, H.; KESSELMAN, E.; UNGAR, Y.; SHIMONI, E. Complexation with starch for encapsulation and controlled release of menthone and menthol. **LWT - Food Science and Technology**, v.45, n.2, p.277–288, 2012.
- ALVES, L. A.; VITOLO, M.; FELIPE, M. D. G. A.; SILVA, J. B. Xylose reductase and xylitol dehydrogenase activities of *Candida guilliermondii* as a function of different treatments of sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate employing experimental design. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.98-100, p.403–413, 2002.
- ALVIM, I. D. **Produção e caracterização de micropartículas obtidas por spray drying e coacervação complexa e seu uso para alimentação de larvas de peixes**. 2005. 243 f. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- ANSARI, M.A.; VASUDEVAN, P.; TANDON, M.; RAZDAN, R. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. **Bioresource Technology**, v.71, n.3, p.267–271, 2000.
- ARAÚJO, J. A. **Química de Alimentos**. 5 ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. 601p.
- ASARE-ADDU, K.; CONWAY, B. R.; HAJAMOHAIdeen, M. J.; KAIALLY, W.; NOKHODCHI, A.; LARHRIB, H. Aqueous and hydro-alcoholic media effects on polyols. **Colloids and Surfaces B, Biointerfaces**, v.111, p.24–29, 2013.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimento e Nutrição**, v.16, n.1, p.89–97, 2005.
- BARANAUSKIENE, R.; BYLAITE, E.; ZUKAUSKAITE, J.; VENSKUTONIS, R. P. Flavor retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in

modified starches during encapsulation and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.8, p.3027–3036, 2007.

BELL, J. W.; CARROLL, T. J. **Chewing gum or confection containing flavorant adsorbed on silica**. PI 5338809, 1994.

BENICHO, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.108-109, p.29–41, 2004.

BENICHO, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. Protein-Polysaccharide Interactions for Stabilization of Food Emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v.23, n.1-3, p.93–123, 2002.

BEYKI, M.; ZHAVEH, S.; KHALILI, S. T.; RAHMANI-CHERATI, T.; ABOLLAHI, A.; BAYAT, M.; TABATABAEI, M.; MOHSENI-FAR, A. Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan–cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. **Industrial Crops and Products**, v.54, p.310–319, 2014.

BHATIA, S. P.; MCGINTY, D.; LETIZIA, C. S.; API, A. M. Fragrance material review on menthol. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.S209–214, 2008.

BIÇER, A.; SARI, A. Synthesis and thermal energy storage properties of xylitol pentastearate and xylitol pentapalmitate as novel solid–liquid PCMs. **Solar Energy Materials and Solar Cells**, v.102, p.125–130, 2012.

BRANCO, R. F.; SANTOS, J. C.; SILVA, S. S. A novel use for sugarcane bagasse hemicellulosic fraction: Xylitol enzymatic production. **Biomass and Bioenergy**, v.35, n.7, p.3241–3246, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico para balas, bombons e gomas de mascar. Resolução RDC nº265, de 22 de setembro de 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos. Resolução nº 18, de 24 de março de 2008.

BRASIL. Ministério Agricultura Pecuária Abastecimento. Especificações para padronização, classificação e comercialização interna de Óleo de Menta. Portaria nº271, de 26 de abril de 1976.

BRODERICK, K. B.; RECORD, D. W. **Gum composition containing dispersed porous beads containing active chewing gum ingredients and method**. PI 5139787, 1992.

BUNCZEK, M. T.; URNEZIS, P. W. **Aspartame stability in chewing gum using an acid gelatin system**. PI 5192561, 1993.

CARVALHO, W.; SANTOS, J. C.; CANILHA, L.; SILVA, S. S.; PEREGO, P.; CONVERTI, A. Xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate. **Biochemical Engineering Journal**, v.25, n.1, p.25–31, 2005.

CIOBANU, A; MALLARD, I.; LANDY, D.; BRABIE, G.; NISTOR, D.; FOURMENTIN, S. Retention of aroma compounds from *Mentha piperita* essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers. **Food Chemistry**, v.138, n.1, p.291–297, 2013.

CLIFF, M.; HEYMANN, H. Development and use of time-intensity methodology for sensory evaluation: A review. **Food Research International**, v.26, n.5, p.375–385, 1993.

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.

CROTEAU, R. B.; DAVIS, E. M.; RINGER, K. L.; WILDUNG, M. R. (-)-Menthol biosynthesis and molecular genetics. **Die Naturwissenschaften**, v.92, n.12, p.562–577, 2005.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

DAVIDSON, J. M.; LINFORTH, R. S.; HOLLOWOOD, T. A; TAYLOR, A J. Effect of sucrose on the perceived flavor intensity of chewing gum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.10, p.4336–4340, 1999.

DEBBAB, A.; MOSADDAK, B.; ALY, A. H.; HAKIKI, A.; MOSADDAK, M. Chemical characterization and toxicological evaluation of the essential oil of *mentha piperita* L. growing in Morocco. **Scientific Study and Research**, v.3, p.281–288, 2007.

DELARUE, J.; LOESCHER, E. Dynamics of food preferences: a case study with chewing gums. **Food Quality and Preference**, v.15, n.7-8, 771–779, 2004.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. **Drying Technology: An International Journal**, v.23, p.1361–1394, 2005.

DICKINSON, E. Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. **Trends in Food Science & Technology**, v.9, p.347–354, 1998.

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, n.3, p.455–460, 2011.

DUIZER, L. M.; BLOOM, K.; FINDLAY, C. J. Dual-attribute Time-intensity measurement of sweetness and peppermint perception of chewing gum. **Journal of Food Science**, v.61, n.3, p.636–638, 1996.

EDWARDS, W. P. **The Science of Sugar Confectionery**. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2000. 166p.

FARIA, E. V. D.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas, SP: ITAL/LAFISE, 2002.

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

FELIPE, M. G. A.; VITOLO, M.; MANCHILHA, I. M. Xylitol formation by *Candida guilliermondii* grown in a cane bagasse hemicellulosic hydrolysate: Effect of aeration and inoculum adaptation. **Acta Biotechnologica**, v.16, n.1, p.73–79, 1996.

FERREIRA, V. L. P. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas, SP: SBCTA, 2000. 127p.

FISKER, H. O.; NISSEN, V. Effect of gum base and bulk sweetener on release of specific compounds from fruit flavoured chewing gum. **Flavour Science: Recent Advances and Trends**, p.429–432, 2006.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. Editora da USP: São Paulo, 2003. 732p.

GALMARINI, M. V.; SYMONEAUX, R.; VISALLI, M.; ZAMORA, M. C.; SCHLICH, P. Static vs. dynamic liking in chewing gum: A new approach using a background task and a natural setting. **Food Quality and Preference**, p.1–6, 2014.

GAZZANI, G.; DAGLIA, M.; PAPETTI, A. Food components with anticaries activity. **Current Opinion in Biotechnology**, v.23, n.2, p.153–9, 2012.

GLIEMMO, M. F.; CALVIÑO, A. M.; TAMASI, O.; GERSCHENSON, L. N.; CAMPOS, C. A. Interactions between aspartame, glucose and xylitol in aqueous systems containing potassium sorbate. **LWT - Food Science and Technology**, v.41, n.4, p.611–619, 2008.

GOODWIN, J. W.; HUGHES, R. W. **Rheology for Chemists**. RSCPublish, 2008. 264p.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v.15, n.7-8, p.330–347, 2004.

GUINARD, J. X.; ZOUMAS-MORSE, C.; WALCHAK, C.; SIMPSON, H. Relation between saliva flow and flavor release from chewing gum. **Physiology & Behavior**, v.61, n.4, p.591–6, 1997.

GUZEY, D.; McCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.128-130, p.227–248, 2006.

HAAHR, A. M.; BARDOW, A.; THOMSEN, C. E.; JENSEN, S. B.; NAUNTOFTE, B.; BAKKE, M.; ADLER-NISSEN, J.; BREDIE, W. L. P. Release of peppermint flavour compounds from chewing gum: effect of oral functions. **Physiology & Behavior**, v.82, n.2-3, p.531–540, 2004.

HOPP, R.; LAWRENCE, B. M. Natural and Synthetic Menthol. In: **Mint the Genus Mentha**. Taylor & Francis Group, LLC, 2006. Cap.10, p.371-395.

IKEUCHI, T.; AZUMA, M.; KATO, J.; OOSHIMA, H. Screening of microorganisms for xylitol production and fermentation behavior in high concentrations of xylose. **Biomass and Bioenergy**, v.16, n.5, p.333–339, 1999.

IŞCAN, G.; KIRIMER, N.; KÜRKÇÜOĞLU, M.; BAŞER, K. H. C.; DEMIRCI, F. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.14, p.3943–3946, 2002.

ISLAM, A. M.; PHILLIPS, G. O.; SLJIVO, A.; SNOWDEN, M. J.; WILLIAMS, P. A. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v.11, n.4, p.493–505, 1997.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel Wissenschaft Und Technologie**, v.24, p.289–297, 1991.

JING, X. **Chewing gum with capsules**. PI CN202842261, 2013.

JÓJÁRT, I.; KELEMEN, A.; KÁSA, P., & PINTYE-HÓDI, K. Tracking of the post-compressional behaviour of chewing gum tablets. **Composites: Part B**, v.49, p.1–5, 2013.

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.

KAMATOU, G. P. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M.; LAWRENCE, B. M. Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. **Phytochemistry**, v.96, p.15–25, 2013.

KRUIF, C. G.; WEINBRECK, F.; VRIES, R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.9, n.5, p.340–349, 2004.

LAKKIS, J. M. Introduction. In: LAKKIS, J. M. **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**. Blackwell Publishing. Cap.1, p.1-11, 2007a.

LAKKIS, J. M. Confectionary products as delivery systems for flavors, health, and oral-care actives. In: LAKKIS, J. M. **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**. Blackwell Publishing. Cap.8, p.171-200, 2007b.

LAUGEL, C.; RAFIDISON, P.; POTARD, G.; AGUADISCH, L.; BAILLET, A. Modulated release of triterpenic compounds from a O/W/O multiple emulsion formulated with dimethicones: infrared spectrophotometric and differential calorimetric approaches. **Journal of Controlled Release**, v.63, n.1-2, p.7–17, 2000.

LIU, X.D.; FURUTA, T.; YOSHII, H.; LINKO, P.; COUMANS, W. J. Cyclodextrin encapsulation to prevent the loss of l-menthol and its retention during drying. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.64, n.8, p.1608–1613, 2000.

LV, J.; HUANG, H.; YU, L.; WHENT, M.; NIU, Y.; SHI, H.; WANG, T.T.W.; LUTHRIA, D.; CHARLES, D.; YU, L. L. Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. **Food Chemistry**, v.132, n.3, p.1442–1450, 2012.

MAGGI, G. C. **Chewing gum with a varying effect in taste and time**. PI 580240, 1994.

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.

MATALANIS, A.; JONES, O. G.; McCLEMENTS, D. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.8, p.1865–1880, 2011.

McCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions**. Washington: CRC Press, 2005. 609p.

McCLEMENTS, D. J. Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.17, n.5, p.235–245, 2012.

McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; PARK, Y.; WEISS, J. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.49, p.577–606, 2009.

McGOWAN, B. A.; LEE, S.Y. Comparison of methods to analyze time–intensity curves in a corn zein chewing gum study. **Food Quality and Preference**, v.17, n.3-4, p.296–306, 2006.

MENDANHA, D. V.; MOLINA ORTIZ, S. E.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; MAURI, A.; MONTERREY-QUINTERO, E. S.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. **Food Research International**, v.42, n.8, p.1099–1104, 2009.

MENGER, F. M.; SYKES, B. M. Anatomy of a Coacervate. **Langmuir**, v.14, p.4131–4137, 1998.

MORTENSON, M. A.; REINECCIUS, G. A. Encapsulation and release of menthol . Part 1: the influence of OSAn modification of carriers on the encapsulation of L - menthol by spray drying. **Flavour and Fragrance Journal**, v.23, p.392–397, 2008.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xilitol : Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas**, v.38, p.401–413, 2002.

NAKAGAWA, K.; NAGAO, H. Microencapsulation of oil droplets using freezing-induced gelatin–acacia complex coacervation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.411, p.129–139, 2012.

NEYRAUD, E.; PRINZ, J.; DRANSFIELD, E. NaCl and sugar release, salivation and taste during mastication of salted chewing gum. **Physiology & Behavior**, v.79, n.4-5, p.731–737, 2003.

NIEUWENHUYZEN, W. V.; SZUHAJ, B. F. Effects of lecithins and proteins on the stability of emulsions. **Fett/Lipid**, v.100, n.7, p.282–291, 1998.

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.

ONWULATA, C. I. Encapsulation of new active ingredients. **Annual Review of Food Science and Technology**, v.3, p.183–202, 2012.

OVEJERO-LÓPEZ, I.; BRO, R.; BREDIE, W. L. P. Univariate and multivariate modelling of flavour release in chewing gum using time-intensity: a comparison of data analytical methods. **Food Quality and Preference**, v.16, n.4, p.327–343, 2005.

PAIVA, J.E. **Produção de xilitol a partir do bagaço de cana-de-açúcar**. 2000. 209f. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

PARAJÓ, J. C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J. M. Biotechnological Production of Xylitol. Part 1: Interest of Xylitol and Fundamentals of its biosynthesis. **Bioresource Technology**, v.65, p.191–201, 1998.

PHATAK, S. V.; HEBLE, M. R. Organogenesis and terpenoid synthesis in *Mentha arvensis*. **Fitoterapia**, v.73, n.1, p.32–9, 2002.

PRATA, A. S. **Estudo dos parâmetros físico-químicos envolvidos na formação de microcápsulas produzidas por coacervação complexa**. 2006. 242 f. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

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.

RAMBO, M. K. D. **Aproveitamento da casca de arroz para produção de xilitol e sílica xerogel**. 2009. 116 f. Dissertação (mestrado). Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

RANDALL, R. C.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v.2, n.2, p.131–140, 1988.

RAO, B. R. R. Biomass and essential oil yields of cornmint (*Mentha arvensis* L. f. *piperascens* Malinvaud ex Holmes) planted in different months in semi-arid tropical climate. **Industrial Crops and Products**, v.10, p.107–113, 1999.

RAO, R. S.; JYOTHI, C. P.; PRAKASHAM, R. S.; SARMA, P. N.; RAO, L. V. Xylitol production from corn fiber and sugarcane bagasse hydrolysates by *Candida tropicalis*. **Bioresource Technology**, v.97, n.15, p.1974–8, 2006.

RASSING, M. R. Chewing gum as a drug delivery system. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.13, p.89–121, 1994.

RIahi, L.; ELFERCHICHI, M.; GHAZGHAZI, H.; JEBALI, J.; ZIADI, S.; AOUADHI, C.; CHOGRANI, H.; ZAOUALI, Y.; ZOGHLAMI, N.; MLIKI, A. Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. **Industrial Crops and Products**, v.49, p.883–889, 2013.

ROCHA-SELMi, G. A, BOZZA, F. T., THOMAZINI, M., BOLINI, H. M. A, & FÁVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. **Food chemistry**, v.139, n.1-4, 72–8, 2013a.

ROCHA-SELMi, G. A., THEODORO, A. C., THOMAZINI, M., BOLINI, H. M. A., & FAVARO-TRINDADE, C. S. Double emulsion stage prior to complex coacervation process for microencapsulation of sweetener sucralose. **Journal of Food Engineering**, v.119, n.1, p.28–32, 2013b.

ROCHA-SELMi, G. A. **Desenvolvimento de microcápsulas de edulcorantes produzidas por emulsão dupla seguida de coacervação complexa e estudo de sua funcionalidade em gomas de mascar**. 2014. 111 f. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

SALAÜN, F.; BEDEK, G.; DEVAUX, E.; DUPONT, D.; DERANTON, D. Investigation of Water Absorption and Diffusion in Microparticles Containing Xylitol to Provide a Cooling Effect by Thermal Analysis. **International Journal of Thermophysics**, v.30, n.4, p.1242–1256, 2009.

SALAÜN, F.; BEDEK, G.; DEVAUX, E.; DUPONT, D. Influence of the washings on the thermal properties of polyurea-urethane microcapsules containing xylitol to provide a cooling effect. **Materials Letters**, v.65, n.2, p.381–384, 2011a.

SALAÜN, F.; BEDEK, G.; DEVAUX, E.; DUPONT, D.; GENGEMBRE, L. Microencapsulation of a cooling agent by interfacial polymerization: Influence of the parameters of encapsulation on poly(urethane–urea) microparticles characteristics. **Journal of Membrane Science**, v.370, n.1-2, p.23–33, 2011b.

SAMARASEKERA, R.; WEERASINGHE, I. S.; HEMALAL, K. D. P. Insecticidal activity of menthol derivatives against mosquitoes. **Pests Management Science**, v.64, p.290–295, 2008.

SANGUANSRI, P.; AUGUSTIN, M. A. Nanoscale materials development – a food industry perspective. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, n.10, p.547–556, 2006.

SANTOS, D. T.; SARROUH, B. F.; RIVALDI, J. D.; CONVERTI, A.; SILVA, S. S. Use of sugarcane bagasse as biomaterial for cell immobilization for xylitol production. **Journal of Food Engineering**, v.86, n.4, p.542–548, 2008.

SARKAR, S.; GUPTA, S.; VARIYAR, P. S.; SHARMA, A.; SINGHAL, R. S. Irradiation depolymerized guar gum as partial replacement of gum Arabic for microencapsulation of mint oil. **Carbohydrate Polymers**, v.90, n.4, p.1685–94, 2012.

SARKAR, S.; GUPTA, S.; VARIYAR, P. S.; SHARMA, A.; SINGHAL, R. S. Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolyzate and gum Arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. **Carbohydrate Polymers**, v.95, n.1, p.177–82, 2013.

SCHIFFMAN, S. S.; GATLIN, C. A. Sweeteners : State of Knowledge Review. **Neuroscience and Biobehavioral Review**, v.17, p.313–345, 1993.

SILVA, D. F.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ROCHA, G. A.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of Lycopene By Gelatin-Pectin Complex Coacervation. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.36, n.2, p.185–190, 2012.

SONG, J. H. **Gradual release structures for chewing gum**. PI 4978537, 1990.

SOOTTITANTAWAT, A.; TAKAYAMA, K.; OKAMURA, K.; MURANAKA, D.; YOSHII, H.; FURUTA, T.; OHKAWARA, M.; LINKO, P. Microencapsulation of l-menthol by spray drying and its release characteristics. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.6, n.2, p.163–170, 2005.

TAMANINI, C.; CELIA, M.; HAULY, D. O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Ciências Agrárias**, n.4, p.315–330, 2004.

THIES, C. Microencapsulation of flavors by complex coacervation. In: LAKKIS, J. M. **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**. Blackwell Publishing, 2007. Cap.7, p.149-170.

TOLSTOGUZOV, V. B. Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. **Food Hydrocolloids**, v.4, n.6, p.429–468, 1991.

UEDA, K.; MATSUMOTO, S. Effect of sugars on the physicochemical properties of W/O/W emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.147, n.2, p.333–340, 1991.

WALTHER, T.; HENSIRISAK, P.; AGBLEVOR, F. A. The influence of aeration and hemicellulosic sugars on xylitol production by *Candida tropicalis*. **Bioresource Technology**, v.76, n.3, p.213–20, 2001.

WANDREY, C.; BARTKOWIAK, A.; HARDING, S. E. Materials for Encapsulation. In: ZUIDAM, N. J.; NEDOVIC, V. A. **Encapsulation Technologies for active food ingredients and food processing**. NY, EUA: Springer, 2010. Cap.3, p.31-100.

WATANABE, C. H.; NOSSE, T. M.; GARCIA, C. A.; POVH, N. P. Extração do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.4, p.76–86, 2006.

WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N. **Industrial Gums**. 3 ed. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto: Academic Press, 1993.

WILSON, R.; SMITH, M. Human studies on polyglycerol polyricinoleate (PGPR). **Food and Chemical Toxicology**, v.36, p.743–5, 1998.

WOLF, F. R.; MCGREW, G. N.; HOOK, J. S.; RICHEY, L. C.; PATEL, M. M.; GREENBERG, M. J.; TYIRPIN, H.T.; NELSON, K. T. **Chewing Gum Containing Physiological Cooling Agents**. PI 20080199565, 2008.

YASUHIKO, S. **Microcapsules containing sugar coated chewing gum**. PI 4304848, 1992.

ZHONG, F.; YU, M.; LUO, C.; SHOEMAKER, C. F.; LI, Y.; XIA, S.; MA, J. Formation and characterisation of mint oil/S and CS/water microemulsions. **Food Chemistry**, v.115, n.2, p.539–544, 2009.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: ZUIDAM, N. J.; NEDOVIC, V. A. **Encapsulation Technologies for active food ingredients and food processing**. NY, EUA: Springer, 2010. 2010. Cap.2, p.3-30.

CAPÍTULO 2. Estudo das emulsões simples (A/O) e duplas (A/O/A) de xilitol

RESUMO

O objetivo do trabalho foi definir os melhores parâmetros de formação das emulsões simples e duplas para utilização no processo de microencapsulação do xilitol por coacervação complexa. A emulsão simples foi preparada com diferentes óleos (soja e milho) e emulsificantes (PGPR e lecitina de soja) e analisadas quanto à sua estabilidade. Diferentes velocidades para propiciar a homogeneização por cisalhamento foram utilizadas no preparo da emulsão simples (4.000, 8.000 e 12.000 rpm) e as emulsões foram analisadas em relação à morfologia, comportamento reológico e tamanho das gotículas. As emulsões duplas foram preparadas com diferentes concentrações da emulsão simples (50, 100 e 150%) e soluções de gelatina (2,5; 5,0 e 7,5%) e analisadas em relação ao tamanho das gotículas, morfologia e estabilidade. Óleo de milho, emulsificante PGPR e velocidade de homogeneização de 12.000 rpm foram selecionados para preparação da emulsão simples. As emulsões duplas apresentaram tamanhos de gotículas menores que 70 μm , sendo que o aumento na concentração de gelatina produziu as menores gotículas. Confirmou-se a formação da emulsão dupla por meio da microscopia ótica.

Palavras-chave: reologia, emulsificantes, homogeneização

2.1 INTRODUÇÃO

Uma emulsão consiste de no mínimo dois líquidos imiscíveis, com um dos líquidos sendo disperso como pequenas gotículas no outro. Um sistema que consiste de gotículas de óleo dispersas na fase aquosa é chamado de emulsão óleo em água (O/A), enquanto que um sistema que consiste de gotículas de água dispersas na fase oleosa é chamado de emulsão água em óleo (A/O).

A partir dessas emulsões simples (O/A ou A/O) é possível preparar vários tipos de múltiplas emulsões, tais como O/A/O, A/O/A ou O/A/A (McCLEMENTS et al. 2009). Emulsões múltiplas são sistemas de dispersão de líquidos complexos conhecidos como “emulsão de emulsões”, no qual as gotículas dispersas em um líquido são dispersas em outro líquido (BENICHO; ASERIN; GARTI, 2004).

Selecionar o emulsificante apropriado para um determinado sistema emulsionado é um dos mais importantes fatores para determinar a vida de prateleira e as propriedades físico-químicas de uma emulsão (McCLEMENTS et al. 2009). Inúmeras tentativas têm sido feitas para encontrar propriedades e combinações mais adequadas de emulsificantes para reduzir o tamanho das gotículas e melhorar a estabilidade das emulsões duplas (BENICHO; ASERIN; GARTI, 2004).

De acordo com McClements (2012), o tamanho das gotículas em emulsões pode ser controlado variando o tipo de emulsificante, sua concentração e as condições de homogeneização (por exemplo, intensidade e duração).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi definir as formulações e parâmetros ideais de preparo das emulsões simples e duplas de xilitol. Esta etapa preliminar do trabalho foi de grande importância para a etapa posterior do projeto, onde se microencapsulou xilitol por coacervação complexa.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral:

Estudar a produção de emulsões simples e duplas que serão utilizadas no processo de microencapsulação de xilitol por coacervação complexa.

2.2.2 Objetivos específicos:

- Definir a fase oleosa e o emulsificante ideal para preparo da emulsão simples de xilitol;
- Definir os principais parâmetros para produção da emulsão simples, como a velocidade de homogeneização por cisalhamento;
- Caracterizar a emulsão simples em relação à sua morfologia, comportamento reológico, tamanho de gotículas e estabilidade;
- Caracterizar a emulsão dupla em relação à sua morfologia, tamanho de gotícula e estabilidade.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Materiais

Xilitol fornecido pela Danisco (Surrey, Reino Unido), óleo de milho e soja comerciais da marca Liza (Cargill Agrícola S.A., Mairinque, SP, Brasil), lecitina de soja da Pantec (Tatuapé, SP, Brasil), polirricinoleato de poliglicerol (PGPR 90) da Danisco (Dinamarca) e gelatina suína tipo B fornecida pela Gelita (Cotia, SP, Brasil).

2.3.2 Equipamentos

Placas de agitação magnética, com e sem aquecimento, digital (marca Ika, modelo ColorSquid Bivolt, São Paulo, SP, Brasil), balança analítica (marca Ohaus, modelo AR2140, São Paulo, SP, Brasil), homogeneizador Ultraturrax (marca Ika, modelo T25-D, Alemanha), reômetro rotacional (marca TA Instruments, modelo AR2000, New Castle, Delaware, Estados Unidos), microscópio ótico (marca Bel Photonics, modelo BIO3, Itália), analisador de partículas por difração a laser (marca Shimadzu, modelo SALD-201V, Kyoto, Japão) e analisador de partículas ZetaPlus (Brookhaven Instruments Company, Holtsville, New York, Estados Unidos) com um laser de He-Ne de 627 nm, ângulo de incidência de 90°, na temperatura de 25 °C.

2.3.3 Preparo das soluções aquosas de xilitol

Com o objetivo de atingir uma concentração máxima de xilitol, foi realizado um teste de solubilidade, até que o xilitol atingisse a concentração máxima de saturação em água. Para isso massas conhecidas do xilitol puro foram sendo adicionadas em um béquer contendo água destilada a 80 °C sob agitação constante em agitador magnético, até que a quantidade de água não fosse mais suficiente para dissolver o xilitol.

2.3.4 Preparo das Emulsões

2.3.4.1 Preparo das Emulsões Simples

As emulsões simples (A/O) foram preparadas utilizando solução aquosa de xilitol (item 2.3.3), óleo de milho e soja (2 mL/mL solução aquosa de xilitol) e agentes emulsificantes PGPR e lecitina de soja (0,8% em relação a solução total). A emulsificação foi realizada em homogeneizador Ultraturrax por 4 minutos, utilizando diferentes velocidades para homogeneização (4.000, 8.000 e 12.000 rpm) e temperatura ambiente (25 °C). As emulsões simples foram caracterizadas pelo teste de estabilidade (item 2.3.5.1), tamanho de gotículas (item 2.3.5.2), comportamento reológico (item 2.3.5.3) e morfologia (item 2.3.5.4). Os parâmetros foram definidos em testes preliminares baseado em estudo conduzido por Comunian et al. (2013).

2.3.4.2 Preparo das Emulsões Duplas

Diferentes quantidades de emulsões simples (50, 100 e 150% em relação à concentração de gelatina) foram adicionadas lentamente em 100 mL de solução aquosa de gelatina (2,5; 5,0 e 7,5%) a 50 °C. A emulsificação foi realizada em homogeneizador Ultraturrax por 3 minutos a 10.000 rpm. As emulsões duplas foram caracterizadas pelo teste de estabilidade (item 2.3.5.1), tamanho de gotículas (item 2.3.5.2) e morfologia (item 2.3.5.4). O comportamento reológico não foi realizado devido à falta de estabilidade da emulsão dupla.

2.3.5 Caracterização das Emulsões

2.3.5.1 Estabilidade

As emulsões foram transferidas para tubos falcon de 50 mL (emulsão simples) e para provetas graduadas de 10 mL (emulsão dupla), seladas e estocadas a temperatura ambiente (emulsão simples) e BOD a 50 °C (emulsão dupla). A estabilidade da emulsão foi julgada pela aparência e pela observação da separação de fase. Para as emulsões que apresentaram estabilidade durante 60 minutos, a análise continuou por até 24 horas.

2.3.5.2 Tamanho das gotículas

Foi utilizado analisador de partículas Zeta (emulsão simples) e analisador de partículas por difração a laser (emulsão dupla). Para a análise da emulsão simples, as gotículas foram dispersas em hexano e para análise da emulsão dupla, as gotículas foram dispersas em água destilada. O tamanho médio das gotículas foi representado como diâmetro médio ponderado por volume. O índice de polidispersão (ID) foi calculado de acordo com Jafari et al. (2007), utilizando a Equação 1:

$$ID = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (1)$$

Onde d_{10} , d_{50} e d_{90} são os diâmetros a 10%, 50% e 90% do volume acumulado, respectivamente. Ou seja, $d_{90} - d_{10}$ é o intervalo de dados e d_{50} é o diâmetro médio.

2.3.5.3 Análises reológicas

Para a determinação das propriedades reológicas das emulsões, foi utilizado um reômetro rotacional de deformação controlada, usando geometria de cilindros de parede dupla [estator: 17,50 mm (raio externo) e 15,10 mm (raio interno), rotor: 16,00 mm (raio), e gap de 2000 µm]. A temperatura foi controlada por sistema Peltier, sendo utilizada temperatura de 25 °C. As emulsões foram avaliadas

imediatamente após o seu preparo. Utilizou-se um intervalo de taxa de deformação de 0-300s⁻¹. Os modelos para fluidos Newtonianos (Equação 2) foram utilizados para ajustar as curvas de escoamento. Os valores de viscosidades absoluta das amostras foram calculados como a relação entre a tensão de cisalhamento (σ) e a taxa de deformação (γ).

$$\sigma = \eta \cdot \gamma \quad (2)$$

Onde: η = viscosidade do fluido (Pa.s); σ = tensão de cisalhamento (Pa); γ = taxa de deformação (s⁻¹).

2.3.5.4 Morfologia

Uma gotícula da emulsão foi gotejada em lâmina e avaliada por meio de microscopia ótica.

2.3.6 Forma de Análise dos Resultados

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os valores das determinações analíticas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias por Tukey ($p \leq 0,05$) utilizando o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System), versão 9.2.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Soluções aquosas de xilitol

A quantidade máxima de xilitol possível de adicionar na água para que toda a massa fosse dissolvida foi de 3,3 g de xilitol para cada mL de água a 80 °C. Assim, utilizou-se a concentração máxima, ou seja, 3,3 g de xilitol para cada mL de água.

2.4.2 Emulsão Simples

2.4.2.1 Estabilidade

A emulsão simples foi preparada utilizando diferentes óleos (soja e milho) e emulsificantes (lecitina de soja e PGPR 90). Os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 8.

Figura 8. Emulsão simples com diferentes óleos e emulsificantes após 15 minutos de formação (a) e após 24 horas (b).

Após 15 minutos todas as amostras apresentaram-se estáveis, com exceção da emulsão utilizando óleo de milho e emulsificante lecitina (Figura 8a), onde é possível observar a presença de sedimentos. Após 24 horas (Figura 8b) as emulsões onde foi utilizado emulsificante PGPR se mantiveram estáveis, diferente

das emulsões utilizando lecitina, onde pode ser visualizado claramente a separação de fases.

A composição da lecitina é bastante variável dependendo da marca comercial e do grau de purificação (ARAÚJO, 2011). Os vários fosfatídeos presentes na lecitina apresentam diferentes propriedades de emulsificação, sendo a fosfatidilcolina mais efetiva na estabilização de emulsões O/A, enquanto a fosfatidiletanoamina e a fosfatidilinositol estabilizam emulsão A/O (ARAÚJO, 2011).

Em trabalho realizado por Pan, Tomás e Añón (2002) lecitinas com alto teor de fosfolipídeos mostraram ser melhores agentes emulsificantes em dispersões A/O do que O/A.

Já o PGPR possui baixo balanço hidrofílico lipofílico - BHL (1,5) e por isso é um bom estabilizante de emulsões A/O, o que justifica os resultados encontrados no presente estudo, onde o PGPR foi mais eficiente do que a lecitina na estabilização da emulsão A/O. De acordo com Araújo (2011) emulsões do tipo O/A são estabilizadas por emulsificantes dispersáveis em água, ao passo que as emulsões A/O são estabilizadas por emulsificantes dispersáveis em óleo. Os emulsificantes de baixos valores de BHL (3 a 6) são predominantemente hidrofóbicos e dispersam-se preferencialmente em óleo estabilizando emulsões do tipo A/O. Enquanto, emulsificantes com elevados valores (8 a 18) são predominantemente hidrofílicos e dissolvem-se preferencialmente em água estabilizando emulsões do tipo O/A. No caso de valores intermediários (6 a 8), não há preferência pela água ou óleo.

Resultados semelhantes foram encontrados por Ushikubo e Cunha (2014), comparando PGPR e lecitina na estabilização de emulsões A/O. Os autores observaram uma alta estabilidade cinética nas emulsões compostas por PGPR, mas uma baixa estabilidade quando substituiu-se o PGPR pela lecitina. De acordo com os autores, a parte hidrofílica do PGPR é constituída por porções de poliglicerol, que são relativamente grandes e formam pontes de hidrogênio com a água, resultando em uma interface estruturada.

Outros autores também concluíram que o PGPR é um bom emulsificante para estabilizar emulsões A/O e A/O/A (GÜLSEREN; CORREDIG, 2012). Esses autores observaram que a tensão interfacial de uma emulsão A/O (água em óleo de soja) sem o PGPR foi de $30,7 \text{ mNm}^{-1}$, diminuindo para $1,8 \text{ mNm}^{-1}$ após adição de 6%

PGPR. Assim, o abaixamento da tensão interfacial entre as fases oleosa e aquosa facilita a formação das emulsões (ATTWOOD; FLORENCE, 2003).

O emulsificante ou combinação de emulsificantes mais apropriada para um determinado alimento depende do tipo e concentração de outros ingredientes que o produto contenha, do modo que é produzido e das condições ambientais durante a manufatura, estocagem e utilização (GUZEY; McCLEMENTS, 2006). Nas condições analisadas no presente trabalho, o emulsificante PGPR foi visivelmente mais efetivo na estabilização da emulsão A/O do que a lecitina e por isso foi definido que a preparação da emulsão simples seria realizada utilizando PGPR como emulsificante.

O óleo de milho foi preferido em relação ao óleo de soja devido ao menor número de ácidos graxos poli-insaturados, enquanto o óleo de milho possui aproximadamente 45% de ácidos graxos poli-insaturada, o óleo de soja possui 55% (informação que consta no rótulo da marca Liza), sendo por isso, mais estável do ponto de vista oxidativo. Assim, óleo de milho e emulsificante PGPR foram selecionados para a produção da emulsão simples (A/O).

2.4.2.2 Distribuição de tamanho e tamanho médio das gotículas produzidas nas emulsões simples

De acordo com McClements (2012), o tamanho das gotículas em emulsões A/O pode ser controlado variando o tipo de emulsificante, sua concentração e as condições de homogeneização (por exemplo, intensidade e duração).

A fim de encontrar uma condição de emulsificação que atingisse o menor tamanho das gotas da emulsão foram utilizadas três velocidades de rotação: 4.000, 8.000 e 12.000 rpm por quatro minutos.

Os resultados obtidos para o tamanho médio das gotículas estão apresentados na Tabela 1 e os resultados da distribuição das gotículas podem ser visualizados na Figura 9.

Tabela 1. Tamanho médio das gotículas da emulsão simples

Velocidade (rpm)*	Diâmetro médio (μm)
4.000	3,40 $\pm$ 0,37 ^a
8.000	3,42 $\pm$ 0,14 ^a
12.000	2,80 $\pm$ 0,36 ^a

* Por um tempo de quatro minutos

O tamanho médio das gotículas variou de 2,80 a 3,42 μm , porém essa diferença não foi significativa ($p \leq 0,05$). De acordo com McClements (2012), gotículas de emulsões convencionais normalmente têm diâmetros que variam de 100 nm a 100 μm .

Resultados semelhantes foram encontrados por Carmona (2011) analisando emulsões onde óleo de laranja era o agente ativo e uma mistura de concentrado proteico de soro de leite e maltodextrina (1:3) era o material de parede. A mistura foi emulsionada em um homogeneizador do tipo rotor-estator por um tempo de cinco minutos e foram testadas três velocidades (6.000, 10.000 e 14.000 rpm). Assim, o diâmetro médio das gotículas foi de 4,25 μm (6.000 rpm); 2,32 μm (10.000 rpm) e 2,02 μm (14.000 rpm). Observou-se que quanto maior a velocidade de agitação, menor foi o tamanho das gotículas obtidas, assim como observado no presente trabalho.

O tamanho médio das gotículas das emulsões simples pode ser considerado bom, pois se esperava a obtenção de gotículas pequenas na emulsão simples, uma vez que esta será emulsionada novamente para obtenção da emulsão dupla e, por sua vez, esta será coacervada.

Figura 9. Curvas de distribuição de tamanho das gotículas da emulsão simples (A/O) homogeneizadas a diferentes velocidades.

Em relação à distribuição do tamanho das gotículas, pode-se dizer que em todas as taxas de homogeneização analisadas, o comportamento apresentou baixa polidispersão, pois apesar dos picos observados nas emulsões homogeneizadas a 4.000 e 8.000 rpm, o intervalo de distribuição foi muito estreito (2,0 a 3,5 µm). Ou seja, todas as emulsões apresentaram um tamanho de gotícula bastante homogêneo.

No trabalho realizado por Alvim (2005), onde foi utilizado o método de coacervação complexa para microencapsular óleo de soja e oleoresina de páprica, se observou que o aumento da velocidade no preparo das emulsões, utilizando ultraturrax ao invés do liquidificador, produziu gotículas menores, tornando as emulsões mais estáveis. Portanto, altas taxas de cisalhamento reduzem o tamanho das gotículas.

A velocidade de homogeneização de 12.000 rpm, apesar de não ter apresentado diferença significativa com as demais velocidades, apresentou os menores tamanhos de gotículas, sendo portanto a velocidade escolhida para se produzir a emulsão simples.

2.4.2.3 Comportamento reológico

A viscosidade média das emulsões simples obtidas em diferentes velocidades de homogeneização está apresentada na Tabela 2 e o comportamento reológico na Figura 10.

Tabela 2. Viscosidade média das emulsões simples obtidas em diferentes velocidades de homogeneização

Velocidade (rpm)	Viscosidade Média (mPa.s)
4.000	131,87 ± 30,93 ^a
8.000	141,93 ± 9,06 ^a
12.000	107,95 ± 59,16 ^a

A viscosidade média das emulsões variou de 107,95 a 141,95 mPa.s, sendo que a condição de homogeneização não influenciou significativamente ($p \leq 0,05$) na viscosidade média. Tal resultado pode ser correlacionado com o obtido para tamanho médio de gotículas, onde não houve diferença significativa entre os tratamentos. Isso porque a viscosidade da emulsão é dependente do tamanho médio das gotículas.

Alguns autores observaram que o aumento da viscosidade está diretamente relacionado com a diminuição do tamanho médio das gotículas devido ao aumento da área de sobreposição em torno da dupla camada elétrica de cada gotícula (LU; KESSLER, 2006; OGAWA, 1997). Por outro lado, McClements (2012) afirma que o aumento no volume das gotículas ocasiona um aumento na viscosidade. Segundo o autor, é possível verificar a formação de floculação em uma emulsão por meio do comportamento reológico, pois ocorrerá um aumento na viscosidade.

Com os resultados obtidos no presente trabalho não é possível concluir se o tamanho das gotículas influencia ou não na viscosidade, uma vez que não foi encontrada diferença significativa ($p \leq 0,05$) em nenhum dos dois parâmetros analisados.

Figura 10. Relação entre viscosidade vs. taxa de deformação das emulsões simples homogeneizadas a diferentes velocidades

A emulsão simples apresentou relação constante entre os valores de viscosidade e de taxa de deformação, sendo considerada, por isso, fluido Newtoniano. Trabalho realizado por Ushikubo e Cunha (2014) apresentou resultados semelhantes ao do presente estudo, onde emulsões produzidas com óleo de soja e PGPR mostraram comportamento newtoniano quando se utilizou uma razão de 30:70 (A:O).

O comportamento reológico depende de muitos parâmetros, tais como taxa de deformação, carga de sólidos, tamanho de gotículas e potencial da superfície, e pode ser medido por mudanças monitoradas no comportamento do fluido em resposta a uma força aplicada (LU; KESSLER, 2006). Entretanto, o entendimento claro da correlação entre microestruturas e propriedades reológicas ainda é deficiente (CAGGIONI et al. 2007).

2.4.2.4 Morfologia

A morfologia da emulsão simples foi analisada por meio de microscópio ótico, e uma vez que o tamanho das gotículas era muito pequeno, não foi possível observá-las separadamente, como pode ser visto na Figura 11. Foi observado movimento browniano, o que comprova a formação da emulsão.

Figura 11. Microscopia da emulsão simples obtida por microscópio ótico (100x).

2.4.3 Emulsão Dupla

Definidos os parâmetros essenciais para produção da emulsão simples, iniciou-se a produção da emulsão dupla. Análises do tamanho e distribuição das gotículas, morfologia e estabilidade da emulsão foram realizadas.

2.4.3.1 Tamanho de gotícula

Uma vez que a concentração dos ingredientes interfere no tamanho e distribuição das gotículas de uma emulsão, tratamentos com diferentes concentrações de gelatina e núcleo foram analisados. Uma emulsão dupla (A/O/A) sem xilitol (controle) foi analisada com o objetivo de observar a influência da presença do xilitol no tamanho e distribuição das gotículas. Os resultados estão apresentados na Tabela 3 e Figura 12.

Tabela 3. Tamanho médio das gotículas e índice de polidispersão (ID) das emulsões duplas obtidas nas diferentes formulações estudadas

Tratamentos	Tamanho (μm)	ID
Controle	$16,45 \pm 4,34^f$	-
T1	$58,35 \pm 4,88^{ab}$	$0,76 \pm 0,19^{bc}$
T2	$42,46 \pm 6,73^{de}$	$1,47 \pm 0,35^a$
T3	$67,86 \pm 8,87^a$	$0,61 \pm 0,02^c$
T4	$51,64 \pm 6,62^{bc}$	$1,13 \pm 0,02^{ab}$
T5	$52,02 \pm 3,99^{bcd}$	$1,03 \pm 0,03^{bc}$
T6	$59,92 \pm 3,04^{ab}$	$0,98 \pm 0,14^{bc}$
T7	$49,02 \pm 5,82^{bcde}$	$1,01 \pm 0,05^{bc}$
T8	$40,40 \pm 7,34^e$	$1,08 \pm 0,10^{ab}$
T9	$46,72 \pm 10,81^{cde}$	$1,06 \pm 0,01^{ab}$

Médias de tamanho de gotículas seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de gelatina foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6, controle) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de gelatina:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9).

Comparando-se os tratamentos controle (sem xilitol) com os produzidos com o xilitol, verifica-se que a presença do poliol fez com que as gotículas da emulsão dupla aumentassem em aproximadamente três vezes seu tamanho médio.

O tamanho médio das gotículas da emulsão dupla variou de 40,40 a 67,86 μm , apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos. Observa-se que com o aumento na concentração de gelatina, houve diminuição no tamanho médio das gotículas (aproximadamente 10 μm), com exceção do T2. Provavelmente, essa diminuição no tamanho das gotículas com o aumento da concentração de gelatina é devido à capacidade emulsificante que esse polímero possui, evitando que haja aglomeração das gotículas.

Além disso, de acordo com Norton, Jarvis e Foster (1999) e Ogawa et al. (1997), a baixa concentração de polímeros produz sistemas com baixa viscosidade, o que aumenta o tamanho das gotículas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Comunian et al. (2013) em emulsões duplas de ácido ascórbico utilizando as mesmas condições do presente

trabalho, onde obtiveram tamanhos médios variando de 26,59 a 63,11 μm , sendo que o menor tamanho foi alcançado utilizando as maiores concentrações de gelatina (7,5%).

Pode ser observado também que dentro de uma mesma concentração de gelatina não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos para T7, T8 e T9 (7,5% de gelatina) e para T4, T5 e T6 (5% de gelatina). Apenas os tratamentos T1, T2 e T3 (2,5% de gelatina) apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre si. Isso denota que acima da concentração de 5% de gelatina, independente do teor de núcleo, este surfactante é que determina o tamanho médio da gotícula, bem como o ID.

Figura 12. Distribuição do tamanho das gotículas da emulsão dupla de todos os tratamentos estudados.

Com exceção do tratamento 2 e 4, a distribuição do tamanho das gotículas na emulsão dupla pode ser considerado monomodal. Pelo ID (Tabela 3) é possível observar que esses dois tratamentos (2 e 4) apresentaram os maiores valores, enquanto o T3 apresentou o menor valor de ID.

2.4.3.2 Morfologia

Por meio da microscopia ótica foi possível observar a morfologia das gotículas nas emulsões duplas formadas em todas as formulações estudadas (Figura 13).

Figura 13. Emulsões duplas produzidas com diferentes concentrações de gelatina e núcleo.

A concentração de gelatina foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de gelatina:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9). A barra corresponde a 10 µm.

A Figura 13 permite observar que as gotículas apresentaram formato esférico, como era esperado. Confirma-se também a formação da emulsão dupla A/O/A, pois as pequenas gotículas da solução de xilitol podem ser visualizadas dentro da gotícula de óleo, que por sua vez está imersa na solução de gelatina.

2.4.3.3 Estabilidade

As emulsões duplas não apresentaram boa estabilidade quando armazenadas em BOD a 50 °C. A utilização de BOD a 50 °C foi necessária devido à gelificação da gelatina a temperatura ambiente. A separação de fases observada nestas emulsões ocorreu devido ao mecanismo de cremação. De acordo com Benichou, Aserin e Garti (2004) o tamanho das gotículas e a instabilidade termodinâmica são desvantagens significativas de emulsões duplas.

Emulsões múltiplas são altamente susceptíveis a quebras durante a estocagem ou quando expostas em situações de estresse comumente utilizados em ambientes industriais, tais como forças mecânicas, processamento térmico, congelamento e desidratação (McCLEMENTS, 2012).

De acordo com Zuidam e Shimoni (2010) um sistema emulsionado deve ser estável até o momento da sua aplicação. No presente trabalho, a emulsão dupla foi utilizada imediatamente após o preparo no processo de coacervação, portanto, mesmo a emulsão dupla não sendo estável por muito tempo, ela mantém-se suficientemente estável para garantir um processo de coacervação eficiente.

2.5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a melhor estabilidade foi alcançada quando se utilizou óleo de milho para formação da fase oleosa e PGPR como emulsificante da emulsão simples.

O tamanho das gotículas, o comportamento reológico e a morfologia da emulsão simples não foram afetados pela velocidade de homogeneização. Preferiu-se utilizar a velocidade de homogeneização de 12.000 rpm, pois nesta velocidade o tamanho das gotículas foi menor, mesmo não sendo significativamente ($p \leq 0,05$) diferente das demais.

A morfologia das gotículas das emulsões duplas confirma a formação da emulsão A/O/A, e apesar da baixa estabilidade obtida, é possível utilizá-la no processo de coacervação complexa, pois ela é usada imediatamente após seu preparo.

REFERÊNCIAS

- ALVIM, I. D. **Produção e caracterização de micropartículas obtidas por spray drying e coacervação complexa e seu uso para alimentação de larvas de peixes**. 2005. 243 f. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- ARAÚJO, J. A. **Química de Alimentos**. 5.ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. 601p.
- ATTWOOD, D.; FLORENCE, A. T. **Princípios físico-químicos em farmácia**. São Paulo: EdUSP, 2003. 732p.
- BENICHO, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.108-109, p.29–41, 2004.
- CAGGIONI, M.; SPICER, P. T.; BLAIR, D. L.; LINDBERG, S. E.; WEITZ, D. A. Rheology and microrheology of a microstructured fluid: The gellan gum case. **Journal of Rheology**, v.51, n.5, p.851-865, 2007.
- CARMONA, P. A. O. **Secagem por atomização e microencapsulação de óleo de laranja: estudo das propriedades da emulsão e do tipo de material de parede sobre as características do pó e a estabilidade do D-Limoneno**. 2011. 154 f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
- COMUNIAN, T. A.; THOMAZINI, M.; ALVES, A. J. G.; JUNIOR, F. E.; 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.
- GÜLSEREN, İ.; CORREDIG, M. Interactions between polyglycerol polyricinoleate (PGPR) and pectins at the oil–water interface and their influence on the stability of water-in-oil emulsions. **Food Hydrocolloids**, v.34, p.154–160, 2012.
- GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.128-130, p.227–248, 2006.
- JAFARI, S. M.; HE, Y.; BHANDARI, B. Effectiveness of encapsulating biopolymers to produce sub-micron emulsions by high energy emulsification techniques. **Food Research International**, v.40, n.7, p.862–873, 2007.

LU, K.; KESSLER, C. Colloidal dispersion and rheology study of nanoparticles. **Journal of Materials Science**, v.41, n.17, p.5613–5618, 2006.

McCLEMENTS, D. J. Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.17, n.5, p.235–245, 2012.

McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; PARK, Y.; WEISS, J. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.49, p.577–606, 2009.

NORTON, I. T.; JARVIS, D. A.; FOSTER, T. J. A molecular model for the formation and properties of fluid gels. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.26, n.4, p.255–261, 1999.

OGAWA, A.; YAMADA, H.; MATSUDA, S.; OKAJIMA, K. Viscosity equation for concentrated suspensions of charged colloidal particles. **Journal of Rheology**, v.41, n.3, p.769, 1997.

PAN, L. G.; TOMÁS, M. C.; AÑÓN, M. C. Effect of sunflower lecithins on the stability of water-in-oil and oil-in-water emulsions. **Journal of Surfactants and Detergents**, v.5, n.2, p.135–143, 2002.

USHIKUBO, F. Y.; CUNHA, R. L. Food Hydrocolloids Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions. **Food Hydrocolloids**, v.34, p.145-153, 2014.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: ZUIDAM, N. J.; NEDOVIC, V. A. **Encapsulation Technologies for active food ingredients and food processing**. NY, EUA: Springer, 2010. 2010. Cap.2, p.3-30.

CAPÍTULO 3. Microencapsulação de xilitol por emulsão dupla seguida de coacervação complexa

RESUMO

O xilitol é um poliálcool que além do poder edulcorante possui um efeito de refrescância devido ao seu calor de dissolução negativo. O objetivo do trabalho foi produzir e caracterizar microcápsulas de xilitol, para posterior aplicação em gomas de mascar, a fim de prolongar o efeito de doçura e refrescância fornecidos por este ingrediente. O método de microencapsulação utilizado foi a coacervação complexa, sendo realizada uma etapa preliminar de emulsão dupla, devido à hidrofiliabilidade do xilitol. As microcápsulas obtidas foram caracterizadas quanto ao tamanho de partículas, morfologia (microscopia ótica, confocal e eletrônica de varredura), cor instrumental, higroscopicidade, umidade, A_w , solubilidade em água, isothermas de sorção, FTIR, DSC, eficiência de encapsulação e estudo de controle de liberação. As microcápsulas de xilitol obtidas apresentaram características desejáveis para aplicação em alimentos, como tamanho médio de partícula abaixo de 109 μm e núcleo completamente encapsulado pelo material de parede. As microcápsulas secas apresentaram valores de A_w , umidade, higroscopicidade e solubilidade baixos, o que favorece a estabilidade microbiológica, evita *caking* das partículas e auxilia no controle de liberação. A eficiência de encapsulação variou de 31 a 71%, sendo maior nos tratamentos com maior concentração de polímeros. A liberação do xilitol microencapsulado em saliva artificial ocorreu nos primeiros 20 minutos, mantendo-se constante com o decorrer do tempo. Pelos termogramas obtidos por DSC foi confirmado que o xilitol microencapsulado por coacervação complexa e liofilizado está no estado amorfo. Conclui-se que o processo de microencapsulação do xilitol por coacervação complexa e posterior secagem por liofilização não é suficiente para obter o xilitol no estado cristalino, e, portanto a microcápsula não fornece a refrescância esperada.

Palavras-chave: DSC, FTIR, controle de liberação, solubilidade

3.1 INTRODUÇÃO

O xilitol é um poliálcool derivado da xilose que vem sendo amplamente empregado na indústria de alimentos devido às suas inúmeras características benéficas. Dentre elas se destacam seu alto poder adoçante, sendo considerado um edulcorante natural e seu elevado poder de refrescância, devido ao seu calor de dissolução endotérmico.

Na área de fármacos o xilitol se destaca por ser anticariogênico e é por isso bastante empregado como ingrediente em produtos de higiene oral. Além disso, estudos tem mostrado que o xilitol pode ser usado no tratamento contra a osteoporose e doenças respiratórias (MUSSATTO; ROBERTO, 2002).

O processo de microencapsulação vem sendo utilizado há muitos anos pela indústria farmacêutica, onde já é bastante consolidado e desenvolvido. Nas últimas décadas a microencapsulação tem se destacado também na indústria de alimentos, sendo aplicada para diversas finalidades, como, por exemplo, para proteger o ingrediente de fatores adversos, como luz, calor e umidade (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

Outras vantagens da microencapsulação é a possibilidade de mudança de texturas, transformando líquidos em pós, além disso, diminui a volatilidade de óleos essenciais, mascara sabores indesejáveis e controla a liberação (LAKKIS, 2007). No caso da microencapsulação do xilitol, o controle de liberação é o fator mais importante com o objetivo de prolongar a sensação de refrescância e o dulçor.

Diversos métodos são empregados na produção de microcápsulas, dentre eles se destacam, na área de alimentos, o método por *spray drying*, *spray-chilling/cooling*, leite fluidizado, co-cristalização, emulsificação e coacervação complexa. O processo de coacervação complexa é bastante indicado quando objetiva-se controlar a liberação do agente, uma vez que este processo produz uma cápsula verdadeira, recobrindo completamente o material ativo dentro do material de parede.

O processo de coacervação complexa consiste na mistura de dois polímeros a um pH no qual um polímero é negativamente carregado e o outro é positivamente carregado, levando a separação de fases e formação de partículas insolúveis em água.

Não foi encontrado na literatura nenhum trabalho publicado sobre a microencapsulação de xilitol para aplicação em alimentos, apenas patentes, todavia nenhuma fazia uso de método de emulsão dupla e/ou coacervação complexa.

Diante do exposto, o método de coacervação complexa foi escolhido para a produção das microcápsulas de xilitol, objetivando controlar a liberação deste ingrediente, prolongando assim a doçura e a refrescância quando utilizados em alimentos.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo geral

- Desenvolver microcápsulas de xilitol utilizando o método de emulsão dupla seguido de coacervação complexa.

3.2.2 Objetivos específicos

- Definir o pH ideal para o processo de coacervação;
- Caracterizar as microcápsulas de xilitol produzidas em relação à morfologia, tamanho de partículas, atividade de água, higroscopicidade, isothermas de sorção, umidade, solubilidade, cor instrumental, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier e calorimetria diferencial de varredura.
- Quantificar o xilitol total microencapsulado e definir qual tratamento apresentou a melhor eficiência de encapsulação;
- Estudar o controle de liberação do xilitol das microcápsulas *in vitro*, simulando as condições encontradas na boca.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Materiais

Xilitol fornecido pela Danisco (Surrey, Reino Unido), gelatina suína tipo B fornecida pela Gelita (Cotia, SP, Brasil), goma arábica fornecida pela Nexira (Perdizes, SP, Brasil), óleo de milho da marca Liza (Cargill Agrícola S.A., Mairinque, SP, Brasil), ácido fosfórico da Synth (São Paulo, SP, Brasil), polirricinoleato de poliglicerol (PGPR 90) da Danisco (Dinamarca).

3.3.2 Equipamentos

Placas de agitação magnética, com e sem aquecimento, digital (marca Ika, modelo ColorSquid Bivolt, São Paulo, SP, Brasil), balança analítica (marca Ohaus, modelo AR2140, São Paulo, SP, Brasil), homogeneizador Ultraturrax (marca Ika, modelo T25-D, Alemanha), pHmetro (marca Marte, modelo MB-10, Santa Rita do Sapucaí, MG, Brasil), mesa agitadora orbital (marca Tecnal, modelo TE-424, Piracicaba, SP, Brasil), analisador de partículas por difração a laser (marca Shimadzu, modelo SALD- 201V, Kyoto, Japão), microscópio ótico (marca Bel Photonics, modelo BIO3, Itália); cromatógrafo líquido de alta eficiência - CLAE (marca Shimadzu Co., Japão); Liofilizador (marca Terroni, modelo LC 1500, São Carlos, SP, Brasil); Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV (Tabletop Microscope Hitachi, Tóquio, Japão); colorímetro (marca HunterLab, modelo Mini Scan XE, Reston, Estados Unidos); analisador de umidade (marca Ohaus, modelo MB-35, Ohio, Estados Unidos); analisador de atividade de água AQUALAB (marca Decagon Devices, modelo series 3 TE, Pullman, Washington, Estados Unidos); Espectro de infravermelho (Perkin Elmer, Massachusetts, Estados Unidos); DSC TA 2010 controlado por um sistema TA 4000 (TA Instruments, New Castle, Estados Unidos), confocal LSM 780-NLO Zeiss no microscópio Axio Observer Z.1 (Carl Zeiss AG, Alemanha) e estufa incubadora BOD (marca Tecnal, modelo TE-391, Piracicaba, SP, Brasil).

3.3.3 Coacervação complexa

A emulsão simples foi realizada conforme descrito no capítulo 2, utilizando óleo de milho, emulsificante PGPR e agitação de 12.000 rpm. A emulsão dupla foi realizada conforme descrito no capítulo 2, utilizando solução de gelatina (2,5%; 5,0% e 7,5%) e agitação de 10.000 rpm. O processo de coacervação foi realizado conforme ilustrado na Figura 14, onde 100 mL de solução aquosa de goma arábica a 50 °C foi lentamente adicionada na emulsão dupla, sob agitação constante, e após, foi adicionado 400 mL de água destilada a 50 °C. O pH foi ajustado para 4,0 utilizando ácido fosfórico. Foi realizado resfriamento lento em banho de gelo sob agitação até 10°C e então o material coacervado foi estocado durante 24h a 7 °C para promover a decantação, facilitando a remoção da fase aquosa. Os coacervados foram congelados em um freezer (-18 °C) e desidratados por sublimação em liofilizador.

Figura 14. Processo de coacervação complexa (adaptado de Thies, 1995)

As condições operacionais utilizadas durante o processo estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Resumo das condições operacionais utilizadas durante a coacervação complexa.

Primeira etapa de emulsificação (Ultraturrax)	12000 rpm/4 minutos
Segunda etapa de emulsificação (Ultraturrax)	10000 rpm/3 minutos
Agitação durante o processo de coacervação	Agitação magnética
Temperatura durante a coacervação	50 °C ± 0,1
Temperatura de resfriamento	10 °C ± 0,1
pH de coacervação	4,0 ± 0,1
Decantação das microcápsulas	7 °C – 24horas

Diferentes concentrações de polímeros e núcleo foram analisadas, totalizando nove tratamentos. Além disso, um tratamento controle foi realizado, substituindo a solução aquosa de xilitol por água, com o objetivo de comparar as microcápsulas com e sem xilitol. As formulações estudadas estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5. Formulação das microcápsulas analisadas

Amostras	Polímeros (%) [*]	Núcleo (%) ^{**}
Controle	5,0	0
T1		50
T2	2,5	100
T3		150
T4		50
T5	5,0	100
T6		150
T7		50
T8	7,5	100
T9		150

^{*}A proporção de gelatina:goma arábica foi fixada em 1:1.

^{**} Emulsão simples em relação à quantidade de polímeros.

3.3.4 Caracterização das microcápsulas

3.3.4.1 Tamanho de partículas

Foi utilizado analisador de partículas por difração a laser. As microcápsulas úmidas (antes do processo de liofilização) foram dispersas em água destilada e colocadas em uma cubeta própria do equipamento para análise. A análise foi repetida três vezes consecutivas para cada amostra, sendo realizada uma leitura por vez. O tamanho médio das partículas foi representado como diâmetro médio ponderado por volume.

3.3.4.2 Microscopia ótica

A morfologia das micropartículas foi analisada em microscópio ótico equipado com câmera, utilizando-se o software BEL View v.62 para análise das imagens. As microcápsulas úmidas (antes da liofilização) foram dispersas em uma lâmina de vidro, a qual foi fixada no microscópio para observação.

3.3.4.3 Microscopia confocal de varredura

As amostras foram examinadas no Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fotônica Aplicada à Biologia Celular (INFABIC) da Universidade Estadual de Campinas, usando confocal LSM 780-NLO Zeiss no microscópio Axio Observer Z.1, usando objetiva 40x. As imagens foram coletadas usando lasers 561 nm para excitação e filtros de emissão 569-691 nm para o fluoróforo Nile Red, com pinhole ajustado para 1 airy unit em cada canal, formato da imagem de 1024×1024 e zoom ótico de 1,7x. As microcápsulas úmidas (antes da liofilização) foram dispersas em uma lâmina de vidro, a qual foi fixada no microscópio para observação.

3.3.4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As microcápsulas secas (após processo de liofilização) foram analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Foram acomodadas em uma fita de carbono dupla face, a qual foi fixada em *stubs* de alumínio. As imagens foram captadas com aceleração de voltagem de 5 kV, com corrente de 1750 mA.

3.3.4.5 Cor instrumental

As microcápsulas secas (após processo de liofilização) foram analisadas em relação à cor utilizando um colorímetro. Inicialmente o equipamento foi calibrado utilizando placas branca e preta. As amostras foram acondicionadas em um recipiente transparente próprio do equipamento, uma tampa preta foi então colocada para evitar a entrada de luz e o equipamento acionado para leitura da cor. Os resultados foram expressos de acordo com o sistema de cor CIELab (L^* , a^* e b^*).

3.3.4.6 Umidade

As microcápsulas secas (após processo de liofilização) foram analisadas em relação ao conteúdo de água, utilizando um analisador de umidade modelo MB-35, o qual utilizada radiação infravermelha de uma fonte de halogênio. O resultado foi expresso em base seca.

3.3.4.7 Atividade de água

As microcápsulas secas (após processo de liofilização) foram analisadas em relação à atividade de água, utilizando-se equipamento AQUALAB, com leitura direta.

3.3.4.8 Higroscopicidade

As microcápsulas secas (após processo de liofilização) foram analisadas em relação à higroscopicidade. Foi adotada a metodologia utilizada por Cai e Corke

(2000) com algumas modificações. Amostras em triplicata de 0,3 g foram colocadas em pesa-filtros e acondicionadas por sete dias em dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio (78% UR) a 25 °C. A higroscopicidade foi determinada pela massa de água adsorvida pela amostra e expressa em g de água adsorvida/100 g de matéria seca.

3.3.4.9 Solubilidade em água

Foi determinada pelo método gravimétrico, de acordo com Eastman e Moore (1984)⁸, citado por Cano-Chauca et al. (2005). Uma amostra de 0,50 g foi adicionada em um erlenmeyer contendo 50 mL de água destilada e homogeneizados em uma mesa agitadora orbital a 100 rpm por 30 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, a solução foi centrifugada a 3500 rpm por 5 minutos. Uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi transferida para uma cápsula de porcelana com massa conhecida e mantida em estufa a 105 °C até peso constante. A solubilidade foi calculada com base na massa inicial de amostra que foi solubilizada nessa alíquota de 25 mL do sobrenadante. O resultado foi expresso em porcentagem.

3.3.4.10 Isotermas de sorção

As umidades de equilíbrio das microcápsulas foram determinadas pelo método gravimétrico estático (LABUZA, 1984), utilizando-se soluções salinas saturadas em água destilada, para uma determinada faixa de umidade relativa. As soluções salinas utilizadas bem como as atividades de água correspondentes, que foram determinadas experimentalmente no AQUALAB, são apresentadas na Tabela 6.

⁸ EASTMAN, J.E.; MOORE, C.O. Cold water soluble granular starch for gelled food composition. U.S. Patent 4465702, 1984.

Tabela 6. Soluções salinas e suas respectivas atividades de água à temperatura ambiente (25 °C)

Solução salina concentrada	Atividade de água (A_w)
Cloreto de lítio - LiCl	0,164
Sulfato de potássio - K_2SO_4	0,245
Carbonato de potássio - K_2CO_3	0,462
Nitrato de magnésio - $Mg(NO_3)_2$	0,672
Cloreto de sódio - NaCl	0,770
Cloreto de potássio - KCl	0,845

O teor de umidade inicial das amostras foi medido (item 3.3.4.6) e uma massa conhecida de amostra foi colocada em pesa-filtros limpos e secos em estufa. Foram então armazenadas em dessecadores com as respectivas soluções salinas para cada valor de umidade relativa desejada, a 25 °C. As amostras foram pesadas em balança analítica em intervalos regulares de tempo, até atingirem a umidade de equilíbrio (cerca de três semanas). Depois desse período, a umidade de equilíbrio das amostras foi calculada pela relação entre a massa de água total na amostra pela massa seca de amostra (Equação 3).

$$U_{eq} = \frac{m_{\text{água}}}{m_s} \times 100 \quad (3)$$

Onde: U_{eq} é a umidade de equilíbrio (% em base seca); $m_{\text{água}}$ é a massa de água inicial + massa de água adsorvida na amostra (g); e m_s é a massa seca da amostra (g).

Os dados experimentais obtidos foram ajustados pelos modelos GAB (Guggenheim–Anderson–de Boer), BET (Brunauer–Emmett–Teller) e Peleg (Tabela 7), de acordo com as equações 4, 5 e 6, respectivamente. Os parâmetros destes modelos foram determinados por meio da análise de regressão não linear dos dados experimentais, realizada com auxílio da ferramenta Solver, do software Microsoft Excel. Os critérios de escolha dos melhores ajustes foram o coeficiente de

determinação (R^2) e o módulo do desvio relativo médio (DR), calculado de acordo com a Equação 7.

$$DR (\%) = \frac{100}{N} \times \sum \frac{|VE - VP|}{VE} \quad (7)$$

Onde: VE = valor experimental; VP = valor predito pelo modelo; N = número de observações.

Tabela 7. Modelos para isotermas de sorção em alimentos

Modelos	Equações	Referências
GAB	$X = \frac{X_m \cdot C_{GAB} \cdot K_{GAB} \cdot a_w}{[(1 - K_{GAB} \cdot a_w)(1 - K_{GAB} \cdot a_w + C_{GAB} \cdot K_{GAB} \cdot a_w)]} \quad (4)$	Al-Muhtaseb, McMinn e Magee (2002)
BET	$X = \frac{X_m \cdot C_{BET} \cdot a_w}{(1 - a_w)(1 - a_w + C_{BET} \cdot a_w)} \quad (5)$	Tonon et al. (2009)
PELEG	$X = K_1 \cdot a_w^{n_1} + K_2 \cdot a_w^{n_2} \quad (6)$	Al-Muhtaseb, McMinn e Magee (2002)

Onde: X é a umidade de equilíbrio (g de água / g de matéria seca);

X_m é a umidade da monocamada molecular (g de água / g de matéria seca);

a_w é a atividade de água;

C_{GAB} , K_{GAB} , C_{BET} , K_1 , N_1 , K_2 , N_2 são as constantes dos respectivos modelos

3.3.4.11 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros para o xilitol puro, ingredientes e microcápsulas secas (após processo de liofilização) foram produzidos utilizando o equipamento Perkin Elmer FT-IR Spectrometer com o auxílio do software Spectrum One versão 5.3.1. Fizeram-se 16 varreduras e a região espectral de trabalho escolhida foi de 4000 a 600 cm^{-1} .

3.3.4.12 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As propriedades térmicas das microcápsulas foram determinadas utilizando

DSC TA 2010 (TA Instruments, New Castle, USA). As amostras foram acondicionadas por uma semana em sílica gel a 25 °C. Após, aproximadamente 7 mg de cada amostra foi acondicionada em cápsulas herméticas de alumínio. A variação de aquecimento foi de -100 °C a 250 °C a uma taxa 5 °C/min, em atmosfera inerte (100 mL/min de nitrogênio). As temperaturas de transição e entalpias foram determinadas pelo software do equipamento (Universal V4.2E TA Instruments).

3.3.4.13 Quantificação de xilitol

A quantificação do xilitol foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência-CLAE, equipado com detector de índice de refração RID-10A, degaseificador DGU-20As, bomba LC-20AD e injetor SIL-10AF. Coluna Shim-Pack VP-ODS de 250mm x 4,6 mm. Software LC solution. Utilizou-se o método descrito no Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2004) com algumas modificações: Para realização da curva de calibração, 0,48 g de xilitol puro foi diluído em 50 mL de água destilada utilizando um balão volumétrico de 50 mL. Essa solução padrão foi transferida para uma bureta e diferentes volumes (0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 mL) foram transferidos para balão volumétrico contendo 25 mL de água destilada. Cada solução foi filtrada com filtros de 0,45 µm e transferidos para frascos de 2 mL. O fluxo foi 1 mL/min, sendo o tempo de corrida de 8 minutos. A temperatura do detector e da coluna foi de 40 °C. Foi injetado 20 µL da amostra. Como fase móvel foi utilizada água ultrapura.

3.3.4.14 Eficiência de Encapsulação (EE)

Foi determinada em função da quantidade de xilitol encapsulado nas microcápsulas em relação à quantidade total de xilitol adicionado (Equação 8). Para quantificar o xilitol encapsulado, 0,1 g das microcápsulas secas foram pesados em tubos falcon, adicionou-se 10 mL de solução de hidróxido de sódio 0,1M. Foram colocadas em ultrassom a 80 °C por 10 minutos e centrifugadas a 4000 rpm por 5 minutos. Após, o sobrenadante foi retirado, filtrado em filtros de 0,45 µm, transferidos para frascos de 2 mL e quantificado por CLAE (item 3.3.5.13).

$$EE(\%) = \frac{\text{Quantidade de xilitol encapsulado (g/100g)}}{\text{Quantidade de xilitol adicionado na emulsão (g/100g)}} \times 100 \quad (8)$$

3.3.4.15 Estudo do controle de liberação

Para simular um ambiente o mais próximo possível da boca, saliva artificial foi preparada conforme Marques, Loebenberg e Almukainzi (2011), onde para cada litro de água destilada utilizou-se 8,0 g de cloreto de sódio, 0,19 g de fosfato de potássio monobásico e 2,38 g de fosfato de sódio dibásico.

Três tratamentos utilizando diferentes concentrações de polímeros (T2, T5 e T8) foram selecionados para análise do controle de liberação do xilitol. Amostras de 0,1 g de microcápsulas foram adicionadas em um tubo falcon de 15 mL contendo 10 mL de saliva artificial. Os tubos foram colocados em banho-maria a 37 °C sob agitação de 150 rpm.

Os tubos foram retirados após 20, 40, 60, 80 e 100 minutos, e no mesmo instante uma alíquota de 3 mL foi retirada com uma seringa, filtrada com filtros de 0,45 µm e transferida para frascos de 2 mL. A quantificação do xilitol liberado foi determinada por CLAE conforme item 3.3.4.13, substituindo a água da fase móvel por saliva artificial. A liberação do xilitol foi expressa como a quantidade de xilitol liberado pela quantidade total de xilitol contida na amostra (Equação 9).

$$\text{Xilitol Liberado (\%)} = \frac{\text{Xilitol liberado (g/100g)}}{\text{Xilitol encapsulado (g/100g)}} \times 100 \quad (9)$$

3.3.5 Forma de Análise dos Resultados

Todas as análises foram realizadas em triplicata e o experimento foi repetido por três vezes consecutivas. Os valores das determinações analíticas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias por Tukey ($p \leq 0,05$) utilizando o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System), versão 9.2.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Ajuste do pH

A coacervação complexa é uma reação impulsionada principalmente pela interação eletrostática, a qual ocorre principalmente entre uma proteína (anfóteros) e um polissacarídeo (anionicamente carregado dentro de uma ampla faixa de pH) (LV et al. 2013). Ou seja, proteínas são positivamente carregadas abaixo do seu ponto isoelétrico (pI) e negativamente carregadas acima do pI (GUZEY; McCLEMENTS, 2006). Já os polissacarídeos, contendo carboxilas aniônicas, atuam como poliânions e em contato com as proteínas formam complexos eletrostáticos em pH variando, geralmente, de 2 a 5 (PRATA, 2006), dependendo dos polímeros utilizados.

O pH ideal da coacervação varia dependendo principalmente da proteína e do polissacarídeo utilizado no processo. Com o intuito de definir o pH ideal para as variáveis utilizadas no presente trabalho, utilizou-se diferentes quantidades de ácido fosfórico, a fim de se obter pH 2,5; 3,5; 4,0 e 4,5. Os resultados estão ilustrados na Figura 15.

Figura 15. Efeito do pH na formação de microcápsulas de xilitol no T5.

Após coacervação houve separação de fases nítidas no pH 4,0 (Figura 15). Nos outros pH não ocorreu coacervação completa e o material ficou disperso na fase aquosa. Assim, o sobrenadante límpido obtido foi o principal indicador da condição ideal para formação das microcápsulas, ou seja, o máximo de interação entre as substâncias aniônica e catiônica.

Essa análise visual permite avaliar a intensidade de interação entre os biopolímeros, analisando-os em conjunto pela variação do pH. A vantagem do método é a rápida estimativa da faixa de separação de fases e a determinação do pH ótimo de interação, já que o processo de separação de fases é caracterizado pela turbidez, onde a diminuição da turbidez é um indicativo de maior interação polimérica (THIES, 1995).

Prata (2006) analisou diferentes proporções de polímeros (goma arábica:gelatina) no processo de coacervação complexa, e observou que a faixa de coacervação ótima ocorreu com pH variando de 3,5 a 4,5, sendo que quando se trabalhou com a mesma proporção de goma arábica e gelatina (1:1), o pH ótimo de coacervação foi próximo a 4,0, assim como no presente trabalho.

Fazendo-se uma análise dos trabalhos disponíveis na literatura, verifica-se que os valores de pH utilizados para se promover o processo de coacervação variam com o material de parede utilizado, bem como com sua concentração. Lv et al. (2012) obtiveram pH ótimo de 4,1 utilizando goma arábica e gelatina; Jun-xia, Hai-yan e Jian (2011) pH 4,0 utilizando goma arábica e isolado proteico de soja; Klemmer et al. (2012) pH 2,10 utilizando proteína isolada de soja e alginato; Nori et al. (2011) pH 4,0 utilizando isolado proteico de soja e pectina; e Silva et al. (2012) pH 3,0 utilizando gelatina e pectina.

A tendência para a formação do não-equilíbrio de um coacervado insolúvel é alcançada em concentrações baixas de sal e valores de pH significativamente abaixo do ponto isoeletrico da proteína (DICKINSON, 1998). Isso explica a desestabilização no processo de coacervação onde foi utilizado pH 2,5 e 3,5.

A Figura 16 ilustra as etapas do processo de coacervação, onde é possível notar gotículas da emulsão dupla e goma arábica dispersas, pois ambas estão carregadas negativamente, havendo repulsão (Figura 16b). Após adição de ácido a um ponto abaixo do pI da proteína, as cargas opostas fazem com que a proteína que recobria a emulsão dupla e o polissacarídeo (goma arábica) formem um complexo insolúvel em água (Figura 16c).

Figura 16. Processo de coacervação do xilitol: (a) gotículas da emulsão dupla; (b) emulsão dupla e goma arábica em pH 5,5; (c) coacervados após abaixamento do pH para 4,0.

3.4.2 Tamanho de partículas

A análise do tamanho das partículas tem grande importância, pois influencia na textura dos alimentos aos quais as microcápsulas serão adicionadas. Os tamanhos médios das microcápsulas estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Tamanho médio das partículas dos coacervados obtidos nas diferentes formulações estudadas

Tratamentos	Tamanho médio (µm)
Controle	95,37 ± 3,20 ^{bc}
T1	104,69 ± 10,78 ^a
T2	109,31 ± 6,57 ^a
T3	103,97 ± 3,98 ^{ab}
T4	78,45 ± 7,78 ^d
T5	90,21 ± 8,54 ^c
T6	95,07 ± 4,05 ^{bc}
T7	90,32 ± 7,71 ^c
T8	92,36 ± 5,05 ^c
T9	93,29 ± 5,84 ^c

Tamanho médio ± desvio padrão. Médias de tamanho de partículas seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de polímeros foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6, controle) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de polímeros:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9). A proporção de gelatina:goma arábica foi fixada em 1:1.

As microcápsulas de xilitol obtidas por coacervação complexa apresentaram tamanho médio entre 78,45 a 109,31 μm , o que está dentro do esperado para microcápsulas coacervadas. De acordo com Zuidam e Shimoni (2010) as microcápsulas coacervadas devem apresentar tamanho médio entre 10 e 800 μm .

A presença do xilitol não influenciou no tamanho médio das partículas, como pode ser observado na Tabela 8, onde o tratamento controle foi significativamente ($p \leq 0,05$) igual ao T5, que é o tratamento onde se usou os mesmos parâmetros para produção do tratamento controle.

Os resultados obtidos demonstram que, na concentração de polímeros de 5%, há uma diminuição significativa ($p \leq 0,05$) no tamanho médio das partículas proporcional a concentração de núcleo, passando de 95,07 μm (T6) para 78,45 μm (T4). Essa tendência não foi verificada nas demais concentrações de polímeros.

Trabalho realizado por Yang et al. (2014) também relatou essa relação entre concentração de núcleo e tamanho de partícula. Os autores utilizaram quitosana e goma arábica para produção de microcápsulas de óleo de baunilha por coacervação complexa, e observaram que o aumento na taxa de óleo de baunilha:quitosana de 1:1 para 4:1 aumentou o tamanho das partículas.

No presente trabalho foi observado que o tamanho médio das microcápsulas foi menor nas concentrações de 5% e 7,5% de polímeros, quando comparados às microcápsulas obtidas utilizando concentração de 2,5% de polímeros. Portanto, há uma tendência de diminuição do tamanho de partícula à medida que se aumenta a concentração de polímeros. Esse resultado pode ser justificado pelo fato da gelatina e goma arábica serem consideradas bons emulsificantes, fazendo com que as partículas fiquem mais estáveis e não ocorra *caking*.

Yang et al. (2014) (citado acima) também observaram uma diminuição no tamanho médio das partículas com o aumento na concentração de polímeros. Outros trabalhos também demonstram que o aumento na concentração de polímeros, resulta em micropartículas menores. Como por exemplo, trabalho realizado por Comunian et al. (2013), onde produziram microcápsulas de ácido ascórbico obtidas por coacervação utilizando os mesmos materiais de parede (goma arábica e gelatina) obtiveram tamanho médio de partículas variando de 51,67 a 83,82 μm , sendo que o tratamento utilizando maior concentração de polímeros (7,5%) e núcleo (100%) foi significativamente ($p \leq 0,05$) inferior aos demais. Rocha-

Selmi et al. (2013a), utilizando coacervação complexa para microencapsular aspartame, também observaram que concentrações mais altas de polímeros (5%) resultaram em microcápsulas menores (84,22 μm).

Por outro lado, Bayomi et al. (1998) observaram que microcápsulas de cloridrato de diltiazem produzidas por coacervação tiveram um aumento no diâmetro médio quando aumentou-se a concentração de caseína de 5 para 30%, porém, diminuiu com aumento da concentração de quitosana de 0,5 para 1,5%. A alta concentração de caseína utilizada prejudicou o processo de coacervação, resultando em partículas maiores.

O tipo de material de parede também influencia no tamanho médio dos coacervados. Trabalho realizado por Mendanha et al. (2009) obteve tamanho de partículas ainda menores, variando de 16,24 a 24,12 μm . Neste trabalho, os autores utilizaram isolado proteico de soja e pectina como material de parede do hidrolisado de caseína.

Em trabalho realizado por Li et al. (2009) com microcápsulas de tetracloroetileno obtidas por coacervação complexa utilizando como material de parede gelatina, sulfato de dodecil de sódio (SDS) e carboximetilcelulose de sódio (NaCMC) obtiveram um menor diâmetro médio de partícula com o aumento da concentração de SDS. Os autores afirmam que o SDS desempenha um importante papel durante o processo de microencapsulação, ou seja, a presença de SDS aumenta a interação entre a gelatina e NaCMC e facilita o processo de coacervação complexa.

3.4.3 Microscopia ótica

A Figura 17 apresenta a microscopia ótica das microcápsulas de xilitol coacervadas antes do processo de secagem por liofilização, em todas as formulações estudadas.

Figura 17. Micrografias das microcápsulas de xilitol obtidas por microscopia ótica.

A concentração de polímeros foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de polímeros:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9). A barra corresponde a 10 μm .

Como pode ser observado na Figura 17, as microcápsulas apresentaram predominantemente a forma esférica, sendo o núcleo completamente recoberto pelo material de parede em todos os tratamentos estudados.

Não foi possível afirmar que o aumento na concentração de polímeros e núcleo levou à perda de esfericidade das micropartículas, pois na mesma placa eram encontradas diferentes formas morfológicas, algumas mais ou menos esféricas que outras. Entretanto, Dong et al. (2011) observaram que com o aumento da proporção núcleo/parede de 1:2 para 4:1, a morfologia das microcápsulas passaram de esférica para irregular. Rocha-Selmi et al. (2013a) também concluíram que com o aumento do material de recheio as microcápsulas de aspartame tornam-se menos esféricas. Ambos os estudos utilizaram gelatina e goma arábica para produção das

microcápsulas por coacervação complexa. A diferença nos resultados obtidos pode ser devido à alta concentração de núcleo utilizada (4:1), concentração não estudada no presente trabalho.

No estudo realizado por Comunian et al. (2013) não foi observada diferença na morfologia das microcápsulas de ácido ascórbico obtidas por coacervação complexa quando alterada a concentração de núcleo de 0,5:1 para 1:1. O mesmo ocorreu em trabalho realizado por Mendanha et al. (2009), onde a morfologia das microcápsulas de hidrolisado de caseína por coacervação complexa utilizando isolado proteico de soja e pectina como material de parede não foi alterada com o aumento da concentração de núcleo de 0,5:1 para 1,5:1.

Como o material de parede dos coacervados é transparente, pode-se ver claramente que a maioria das microcápsulas apresentou uma estrutura multinucleada. Entretanto, quando se utilizou apenas 50% de núcleo (T1, T4 e T7) foi observado formação de coacervados praticamente sem núcleo. À medida que se aumentou a concentração de núcleo houve um aumento no número de microcápsulas multinucleadas.

3.4.4 Microscopia confocal de varredura

A microscopia confocal nos permite diferenciar o material de parede do núcleo utilizando diferentes corantes. A micrografia das microcápsulas de xilitol obtidas por microscopia confocal pode ser observada na Figura 18.

Figura 18. Microcápsulas de xilitol coacervadas (T5) obtidas por microscopia confocal de varredura utilizando corante Nile Red. A cor vermelha indica a presença de óleo.

O corante utilizado (nile red) colore apenas gordura, portanto, pela Figura 18 é possível afirmar que a emulsão dupla está realmente recoberta pelo material de parede. Além disso, fica evidente a presença das gotículas da solução de xilitol no óleo, as quais não foram coradas, confirmando a formação da emulsão simples (solução aquosa de xilitol em óleo).

A Figura 18 também evidencia grande quantidade de polímeros em relação a de núcleo, o que pode ser interessante quando o objetivo da encapsulação é proteger, todavia, talvez não seja necessário quando o objetivo é liberar gradualmente.

3.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Através do MEV foi possível observar a superfície de um cristal de xilitol (Figura 19), a qual apresenta estruturas pontiagudas típicas de materiais cristalinos.

Figura 19. Micrografia dos cristais de xilitol obtidas por MEV

Após encapsulação e secagem por liofilização, as microcápsulas também foram analisadas por MEV, obtendo as micrografias apresentadas na Figura 20.

Figura 20. Micrografias obtidas por microscópio eletrônico de varredura (MEV) das microcápsulas coacervadas e liofilizadas produzidas com diferentes proporções de polímeros (goma arábica e gelatina) e núcleo.

Por meio da Figura 20, é possível observar que depois do processo de liofilização, todas as formulações estudadas apresentaram estruturas semelhantes. As microcápsulas formaram uma rede entre elas, perdendo o formato esférico que foi observado antes do processo de liofilização.

Essa estrutura aglomerada das microcápsulas, ligadas umas as outras por pontes sólidas parece ser típico de microcápsulas liofilizadas, pois este mesmo resultado foi observado por outros autores (COMUNIAN et al. 2013; QV; ZENG; JIANG, 2011).

3.4.6 Cor

A análise de cor permite analisar a luminosidade L^* ($L^* = 0$ preto e $L^* = 100$ branco) das microcápsulas e as coordenadas cromáticas a^* ($+a^* =$ vermelho e $-a^* =$ verde) e b^* ($+b^* =$ amarelo; $-b^* =$ azul), de acordo com a Figura 21.

Figura 21. Coordenadas de cor de acordo com o sistema CIELab

A Tabela 9 apresenta os resultados dos parâmetros de cor para o xilitol, para a microcápsula controle (sem xilitol) e para as microcápsulas de xilitol liofilizadas.

Tabela 9. Parâmetros L*, a* e b* para o xilitol e para as microcápsulas obtidas nas diferentes formulações estudadas

Tratamentos	L*	a*	b*
Xilitol	63,20 ± 1,81 ^{ab}	-0,09 ± 0,06 ^a	0,01 ± 0,17 ^e
Controle	65,57 ± 3,68 ^a	-0,62 ± 0,07 ^{bc}	4,94 ± 0,82 ^{bcd}
T1	57,39 ± 4,23 ^b	-0,46 ± 0,17 ^b	3,52 ± 1,03 ^d
T2	64,51 ± 2,59 ^a	-0,58 ± 0,16 ^{bc}	4,28 ± 1,47 ^{bcd}
T3	63,19 ± 2,54 ^{ab}	-0,52 ± 0,14 ^{bc}	4,24 ± 0,67 ^{cd}
T4	66,87 ± 2,12 ^a	-0,71 ± 0,04 ^c	5,80 ± 0,65 ^{ab}
T5	66,31 ± 4,61 ^a	-0,64 ± 0,06 ^{bc}	5,24 ± 0,44 ^{abc}
T6	65,87 ± 4,39 ^a	-0,64 ± 0,15 ^{bc}	4,50 ± 0,40 ^{bcd}
T7	65,82 ± 2,44 ^a	-0,70 ± 0,06 ^c	6,53 ± 0,50 ^a
T8	66,90 ± 3,41 ^a	-0,69 ± 0,07 ^c	5,73 ± 1,01 ^{abc}
T9	67,93 ± 2,17 ^a	-0,71 ± 0,08 ^c	5,39 ± 0,68 ^{abc}

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de polímeros foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6, controle) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de polímeros:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9).

Em relação à luminosidade (L*) das microcápsulas, apenas o T1 ficou menos claro comparado com as demais amostras. Portanto, é possível inferir que o aumento na concentração de polímeros não alterou a claridade das amostras.

Em todos os tratamentos, houve predominância da intensidade do verde (-a*) sobre a intensidade do vermelho (+a*), sendo que o T4, T7, T8 e T9 apresentaram coloração mais próxima do verde do que as demais.

O aumento na concentração de polímeros provocou aumento na coloração amarela (+b*), predominando em relação à coloração azul (-b*). Sendo o T1 significativamente ($p \leq 0,05$) diferente dos demais.

É possível ver claramente a diferença de coloração na Figura 22 entre o xilitol, as microcápsulas obtidas sem presença de xilitol (controle) e as microcápsulas do Tratamento 1.

Figura 22. Imagem para visualização da cor do xilitol (1), das microcápsulas liofilizadas produzidas com a formulação controle - sem xilitol (2) e das microcápsulas liofilizadas produzidas com a formulação T1 (3).

3.4.7 Atividade de Água

Os coacervados obtidos foram liofilizados, com o objetivo de facilitar a aplicação e conferir maior estabilidade para as microcápsulas. Os resultados da atividade de água dos coacervados após processo de secagem por liofilização estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Atividade de água das microcápsulas obtidas nas diferentes formulações estudadas

Tratamentos	Aw
Controle	0,24 ± 0,01 ^{cd}
T1	0,33 ± 0,13 ^{ab}
T2	0,22 ± 0,02 ^{cd}
T3	0,25 ± 0,09 ^{bcd}
T4	0,16 ± 0,04 ^d
T5	0,27 ± 0,08 ^{bc}
T6	0,39 ± 0,08 ^a
T7	0,21 ± 0,21 ^{cd}
T8	0,22 ± 0,04 ^{cd}
T9	0,19 ± 0,03 ^{cd}

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de polímeros foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6, controle) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de polímeros:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9).

Os valores de A_w variaram de 0,16 a 0,39, sendo que o T4 apresentou valor de A_w significativamente ($p \leq 0,05$) inferior aos demais tratamentos, e o T6 significativamente ($p \leq 0,05$) superior. O aumento na concentração de polímeros e núcleo parece não influenciar nos valores de A_w obtidos. Além disso, a amostra controle (sem xilitol) apresentou valores semelhantes às demais amostras, portanto, a presença de xilitol não interfere na A_w das microcápsulas.

Alguns trabalhos encontram valores de atividade de água bem próximos aos encontrados no presente trabalho, variando de 0,37 a 0,51 (COMUNIAN et al. 2013) e 0,26 a 0,29 (SILVA et al. 2012), ambos utilizando coacervação complexa seguida de secagem por liofilização.

Os valores de A_w de água encontrados no presente trabalho são desejáveis, uma vez que valores de atividade de água abaixo de 0,60 favorecem a estabilidade microbiológica das microcápsulas (JAY, 2005).

3.4.8 Umidade

Após o processo de liofilização, as microcápsulas foram analisadas em relação ao teor de umidade. Os resultados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Umidade das microcápsulas obtidas nas diferentes formulações após processo de liofilização

Tratamentos	Umidade (%)
Controle	5,70 ± 0,72 ^c
T1	11,16 ± 1,05 ^a
T2	8,04 ± 1,86 ^b
T3	7,10 ± 1,42 ^{bc}
T4	7,11 ± 1,08 ^{bc}
T5	8,09 ± 1,50 ^b
T6	7,36 ± 1,14 ^{bc}
T7	7,94 ± 1,39 ^b
T8	6,14 ± 0,48 ^{bc}
T9	6,53 ± 1,62 ^{bc}

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de polímeros foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6, controle) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de polímeros:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9). A proporção de gelatina:goma arábica foi fixada em 1:1.

O conteúdo de umidade nas microcápsulas liofilizadas variou de 6,14% (T8) a 11,16% (T1). O tratamento utilizando a menor concentração de polímeros e núcleo (T1) apresentou conteúdo de umidade significativamente ($p \leq 0,05$) superior aos demais tratamentos, mas não tem uma correlação clara.

Outros autores, que também utilizaram o processo de coacervação e secagem por liofilização, encontraram conteúdo de umidade semelhantes e/ou ligeiramente inferiores aos encontrados no presente trabalho (MENDANHA et al. 2009; ROCHA-SELMÍ et al. 2013a; SILVA et al. 2012). Nas microcápsulas de aspartame (ROCHA-SELMÍ et al. 2013a), o conteúdo de umidade variou de 3,99 a 7,42%, nas microcápsulas de licopeno (SILVA et al. 2012) variou de 2,67 a 5,96% e nas de hidrolisado de caseína (MENDANHA et al. 2009) de 1,96 a 4,50%. A diferença nos resultados é devido à utilização de diferentes materiais de parede no processo de microencapsulação.

3.4.9 Higroscopicidade

A higroscopicidade das microcápsulas é o parâmetro que caracteriza o quanto de água estes materiais absorvem em um ambiente com umidade relativa e temperatura controlada. Os resultados estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Higroscopicidade dos ingredientes utilizados e das microcápsulas liofilizadas obtidas nas diferentes formulações estudadas

Tratamentos	Higroscopicidade (g/100g)
Xilitol	$1,77 \pm 0,47^f$
Gelatina Suína	$8,38 \pm 0,13^{cd}$
Goma Arábica	$13,69 \pm 0,21^a$
Controle	$9,61 \pm 0,43^{bc}$
T1	$4,61 \pm 1,13^e$
T2	$9,90 \pm 1,41^{bc}$
T3	$9,47 \pm 1,93^{bc}$
T4	$6,58 \pm 0,41^d$
T5	$9,74 \pm 1,97^{bc}$
T6	$8,54 \pm 1,19^c$
T7	$10,93 \pm 1,68^b$
T8	$11,23 \pm 1,42^b$
T9	$11,24 \pm 1,70^b$

Média $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de polímeros foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de polímeros:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9).

Todas as microcápsulas apresentaram valores de higroscopicidade baixos, variando de 4,61 g/100g (T1) a 11,24 g/100g (T9), o que confere boa estabilidade durante a embalagem e estocagem, evitando *caking* das partículas. Pode-se observar que o aumento na concentração de polímeros aumentou o valor da higroscopicidade, possuindo valores de higroscopicidade próximo aos dos polímeros utilizados, porém esse aumento não foi significativo ($p \leq 0,05$) para alguns tratamentos. Tal resultado pode ser indicativo que havia polímero em excesso

nesses sistemas, o que pode ser confirmado pela micrografia obtida na análise confocal de varredura (Figura 18).

Em outros trabalhos essa relação entre a higroscopicidade e a concentração de polímeros não foi observada. Nori et al. (2011) encontraram valores de higroscopicidade entre 33,46 e 34,10 g/100g; Rocha-Selmi et al. (2013a) entre 10,73 e 13,43 g/100g e Silva et al. (2012) entre 33,4 e 36,8 g/100g. Todos esses autores utilizaram o método de coacervação complexa para a microencapsulação de extrato de própolis, aspartame e licopeno respectivamente.

Não foi observado relação entre a concentração de núcleo e valores de higroscopicidade. Entretanto, essa relação foi observada no trabalho realizado por Mendanha et al. (2009). Esses autores observaram aumento nos valores da higroscopicidade de microcápsulas obtidas por coacervação complexa utilizando isolado proteico de soja e pectina como material de parede, diretamente proporcional à concentração de núcleo (hidrolisado de caseína) utilizado.

3.4.10 Solubilidade

A solubilidade das microcápsulas é um fator importante, pois determina em que tipo de alimentos poderão ser aplicadas, dependendo da sua funcionalidade. Os valores de solubilidade das microcápsulas estudadas no presente trabalho estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Solubilidade em água dos ingredientes utilizados e das microcápsulas obtidas nas diferentes formulações estudadas

Tratamentos	Solubilidade (%)
Xilitol	92,67 ± 2,48 ^a
Gelatina Suína	93,14 ± 1,01 ^a
Goma Arábica	46,68 ± 2,58 ^b
Controle	7,45 ± 0,03 ^{fg}
T1	5,31 ± 0,82 ^h
T2	6,25 ± 1,39 ^{gh}
T3	7,96 ± 2,04 ^{fg}
T4	8,65 ± 1,25 ^{ef}
T5	8,96 ± 0,92 ^{ef}
T6	10,28 ± 1,64 ^{de}
T7	11,37 ± 2,09 ^d
T8	11,94 ± 0,46 ^d
T9	13,90 ± 2,63 ^c

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de polímeros foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6, controle) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de polímeros:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9). A proporção de gelatina:goma arábica foi fixada em 1:1.

O xilitol é altamente solúvel em água (92,67%). Depois do processo de microencapsulação e secagem por liofilização, as microcápsulas de xilitol tiveram valores de solubilidade variando de 5,31 a 13,90%. Portanto, é possível reduzir a solubilidade deste ingrediente em até dez vezes pelo processo de liofilização. Este resultado pode ser considerado bastante positivo, pois microcápsulas com solubilidade reduzida não liberariam o núcleo prontamente durante a mastigação.

Os valores de solubilidade das microcápsulas aumentaram significativamente ($p \leq 0,05$) com o aumento da concentração de polímeros e núcleo. Quando se usa uma alta concentração de polímeros e núcleo, é possível que uma parte destes materiais não estejam envolvidos no complexo, resultando em aumento no valor da solubilidade da microcápsula.

Resultados semelhantes foram encontrados por Mendanha et al. (2009), com microencapsulação por coacervação complexa de hidrolisado de caseína, que determinaram valores de solubilidade entre 1,79 a 6,18%, sendo que os valores para este parâmetro foram maiores à medida que se aumentou a concentração de núcleo. Segundo os autores, o aumento da solubilidade registrado foi devido à presença de hidrolisado de caseína não encapsulado, o qual possuía alta afinidade com a água.

Trabalho realizado por Rocha-Selmi et al. (2013a) produzindo microcápsulas de aspartame por coacervação complexa e utilizando os mesmos materiais de parede do presente estudo encontraram valores de solubilidade variando de 9,46 a 21,37% mas não encontraram uma relação entre concentração de polímeros ou núcleo com o aumento da solubilidade.

De acordo com Prata (2006), a proporção entre os biopolímeros influencia a solubilidade dos complexos. Segundo a autora, a estequiometria de um complexo eletrostático de biopolímeros insolúvel tende a satisfazer as condições de sua eletroneutralidade, e a neutralização das cargas pode reduzir a rigidez das cadeias pela diminuição nas interações repulsivas de grupos de mesma carga, o que diminui consequentemente a solubilidade. No presente trabalho, a proporção de gelatina e goma arábica foi 1:1 em todos os tratamentos, portanto não foi possível verificar esse efeito.

Microcápsulas que apresentam alta solubilidade em água se desfazem em solução aquosa, liberando assim o material ativo. No presente trabalho, todas as microcápsulas obtidas apresentaram baixa solubilidade em água, permitindo assim uma boa estabilidade destas em meio aquoso, o que favorece o controle da liberação do xilitol, que no caso deste trabalho, espera-se que seja no momento da mastigação.

3.4.11 Isotermas de Sorção

As isotermas de sorção de água é uma relação de equilíbrio entre a capacidade de retenção de água do alimento sólido e a atividade de água ou umidade relativa do meio de armazenamento a uma temperatura constante. As informações derivadas das isotermas de sorção são úteis para estudar e controlar

processos de concentração e desidratação; formular misturas de alimentos de modo a evitar a transferência de umidade entre os ingredientes; determinar as propriedades do material de embalagem; determinar o conteúdo de umidade que reduzirá o crescimento de microrganismos; e para prever a estabilidade física e química dos alimentos em função de mudanças em seu conteúdo de água (DAMODARAN; PARKIM; FENNEMA, 2010).

De acordo com Spada et al. (2013) o estudo de isotermas de sorção em microcápsulas é importante para entender como elas se comportam em diferentes ambientes, e assim, é possível definir em quais tipos de alimentos elas poderão ser incorporadas.

As umidades de equilíbrio dos pós obtidos, mantidos em diferentes condições de umidade relativa a 25°C são apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14. Umidade de equilíbrio dos pós obtidos armazenados em diferentes condições de umidade relativa a 25°C.

Aw	U _{eq} (g água / g de matéria seca)								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
0,164	0,10 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
0,245	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01
0,462	0,14 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01
0,675	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,05	0,13 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,01
0,770	0,16 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,18 ± 0,01
0,845	0,24 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,23 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,25 ± 0,01

Média ± desvio padrão. A concentração de polímeros foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6) e 7,5% (T7, T8, T9). n=3. A proporção de polímeros:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9). A proporção de gelatina:goma arábica foi fixada em 1:1.

A concentração de material de parede e núcleo parece não influenciar na capacidade de adsorção de água, uma vez que todos os tratamentos apresentaram valores semelhantes quando armazenados sob mesma umidade relativa (Tabela 14). Este resultado não era esperado, uma vez que a concentração de polímeros influenciou no valor da higroscopicidade.

Os dados foram ajustados a modelos disponíveis na literatura para isotermas de sorção (Tabela 7). O modelo PELEG forneceu o melhor ajuste aos dados, uma vez que apresentou os maiores coeficientes de determinação (R^2), variando de 0,64 a 0,97 e os menores desvios relativos médios (DR), variando de 2,14% a 6,01%. Os parâmetros obtidos para o modelo PELEG estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Parâmetros de ajuste para o modelo PELEG de isotermas de sorção de umidade a 25°C

Tratamentos	Parâmetros Modelo PELEG					
	K_1	K_2	N_1	N_2	R^2	DR (%)
T1	0,10	0,10	0,47	0,47	0,64	2,14
T2	0,12	0,12	0,89	0,89	0,97	4,02
T3	0,12	0,12	0,85	0,85	0,91	4,56
T4	0,13	0,13	0,80	0,80	0,79	4,09
T5	0,10	0,10	0,61	0,61	0,84	2,36
T6	0,12	0,12	0,82	0,82	0,90	4,40
T7	0,13	0,13	0,82	0,82	0,90	4,55
T8	0,13	0,13	1,03	1,03	0,92	4,74
T9	0,13	0,13	1,02	1,02	0,89	6,01

Onde K_1 , N_1 , K_2 , N_2 são as constantes do modelo, R^2 é o coeficientes de determinação e DR o desvio relativo médio (DR)

O erro relativo médio (DR) tem sido amplamente utilizado para avaliar a qualidade do ajuste dos modelos de sorção. De acordo com Lomauro, Bakshi e Labuza (1985) um valor de DR abaixo de 5% é indicativo de um bom ajuste para

aplicações práticas. Com exceção do T9, todos os tratamentos apresentaram valores de DR abaixo de 5%, o que garante um bom ajuste dos dados.

De acordo com Al-Muhtaseb, McMinn e Magee (2004) Peleg propôs em 1993 um modelo de quatro parâmetros que pode ser usado tanto para isotermas sigmoidais e não sigmoidais e que se ajusta tão bem ou melhor que o modelo de GAB.

Alguns estudos também encontraram o melhor ajuste dos dados utilizando o modelo PELEG, porém não utilizaram o processo de coacervação e sim o processo de atomização dos extratos. Dentre eles, estão o trabalho realizado por Alexandre, Figueirêdo e Queiroz (2007) com pitanga em pó e trabalho realizado por Spada et al. (2013) com β -caroteno.

Poucos estudos foram encontrados na literatura sobre isotermas de sorção em microcápsulas coacervadas. Entre eles, pode-se citar o trabalho de Rocha-Selmi et al. (2013a), que microencapsularam aspartame utilizando goma arábica e gelatina no processo de coacervação complexa. No entanto, ao contrário do presente estudo, observaram que as microcápsulas tiveram um melhor ajuste no modelo GAB, quando comparado ao modelo BET e Peleg.

Segundo Lomauro, Bakshi e Labuza (1985) as razões para não se ter uma única equação para isotermas inclui: (a) a queda da atividade de água nos alimentos é devido a uma combinação de fatores, cada um pode ser predominante em uma dada atividade de água; (b) as isotermas de sorção de umidade de alimentos representam as propriedades higroscópicas integradas de muitos componentes cujas propriedades de sorção pode mudar devido às interações físicas e/ou químicas causadas por aquecimento ou outros pré-tratamentos; e (c) como um alimento absorve ou desorve água, mudanças na dimensão e propriedades de transferência de umidade que afetam a taxa de sorção podem mudar.

As isotermas de sorção ajustadas por meio do modelo PELEG estão apresentadas na Figura 23.

Figura 23. Isotermas de sorção de todos os tratamentos estudados ajustadas pelo modelo PELEG

Pela Figura 23 observa-se que cada isoterma indica que o conteúdo da umidade de equilíbrio aumenta com o aumento da atividade de água.

3.4.12 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho da goma arábica, gelatina, PGPR, óleo de milho, xilitol e das microcápsulas são mostrados na Figura 24

Figura 24. Espectros de infravermelho dos ingredientes e das microcápsulas

Analisando-se os espectros, pode-se afirmar que todos os tratamentos apresentaram estruturas semelhantes, diferenciando-se apenas na intensidade dos picos, o que está relacionado com menor ou maior quantidade do composto utilizado.

O espectro de xilitol mostrou vibrações intensas entre 3432 e 3198 cm^{-1} . Estes picos, de acordo com Silverstein, Webster e Kiemle (2006), correspondem às ligações OH. Estes resultados são consistentes com os obtidos por Salaün et al. (2011) que observaram um espectro de xilitol puro muito semelhante ao desse estudo, com vibrações em 3420, 3368 e 3300 cm^{-1} .

O óleo de milho e emulsificante PGPR mostraram espectros muito similares. Os picos observados a 2926 e 2857 cm^{-1} correspondem à deformação axial de CH. Estes picos permaneceram nas microcápsulas analisadas.

Durante a coacervação complexa, os grupos carboxílicos dos polissacarídeos interagem com os grupos amino das proteínas para formar um complexo contendo uma ligação amida. Através da análise de FTIR foi possível confirmar a formação de amidas nas microcápsulas, o que confirma a ocorrência da coacervação complexa. O pico que aparece em 3313 cm^{-1} no espectro da gelatina é característico de grupos amina (com carga positiva), e o pico que aparece com baixa intensidade a 2939 cm^{-1} no espectro da goma arábica é característico de grupos carboxílicos (carregadas negativamente). A ligação de cargas positivas e negativas (ou seja, grupos amino e carboxílicos) promove o processo de coacervação, e a formação de amidas. Um pico pode ser observado aproximadamente a 1651 cm^{-1} no espectro das microcápsulas, que pode indicar a presença de uma amida, confirmando a formação do complexo. Esse efeito também foi observado por outros autores (COMUNIAN et al. 2013; ROCHA-SELMÍ et al. 2013a) que utilizaram goma arábica e gelatina no processo de coacervação complexa.

De acordo com Moser, Cornelio e Telis (2013) FTIR é amplamente utilizado na indústria de alimentos para fornecer informações valiosas sobre a estrutura e sobre a concentração de grupos funcionais químicos dentro do material. Segundo os autores o conhecimento sobre as interações que ocorrem podem ser úteis para promover a elaboração de alimentos saudáveis e que possa atender as necessidades de pessoas que têm restrições alimentares, mantendo as propriedades tecnológicas e sensoriais do produto.

3.4.13 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura é uma técnica de caracterização do material que mede as temperaturas e os fluxos de calor associados com a transição térmica do material. O princípio básico da técnica é a medida da diferença em energia absorvida pela substância de interesse e pelo material de referência. Mudanças no estado físico ou químico do material quando aquecido ou resfriado geralmente resulta em uma mudança no nível de energia. Essas transições podem ser endotérmicas (nesse caso a energia é absorvida) ou exotérmicas (nesse caso a energia é liberada) (NOLLET, 2004).

O DSC pode ser útil para simular muitas condições de processamentos térmicos encontradas na produção de alimentos, além de fornecer informações sobre mudanças conformacionais específicas resultantes de uma etapa do processo em particular (NOLLET, 2004). No presente trabalho, o DSC foi realizado com o objetivo de identificar o comportamento térmico das matérias-primas utilizadas e das microcápsulas produzidas com diferentes formulações.

Os termogramas obtidos por DSC de todas as formulações analisadas podem ser observados na Figura 25.

Figura 25. Curvas de DSC obtidas nos tratamentos estudados

Pode-se observar que as curvas obtidas pelo DSC foram bastante semelhantes para todas as microcápsulas estudadas, portanto, a mudança na concentração de polímeros e núcleo não interfere intensamente no comportamento térmico das mesmas.

A comparação das curvas das matérias primas com as curvas das microcápsulas obtidas pelo DSC pode ser visualizada na Figura 26.

Figura 26. Curvas de DSC obtidas para o xilitol puro (cristalino), óleo de milho, gelatina suína, goma arábica e microcápsula do T7

O ponto de fusão no óleo ocorreu na temperatura de -19,84 °C. Essa baixa temperatura de fusão pode ser justificada pelo alto número de insaturações

presentes na sua composição. Após o processo de microencapsulação, a temperatura de fusão da fase oleosa continua praticamente a mesma, porém a sua entalpia é reduzida de 65,03 J/g (óleo puro) para 11,00 J/g (T7).

A gelatina e a goma, além dos picos de fusão, apresentaram curvas típicas de T_g (temperatura de transição vítrea). A transição vítrea é descrita como o ponto onde materiais duros e sólidos sofrem transformações para uma fase “gomosa” (NOLLET, 2004). A gelatina e a goma arábica apresentaram temperatura de transição vítrea de 67,42 e 57,22 °C, respectivamente, sendo, por isso, a goma menos estável que a gelatina a temperaturas acima de 50 °C. De acordo com Nori et al. (2011) quanto mais alta a T_g maior a estabilidade do material. Isso porque quando a temperatura de estocagem é maior que a temperatura de vitrificação várias reações químicas são aceleradas devido ao aumento na mobilidade interna dos reagentes e difusividade ao oxigênio (QV; ZENG; JIANG, 2011).

O xilitol apresentou temperatura de fusão de 98,95 °C, sendo portanto, bastante estável a temperatura ambiente, além de apresentar elevada entalpia (258,90 J/g), o que está de acordo com os valores encontrados por Salaün et al. (2009).

A entalpia de transição (ΔH) é definida como a soma total de energia requerida para uma transição ocorrer (NOLLET, 2004). Essa alta energia absorvida pelo xilitol é que proporciona a este ingrediente a sensação de refrescância quando é dissolvido.

Nenhuma microcápsula apresentou temperatura de transição vítrea, mas apresentaram picos endotérmicos que podem corresponder a temperatura de fusão. Comparando-se a curva da microcápsula com os demais ingredientes, nota-se que existem dois picos, sendo que o primeiro corresponde ao pico da fase oleosa e o segundo ao pico do complexo gelatina e goma arábica.

O pico do xilitol não aparece em nenhum momento e por isso, pode-se concluir que o xilitol presente na microcápsula não está no estado cristalino, e portanto, não fornece a refrescância desejada quando a microcápsula é dissolvida na boca. Conclui-se que o processo de liofilização não foi eficiente para transformar o xilitol do estado amorfo para o estado cristalino.

Trabalho realizado por Salaün et al. (2009) conseguiram microencapsular o xilitol de maneira que ele permanecesse no estado cristalino. Para isso usaram um

processo químico conhecido como polimerização interfacial. As microcápsulas de xilitol apresentaram uma entalpia de 158,6 J/g, ou seja, comparando com a entalpia do xilitol puro obtida (248,7 J/g), os autores concluíram que 63,8% de xilitol estava no estado cristalino.

3.4.14 Eficiência de Encapsulação (EE)

A eficiência de encapsulação é de extrema importância para definir qual a concentração de material de parede e núcleo é a ideal para aprisionar melhor o agente ativo. A concentração de xilitol foi quantificada em todos os tratamentos, e essa concentração relacionada com a quantidade total de xilitol adicionado na produção da microcápsula, fornecendo assim a eficiência de encapsulação. Os resultados estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16. Eficiência de Encapsulação (EE) das microcápsulas de xilitol obtidas por coacervação complexa

Tratamentos	EE (%)
T1	44,69 ± 12,12 ^{bcd}
T2	32,84 ± 5,84 ^{cd}
T3	31,42 ± 5,61 ^d
T4	44,27 ± 10,67 ^{bcd}
T5	47,57 ± 14,64 ^b
T6	46,11 ± 9,18 ^{bc}
T7	71,93 ± 9,19 ^a
T8	63,94 ± 8,03 ^a
T9	62,13 ± 6,65 ^a

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de polímeros foi de 2,5% (T1, T2, T3), 5,0% (T4, T5, T6) e 7,5% (T7, T8, T9). A proporção de polímeros:núcleo foi de 1:0,5 (T1, T4, T7); 1:1 (T2, T5, T8) e 1:1,5 (T3, T6, T9). A proporção de gelatina:goma arábica foi fixada em 1:1.

A EE variou de 31,42% (T3) a 71,93% (T7), e foi significativamente ($p \leq 0,05$) influenciada pela concentração de polímeros e núcleo. As formulações utilizando 7,5% de polímeros (T7, T8, T9) tiveram uma eficiência de encapsulação significativamente ($p \leq 0,05$) superiores às demais. Este resultado indica que, quando presente na concentração de 7,5%, os polímeros foram capazes de recobrir maior quantidade de núcleo, o que é de extrema importância para garantir a funcionalidade da microcápsula, assim como a capacidade de liberação gradual do núcleo.

Todos os tratamentos utilizando uma proporção de polímero:núcleo de 1:1 (T2, T5 e T8) foram mais eficientes do que os tratamentos que utilizaram a proporção de 1:1,5 (T3, T6 e T9). Este resultado confirma a hipótese de que uma quantidade insuficiente de polímeros resulta em alta concentração de núcleo livre, ou seja, em uma quantidade elevada de núcleo que não está encapsulado, e que, por conseguinte, é perdido durante o processo de encapsulação.

O mesmo ocorreu em trabalho realizado por Jun-xia, Hai-yan e Jian (2011), onde obtiveram alta eficiência (90%) na microencapsulação de óleo de laranja por coacervação complexa, mas observaram uma queda na eficiência com o aumento na concentração do material de recheio de 10 a 70%. Segundo esses autores, o principal objetivo de um bom material de parede é cobrir e selar por inteiro todo o material de recheio durante o processamento e estocagem, portanto alta concentração de material de recheio resulta em redução da retenção.

Geralmente, a microencapsulação utilizando a técnica de coacervação complexa para microencapsulação de agentes ativos hidrofóbicos obtêm alta eficiência de encapsulação. Por exemplo, na microencapsulação de oleoresina de páprica e óleo de soja por Alvim e Grosso (2010) a eficiência de encapsulação foi de 96,1 a 98,3%. Qv, Zeng e Jiang (2011) também obtiveram alta eficiência de encapsulação (85%) trabalhando com luteína. Silva et al. (2012) obtiveram eficiência média de 90% na encapsulação de licopeno. Yang et al. (2014) microencapsularam óleo de baunilha e obtiveram eficiência variando de 62,4 a 94,2%, sendo que esta menor eficiência (62,4%) foi na formulação utilizando 4:1 de núcleo em relação ao material de parede.

Os valores de EE obtidos no presente trabalho não foram tão elevados como aqueles dos estudos citados acima. No entanto, Rocha-Selmi et al. (2013a) microencapsularam aspartame com os mesmos materiais de parede e metodologia

de encapsulação do presente trabalho, e obtiveram valores de EE entre 45,15 a 71,70%. Os mesmos autores também microencapsularam sucralose (ROCHA-SELMI et al. 2013b) nas mesmas condições e obtiveram EE variando de 43,04 a 89,44%. Essa semelhança com os resultados obtidos no presente trabalho é devido ao fato de que, em todos os casos, o núcleo era hidrofílico, e altamente solúvel em água.

A microencapsulação de agentes hidrofílicos por coacervação complexa geralmente apresentam baixa EE. Saravanan e Rao (2010) analisaram a eficiência de encapsulação de metronidazol cloridrato por coacervação complexa utilizando diferentes materiais de parede (pectina-gelatina e alginato-gelatina) concluíram que em ambos os agentes foram pobremente encapsulados. Bayomi et al. (1998) utilizaram quitosana e caseína como material de parede para microencapsular, por coacervação complexa, cloridrato de diltiazem e também obtiveram baixa eficiência de encapsulação (14,5 a 53,7%). Os autores justificam a baixa EE ao escape das moléculas durante o processo de coacervação, devido à sua alta solubilidade em água.

Portanto, a adição de uma etapa de emulsão do agente ativo em óleo antes do processo de coacervação pode aumentar a eficiência de encapsulação, tal como demonstrado no presente trabalho, e no trabalho realizado por Rocha-Selmi et al. (2013a e 2013b). Todos os resultados demonstraram eficiências de encapsulação superiores a de outros trabalhos que utilizaram um núcleo hidrofílico e não acrescentaram a etapa de emulsificação (BAYOMI et al. 1998; SARAVANAN; RAO, 2010).

3.4.15 Controle de Liberação

O controle de liberação do xilitol in vitro foi estudado com o intuito de analisar a taxa de liberação do xilitol na presença de saliva artificial, simulando o ambiente encontrado na boca no momento da mastigação da goma de mascar. Este estudo foi realizado em saliva artificial, pois é esperado que a liberação gradual do xilitol ocorra durante a mastigação e por causa de um estudo realizado por Haahr et al. (2004), que avaliou vários parâmetros envolvidos na liberação de aroma da goma de

mascar, e o volume de saliva presente na boca foi considerado extremamente importante para a liberação do aroma.

A quantidade de xilitol liberado das microcápsulas coacervadas e secas por liofilização na presença de saliva artificial estão apresentadas na Figura 27.

Figura 27. Perfil de liberação do xilitol das microcápsulas coacervadas e liofilizadas utilizando diferentes concentrações de material de parede:núcleo, sendo T2 (2,5:2,5); T5 (5,0:5,0) e T8 (7,5:7,5).

Todos os tratamentos analisados tiveram uma liberação acima de 70% nos primeiros vinte minutos. Essa alta liberação inicial do agente ativo é denominada, de acordo com Lakkis (2007), “liberação burst”. Este efeito pode ser justificado pela hidrofiliabilidade do xilitol, sendo liberado uma vez que a microcápsula permanece em contato com um solvente polar, como a saliva.

Embora a liberação tenha sido rápida, mesmo com as microcápsulas tendo apresentado valores reduzidos de solubilidade (Tabela 13), não é possível afirmar que este comportamento será reproduzido durante a mastigação, daí a necessidade da aplicação das microcápsulas e de estudos que elucidem seu controle de liberação “in vivo”.

De acordo com Matalanis, Jones e McClements (2011), a liberação do núcleo pode ser induzida pela absorção do solvente pelas microcápsulas. Primeiro, as microcápsulas absorvem o solvente e se expandem, ocorre então, a dissolução do recheio, permeação do recheio pela parede e a difusão deste no solvente (ALVIM, 2005; MATALANIS; JONES; McCLEMENTS, 2011).

Saravanan e Rao (2010) microencapsularam um fármaco hidrofílico (diclofenaco de sódio) por coacervação complexa utilizando pectina e gelatina e alginato e gelatina como material de parede. Assim como no presente trabalho, ocorreu liberação “burst”. De acordo com os autores, esse efeito foi devido ao pouco

fármaco encapsulado ou fármaco na superfície das microcápsulas. Resultados semelhantes foram encontrados por Andreani (2008) onde nas primeiras duas horas houve rápida liberação de rodamina, justificando esse efeito pela solubilização rápida no meio de liberação (solução a 37°C e pH 7,4) dos cristais de rodamina presentes na superfície das microesferas.

Esse efeito também é observado quando o núcleo é hidrofóbico. Alvim e Grosso (2010), utilizando coacervação complexa para microencapsular oleoresina, observaram liberação acentuada nos primeiros 15 minutos de experimento. Yang et al. (2014) também observaram efeito “burst” na liberação de óleo de baunilha microencapsulado por coacervação complexa utilizando quitosana e goma arábica como materiais de parede. Ambos os autores justificam esse efeito *burst* em razão da parcela de núcleo não encapsulado, aderido na face externa das micropartículas.

Uma alternativa para ajudar a reter o núcleo por mais tempo dentro da cápsula seria a adição de reticulantes como glutaraldeído e transglutaminase.

Porém, no trabalho realizado por Alvim e Grosso (2010) a liberação do conteúdo de oleoresina das micropartículas reticuladas com transglutaminase foi muito parecida com a apresentada pelas partículas sem reticulação, indicando que, apesar das ligações entre as moléculas de polímero da matriz, a reação promovida pela enzima não interferiu significativamente na porosidade das micropartículas, diferente do observado para o glutaraldeído, quando utilizado em altas concentrações. Porém, esta substância é tóxica e não pode ser usada em alimentos.

3.5 CONCLUSÃO

Considerando os objetivos propostos e os resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que é possível encapsular xilitol utilizando a técnica de emulsão dupla seguida por coacervação complexa e liofilização.

As microcápsulas obtidas são esféricas em meio aquoso, mas não apresentam formato bem definido na forma liofilizada. Apresentam valores de A_w e umidade baixos, o que favorece a estabilidade microbiológica. Além disso, a baixa higroscopicidade obtida protege o xilitol da umidade e evita *caking* das partículas. Todos os tratamentos apresentaram pequenos tamanhos de partículas, os quais,

provavelmente, não irão interferir nas características sensoriais dos alimentos que serão aplicados.

As microcápsulas apresentam baixa solubilidade em água, todavia são capazes de liberar cerca de 70% do núcleo em 20 minutos na saliva artificial. A eficiência de encapsulação foi relativamente boa para um agente hidrofílico.

A microencapsulação de xilitol utilizando o método emulsão dupla seguida de coacervação complexa pode ser utilizada para prolongar a doçura deste ingrediente, mas não sua refrescância, uma vez que o xilitol se encontra no estado amorfo no produto final. Uma alternativa seria a adição de agentes refrescantes na microcápsula, como por exemplo, o mentol.

Para um trabalho futuro seria interessante secar os coacervados por *spray drying*, para se avaliar a possibilidade de obtenção do xilitol encapsulado na forma cristalina.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, H. V.; FIGUEREDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Isotermas de adsorção de umidade da pitanga em pó. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.7, p.11–20, 2007.
- AL-MUHTASEB, A. H.; McMINN, W. A. M.; MAGEE, T. R. A. Water sorption isotherms of starch powders. **Journal of Food Engineering**, v.61, n.3, 297–307, 2004.
- AL-MUHTASEB, A. H., McMINN, W. A. M., & MAGEE, T. R. A. Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food products: A Review. **Institution of Chemical Engineers**, v.80, p.118–128, 2002.
- ALVIM, I. D. **Produção e caracterização de micropartículas obtidas por spray drying e coacervação complexa e seu uso para alimentação de larvas de peixes**. 2005. 243 f. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- 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**, v.30, n.4, p.1069–1076, 2010.
- ANDREANI, L. **Desenvolvimento e caracterização de microesferas de glúten de trigo para utilização em sistemas de liberação controlada**. 2008. 77 f. Dissertação (mestrado). Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

BAYOMI, M. A.; AL-SUWAYEH, S. A.; EL-HELW, A. M.; MESNAD, A. F. Preparation of casein-chitosan microspheres containing diltiazem hydrochloride by an aqueous coacervation technique. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v.73, n.4, 187–192, 1998.

CAI, Y.Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. **JFS: Sensory and Nutritive Qualities of Food Production**, v.65, n.6, p.1248–1252, 2000.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.6, n.4, p.420–428, 2005.

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.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

DICKINSON, E. Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. **Trends in Food Science & Technology**, v.9, p.347–354, 1998.

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, n.3, 455–460, 2011.

GUZEY, D.; McCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.128-130, p.227–248, 2006.

HAAHR, A. M.; BARDOW, A.; THOMSEN, C. E.; JENSEN, S. B.; NAUNTOFTE, B.; BAKKE, M.; ADLER-NISSEN, J.; BREDIE, W. L. P. Release of peppermint flavour compounds from chewing gum: effect of oral functions. **Physiology & Behavior**, V.82, n.2-3, p.531–540, 2004.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicas para análises de alimentos**. 4.ed. São Paulo, 2004. 1004p.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6.ed. Artmed, 2005. 712p.

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.

KLEMMER, K. J.; WALDNER, L.; STONE, A.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. Complex coacervation of pea protein isolate and alginate polysaccharides. **Food Chemistry**, v.130, n.3, p.710–715, 2012.

LABUZA, T. P. **Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement and use**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1984.

LAKKIS, J. M. Introduction. In: LAKKIS, J.M. **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**. Blackwell Publishing, 2007. Cap.1, p.1-12.

LI, W.; WU, G.; CHEN, H.; WANG, M. Preparation and characterization of gelatin/SDS/NaCMC microcapsules with compact wall structure by complex coacervation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.333, n.1-3, p.133–137, 2009.

LOMAURO, C. J.; BAKSHI, A. S.; LABUZA, T. P. Evaluation of food moisture Sorption Isotherm Equations: Part I: Fruit, vegetable and Meat Products. **Lebensmittel Wissenschaft Und Technologie**, v.18, p.111–117, 1985.

LV, Y.; ZHANG, X.; ABBAS, S.; KARANGWA, E. Simplified optimization for microcapsule preparation by complex coacervation based on the correlation between coacervates and the corresponding microcapsule. **Journal of Food Engineering**, v.111, n.2, p.225–233, 2012.

LV, Y.; ZHANG, X.; ZHANG, H.; ABBAS, S.; KARANGWA, E. The study of pH-dependent complexation between gelatin and gum arabic by morphology evolution and conformational transition. **Food Hydrocolloids**, v.30, n.1, p.323–332, 2013.

MARQUES, M. R. C.; LOEBENBERG, R.; ALMUKAINZI, M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. **Dissolution Technologies**, p.15–28, 2011.

MATALANIS, A.; JONES, O. G.; MCCLEMENTS, D. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.8, p.1865–1880, 2011.

MENDANHA, D. V.; MOLINA ORTIZ, S. E.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; MAURI, A.; MONTERREY-QUINTERO, E. S.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. **Food Research International**, v.42, p.1099–1104, 2009.

MOSER, P.; CORNELIO, M. L.; NICOLETTI TELIS, V. R. Influence of the concentration of polyols on the rheological and spectral characteristics of guar gum. **LWT - Food Science and Technology**, v.53, n.1, p.29–36, 2013.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xilitol : Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas**, v.38, p.401–413, 2002.

NOLLET, L. M. L. Differential Scanning Calorimetry in the Analysis of Food. In: BOYE, J. I. **Handbook of Food Analysis (Volume 3)**. 2ed. New York: Marcel Dekker, 2004. p.1837–1853.

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. **Estudo dos parâmetros físico-químicos envolvidos na formação de microcápsulas produzidas por coacervação complexa**. 2006. 242 f. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

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.

ROCHA-SELMÍ, G. A.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; BOLINI, H. M. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. **Food Chemistry**, v.139, n.1-4, p.72–78, 2013a.

ROCHA-SELMÍ, G. A.; THEODORO, A. C.; THOMAZINI, M.; BOLINI, H. M. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Double emulsion stage prior to complex coacervation process for microencapsulation of sweetener sucralose. **Journal of Food Engineering**, v.119, p.28–32, 2013b.

SALAÜN, F.; BEDEK, G.; DEVAUX, E.; DUPONT, D.; DERANTON, D. Investigation of Water Absorption and Diffusion in Microparticles Containing Xylitol to Provide a Cooling Effect by Thermal Analysis. **International Journal of Thermophysics**, v.30, n.4, p.1242–1256, 2009.

SALAÜN, F.; BEDEK, G.; DEVAUX, E.; DUPONT, D.; GENGEMBRE, L. Microencapsulation of a cooling agent by interfacial polymerization: Influence of the parameters of encapsulation on poly(urethane–urea) microparticles characteristics. **Journal of Membrane Science**, v.370, n.1-2, p.23–33, 2011.

SARAVANAN, M.; RAO, K. P. Pectin–gelatin and alginate–gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: Influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical properties of microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, v.80, n.3, p.808–816, 2010.

SILVA, D. F.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ROCHA, G. A.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of Lycopene By Gelatin-Pectin Complex Coacervation. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.36, n.2, p.185–190, 2012.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7.ed. LTC, 2006. 506p.

SPADA, J. C.; NOREÑA, C. P. Z.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Water adsorption isotherms of microcapsules with hydrolyzed pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch as wall material. **Journal of Food Engineering**, v.114, n.1, p.64–69, 2013.

THIES, C. **How to Make Microcapsules Lecture and Laboratory Manual**. St. Louis: Missouri, 1995.

TONON, R. V.; BARONI, A. F.; BRABET, C.; GIBERT, O.; PALLET, D.; HUBINGER, M. D. Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. **Journal of Food Engineering**, v.94, n.3-4, p.215–221, 2009.

YANG, Z.; PENG, Z.; LI, J.; LI, S.; KONG, L.; LI, P.; WANG, Q. Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. **Food Chemistry**, v.145, p.272–277, 2014.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: ZUIDAM, N. J.; NEDOVIC, V. A. **Encapsulation Technologies for active food ingredients and food processing**. New York: Springer, 2010. Cap.2. p.3–30

CAPÍTULO 4. Microencapsulação de mentol por coacervação complexa

RESUMO

O mentol possui agradável sabor e aroma, sendo considerado um dos mais importantes aromatizantes utilizados na indústria de alimentos, porém, devido à sua alta volatilidade, é bastante instável. Assim, o objetivo do trabalho foi desenvolver microcápsulas de mentol utilizando o método de coacervação complexa com o objetivo de evitar sua volatilização e controlar sua liberação, prolongando a sensação de refrescância quando for aplicado na forma encapsulada. O método de microencapsulação utilizado foi a coacervação complexa, sendo que goma arábica e gelatina foram utilizadas como material de parede. Três formulações foram produzidas, variando a concentração de mentol (2, 4 e 6%). As microcápsulas foram caracterizadas quanto ao tamanho médio de partículas, morfologia (microscopia ótica, confocal e eletrônica de varredura), cor instrumental, higroscopicidade, umidade, A_w , solubilidade em água, isotermas de sorção, FTIR, DSC e eficiência de encapsulação. As microcápsulas obtidas apresentaram características adequadas para aplicação em alimentos, como tamanho médio de partículas menores que 100 μm e baixos valores de umidade e atividade de água. Os valores de higroscopicidade e solubilidade das microcápsulas liofilizadas foram baixos. Por meio dos termogramas obtidos por DSC conclui-se que o mentol passa do estado cristalino para o estado amorfo após o processo de microencapsulação, mas isso não interfere na qualidade do aroma, uma vez que a refrescância fornecida por este ingrediente independe do estado físico dele. A eficiência de encapsulação foi alta (aproximadamente 75%), com exceção de um tratamento (T2). Conclui-se que é possível microencapsular mentol utilizando o método de coacervação complexa, pois o núcleo foi completamente recoberto pelo material de parede.

Palavras-chave: DSC, FTIR, solubilidade, isotermas de sorção, refrescância

4.1 INTRODUÇÃO

O mentol possui agradável sabor e aroma, sendo considerado um dos mais importantes aromatizantes utilizados na indústria de alimentos, perdendo apenas para os aromas de baunilha e cítricos (KAMATOU et al. 2013; RAO, 1999).

É um composto que possui propriedades hidrofóbicas, e é aplicado em alimentos como balas, gomas de mascar, licores, chocolate e sorvetes (LV et al. 2012). Além de produtos não alimentícios, como por exemplo, produtos de cuidados da saúde bucal, cosméticos, perfumes, xampus, sabonetes e outros produtos de higiene pessoal, bem como em produtos de limpeza e detergentes (BHATIA et al. 2008; CIOBANU et al. 2013; CROTEAU et al. 2005). É bastante empregado também na área farmacêutica, pois apresenta várias propriedades biológicas, tais como atividade antimicrobiana, anticâncer, anti-inflamatória (KAMATOU et al. 2013) e atividade inseticida contra mosquitos (SAMARASEKERA; WEERASINGHE; HEMALAL, 2008).

A microencapsulação de aromas é muito atraente e amplamente investigada pela ciência de alimentos (ADES et al. 2012; BARANAUSKIENE et al. 2007; BRÜCKNER; BADE; KUNZ, 2007; CIOBANU et al. 2013; DIMA et al. 2014; DONG et al. 2011; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014; HAMBLETON et al. 2008; LIU et al. 2000; LV et al. 2014; MARTINS et al. 2009; MORTENSON; REINECCIUS, 2008; SARKAR et al. 2013; SOOTTITANTAWAT et al. 2005; ZHONG et al. 2009), pois reduz a evaporação do ativo e controla sua liberação durante o armazenamento e aplicação (ADES et al. 2012).

A seleção de processos de microencapsulação é feita por propriedades (físicas e químicas) dos materiais de recheio e cobertura e a aplicação desejada do ingrediente alimentício (DESAI; PARK 2005). O processo de coacervação complexa é bastante indicado quando se objetiva microencapsular um material hidrofóbico, proteger o ativo contra volatilização e controlar a liberação. Este processo de encapsulação consiste de uma separação espontânea de fases pela formação de um complexo insolúvel de polímeros, resultado de interações eletrostáticas entre as macromoléculas (JACKSON; LEE, 1991).

Foram encontrados alguns trabalhos na literatura sobre a microencapsulação de mentol, porém nenhum deles utilizou o método de coacervação complexa. Alguns

autores utilizaram o método de complexação interfacial, utilizando amido e secagem por liofilização (ADES et al. 2012) ou ciclodextrinas e secagem em *spray dryer* (LIU et al. 2000). Outros usaram o método por *spray drying* utilizando como carreadores goma arábica e amido modificado (SOOTTITANTAWAT et al. 2005) ou dextrina e goma arábica (MORTENSON; REINECCIUS, 2008).

Diante disso, a proposta do trabalho foi desenvolver microcápsulas de mentol utilizando o método de coacervação complexa com o objetivo de evitar a volatilização deste aroma e prolongar a sensação de refrescância quando aplicado em alimentos, como por exemplo, gomas de mascar.

4.2 OBJETIVOS

4.2.1 Objetivo geral

- Desenvolver microcápsulas de mentol utilizando o método de coacervação complexa.

4.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar as microcápsulas de mentol produzidas em relação à morfologia, tamanho médio de partículas, atividade de água, higroscopicidade, isotermas de sorção, umidade, solubilidade, cor instrumental, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier e calorimetria diferencial de varredura.
- Quantificar o mentol microencapsulado e definir qual tratamento apresentou a melhor eficiência de encapsulação.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Materiais

Mentol com 99,9% de pureza da Sigma (St. Louis, Missouri, Estados Unidos), gelatina suína tipo B fornecida pela Gelita (Cotia, SP, Brasil), goma arábica fornecida

pela Nexira (Perdizes, SP, Brasil), óleo de milho da marca Liza (Cargill Agrícola S.A., Mairinque, SP, Brasil), ácido fosfórico da Synth (São Paulo, SP, Brasil).

4.3.2 Equipamentos

Placas de agitação magnética com e sem aquecimento digital (marca Ika, modelo ColorSquid Bivolt, São Paulo, SP, Brasil), balança analítica (marca Ohaus, modelo AR2140, São Paulo, SP, Brasil), homogeneizador Ultraturrax (marca Ika, modelo T25-D, Alemanha), mesa agitadora orbital (marca Tecnal, modelo TE-424, Piracicaba, SP, Brasil), pHmetro (marca Marte, modelo MB-10, Santa Rita do Sapucaí, MG, Brasil), analisador de partículas por difração a laser (marca Shimadzu, modelo SALD- 201V, Kyoto, Japão), microscópio ótico (marca Bel Photonics, modelo BIO3, Itália); Liofilizador (marca Terroni, modelo LC 1500, São Carlos, SP, Brasil); Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV (Tabletop Microscope Hitachi, Tóquio, Japão); colorímetro (marca HunterLab, modelo Mini Scan XE, Reston, Estados Unidos); analisador de umidade (marca Ohaus, modelo MB-35, Ohio, Estados Unidos); analisador de atividade de água AQUALAB (marca Decagon Devices, modelo series 3 TE, Pullman, Washington, Estados Unidos); Espectro de infravermelho (Perkin Elmer, Massachusetts, Estados Unidos); DSC TA 2010 controlado por um sistema TA 4000 (TA Instruments, New Castle, Estados Unidos), confocal LSM 780-NLO Zeiss no microscópio Axio Observer Z.1 (Carl Zeiss AG, Alemanha), estufa incubadora BOD (marca Tecnal, modelo TE-391, Piracicaba, SP, Brasil), cromatógrafo gasoso de massa (marca Shimadzu, modelo GC-2010, Auto Injetor AOC-20i, Japão).

4.3.3 Microencapsulação de Mentol

O mentol foi diluído em óleo de milho em diferentes proporções 2, 4 e 6% (em relação à quantidade total de óleo). Esse óleo foi adicionado lentamente em 100 mL de solução de gelatina 5% a 50 °C, na mesma proporção em base seca (5 g), e homogeneizados a 10.000 rpm por 3 minutos, formando uma emulsão O/A. 100 mL de solução aquosa de goma arábica 5% a 50 °C foi lentamente adicionada na emulsão O/A, sob agitação constante, e após, foi adicionado 400 mL de água

destilada a 50 °C. O pH foi ajustado para 4,0 utilizando ácido fosfórico. Foi realizado resfriamento lento em banho de gelo sob agitação até 10 °C e então o material coacervado foi estocado durante 24h a 7 °C para promover a decantação. Os coacervados foram congelados em um freezer (-18 °C) e desidratados por sublimação em liofilizador para caracterização das microcápsulas.

As proporções de núcleo e encapsulantes na formulação das microcápsulas foram definidas com base em experiências prévias com xilitol e com a realização de ensaios preliminares.

Todas as análises de caracterização das microcápsulas de xilitol (Cap. 3) foram realizadas para a caracterização das microcápsulas de mentol, com exceção do controle de liberação.

4.3.4 Quantificação de mentol

A quantificação do mentol foi determinada utilizando cromatógrafo gasoso, equipado com coluna RTX-1 (30 m, 0,25 mm i.d., 0,25 µm espessura do filme). As condições de operação foram as seguintes: temperatura da coluna programada de 80 a 180 °C a uma taxa de 5 °C/min. Hélio (taxa de fluxo de 1,25 mL/min) foi usado como gás de arraste. A quantidade de amostra injetada foi de 1 µL (Split mode de 1:50) e o tempo de cada corrida foi de 20 minutos.

4.3.5 Eficiência de encapsulação do mentol

Foi determinado em função da quantidade de mentol encapsulado nas microcápsulas em relação à quantidade total de mentol adicionado na emulsão. Para quantificar o mentol encapsulado 0,1 g das microcápsulas foram pesadas em eppendorf de 5 mL, adicionou-se 1 mL de metanol com auxílio de pipetador automático e colocou-se em ultrassom por 10 minutos a temperatura ambiente. Os eppendorfs foram centrifugados a 4000 rpm por 5 minutos. Após, o sobrenadante foi retirado com auxílio de uma seringa, filtrado em filtros de 0,45 µm, transferidos para frascos de 2 mL e quantificado por Cromatografia Gasosa (item 4.3.4).

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o processo de coacervação e de liofilização foram obtidos pós brancos, fluidos e com a mesma aparência das microcápsulas de xilitol (Figura 22, do capítulo 3).

4.4.1 Tamanho de partículas

O tamanho médio das partículas está apresentado na Tabela 17.

Tabela 17. Tamanho médio das partículas dos coacervados de mentol obtidos nas diferentes formulações estudadas

Tratamentos	Tamanho médio (μm)
T1	$91,33 \pm 4,45^{ab}$
T2	$90,63 \pm 6,45^b$
T3	$97,86 \pm 3,20^a$

Tamanho médio $\pm$ desvio padrão. Médias de tamanho de partículas seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. $n=9$. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo (solução oleosa contendo mentol) foi de 1:1:1.

Os valores dos tamanhos médios das microcápsulas de mentol foram bastante similares e não foi possível observar tendência clara de aumento ou redução desses valores em função do aumento na concentração de mentol na formulação das microcápsulas.

Esses resultados são bastante semelhantes aos resultados obtidos nas microcápsulas de xilitol, cujos tamanhos variaram de 78,45 a 95,07 μm , nos tratamentos utilizando 5% de polímeros, o que é surpreendente, pois a produção da microcápsula de xilitol envolveu uma etapa adicional no processo de encapsulação, para preparo das emulsões duplas.

Os resultados obtidos diferiram dos determinados por Dong et al. (2007). Estes autores utilizaram os mesmos parâmetros (coacervação complexa, goma arábica, gelatina, velocidade de homogeneização 10.000 rpm por 3 min) do presente

trabalho para microencapsular óleo essencial de hortelã-pimenta e conseguiram obter valores de tamanhos médios de partículas (53 μm) menores que os obtidos no presente trabalho. Entretanto, os autores não elucidam se a análise de tamanho foi realizada antes ou depois do processo de secagem.

Mortenson e Reineccius (2008) também microencapsularam mentol, mas utilizaram *spray-drying* ao invés de coacervação complexa, e obtiveram tamanhos médios de partículas variando de 40 a 90 μm , dependendo do tipo e da concentração dos carreadores utilizados. De acordo com os autores, os produtos formulados com 40% de sólidos tiveram tamanho médio de partícula significativamente maior que os produtos formulados com 30% de sólidos.

4.4.2 Microscopia ótica

A Figura 28 ilustra a morfologia das microcápsulas de mentol em todas as formulações analisadas.

Figura 28. Micrografia das microcápsulas de mentol obtidas por microscopia ótica.

A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo (solução oleosa contendo mentol) foi de 1:1:1.

Assim como observado nas microcápsulas de xilitol, as de mentol apresentaram predominantemente a forma esférica, sendo o núcleo completamente recoberto pelo material de parede em todos os tratamentos estudados. Como o material de parede é transparente é possível confirmar que praticamente todas as

microcápsulas apresentam estrutura multinucleada, ou seja, mais de um núcleo em cada cápsula.

De acordo com Dong et al. (2011) essas características que os coacervados apresentam torna este tipo de microcápsula excelentes reservatórios para o agente ativo, sendo bastante utilizadas quando se deseja liberação controlada.

4.4.3 Microscopia confocal de varredura

A Figura 29 ilustra as micrografias das microcápsulas obtidas por microscopia confocal de varredura.

Figura 29. Micrografia das microcápsulas de mentol obtidas por microscopia confocal de varredura. A concentração de mentol foi de 4,0% (T2). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo (solução oleosa contendo mentol) foi de 1:1:1. O corante utilizado foi Nile Red.

A microscopia confocal permite diferenciar o material de parede do núcleo utilizando diferentes corantes. A fase oleosa, onde está dissolvido o mentol, foi colorida pelo corante utilizado (nile red) e por isso fica evidente que o núcleo (em vermelho) está completamente recoberto pelo material de parede.

O núcleo apresenta-se como uma fase contínua, diferente do núcleo observado nas microcápsulas de xilitol, onde gotículas da solução aquosa de xilitol podiam ser visualizadas dentro da fase oleosa, pois foram preparadas emulsões duplas para encapsulação deste material hidrofílico.

4.4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 30 ilustra as micrografias das microcápsulas de mentol após secagem por liofilização, obtidas através do MEV.

Figura 30. Micrografia das microcápsulas de mentol obtidas por microscopia eletrônica de varredura. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo (solução oleosa contendo mentol) foi de 1:1:1.

As microcápsulas obtidas após a secagem apresentaram formato irregular, superfície lisa e homogênea. Não foi observada a presença de poros e nem rachaduras, o que é um bom indicativo de que o núcleo continuou protegido, mesmo após o processo de liofilização e com a perda do formato esférico. Além disso, se observa formas mais esféricas do que as encontradas nas microcápsulas liofilizadas de xilitol.

As microcápsulas estavam aglomeradas, ligadas umas as outras por pontes sólidas, assim como ocorreu nas microcápsulas de xilitol. Essa mesma característica foi observada por outros autores que utilizaram as mesmas condições do presente trabalho (coacervação complexa, goma arábica e gelatina, e secagem por liofilização) para microencapsulação de ácido ascórbico (COMUNIAN et al., 2013), sucralose (ROCHA-SELMÍ et al. 2013b) e aspartame (ROCHA-SELMÍ et al. 2013a).

Entretanto, Dima et al. (2014) também utilizaram coacervação complexa e secagem por liofilização e encontraram resultados diferentes aos do presente trabalho. Os autores observaram que as microcápsulas após secas apresentaram um formato irregular com uma superfície rígida e dura, cheia de poros e rachaduras. Provavelmente a diferença nos resultados pode ser atribuída a utilização de materiais de parede diferentes. Os autores microencapsularam óleo de pimento (*Pimenta dioica* (L) Merr) utilizando quitosana e k-carragena.

Martins et al. (2009) também obtiveram microcápsulas esféricas após o processo de coacervação e secagem por liofilização, porém as microcápsulas apresentaram superfície rugosa, diferente dos resultados encontrados no presente trabalho. Os autores utilizaram polilático (PLA) na microencapsulação de óleo de tomilho para uso em produtos cosméticos.

Outros autores (DONG et al. 2011; JUN-XIA; HAI-YAN; JIAN, 2011) apresentaram micrografias de microcápsulas de óleos essenciais com superfícies mais rugosas do que as encontradas no presente trabalho, mesmo utilizando coacervação complexa. Porém utilizaram o processo de secagem por *spray-drying* ao invés de liofilização. De acordo com Dong et al. (2011) os coacervados obtidos não foram destruídos pela força centrífuga nem pelas forças de atrito produzidas pelo processo de atomização, o que permite a secagem utilizando *spray-drying*.

4.4.5 Cor instrumental

A cor instrumental das microcápsulas de mentol foi obtida no sistema CIELab e os resultados estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18. Parâmetros L*, a* e b* para as microcápsulas de mentol obtidas nas diferentes formulações estudadas

Trat.	L*	a*	b*
T1	73,46 ± 1,85 ^a	-0,62 ± 0,12 ^a	7,62 ± 0,90 ^a
T2	73,85 ± 2,56 ^a	-0,59 ± 0,07 ^a	7,27 ± 0,26 ^a
T3	73,37 ± 3,64 ^a	-0,63 ± 0,09 ^a	6,92 ± 0,68 ^a

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo (solução oleosa contendo mentol) foi de 1:1:1. Trat. = tratamentos

Observa-se que o aumento na concentração de mentol na formulação das microcápsulas não interferiu significativamente ($p \leq 0,05$) na coloração das microcápsulas, o que era esperado, visto que o composto não apresenta cor.

Todas as microcápsulas apresentaram alta luminosidade, uma vez que os valores de L* foram mais próximos de 100 do que de 0. Em todos os tratamentos, houve predominância da intensidade do verde (-a*) sobre a intensidade do vermelho (+a*). Assim como houve predominância da coloração amarela (+b*) em relação à coloração azul (-b*).

Esses resultados corroboram com os resultados obtidos para as microcápsulas de xilitol, o que era esperado, uma vez que foram usados os mesmos materiais de parede para formulação dessas microcápsulas e núcleos que não interferiam na cor e nem poderiam sofrer Maillard, reação que gera pigmentos.

4.4.6 Atividade de água, Umidade, Solubilidade e Higroscopicidade

A Tabela 19 apresenta os resultados da atividade de água, umidade, solubilidade e higroscopicidade das microcápsulas de mentol coacervadas e liofilizadas.

Tabela 19. Propriedades das microcápsulas de mentol coacervadas e liofilizadas

Trat.*	Aw	Umidade (%)	Solubilidade (%)	Higroscopicidade (g/100g)**
T1	0,15 ± 0,06 ^b	5,78 ± 0,92 ^a	5,40 ± 0,68 ^c	10,09 ± 1,53 ^a
T2	0,19 ± 0,05 ^{ab}	5,85 ± 0,87 ^a	7,92 ± 0,78 ^b	10,42 ± 0,57 ^a
T3	0,25 ± 0,06 ^a	6,44 ± 0,49 ^a	10,46 ± 0,98 ^a	9,37 ± 0,78 ^a

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo (solução oleosa contendo mentol) foi de 1:1:1. *Trat. = tratamentos; ** (g/100g) = gramas de água absorvida por 100 g de pó.

A atividade de água das microcápsulas variou de 0,15 a 0,25 e a umidade variou de 5,78 a 6,44%. Esses baixos valores de Aw e umidade eram esperados, já que se trata de material liofilizado, e são desejáveis, pois favorecem a estabilidade microbiológica das microcápsulas.

Os valores de solubilidade variaram de 5,40 a 10,46%, sendo que o aumento na concentração de mentol provocou um ligeiro aumento da solubilidade das microcápsulas. Esse resultado não era esperado, uma vez que o mentol é apenas ligeiramente solúvel em água (434,5 mg/l de água a 25 °C) (BHATIA et al. 2008), e portanto, mesmo que estivesse na superfície da microcápsula não contribuiria para o aumento da solubilidade. Em geral, os valores de solubilidade foram baixos e bastante similares aos valores de solubilidade encontrados nas microcápsulas de xilitol, garantindo assim, liberação controlada do agente em meio aquoso.

Os valores de higroscopicidade variaram de 9,37 a 10,09 g/100 g, não sendo influenciada pela concentração de mentol. Essa baixa higroscopicidade confere boa estabilidade durante a embalagem e estocagem, evitando *caking* das partículas.

4.4.7 Isotermas de sorção

As umidades de equilíbrio dos pós obtidos, mantidos em diferentes condições de umidade relativa à 25 °C são apresentadas na Tabela 20.

Tabela 20. Umidade de equilíbrio dos pós obtidos armazenados em diferentes condições de umidade relativa a 25 °C.

Aw	U _{eq} (g água / g de matéria seca)		
	T1	T2	T3
0,164	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01
0,245	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01
0,462	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01
0,675	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,01
0,770	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01
0,845	0,22 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,21 ± 0,01

Média ± desvio padrão. n=3. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo (solução oleosa contendo mentol) foi de 1:1:1.

Todos os tratamentos apresentaram valores semelhantes quando armazenados sob mesma umidade relativa. Este resultado era esperado, pois os tratamentos não apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação aos valores de higroscopicidade.

Os dados foram ajustados a modelos disponíveis na literatura para isotermas de sorção (BET, GAB e PELEG). Diferente dos resultados obtidos para as microcápsulas de xilitol, o modelo GAB foi o que apresentou melhor ajuste, uma vez que mostrou os maiores coeficientes de determinação (R^2), variando de 0,98 a 0,99, e os menores desvios relativos médios (DR), variando de 0,20% a 0,59%, os quais estão apresentados na Tabela 21.

Tabela 21. Parâmetros de ajuste para o modelo GAB de isotermas de sorção de umidade a 25°C

Tratamentos	Parâmetros Modelo GAB				
	X_m (%b.s.)	C_{GAB}	K_{GAB}	R^2	DR (%)
T1	0,07	22,81	0,82	0,99	0,51
T2	0,10	6,99	0,62	0,98	0,59
T3	0,07	12,86	0,76	0,99	0,20

Onde X_m conteúdo de umidade da monocamada (g água / g de matéria seca); C_{GAB} , K_{GAB} são as constantes do modelo, R^2 é o coeficientes de determinação e DR o desvio relativo médio (DR)

Como pode ser observado na Tabela 21, os valores de X_m variaram de 0,07 a 0,10% b.s. De acordo com Iglesias, Boquet e Chirife 1977⁹ apud Al-Muhtaseb, McMinn e Magee (2002) o teor de umidade da monocamada corresponde à estabilidade física e química em alimentos desidratados. Nessas condições assegura-se que o material está menos sujeito a alterações deteriorativas (ALEXANDRE; FIGUEREDO; QUEIROZ, 2007).

Pérez-Alonso et al. (2006) analisaram as isotermas de sorção da goma arábica utilizando o modelo GAB e temperatura de 25°C, e encontraram valores de X_m bastante similares com os encontrados no presente estudo (0,08% b.s.). De acordo com os autores, o valor de X_m passou para 0,11% b.s. quando as amostras foram armazenadas na temperatura de 40 °C. A semelhança nos resultados obtidos no presente estudo é justificada pelo fato dos pós terem grande quantidade de goma arábica presente, principalmente na sua superfície.

Outro trabalho (GABAS et al. 2007) demonstrou que a presença de goma arábica tende a diminuir os valores de X_m . De acordo com os autores, polpa de abacaxi em pó secas a vácuo apresentaram valores de X_m de 0,16% b.s. a 20 °C ajustadas pelo modelo GAB. Esses valores passaram para 0,07% b.s. quando adicionou-se 18% de goma arábica à polpa. Esses autores relatam que a presença de goma arábica provavelmente modifica o balanço dos sítios hidrofílicos/hidrofóbicos, promovendo uma menor sorção da água, e diminuindo

⁹ IGLESIAS, H. A.; BOQUET, R.; CHIRIFE, J. On the evaluation of BET constants from the BET isotherm equation. **Journal of Food Science**, v.42, 1387– 1389, 1977.

assim o valor da umidade da monocamada. Portanto, os baixos valores de X_m obtidos no presente trabalho, corroboram com os valores encontrados na literatura.

De acordo com Lewicki (1997) os valores de C_{GAB} podem variar de 5,67 a infinito, o que está de acordo com os resultados encontrados no presente trabalho, onde os valores de C_{GAB} variaram de 6,99 a 22,81. Os valores de C estão relacionados com a temperatura, pois assume-se que as fortes interações entre adsorvente-adsorbato são exotérmicas, produzindo assim, queda de temperatura e aumento de C (PÉREZ-ALONSO et al. 2006). No presente trabalho as isotermas de sorção foram analisadas em uma única temperatura (25 °C), portanto essa relação entre C e temperatura não foi estudada.

Os valores de K_{GAB} variaram de 0,62 a 0,82, estando na faixa esperada para produtos alimentícios. Valores de K menores que 1 são característicos de produtos alimentícios e devem estar na faixa entre 0,24 e 1 (LEWICKI, 1997; ROCHA-SELMI et al. 2013a). De acordo com Gabas et al. (2007) o valor de K proporciona uma medida das interações entre as moléculas em multicamadas com o adsorvente, e tende a situar-se entre o valor da energia das moléculas na monocamada e de água no estado líquido, ou seja, se K for igual a 1, as multicamadas tem propriedades da água líquida.

Poucos estudos são encontrados na literatura sobre isotermas de sorção em microcápsulas coacervadas. Dentre eles, tem-se o trabalho realizado por Rocha-Selmi et al. (2013a) onde utilizaram os mesmos parâmetros do presente trabalho para obter microcápsulas de aspartame por coacervação complexa. Os pós obtidos apresentaram o melhor ajuste utilizando o modelo GAB, assim como no presente trabalho e apresentaram valores de X_m variando de 0,06 a 0,11% b.s.; valores de K variando de 0,6 a 0,8 e valores de C variando de 1,6 a 9,9. Valores muito próximos aos encontrados no presente trabalho.

As isotermas de sorção ajustadas por meio do modelo GAB estão apresentadas na Figura 31.

Figura 31. Isotermas de sorção de todos os tratamentos estudados ajustadas pelo modelo GAB

Através da Figura 31 observa-se que cada isoterma indica que o conteúdo da umidade de equilíbrio aumenta com o aumento da atividade de água.

4.4.8 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho da goma arábica, gelatina, óleo de milho, mentol e das microcápsulas de mentol são mostrados na Figura 32.

Figura 32. Espectros de infravermelho dos ingredientes e das microcápsulas de mentol

Os espectros das microcápsulas de mentol foram bastante semelhantes com os espectros obtidos das microcápsulas de xilitol, portanto, o núcleo não interfere na estruturação química da microcápsula, o que significa que ele foi completamente encapsulado e não interage com o material de parede.

Assim como observado nos espectros das microcápsulas de xilitol, foi possível confirmar a formação de amidas nas microcápsulas, em função do pico que aparece em aproximadamente 1658 cm^{-1} , resultante das ligações entre carboxilas da goma arábica e grupos amino da gelatina, confirmando a formação do complexo.

No espectro do mentol puro é possível notar um pico a 3293 cm^{-1} , o qual corresponde ao grupo hidroxilo. Esse resultado corrobora com os resultados encontrados por Soottitantawat et al. (2005), que observaram um pico em 3232 cm^{-1} , no espectro do L-mentol.

4.4.9 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Os termogramas obtidos por DSC das três formulações analisadas podem ser observados na Figura 33. E uma comparação dos termogramas das matérias primas com os do T1 pode ser visualizada na Figura 34.

Figura 33. Curvas de DSC obtidas nos tratamentos 1 ao 3

Figura 34. Curvas de DSC obtidas para o mentol puro (cristalino), óleo de milho, gelatina suína, goma arábica e a microcápsula de mentol obtida no T1

Pode-se observar que os termogramas obtidos foram bastante semelhantes para todas as formulações estudadas (Figura 33), portanto, a mudança na concentração de mentol não interferiu no comportamento térmico das microcápsulas de mentol. Todas as microcápsulas apresentaram dois picos de fusão, sendo um de aproximadamente -20 °C e outro de 135 °C, relativos à fusão do óleo e da gelatina, respectivamente.

O pico que pode ser visto a aproximadamente 38,6 °C é relativo à fusão do mentol, e não apareceu nos termogramas das microcápsulas, assim como ocorreu nas microcápsulas de xilitol. Isso significa que o mentol está no estado amorfo na microcápsula. Porém, no caso do mentol, este fato não interfere na qualidade sensorial da microcápsula, pois a refrescância fornecida por este ingrediente independe do estado físico em que ele se encontra.

4.4.10 Eficiência de Encapsulação (EE)

A concentração de mentol foi quantificada em todos os tratamentos, e essa concentração relacionada com a quantidade total de mentol adicionado na produção da microcápsula, fornecendo assim a eficiência de encapsulação. Os resultados estão apresentados na Tabela 22.

Tabela 22. Eficiência de Encapsulação (EE) das microcápsulas de mentol obtidas por coacervação complexa

Tratamentos	EE (%)
T1	75,82 ± 8,83 ^a
T2	36,82 ± 0,48 ^b
T3	73,06 ± 3,93 ^a

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo (solução oleosa contendo mentol) foi de 1:1:1.

A EE dos tratamentos T1 e T3 foi bastante elevada, não sendo significativamente ($p \leq 0,05$) diferentes uma da outra. Porém, o T2 apresentou baixa eficiência de encapsulação, sendo que o valor foi significativamente ($p \leq 0,05$) inferior aos demais tratamentos. Esse resultado não era esperado, uma vez que os mesmos parâmetros foram usados em todos os tratamentos, variando apenas a concentração de núcleo.

Normalmente, trabalhos que utilizam a coacervação complexa para microencapsular núcleos hidrofóbicos, obtêm alta EE. Por exemplo, Dima et al. (2014) microencapsularam óleo de pimento e obtiveram EE de 92,16%, quando utilizaram a proporção de 1:1 de quitosana e k-carragena. Yang et al. (2014) microencapsularam óleo de baunilha utilizando quitosana e goma arábica, e obtiveram EE de 84,5% quando utilizaram a proporção de 1:1 de óleo:quitosana. Observa-se que esses autores conseguiram EE pouco acima da obtida no presente trabalho, essa diferença nos resultados provavelmente é devido ao tipo de material

de parede utilizados, da concentração desses e do ativo que está sendo microencapsulado, o qual pode ser mais ou menos volátil.

Mortenson e Reineccius (2008) não utilizaram a coacervação complexa, mas também obtiveram valores altos para EE (acima de 80%) no processo de microencapsulação do mentol. Os autores utilizaram *spray-drying* e dez diferentes carreadores, sendo cinco deles a base de amido e os outros cinco a base de goma arábica.

Outros trabalhos também utilizaram *spray-drying* para microencapsular óleos essenciais. Sarkar et al. (2013) e Fernandes, Borges e Botrel (2014) microencapsularam óleo essencial de menta e de alecrim, respectivamente. Sarkar et al. (2013), utilizaram diferentes carreadores (goma guar hidrolisada, n-octenilo de anidrido succínico e goma arábica) e obtiveram EE variando de 72,98 a 84,19%. Já Fernandes, Borges e Botrel (2014) utilizaram goma arábica e maltodextrina como carreadores e obtiveram 45,45% de eficiência, sendo que esse valor caiu para 29,53% quando substituiu-se a maltodextrina por inulina.

Portanto, os valores de EE variam muito de trabalho para trabalho, pois além de utilizarem diferentes métodos e núcleos, existem diferentes formas de calcular a EE. Além disso, o método de extração do ativo também varia de trabalho para trabalho. Portanto, a EE é mais utilizada para comparar os valores obtidos entre os tratamentos estudados, e não com outros trabalhos.

4.5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que é possível microencapsular o mentol utilizando o método de coacervação complexa, uma vez que foi confirmado que o núcleo ficou completamente recoberto pelos materiais de parede e que por meio deste método obteve-se alta eficiência de encapsulação na maioria dos tratamentos.

As microcápsulas de mentol obtidas no presente trabalho, podem ser aplicadas em alimentos objetivando proteger este ativo e prolongar a sensação de refrescância causada por ele.

Para um estudo futuro seria interessante estudar a estabilidade do mentol encapsulado durante a estocagem da microcápsula, bem como seus mecanismos de liberação.

REFERÊNCIAS

- ADES, H.; KESSELMAN, E.; UNGAR, Y.; SHIMONI, E. Complexation with starch for encapsulation and controlled release of menthone and menthol. **LWT - Food Science and Technology**, v.45, p.277–288, 2012.
- ALEXANDRE, H. V.; FIGUEREDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Isotermas de adsorção de umidade da pitanga em pó. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.7, p.11–20, 2007.
- AL-MUHTASEB, A. H., McMINN, W. A. M., MAGEE, T. R. A. Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food products: A Review. **Institution of Chemical Engineers**, v.80, p.118–128, 2002.
- BARANAUSKIENE, R.; BYLAITE, E.; ZUKAUSKAITE, J.; VENSKUTONIS, R. P. Flavor retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.3027–3036, 2007.
- BHATIA, S. P.; MCGINTY, D.; LETIZIA, C. S.; API, A M. Fragrance material review on menthol. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.S209–S214, 2008.
- BRÜCKNER, M.; BADE, M.; KUNZ, B. Investigations into the stabilization of a volatile aroma compound using a combined emulsification and spray drying process. **European Food Research and Technology**, v.226, p.137–146, 2007.
- CIOBANU, A.; MALLARD, I.; LANDY, D.; BRABIE, G.; NISTOR, D.; FOURMENTIN, S. Retention of aroma compounds from *Mentha piperita* essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers. **Food Chemistry**, v.138, p.291–297, 2013.
- 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, p.373–379, 2013.
- CROTEAU, R. B.; DAVIS, E. M.; RINGER, K. L.; WILDUNG, M. R. (-)-Menthol biosynthesis and molecular genetics. **Die Naturwissenschaften**, v.92, p.562–577, 2005.
- DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. **Drying Technology: An International Journal**, v.23, p.1361–1394, 2005.
- DIMA, C.; COTÂRLET, M.; ALEXE, P.; DIMA, S. Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.22, p.203–211, 2014.

DONG, Z. J.; TOURÉ, A.; JIA, C. S.; ZHANG, X. M.; XU, S. Y. Effect of processing parameters on the formation of spherical multinuclear microcapsules encapsulating peppermint oil by coacervation. **Journal of Microencapsulation**, v.24, p.634–646, 2007.

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, p.455–460, 2011.

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

GABAS, A. L.; TELIS, V. R. N.; SOBRAL, P. J. A.; TELIS-ROMERO, J. Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. **Journal of Food Engineering**, v.82, p.246–252, 2007.

HAMBLETON, A.; DEBEAUFORT, F.; BENEY, L.; KARBOWIAK, T.; VOILLEY, A. Protection of active aroma compound against moisture and oxygen by encapsulation in biopolymeric emulsion-based edible films. **Biomacromolecules**, v.9, p.1058–1063, 2008.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel Wissenschaft Und Technologie**, v.24, p.289–297, 1991.

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, p.1267–1272, 2011.

KAMATOU, G. P. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M.; LAWRENCE, B. M. Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. **Phytochemistry**, v.96, p.15–25, 2013.

LEWICKI, P. The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms. **International Journal of Food Science and Technology**, v.32, p.553–557, 1997.

LIU, X.-D.; FURUTA, T.; YOSHII, H.; LINKO, P.; COUMANS, W. J. Cyclodextrin encapsulation to prevent the loss of l-menthol and its retention during drying. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.64, n.8, p.1608–1613, 2000.

LV, J.; HUANG, H.; YU, L.; WHENT, M.; NIU, Y.; SHI, H.; SHI, H.; WANG, T. T. Y.; LUTHRIA, D.; CHARLES, D.; YU, L. L. Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. **Food Chemistry**, v.132, p.1442–1450, 2012.

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.

MARTINS, I. M.; RODRIGUES, S. N.; BARREIRO, F.; RODRIGUES, A. E. Microencapsulation of thyme oil by coacervation. **Journal of Microencapsulation**, v.26, p.667–675, 2009.

MORTENSON, M. A.; REINECCIUS, G. A. Encapsulation and release of menthol . Part 1: the influence of OSAn modification of carriers on the encapsulation of L - menthol by spray drying. **Flavour and Fragrance Journal**, v.23, p.392–397, 2008.

PÉREZ-ALONSO, C.; BERISTAIN, C. I.; LOBATO-CALLEROS, C.; RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E.; VERNON-CARTER, E. J. Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. **Journal of Food Engineering**, v.77, p.753–760, 2006.

RAO, B. R. R. Biomass and essential oil yields of cornmint (*Mentha arvensis* L . f . piperascens Malinvaud ex Holmes) planted in different months in semi-arid tropical climate. **Industrial Crops and Products**, v.10, p.107–113, 1999.

ROCHA-SELMÍ, G. A.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; BOLINI, H. M. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. **Food chemistry**, v.139, p.72–78, 2013a.

ROCHA-SELMÍ, G. A.; THEODORO, A. C.; THOMAZINI, M.; BOLINI, H. M. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Double emulsion stage prior to complex coacervation process for microencapsulation of sweetener sucralose. **Journal of Food Engineering**, v.119, p.28–32, 2013b.

SAMARASEKERA, R.; WEERASINGHE, I. S.; HEMALAL, K. D. P. Insecticidal activity of menthol derivatives against mosquitoes. **Pests Management Science**, v.64, p.290–295, 2008.

SARKAR, S.; GUPTA, S.; VARIYAR, P. S.; SHARMA, A.; SINGHAL, R. S. Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolyzate and gum Arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. **Carbohydrate Polymers**, v.95, p.177–82, 2013.

SOOTTITANTAWAT, A.; TAKAYAMA, K.; OKAMURA, K.; MURANAKA, D.; YOSHII, H.; FURUTA, T.; OHKAWARA, M.; LINKO, P. Microencapsulation of l-menthol by spray drying and its release characteristics. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.6, p.163–170, 2005.

YANG, Z.; PENG, Z.; LI, J.; LI, S.; KONG, L.; LI, P.; WANG, Q. Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. **Food Chemistry**, v.145, p.272–277, 2014.

ZHONG, F.; YU, M.; LUO, C.; SHOEMAKER, C. F.; LI, Y.; XIA, S.; MA, J. Formation and characterisation of mint oil/S and CS/water microemulsions. **Food Chemistry**, v.115, p.539–544, 2009.

CAPÍTULO 5. Co-encapsulação de mentol e xilitol por emulsão dupla seguida de coacervação complexa

RESUMO

A co-encapsulação de materiais de recheio em um único sistema pode melhorar a funcionalidade de componentes individuais e potencializar seu desempenho. Nesse contexto, xilitol e mentol foram co-encapsulados utilizando o método de emulsão dupla seguida de coacervação complexa com o objetivo de intensificar a sensação de refrescância fornecida por esses ingredientes, além de controlar a liberação, o que prolonga o aroma quando aplicado em alimentos. Três formulações foram desenvolvidas, mantendo-se a concentração da solução aquosa de xilitol (50 g para cada 100 g de óleo) e variando a concentração de mentol (2, 4 e 6 g para cada 100 g de emulsão simples). As microcápsulas foram caracterizadas quanto ao tamanho médio, morfologia (microscopia ótica, confocal e eletrônica de varredura), cor instrumental, higroscopicidade, umidade, A_w , solubilidade em água, isothermas de sorção, FTIR, comportamento térmico (por DSC) e eficiência de encapsulação. Por meio da microscopia confocal e da análise de FTIR confirmou-se que os núcleos foram completamente encapsulados pelo material de parede, garantindo o sucesso da técnica empregada. A eficiência de encapsulação foi alta (aproximadamente 95%), com exceção de um tratamento (T2). As microcápsulas obtidas apresentaram boas características para aplicação em alimentos, como tamanho médio de partículas de aproximadamente 100 μm e baixos valores de umidade, atividade de água, solubilidade e higroscopicidade.

Palavras-chave: confocal, FTIR, DSC, isothermas de sorção

5.1 INTRODUÇÃO

O xilitol é um poliálcool que além do poder edulcorante possui um efeito de refrescância devido ao seu calor de dissolução negativo. O mentol é um álcool monoterpreno cíclico que possui agradável sabor e aroma de menta, sendo considerado um dos mais importantes aromatizantes utilizados na indústria de alimentos.

Xilitol e mentol são aplicados em alimentos como balas, gomas de mascar, licores, chocolates, sorvetes, geleias e sobremesas. Podem ser aplicados individualmente ou combinados. Trabalhos indicam (PEPPER; OLINGER, 1988¹⁰ apud MUSSATTO; ROBERTO, 2002) que o xilitol realça o efeito refrescante dos produtos com sabor de menta.

Portanto, a microencapsulação de xilitol e mentol em uma mesma cápsula pode intensificar o efeito refrescante fornecido por esses compostos. De acordo com Halwani et al. (2008), a co-encapsulação de vários materiais de recheio em um sistema de encapsulação pode melhorar a bioatividade de componentes individuais.

Utilizando o processo de coacervação complexa, tanto o xilitol quanto o mentol ficarão recobertos pelo material de parede. Assim, o processo de co-encapsulação protege os núcleos e, além disso, promove a liberação controlada, quando aplicados em alimentos.

De acordo com Chen et al. (2013), a técnica de co-encapsulação tem sido amplamente utilizada na área farmacêutica, no entanto, o uso desse conceito para encapsular mais de um componente ativo para aplicação em alimentos tem sido limitado na literatura.

Dentre os trabalhos encontrados que utilizaram co-encapsulação, os métodos utilizados foram *spray-drying* (CHEN et al. 2013), lipossomas (HALWANI et al. 2008), *spray-chilling* (OKURO et al. 2013) e imobilização em alginato de cálcio (SATHYABAMA et al. 2014). Não foram encontrados trabalhos utilizando o método de coacervação complexa para encapsular dois ou mais agentes ativos.

Diante do exposto, o método de coacervação complexa foi escolhido para a produção das microcápsulas de mentol e xilitol, objetivando prolongar e intensificar a sensação de refrescância e prolongar o sentido do aroma de menta.

¹⁰ PEPPER, T., OLINGER, P. M. Xylitol in sugar-free confections. **Food technology**, v.42, n.10, 1988.

5.2 OBJETIVOS

5.2.1 Objetivo geral

- Desenvolver microcápsulas de xilitol e mentol utilizando o método de emulsão dupla seguido de coacervação complexa.

5.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar as microcápsulas produzidas em relação à morfologia, tamanho de partículas, atividade de água, higroscopicidade, isotermas de sorção, umidade, solubilidade, cor instrumental, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier e calorimetria diferencial de varredura.
- Quantificar o xilitol e o mentol microencapsulado e definir qual tratamento apresentou a melhor eficiência de encapsulação.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

5.3.1 Materiais

Mentol com 99,9% de pureza da Sigma (St. Louis, Missouri, Estados Unidos), Xilitol fornecido pela Danisco (Surrey, Reino Unido), gelatina suína tipo B fornecida pela Gelita (Cotia, SP, Brasil), goma arábica fornecida pela Nexira (Perdizes, SP, Brasil), óleo de milho da marca Liza (Cargill Agrícola S.A., Mairinque, SP, Brasil), ácido fosfórico da Synth (São Paulo, SP, Brasil), polirricinoleato de poliglicerol (PGPR 90) da Danisco (Dinamarca).

5.3.2 Equipamentos

Placas de agitação magnética, com e sem aquecimento, digital (marca Ika, modelo ColorSquid Bivolt, São Paulo, SP, Brasil), balança analítica (marca Ohaus, modelo AR2140, São Paulo, SP, Brasil), homogeneizador Ultraturrax (marca Ika, modelo T25-D, Alemanha), pHmetro (marca Marte, modelo MB-10, Santa Rita do

Sapucaí, MG, Brasil), mesa agitadora orbital (marca Tecnal, modelo TE-424, Piracicaba, SP, Brasil), analisador de partículas por difração a laser (marca Shimadzu, modelo SALD-201V, Kyoto, Japão), microscópio ótico (marca Bel Photonics, modelo BIO3, Itália); cromatógrafo líquido de alta eficiência - CLAE (marca Shimadzu Co., Japão); Liofilizador (marca Terroni, modelo LC 1500, São Carlos, SP, Brasil); Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV (Tabletop Microscope Hitachi, Tóquio, Japão); colorímetro (marca HunterLab, modelo Mini Scan XE, Reston, Estados Unidos); analisador de umidade (marca Ohaus, modelo MB-35, Ohio, Estados Unidos); analisador de atividade de água AQUALAB (marca Decagon Devices, modelo series 3 TE, Pullman, Washington, Estados Unidos); Espectro de infravermelho (Perkin Elmer, Massachusetts, Estados Unidos); DSC TA 2010 controlado por um sistema TA 4000 (TA Instruments, New Castle, Estados Unidos), confocal LSM 780-NLO Zeiss no microscópio Axio Observer Z.1 (Carl Zeiss AG, Alemanha), estufa incubadora BOD (marca Tecnal, modelo TE-391, Piracicaba, SP, Brasil), cromatógrafo gasoso de massa (marca Shimadzu, modelo GC-2010, Auto Injetor AOC-20i, Japão).

5.3.3 Co-encapsulação de mentol e xilitol

Para a produção das microcápsulas de mentol e xilitol, primeiramente fez-se a diluição do mentol no óleo (conforme descrito no Cap. 4) em diferentes proporções (2, 4 e 6% em relação à emulsão simples total). A solução aquosa de xilitol foi preparada (conforme descrito no Cap. 3) e lentamente adicionada no óleo contendo mentol na proporção de 1:2 (solução aquosa de xilitol:óleo contendo mentol). Após formada essa emulsão simples, preparou-se a emulsão dupla utilizando solução aquosa de gelatina 5%. A emulsão simples foi emulsificada na solução de gelatina na proporção 1:1. Solução de goma arábica 5% foi lentamente adicionada na emulsão simples e fez-se o processo de coacervação conforme descrito no capítulo 3. Em seguida os coacervados foram desidratados por liofilização conforme descrito no capítulo 3.

5.3.4 Caracterização das microcápsulas

Todas as análises de caracterização das microcápsulas de xilitol (Cap. 3) foram realizadas para a caracterização das microcápsulas produzidas neste estudo, com exceção do controle de liberação.

5.3.5 Eficiência de Encapsulação (EE)

Nas microcápsulas contendo xilitol e mentol, a EE a foi determinada em função da quantidade dos dois agentes ativos. O xilitol foi extraído e quantificado conforme descrito no capítulo 3. O mentol foi extraído e quantificado conforme descrito no capítulo 4.

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a técnica empregada foram obtidos pós com o aspecto que aparece na Figura 22 do capítulo 3.

5.4.1 Tamanho de partículas

Os resultados do tamanho médio das partículas estão apresentados na Tabela 23.

Tabela 23. Tamanho médio das partículas dos coacervados obtidos nas diferentes formulações estudadas

Tratamentos	Tamanho médio (μm)
T1	$98,57 \pm 6,82^a$
T2	$101,31 \pm 3,05^a$
T3	$98,99 \pm 6,74^a$

Tamanho médio $\pm$ desvio padrão. Médias de tamanho de partículas seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3).

O tamanho médio das partículas variou de 98,57 a 101,31 μm , não apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as formulações. Ou seja, o aumento na concentração de mentol não influenciou no tamanho médio das partículas.

O fato de encapsular dois núcleos na mesma cápsula não influenciou no tamanho médio das partículas, pois os resultados apresentados são bastante similares com os encontrados para as microcápsulas de mentol e xilitol (Cap. 3 e 4).

5.4.2 Microscopia ótica

Não foram encontrados trabalhos na literatura onde se estudou a co-encapsulação usando a tecnologia de coacervação complexa. Na realidade este método de encapsulação se adequa à encapsulação de compostos hidrofóbicos, uma vez que a primeira etapa do processo é uma emulsão O/A. Todavia, em trabalhos prévios do grupo (COMUNIAN et al. 2013; MENDANHA et al. 2009; ROCHA-SELMÍ et al. 2013a; ROCHA-SELMÍ et al. 2013b) este método foi adaptado com êxito para encapsulação de compostos hidrofílicos fazendo uma emulsão dupla (A/O/A) como primeira etapa. Baseando-se nestas experiências prévias, neste trabalho, adicionou-se um princípio ativo hidrossolúvel (xilitol) na primeira emulsão e um lipossolúvel (mentol) na segunda, obtendo-se assim, emulsão dupla (A/O/A), como apresentado no capítulo 2, porém com dois princípios ativos, visando o recobrimento destes compostos, para potencializar sua ação e propiciar liberação gradual.

A Figura 35 ilustra a morfologia das microcápsulas de mentol e xilitol em todas as formulações analisadas.

Figura 35. Micrografia das microcápsulas obtidas por microscopia ótica.

A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3).

É possível notar que o núcleo está completamente recoberto pelo material de parede e que as microcápsulas apresentaram formato esférico. Comparando as imagens obtidas para o mentol e o xilitol microencapsulados individualmente, nota-se que o formato das microcápsulas continuou o mesmo quando esses dois agentes são microencapsulados juntos.

Por meio da Figura 35, nota-se que a concentração de mentol não influenciou a morfologia das microcápsulas, o que permite inferir que provavelmente seria possível aumentar a concentração de mentol sem alterar a morfologia da partícula.

5.4.3 Microscopia confocal de varredura

A Figura 36 ilustra as micrografias das microcápsulas obtidas por microscopia confocal de varredura.

Figura 36. Micrografia das microcápsulas obtidas por microscopia confocal de varredura. A concentração de mentol foi de 4,0% (T2). A proporção de gelatina, goma arábica e núcleo foi de 1:1:1. O corante utilizado foi o Nile Red.

Por meio da microscopia confocal é possível confirmar a formação da microcápsula, onde a fase oleosa com mentol aparece em vermelho, e as gotículas da solução aquosa de xilitol podem ser vistas dentro da fase oleosa, pois não foram coradas.

5.4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 37 ilustra as micrografias das microcápsulas após secagem por liofilização, obtidas por meio do MEV.

Figura 37. Micrografia das microcápsulas obtidas por microscopia eletrônica de varredura. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3).

As micrografias da superfície das microcápsulas se assemelham mais com as micrografias das microcápsulas de xilitol do que com as microcápsulas de mentol. As microcápsulas ficaram menos esféricas que as microcápsulas de mentol e mais rugosas. Portanto, a presença da solução aquosa de xilitol nas microcápsulas interferiu em sua estrutura. Isto pode ser atribuído a presença de maior quantidade de água neste sistema, em razão da necessidade da realização de emulsão dupla para se incorporar o xilitol. Ao se sublimar a água no processo de liofilização se promove o encolhimento das partículas. O mentol foi incorporado em óleo, que não é sublimado, portanto continua na partícula após a liofilização, evitando seu encolhimento excessivo.

Com esse resultado é possível inferir que a realização da emulsão dupla gerou partículas com formatos mais irregulares do que quando se fez apenas a emulsão simples, que é a técnica convencional utilizada na coacervação.

Assim como discutido nos capítulos anteriores, as microcápsulas formaram pontes sólidas umas com as outras, típicas do processo de secagem por liofilização, apresentando-se de forma aglomerada. A aglomeração pode ser interessante, pois implica em presença de canais ou capilares entre as microcápsulas que facilitam a penetração da água no sistema, propiciando maior “molhabilidade” para o pó, facilitando sua dispersão em bebidas, por exemplo. O que seria indesejável é a formação do *caking*, que é a liquefação dos pós aglomerados, mas ocorre em pós altamente higroscópicos, o que não é o caso (Tabela 25).

5.4.5 Cor instrumental

Os parâmetros de cor instrumental para os pós estudados foram apresentados na Tabela 24.

Tabela 24. Parâmetros L*, a* e b* para os pós obtidos nas diferentes formulações estudadas

Trat.	L*	a*	b*
T1	62,53 ± 2,98 ^b	-0,67 ± 0,06 ^a	4,65 ± 0,88 ^b
T2	67,20 ± 3,15 ^a	-0,65 ± 0,09 ^a	5,68 ± 0,76 ^a
T3	67,90 ± 4,14 ^a	-0,67 ± 0,08 ^a	5,84 ± 0,85 ^a

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3).

Em relação à claridade das amostras, o T1 ficou significativamente ($p \leq 0,05$) menos claro que os demais tratamentos. Entre o T2 e o T3 não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$). Portanto, o aumento na concentração de mentol contribuiu para que as microcápsulas ficassem mais claras.

Em todos os tratamentos, houve predominância da intensidade do verde (-a*) sobre a intensidade do vermelho (+a*), sendo que nenhum tratamento apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) com as demais.

Em relação ao parâmetro b*, observa-se que as microcápsulas estão mais próximas da coloração amarela (+b*) do que da coloração azul (-b*). O T1 foi significativamente ($p \leq 0,05$) diferente dos demais tratamentos, ficando menos amarelo que os demais.

5.4.6 Atividade de água, Umidade, Solubilidade e Higroscopicidade

A Tabela 25 apresenta os resultados da atividade de água, umidade, solubilidade, e higroscopicidade das microcápsulas coacervadas e liofilizadas.

Tabela 25. Propriedades das microcápsulas de xilitol e mentol coacervadas e liofilizadas

Trat.*	Aw	Umidade (%)	Solubilidade (%)	Higroscopicidade (g/100 g)**
T1	0,35 ± 0,08 ^a	6,48 ± 0,91 ^a	8,39 ± 0,71 ^c	11,57 ± 2,35 ^a
T2	0,23 ± 0,05 ^b	5,77 ± 0,66 ^{ab}	13,68 ± 0,48 ^a	11,45 ± 1,22 ^a
T3	0,22 ± 0,01 ^b	5,23 ± 0,76 ^b	9,95 ± 0,71 ^b	12,45 ± 0,41 ^a

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3). * Trat. = Tratamentos; ** g/100 g = gramas de água absorvida por 100 g de pó.

O conteúdo de umidade variou de 5,23 a 6,48%, os quais estão dentro do esperado para um material liofilizado, e os valores para a atividade de água variaram de 0,22 a 0,35, o que garante pós livres de deterioração microbiana, pois para que isto ocorra é preciso valores de Aw superiores a 0,6.

Os valores da solubilidade variaram de 8,39 a 13,68%. Houve diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos, mas não seguiram tendência clara.

O valor médio de higroscopicidade foi baixo e de aproximadamente 12 g/100 g, não diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos. A higroscopicidade das microcápsulas foi ligeiramente superior aos valores de higroscopicidade obtidos para as microcápsulas de mentol e xilitol. Baixa higroscopicidade facilita a embalagem e a manipulação dos pós.

5.4.7 Isotermas de sorção

As umidades de equilíbrio dos pós obtidos por liofilização, mantidos em diferentes condições de umidade relativa à 25 °C são apresentadas na Tabela 26.

Tabela 26. Umidade de equilíbrio dos pós armazenados em diferentes condições de umidade relativa a 25 °C.

Aw	U _{eq} (g água / g de matéria seca)		
	T1	T2	T3
0,164	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
0,245	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
0,462	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,01
0,675	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,01
0,770	0,20 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01
0,845	0,27 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,22 ± 0,01

Média ± desvio padrão. n=9. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3).

Em todos os tratamentos, o teor de umidade de equilíbrio aumentou com o aumento da Aw no qual as microcápsulas foram armazenadas. Esse resultado era esperado, uma vez que a absorção de água aumenta com o aumento da umidade relativa do ambiente no qual o produto está armazenado.

O modelo que apresentou o melhor ajuste dos dados foi o modelo GAB, assim como observado para as microcápsulas de mentol. Os dados experimentais ajustados ao modelo GAB estão apresentados na Tabela 27.

Tabela 27. Parâmetros de ajuste para o modelo GAB de isotermas de sorção de umidade a 25 °C

Tratamentos	Parâmetros Modelo GAB				
	X _m (%b.s.)	C _{GAB}	K _{GAB}	R ²	DR (%)
T1	0,06	99,42	0,93	1,00	0,26
T2	0,07	10,53	0,85	0,99	0,44
T3	0,06	22,06	0,88	1,00	0,24

Onde X_m é a umidade da monocamada molecular (g água / g de matéria seca); C_{GAB}, K_{GAB} são as constantes do modelo, R² é o coeficientes de determinação e DR o desvio relativo médio (DR)

O modelo GAB apresentou os menores valores de desvio relativo médio, variando de 0,24 a 0,44, e os maiores valores de R^2 variando de 0,99 a 1,00, quando comparados com os parâmetros obtidos nos outros modelos.

Os valores de X_m , C_{GAB} e K_{GAB} foram bastante similares com os valores obtidos para as microcápsulas de mentol, com exceção do C_{GAB} do tratamento 1, que apresentou um valor bem mais alto que os demais (99,42). Esse resultado não era esperado, uma vez que todos os tratamentos foram analisados nas mesmas condições.

As isotermas de sorção ajustadas por meio do modelo GAB estão apresentadas na Figura 38.

Figura 38. Isotermas de sorção de todos os tratamentos estudados ajustadas pelo modelo GAB

As características das isotermas de sorção de muitos produtos alimentícios tem sido caracterizadas de acordo com Brunauer et al. (1940), onde as isotermas são divididas em cinco tipos, dependendo do formato da curva. No presente trabalho, em todos os tratamentos, as isotermas se comportaram como tipo II. De acordo com Al-Muhtaseb, McMinn e Magee (2002) as isotermas de sorção de umidade da maioria dos alimentos são não-lineares, geralmente em forma sigmoidal, e tem sido classificadas como tipo II. As formas e as posições das isotermas são determinadas por diversos fatores, como composição da amostra, estrutura física da amostra, pré-tratamentos, temperatura e metodologia (DAMODARAN; PARKIM; FENNEMA, 2010)

5.4.8 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho da goma arábica, gelatina, PGPR, óleo de milho, xilitol, mentol e das microcápsulas são mostrados na Figura 39.

Figura 39. Espectros de infravermelho dos ingredientes e das microcápsulas

Os espectros das microcápsulas foram bastante semelhantes com os espectros obtidos das microcápsulas de xilitol e mentol, quando microencapsulados individualmente. Portanto, os núcleos não interferem na estruturação química das microcápsulas preparadas, o que significa que eles estão completamente encapsulados e não interagem com o material de parede.

5.4.9 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Os termogramas obtidos para as três formulações analisadas podem ser observados na Figura 40. E uma comparação dos termogramas das matérias primas com o do tratamento (T1) pode ser visualizado na Figura 41.

Figura 40. Curvas de DSC obtidas nos tratamentos 1 ao 3

Figura 41. Curvas de DSC obtidas para o xilitol puro (cristalino), mentol puro (cristalino), óleo de milho, gelatina suína, goma arábica e a microcápsula obtida no T1.

Pode-se observar que os termogramas obtidos foram bastante semelhantes para todas as formulações estudadas, portanto, a mudança na concentração de mentol não interferiu no comportamento térmico das microcápsulas. Todas as amostras apresentaram dois picos de fusão, sendo o primeiro de -20,79 °C, -21,08 °C e -21,85 °C para os tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente. O segundo pico de fusão ocorreu em 134,13 °C, 123,02 °C e 142,58 °C para T1, T2 e T3, respectivamente. Esses picos provavelmente correspondem ao pico de fusão do óleo e do complexo gelatina e goma, respectivamente.

O pico de fusão do mentol (38,6 °C) e o pico de fusão do xilitol (98,95 °C) não aparecem nos termogramas das amostras. Esse resultado era esperado, pois foi encontrado nos pós contendo as microcápsulas de xilitol e mentol, quando microencapsulados separadamente.

Diante do exposto, considerando que o xilitol está na forma amorfa nas microcápsulas, supõem-se que não contribuirá com a sensação de refrescância que a dissolução das microcápsulas poderá causar, ficando esta a cargo exclusivamente do mentol. Todavia, o xilitol, por ser um edulcorante, na forma encapsulada ainda poderá contribuir para prolongar o gosto doce do produto onde as microcápsulas forem aplicadas.

5.4.10 Eficiência de Encapsulação (EE)

A concentração de mentol e xilitol foi quantificada em todos os tratamentos, e essa concentração relacionada com a quantidade total de mentol e xilitol adicionados na produção da microcápsula, fornecendo assim a eficiência de encapsulação. Os resultados estão apresentados na Tabela 28.

Tabela 28. Eficiência de Encapsulação (EE) das microcápsulas de xilitol e mentol obtidas por coacervação complexa

Tratamentos	Xilitol	Mentol
T1	41,85 ± 1,79 ^b	93,75 ± 22,85 ^a
T2	42,26 ± 3,14 ^{ab}	35,40 ± 18,58 ^b
T3	45,54 ± 4,19 ^a	101,62 ± 26,20 ^a

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=9. A concentração de mentol foi de 2,0% (T1), 4,0% (T2) e 6,0% (T3).

Com exceção do T2, a eficiência de encapsulação do mentol foi bastante superior à eficiência de encapsulação do xilitol. Esse resultado era esperado, pois o processo de coacervação complexa é mais adequado para microencapsulação de agentes hidrofóbicos, como discutido no capítulo 3.

Não foi encontrada justificativa para a reduzida eficiência de encapsulação do mentol obtida no T2. Os desvios altos devem-se a alta volatilidade do mentol, o que implica em sua perda durante extração e análise. Além disso, o metanol, utilizado no processo de extração do mentol, também é bastante volátil, interferindo nos resultados.

Os resultados obtidos para o xilitol são similares aos obtidos quando este poliol foi encapsulado sozinho (Cap. 3).

5.5 CONCLUSÃO

Conclui-se que é possível co-encapsular xilitol e mentol utilizando o método de coacervação complexa. Por meio deste método, os núcleos são completamente encapsulados pelo material de parede, como foi confirmado por meio das análises de microscopia confocal e FTIR.

As microcápsulas obtidas apresentam características adequadas para aplicação em alimentos, como tamanho de partícula menores que 100 µm e baixos valores de umidade, atividade de água e higroscopicidade. Além de baixa solubilidade, o que favorece o controle de liberação dos núcleos.

As análises de DSC confirmam que os núcleos passam do estado cristalino para o estado amorfo após o processo de microencapsulação. A eficiência de encapsulação foi alta, com exceção de um tratamento (T2).

Considerando-se todos os resultados obtidos, recomenda-se a formulação utilizada para a obtenção do tratamento T3, por apresentar a maior concentração de mentol. Todavia, em trabalhos futuros seria interessante secar as microcápsulas por outro método que não a liofilização, visando obtenção do xilitol na forma cristalina na microcápsula.

REFERÊNCIAS

- AL-MUHTASEB, A. H.; McMINN, W. A. M.; MAGEE, T. R. A. Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food products: A Review. **Institution of Chemical Engineers**, v.80, p.118–128, 2002.
- BRUNAUER, S.; DEMING, L. S.; DEMING, E.; TELLER, E. On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. **Agricultural Chemistry and Engineering**, v.62, p.1723–1732, 1940.
- CHEN, Q.; MCGILLIVRAY, D.; WEN, J.; ZHONG, F.; QUEK, S. Y. Co-encapsulation of fish oil with phytosterol esters and limonene by milk proteins. **Journal of Food Engineering**, v.117, p.505–512, 2013.
- 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, p.373–379, 2013.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.
- HALWANI, M.; YEBIO, B.; SUNTRES, Z. E.; ALIPOUR, M.; AZGHANI, A O.; OMRI, A. Co-encapsulation of gallium with gentamicin in liposomes enhances antimicrobial activity of gentamicin against *Pseudomonas aeruginosa*. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.62, p.1291–1297, 2008.
- MENDANHA, D. V.; MOLINA ORTIZ, S. E.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; MAURI, A.; MONTERREY-QUINTERO, E. S.; THOMAZINI, M. Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. **Food Research International**, v.42, 1099–1104, 2009.
- MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.38, p.401–413, 2002.
- OKURO, P. K.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; LIBERAL, R. D. C. O.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. **Food Research International**, v.53, p.96–103, 2013.
- ROCHA-SELMÍ, G. A.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; BOLINI, H. M. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. **Food Chemistry**, v.139, p.72–78, 2013a.
- ROCHA-SELMÍ, G. A.; THEODORO, A. C.; THOMAZINI, M.; BOLINI, H. M. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Double emulsion stage prior to complex coacervation

process for microencapsulation of sweetener sucralose. **Journal of Food Engineering**, v.119, p.28–32, 2013b.

SATHYABAMA, S.; RANJITH KUMAR, M.; BRUNTHA DEVI, P.; VIJAYABHARATHI, R.; BRINDHA PRIYADHARISINI, V. Co-encapsulation of probiotics with prebiotics on alginate matrix and its effect on viability in simulated gastric environment. **LWT - Food Science and Technology**, v.57, p.419–425, 2014.

CAPÍTULO 6. Aplicação das microcápsulas de xilitol e mentol em gomas de mascar

RESUMO

Os processos de microencapsulação de ingredientes alimentícios, tais como mentol e xilitol, tem grande importância na indústria de alimentos, pois além de proteção, permitem sua liberação gradual. Portanto, o objetivo do trabalho foi produzir gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol e compará-las com as contendo esses ingredientes na forma livre. As gomas de mascar foram produzidas no laboratório de pesquisa e desenvolvimento de uma indústria de alimentos. Oito formulações foram produzidas, sendo quatro com as microcápsulas e quatro com os ingredientes livres. As gomas foram analisadas em relação à umidade, Aw e cor instrumental; por meio da análise do perfil de textura (TPA) avaliou-se a dureza, elasticidade, mastigabilidade e a coesividade das gomas. Análise de tempo-intensidade (TI) das gomas de mascar contendo xilitol e mentol livres e microencapsulados foi realizada com 19 provadores treinados para avaliar a duração da sensação de refrescância fornecida por esses ingredientes. As gomas de mascar apresentaram baixos valores de Aw e umidade, o que favorece a estabilidade microbiológica. Em relação ao perfil de textura, observou-se que a presença do xilitol melhorou os parâmetros de textura das gomas, pois as gomas produzidas com este composto apresentaram os menores valores de dureza, mastigabilidade e elasticidade. A presença das microcápsulas não interferiu significativamente em nenhum dos parâmetros de textura analisados. A análise de TI confirmou que as microcápsulas foram hábeis para promover liberação gradual do núcleo, pois a refrescância das gomas de mascar contendo as microcápsulas durou mais tempo que as gomas de mascar com os ingredientes livres. A formulação contendo mentol microencapsulado (M3E) apresentou o melhor controle de liberação do ativo.

Palavras-chave: TPA, tempo-intensidade, coacervação, controle de liberação

6.1 INTRODUÇÃO

Um dos principais objetivos da microencapsulação é promover a liberação controlada do agente ativo, no local ou a uma taxa desejada. Dentre os métodos de microencapsulação utilizados na área de alimentos, o processo de coacervação complexa é um dos mais indicados quando se objetiva controlar a liberação do agente.

Para que o agente ativo seja liberado é preciso um gatilho de liberação, e assim a liberação pode ser promovida por mudança de pH, estresse mecânico, temperatura, atividade enzimática, tempo, força osmótica, entre outros (GOUIN, 2004). A liberação física requer uma desestruturação física da microcápsula, por exemplo, por meio da mastigação.

Comparado com outros produtos de confeitaria em geral, gomas de mascar propiciam o mais hospitaleiro ambiente para ingredientes encapsulados ou não, devido as suaves condições de preparo, principalmente ausência de estresse pelo calor ou excesso de umidade (LAKKIS, 2007). Na área de fármacos, goma de mascar vem recebendo cada vez mais atenção como um eficiente sistema de transporte de drogas (JÓJÁRT et al. 2013).

Na área de alimentos, vários autores avaliaram as gomas de mascar por meio da técnica de Tempo-Intensidade (DAVIDSON et al. 1999; DUIZER; BLOOM; FINDLAY, 1996; GALMARINI et al. 2014; GUINARD et al. 1997; HAAHR et al. 2004; MCGOWAN; LEE, 2006; NEYRAUD; PRINZ; DRANSFIELD, 2003; OVEJERO-LÓPEZ; BRO; BREDIE, 2005), porém, até o momento, não existem artigos publicados na área de alimentos sobre a aplicação de microcápsulas em gomas de mascar.

Por outro lado, um grande número de patentes foram depositadas sobre a aplicação de ingredientes encapsulados em gomas de mascar com o objetivo de prolongar o sabor. Dentre elas, destacam-se a aplicação em gomas de mascar de microcápsulas contendo açúcar (YASUHIKO, 1992), substâncias nutricionais (MAGGI, 1994), agentes refrescantes (WOLF et al. 2008) e aspartame (BUNCZEK; URNEZIS, 1993). Outros autores patentearam o método de produção das microcápsulas contendo *flavours* para aplicação em gomas de mascar (BELL; CARROLL, 1994; BRODERICK; RECORD, 1992; JING, 2013; SONG, 1990).

Diante disso, o objetivo do trabalho foi aplicar as microcápsulas de xilitol e mentol, obtidas pelo método de coacervação complexa, em gomas de mascar e avaliar, por meio da análise de TI, a efetividade das microcápsulas em prolongar a sensação de refrescância fornecida pelo mentol e xilitol; bem como caracterizar as gomas produzidas.

6.2 OBJETIVOS

6.2.1 Objetivo geral

- Produzir gomas de mascar contendo mentol e xilitol nas formas microencapsulada e livre

6.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar as gomas de mascar em relação ao perfil de textura instrumental, atividade de água, umidade e cor.
- Avaliar o tempo de duração da sensação de refrescância em gomas de mascar contendo os ingredientes, mentol e xilitol, nas formas livre e microencapsulada utilizando a técnica sensorial de Tempo-Intensidade.

6.3 MATERIAL E MÉTODOS

6.3.1 Materiais

Goma base, lecitina líquida, glicerol líquido, sorbitol em pó, manitol em pó foram fornecidos pela empresa na qual foram produzidas as gomas de mascar. Mentol da Sigma (St. Louis, Missouri, Estados Unidos), xilitol fornecido pela Danisco (Surrey, Reino Unido), microcápsulas de mentol (produzidas conforme descrito no capítulo 4 dessa tese) e microcápsulas de mentol e xilitol (produzidas conforme descrito no capítulo 5 dessa tese).

6.3.2 Elaboração das gomas de mascar

As gomas de mascar foram produzidas no laboratório de pesquisa e desenvolvimento de uma indústria que produz confeitos, tais como balas, pirulitos e gomas de mascar, situada no estado de São Paulo. Primeiramente a goma base foi fundida em um misturador com aquecimento (Figura 42A). Os outros ingredientes foram adicionados lentamente (Figura 42D). Por último misturou-se à massa o xilitol e o mentol na forma livre e microencapsulados. A quantidade máxima de microcápsulas que foi possível adicionar na massa foi de 6,75 g de microcápsulas para cada 100 g de massa, devido ao grande volume que as microcápsulas ocupavam.

As microcápsulas utilizadas foram as de mentol (cuja produção foi descrita no capítulo 4) nas suas concentrações máxima e mínima (T1 e T3) e as microcápsulas de mentol e xilitol (cuja produção foi descrita no capítulo 5) nas suas concentrações máxima e mínima (T1 e T3). A quantidade efetiva de xilitol e mentol determinada nas microcápsulas (capítulo 4 e 5) foi acrescentada na forma livre, para cada um dos tratamentos, totalizando assim, oito formulações (Tabela 29). Duas formulações adicionais foram produzidas contendo a concentração máxima e mínima dos ingredientes, as quais foram utilizadas no treinamento dos provadores.

Figura 42. Produção das gomas de mascar: misturador com aquecimento (A); ingredientes (B); gomas base (C); adição dos ingredientes na goma base fundida (D); molde da massa (E); gomas de mascar (F).

As microcápsulas contendo somente xilitol, obtidas no capítulo 3, não foram aplicadas nas gomas de mascar, pois por meio da caracterização dessa microcápsula, confirmou-se que o xilitol estava no estado amorfo e não forneceria a refrescância desejada.

Tabela 29. Formulações das gomas de mascar

Ativo	Tratamentos	Forma	Nomenclatura	Concentração para cada 100 g de goma
Mentol	T1 (Cap.4)	Livre	M1L	34 mg de mentol puro
		Encapsulado	M1E	6,75 g de microcápsulas de mentol do T1
	T3 (Cap.4)	Livre	M2L	99 mg de mentol puro
		Encapsulado	M2E	6,75 g de microcápsulas de mentol do T3
Mentol e Xilitol	T1 (Cap.5)	Livre	C2L	43 mg de mentol e 242 g de xilitol
		Encapsulado	C1E	6,75 g de microcápsulas de mentol e mentol do T1
	T3 (Cap.5)	Livre	C2L	141 mg de mentol e 263 mg de xilitol
		Encapsulado	C2E	6,75 g de microcápsulas de mentol e xilitol do T3

6.3.3 Caracterização das gomas de mascar

6.3.3.1 Umidade

Foi realizada em analisador de umidade (marca Ohaus, modelo MB-35, Ohio, Estados Unidos) utilizando radiação infravermelha de uma fonte de halogênio. O resultado foi expresso em base seca.

6.3.3.2 Atividade de água

Foi determinada utilizando-se equipamento AQUALAB (marca Decagon Devices, modelo series 3 TE, Pullman, Washington, Estados Unidos), com leitura direta.

6.3.3.3 Textura Instrumental

A Análise do Perfil de Textura (TPA) foi realizada em texturômetro (TA-XT plus, Stable Micro Systems, Inglaterra), utilizando um probe de alumínio P/10 (diâmetro de 10 mm). As gomas de mascar foram cortadas em círculos de 10 mm de diâmetro e tinham 2 mm de altura. A velocidade do pré-teste, do teste e pós-teste foi de 2,0 mm/s. A distância da plataforma foi de 0,8 mm, com dupla compressão em intervalos de 5 segundos entre as duas compressões. O teste foi realizado em sete amostras, à temperatura ambiente. O equipamento mediu a fraturabilidade, adesividade, dureza, elasticidade, mastigabilidade e a coesividade dos produtos.

6.3.3.4 Cor instrumental

Foi determinada utilizando colorímetro (marca HunterLab, modelo Mini Scan XE, Reston, Estados Unidos). Inicialmente o equipamento foi calibrado nas placas branca e preta, para então proceder-se a análise. Os resultados foram expressos de acordo com o sistema de cor CIELab (L^* , a^* e b^*).

6.3.4 Análise Sensorial das gomas de mascar

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA-USP). As amostras foram servidas em cabines individuais com iluminação e temperatura controlada para garantir o conforto e a individualidade de cada provador. Todas as amostras foram codificadas com números de três dígitos.

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética (FZEA/USP), seguindo as normas descritas pelo CONEP (Comissão Nacional de Ética em Pesquisa). O parecer do projeto aprovado pelo Comitê de Ética da FZEA encontra-se no Anexo A.

6.3.4.1 Seleção dos provadores

Para compor a equipe de provadores foi realizada uma pré-seleção com 30 candidatos por meio de análise sequencial de WALD (FERREIRA, 2000), utilizando testes triangulares de diferença (APENDICE B) com duas soluções de mentol, uma contendo 0,01% de mentol e a outra 0,1% de mentol. Na análise sequencial foram utilizados os valores para $p_0=0,33$ (máxima inabilidade aceitável), $p_1=0,66$ (mínima habilidade aceitável), e para os riscos $\alpha=0,05$ (probabilidade de selecionar um candidato inaceitável) e $\beta=0,10$ (probabilidade de não selecionar um candidato aceitável). O número de testes realizados (n) foi 12. O gráfico base para a seleção dos provadores, obtido a partir desses valores, está apresentado na Figura 43.

Figura 43. Teste sequencial triangular para a seleção de provadores com $p_0=0,33$, $p_1=0,66$, $\alpha=0,05$ e $\beta=0,10$.

6.3.4.2 Treinamento dos provadores selecionados

Dezenove provadores foram selecionados e participaram do treinamento. Todos os provadores assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE C).

Os provadores foram então familiarizados com o programa utilizado na análise sensorial de Tempo-Intensidade. O treinamento foi realizado com duas amostras de gomas de mascar, uma contendo a concentração máxima de mentol utilizada nas formulações e a outra contendo a concentração mínima.

Os provadores foram treinados para detectar essa diferença e os resultados foram analisados por meio dos dados gerados pelo programa.

6.3.4.3 Análise sensorial de Tempo-Intensidade (TI)

A análise de TI foi realizada para avaliar se a presença das microcápsulas nas gomas de mascar aumentou a duração da sensação de refrescância, quando comparados às amostras contendo xilitol e mentol na sua forma livre.

As amostras de gomas de mascar tinham formato retangular (Figura 42F), tamanho similar (14 x 28 x 3 mm), peso médio de 1,20 g e mesma coloração (branca amarelada). As amostras foram servidas aleatoriamente, codificadas com números de três dígitos, acompanhadas de água e biscoito água e sal (Figura 44).

Figura 44. Amostras servidas aos provadores

O programa utilizado na análise sensorial de Tempo-Intensidade foi o *SensoMaker* (NUNES; PINHEIRO, 2013), desenvolvido pelo Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), sendo fornecido gratuitamente para download. O programa foi instalado nos computadores do laboratório de análise sensorial da FZEA/USP.

O *SensoMaker* fornece uma escala de dez pontos, onde o provador indica, por meio do *mouse*, a atual intensidade do estímulo que ele está analisando. Os dados são armazenados, podendo ser utilizados na forma de gráficos ou parâmetros e analisados futuramente. No gráfico são sempre representados os valores de tempo no eixo horizontal e os valores de intensidade no eixo vertical. Os parâmetros calculados pelo programa são $I_{\max}$ (intensidade máxima), $TI_{5\%}$ (tempo quando a intensidade é 5% da $I_{\max}$ à parte crescente da curva), $TD_{5\%}$ (tempo quando a intensidade é 5% da $I_{\max}$ à parte decrescente da curva), $TI_{90\%}$ (tempo quando a intensidade é 90% da $I_{\max}$ à parte crescente da curva), $TD_{90\%}$ (tempo quando a intensidade é 90% da $I_{\max}$ à parte decrescente da curva), $platô_{90\%}$ (intervalo de tempo no qual a intensidade é maior ou igual a 90% da $I_{\max}$). Esses parâmetros estão representados na Figura 45.

Figura 45. Parâmetros da curva Tempo-Intensidade. Adaptado de Nunes e Pinheiro (2013).

6.3.5 Forma de Análise dos Resultados

Todas as análises de caracterização das gomas de mascar foram realizadas em triplicata, e o teste de TPA com sete amostras. Os valores das determinações analíticas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias por Tukey ($p < 0,05$) utilizando o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System), versão 9.2.

A análise sensorial para seleção dos provadores foi avaliada por meio da análise sequencial de WALD, como descrito no item 6.3.4.1.

Na análise sensorial de TI, todos os provadores realizaram as análises em triplicata para cada amostra. Nenhum dos dados foi excluído, e portanto obteve-se 57 valores (19 provadores x 3 repetições) para cada uma das amostras. O resultado utilizado para construir os gráficos e obter os parâmetros da curva foi a média obtida desses 57 valores para cada amostra, a qual é fornecida pelo programa.

6.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.4.1 Umidade e atividade de água das gomas de mascar

As gomas de mascar obtidas foram analisadas em relação ao conteúdo de umidade e atividade de água. Os resultados estão apresentados na Tabela 30.

Tabela 30. Umidade e atividade de água (Aw) das diferentes gomas de mascar

Amostras	Umidade (%)	Aw
M1L	0,38 ± 0,11 ^{abc}	0,53 ± 0,00 ^b
M1E	0,32 ± 0,11 ^{abc}	0,44 ± 0,01 ^e
M2L	0,58 ± 0,08 ^a	0,58 ± 0,00 ^a
M2E	0,46 ± 0,09 ^{ab}	0,47 ± 0,01 ^c
C1L	0,49 ± 0,08 ^a	0,52 ± 0,00 ^b
C1E	0,42 ± 0,20 ^{abc}	0,46 ± 0,00 ^d
C2L	0,15 ± 0,10 ^c	0,45 ± 0,00 ^d
C2E	0,16 ± 0,00 ^{bc}	0,51 ± 0,00 ^b

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=3. M1L (gomas de mascar contendo mentol livre); M1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T1); M2L (gomas de mascar contendo mentol livre); M2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T3); C1L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T1); C2L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T3).

Pelos dados apresentados na Tabela 30, é possível notar que a presença das microcápsulas não influenciou o teor de umidade das gomas de mascar, uma vez dentro da mesma formulação (M1, M2, C1 e C2) não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as gomas contendo microcápsulas e as gomas contendo os ingredientes na forma livre.

Os valores de umidade variaram de 0,15 a 0,58%, sendo extremamente baixos, o que evita a obtenção de gomas de mascar demasiadamente macias.

Os valores de Aw variaram de 0,44 a 0,58. Com exceção do C2, as formulações onde foi utilizado microcápsulas apresentaram valores de Aw significativamente ($p \leq 0,05$) menores do que aquelas utilizando xilitol e mentol na forma livre. Provavelmente, os baixos valores de Aw encontrados para as microcápsulas (descritos nos cap. 4 e 5), influenciam na Aw do produto final. Baixos

valores de A_w são desejáveis, pois de acordo com Jay (2005), valores de A_w abaixo de 0,60 favorecem a estabilidade microbiológica dos produtos alimentícios.

Resultados semelhantes foram encontrados por Lazzari (2008). O autor analisou 19 de gomas de mascar, variando a concentração de ácido cítrico, ácido láctico e lactato de sódio, e encontrou valores de A_w variando de 0,50 a 0,65, dependendo da formulação.

6.4.2 Cor das gomas de mascar

A Tabela 31 apresenta os resultados dos parâmetros de cor para as gomas de mascar nas diferentes formulações estudadas.

Tabela 31. Parâmetros L^* , a^* e b^* para as gomas de mascar obtidas nas diferentes formulações estudadas

Amostras	L^*	a^*	b^*
M1L	$72,08 \pm 0,84$ ^{bcd}	$-0,05 \pm 0,03$ ^c	$12,62 \pm 0,25$ ^a
M1E	$71,03 \pm 1,06$ ^{cd}	$0,31 \pm 0,01$ ^a	$11,35 \pm 0,29$ ^{ab}
M2L	$74,34 \pm 0,19$ ^a	$-0,16 \pm 0,14$ ^c	$12,54 \pm 1,11$ ^a
M2E	$70,73 \pm 0,19$ ^d	$0,13 \pm 0,05$ ^{ab}	$12,06 \pm 0,33$ ^{ab}
C1L	$72,78 \pm 0,45$ ^{abc}	$-0,07 \pm 0,07$ ^c	$11,52 \pm 0,33$ ^{ab}
C1E	$71,47 \pm 0,67$ ^{bcd}	$0,24 \pm 0,07$ ^a	$11,14 \pm 0,10$ ^b
C2L	$73,37 \pm 0,51$ ^{ab}	$-0,02 \pm 0,04$ ^{bc}	$11,55 \pm 0,53$ ^{ab}
C2E	$72,67 \pm 0,47$ ^{abcd}	$-0,11 \pm 0,02$ ^c	$10,69 \pm 0,35$ ^b

Média $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. $n=3$. M1L (gomas de mascar contendo mentol livre); M1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T1); M2L (gomas de mascar contendo mentol livre); M2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T3); C1L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T1); C2L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T3).

Em relação a claridade (L^*) das amostras, apenas a formulação M2 apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as gomas contendo os ativos na forma livre em relação às gomas contendo os ativos microencapsulados. Em relação ao parâmetro a^* , as gomas de mascar contendo microcápsulas ficaram mais próximas do vermelho do que do verde, com exceção do C2. Em relação ao parâmetro b^* , pode-se dizer que todas as formulações foram significativamente ($p \leq 0,05$) semelhantes.

Apesar de a análise estatística detectar diferença significativa entre as formulações, essa diferença é mínima, e visualmente é praticamente imperceptível. Esse resultado é desejável, pois diferentes colorações poderiam influenciar os provadores no momento da análise sensorial.

6.4.3 Perfil de Textura Instrumental das gomas de mascar

Por meio da Análise do Perfil de Textura (TPA) uma ampla gama de propriedades de textura dos alimentos pode ser analisada, tais como dureza, elasticidade, coesividade, adesividade, elasticidade, fraturabilidade, gomosidade, resiliência e mastigabilidade.

A análise de TPA tem grande importância na caracterização das gomas de mascar. De acordo com Chen e Opara (2013) o teste de TPA é baseado na imitação da mastigação ou mastigabilidade, sendo realizado com compressão dupla.

Os resultados obtidos no teste de TPA para todas as formulações produzidas de gomas de mascar estão apresentados na Tabela 32. Os valores de adesividade e fraturabilidade não estão descritos na tabela, pois foram iguais a zero. Baixos valores de fraturabilidade e adesividade são favoráveis em gomas de mascar, uma vez que alta fraturabilidade implica em um produto quebradiço e alta adesividade faria o produto grudar nos dentes, características inaceitáveis em gomas de mascar.

A gomosidade também não foi apresentada, pois essa propriedade refere-se à energia requerida para desintegrar um alimento semi-sólido ao ponto de ser deglutido, o que não ocorre em gomas de mascar.

Tabela 32. Análise do Perfil de Textura (TPA) das diferentes gomas de mascar

Amostras	Dureza (g)	Coesividade	Elasticidade	Mastigabilidade (g)
M1E	21119±2596 ^a	0,89±0,02 ^a	0,81±0,07 ^a	15296±3534 ^a
M1L	19534±2640 ^a	0,87±0,02 ^{ab}	0,77±0,07 ^a	13102±2636 ^a
M2E	19418±2671 ^a	0,88±0,01 ^{ab}	0,74±0,09 ^{ab}	12933±3441 ^a
M2L	11277±1767 ^c	0,66±0,04 ^d	0,67±0,05 ^b	5087±1195 ^c
C1E	12254±2913 ^c	0,80±0,01 ^c	0,53±0,09 ^c	5273±2139 ^c
C1L	16253±1706 ^b	0,85±0,01 ^b	0,67±0,05 ^b	9354±1618 ^b
C2E	11373±1127 ^c	0,80±0,02 ^c	0,55±0,03 ^c	4972±861 ^c
C2L	12062±774 ^c	0,86±0,00 ^{ab}	0,56±0,04 ^c	5809±743 ^c

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. n=7. M1L (gomas de mascar contendo mentol livre); M1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T1); M2L (gomas de mascar contendo mentol livre); M2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T3); C1L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T1); C2L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T3).

A presença das microcápsulas parece não interferir na dureza das gomas de mascar, quando comparadas com àquelas contendo os ativos livres. Comparando as mesmas formulações em relação aos ingredientes na forma livres e microencapsulados, observa-se que o M1 e o C2 não apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as gomas contendo as microcápsulas e aquelas contendo os ingredientes na forma livre. Entretanto no M2, as gomas de mascar contendo microcápsulas (M2E) foram significativamente mais duras que aqueles que não continham microcápsulas (M2L). O contrário foi observado na formulação C1, onde as gomas contendo microcápsulas (C1E) foram significativamente mais macias que aquelas contendo os ingredientes na forma livre (C1L).

De acordo com Meullenet et al. (1998) dureza é o valor máximo (em kg ou g) aplicado na amostra durante a primeira compressão. Normalmente ela está relacionada com maior ou menor conteúdo de água presente no alimento. Portanto,

os baixos valores de umidade obtidos para as gomas de mascar (Tabela 30), justificam os altos valores de dureza.

Com exceção do M2L, todas as gomas de mascar apresentaram altos valores de coesividade, o que significa que o produto não se desfaz com facilidade. De acordo Szczesniak (2002), a coesividade é a extensão a qual o material pode ser deformado antes de se romper. É calculada pela relação entre a curva produzida na segunda compressão com a curva da primeira compressão (A_2/A_1) (MEULLEN ETI et al. 1998).

Em geral, as gomas de mascar contendo os dois ativos (xilitol e mentol) foram menos elásticas do que as gomas de mascar contendo somente o mentol, na forma livre ou microencapsulados. A elasticidade é a taxa em que um material deformado volta à sua condição não deformada após a força ser removida (SZCZESNIAK, 2002). É calculada pelo tempo gasto na compressão, sendo a relação entre a duração da segunda compressão com a primeira (d_2/d_1) (MEULLEN ETI et al. 1998). Alta elasticidade implica em altos valores de mastigabilidade, que são desvantajosos no caso de gomas de mascar. Portanto, a presença do xilitol contribuiu para a obtenção de gomas menos elásticas.

A mastigabilidade é diretamente proporcional aos valores de dureza, coesividade e elasticidade (dureza x coesividade x elasticidade). Nas gomas de mascar contendo mentol e xilitol (C1 e C2), observa-se que aquelas contendo microcápsulas (C1E e C2E) apresentaram um menor valor de mastigabilidade comparada com as gomas de mascar contendo os ingredientes livres (C1L e C2L). Portanto, a presença das microcápsulas melhora a textura em relação à mastigabilidade das gomas, uma vez que menos energia é requerida no processo de mastigação. O mesmo não foi observado nas gomas de mascar contendo somente mentol (M1 e M2). Assim, pode-se afirmar que a presença do xilitol nas microcápsulas contribuiu positivamente para a textura das mesmas.

Trabalho realizado por Jójárt et al. (2013) foi um dos únicos trabalhos encontrados que analisaram a textura em gomas de mascar, porém não utilizou o teste de TPA, apenas a tensão aplicada, e por isso, não foi possível a correlação com os resultados encontrados no presente trabalho.

A correlação entre os parâmetros obtidos pelo teste de TPA é de grande importância e pode ser melhor analisada por meio da Figura 46.

Figura 46. Perfil de textura das diferentes formulações de gomas de mascar.

M1L (gomas de mascar contendo mentol livre); M1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T1); M2L (gomas de mascar contendo mentol livre); M2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T3); C1L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T1); C2L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T3).

Por meio da correlação de Pearson, os valores de dureza e mastigabilidade obtidos no presente trabalho apresentaram correlação de 0,99. Ou seja, quanto mais duro, maior os valores de mastigabilidade. Dureza e mastigabilidade estão altamente correlacionadas. Esse mesmo resultado foi encontrado por Meulleneti et al. (1998), na análise de textura (TPA) de 21 diferentes alimentos.

A dureza também está bastante relacionada com a elasticidade do material. No presente trabalho estes dois parâmetros apresentaram correlação de 0,90. Esta correlação não foi observada por Meulleneti et al. (1998). De acordo com esses autores à medida que a dureza dos produtos aumenta a elasticidade diminui. O coeficiente de correlação é muito relativo, pois depende do tipo de produto que está sendo analisado.

Uma correlação menor foi observada entre dureza e coesividade (0,70) no presente trabalho. Elasticidade e coesividade também tiveram baixa correlação (0,38).

A mastigabilidade e a elasticidade apresentaram-se bastante correlacionadas (0,91), como pode ser visualmente confirmado na Figura 46. De acordo com Jójárt et al. (2013) uma propriedade muito importante da goma de mascar é a mastigabilidade, a qual depende da elasticidade do produto.

6.4.4 Perfil de Tempo-Intensidade das gomas de mascar

A análise de Tempo-Intensidade foi realizada para avaliar a duração da sensação de refrescância nas amostras de gomas de mascar, comparando as amostras contendo microcápsulas de xilitol e mentol com as amostras contendo xilitol e mentol na sua forma livre.

Os parâmetros obtidos da curva de TI estão apresentados na Tabela 33.

Tabela 33. Valores médios dos parâmetros obtidos da curva de TI para as diferentes gomas de mascar analisadas

Formul.*	I_max	TI_5% (s)	TD_5% (s)	TI_90% (s)	TD_90% (s)	Plateau_90%	Área
M1L	8,04	1,00	62,40	16,00	30,00	14,00	264,03
M1E	8,00	0,80	73,00	16,80	34,40	17,60	326,58
M2L	8,14	1,00	58,00	12,00	27,00	15,00	256,62
M2E	8,36	1,00	78,00	16,00	36,00	20,00	404,49
C1L	7,82	1,00	62,00	16,80	29,00	12,20	249,98
C1E	8,16	1,00	76,00	17,60	32,80	15,20	325,93
C2L	7,23	1,00	67,20	16,80	36,00	19,20	286,81
C2E	8,54	1,00	80,00	18,40	37,00	18,60	390,00

*Formul. = formulações. Valores médios (n=57). I_max (intensidade máxima), TI_5% (tempo quando a intensidade é 5% da I_max à parte crescente da curva), TD_5% (tempo quando a intensidade é 5% da I_max à parte decrescente da curva), TI_90% (tempo quando a intensidade é 90% da I_max à parte crescente da curva), TD_90% (tempo quando a intensidade é 90% da I_max à parte decrescente da curva), platô_90% (intervalo de tempo no qual a intensidade é maior ou igual a 90% da I_max).

O principal objetivo de aplicar esta análise foi avaliar se a presença das microcápsulas prolonga ou não a sensação de refrescância fornecida pelo mentol e pelo xilitol. Como o programa não fornece a duração total, pode-se calcular a duração total aproximada, fazendo a diferença entre TD_5% e o TI_5%. Assim, temos os resultados apresentados na Tabela 34.

A intensidade da sensação de refrescância das gomas de mascar não foi discutida, pois em todas as formulações a intensidade foi baixa, devido à pequena quantidade de microcápsulas incorporadas nas gomas de mascar. Por isso, os provadores foram instruídos a analisar apenas a duração da sensação de refrescância e não a intensidade.

Tabela 34. Duração aproximada da sensação de refrescância das gomas de mascar

Amostras	Duração aproximada (s)
M1L	61,4
M1E	72,2
M2L	57,0
M2E	77,0
C1L	61,0
C1E	75,0
C2L	66,2
C2E	79,0

M1L (gomas de mascar contendo mentol livre); M1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T1); M2L (gomas de mascar contendo mentol livre); M2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T3); C1L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T1); C2L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T3).

Pode-se observar que em todas as formulações analisadas, as gomas de mascar contendo microcápsulas apresentaram maior duração da sensação de refrescância quando comparadas com as gomas contendo os ingredientes livres. Na formulação M1, a duração do sabor foi prolongada em 15%, M2 em 26%, C1 em 19% e C2 em 16%. Portanto, a formulação M2 foi a mais eficiente, pois foi capaz de

prolongar por maior tempo a sensação de refrescância, provavelmente por ter alta concentração de mentol.

Os resultados também podem ser visualizados nas Figuras 47 e 48.

Figura 47. Curvas de tempo-intensidade geradas pelos provadores das gomas de mascar contendo mentol na forma livre e microencapsulada.

M1L (gomas de mascar contendo mentol livre); M1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T1); M2L (gomas de mascar contendo mentol livre); M2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol do T3).

Figura 48. Curvas de tempo-intensidade geradas pelos provadores das gomas de mascar contendo xilitol e mentol na forma livre e microencapsulada.

C1L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C1E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T1); C2L (gomas de mascar contendo mentol e xilitol livres); C2E (gomas de mascar contendo microcápsulas de mentol e xilitol do T3).

Os resultados indicam que as microcápsulas foram hábeis para promover uma liberação gradual dos agentes ativos (mentol e xilitol) prolongando a sensação de refrescância.

Possivelmente os ativos foram liberados por ruptura mecânica das microcápsulas, promovida pela mastigação. Todavia, a dissolução das microcápsulas na saliva, embora em menor proporção, dada sua baixa solubilidade, também pode ter ocorrido.

Resultados semelhantes foram encontrados por Rocha-Selmi (2014), onde se utilizou o teste de TI para analisar a duração da doçura em gomas de mascar contendo edulcorantes (esteviosídeo e sucralose), os quais estavam na forma livre ou microencapsulados por coacervação complexa. A autora observou que os edulcorantes quando encapsulados prolongaram a percepção do gosto doce nas gomas de mascar.

Ao contrário do esperado, a formulação contendo os dois agentes de frescor (*cooling agentes*) (C1 e C2), não foi mais efetiva em prolongar a sensação de refrescância. Isso porque, como discutido anteriormente, nas microcápsulas desenvolvidas para este estudo, o xilitol não estava no estado cristalino, o que é indispensável para que este composto possa causar a sensação de refrescância.

Não foram encontrados artigos publicados sobre a aplicação de microcápsulas em gomas de mascar na área de alimentos, porém diversas patentes já foram depositadas sobre o assunto. Alguns exemplos são as patentes depositadas por Bell e Carroll (1994) onde os autores utilizaram sílica amorfa para adsorver e encapsular o aromatizante antes de aplicá-lo nas gomas de mascar. Outro exemplo é a patente depositada por Merritt, Wingerd e Keller (1985), na qual os autores incorporaram o aroma dentro de uma emulsão utilizando uma matriz hidrofílica.

Comercialmente, a incorporação de microcápsulas em gomas de mascar já é amplamente utilizada, porém, publicações científicas na área de alimentos sobre esse assunto são escassas.

6.5 CONCLUSÃO

As gomas de mascar apresentaram baixos valores de A_w e umidade, o que favorece a estabilidade microbiológica. Em relação ao perfil de textura, conclui-se que a presença de xilitol melhora os parâmetros de textura das gomas, pois as gomas produzidas com este composto apresentam os menores valores de dureza, mastigabilidade e elasticidade.

Pela aplicação das microcápsulas em gomas de mascar, confirma-se que as microcápsulas são hábeis para promover um controle de liberação gradual dos ativos, sendo liberados gradualmente durante a mastigação.

Em trabalhos futuros, objetivando prolongar mais o tempo de liberação dos ativos, poderia ser interessante fortalecer as microcápsulas usando agentes reticulantes ou recobrindo-as com uma segunda camada por leito fluidizado ou *spray coating*. Além disso, seria interessante investigar meios para aumentar a concentração dos compostos ativos (agentes de refrescância) nas microcápsulas, para obter microcápsulas onde o xilitol estivesse na forma cristalina, bem como aumentar a quantidade de microcápsulas incorporadas nas gomas de mascar.

REFERÊNCIAS

BELL, J. W.; CARROLL, T. J. **Chewing gum or confection containing flavorant adsorbed on silica**. PI 5338809, 1994.

BRODERICK, K. B.; RECORD, D. W. **Gum composition containing dispersed porous beads containing active chewing gum ingredients and method**. PI 5139787, 1992.

BUNCZEK, M. T.; URNEZIS, P. W. **Aspartame stability in chewing gum using an acid gelatin system**. PI 5192561, 1993.

CHEN, L.; OPARA, U. L. Texture measurement approaches in fresh and processed foods — A review. **Food Research International**, v.51, p.823–835, 2013.

DAVIDSON, J. M.; LINFORTH, R. S.; HOLLOWOOD, T. A.; TAYLOR, A. J. Effect of sucrose on the perceived flavor intensity of chewing gum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 4336–4340, 1999.

DUIZER, L. M.; BLOOM, K.; FINDLAY, C. J. Dual-attribute Time-intensity measurement of sweetness and peppermint perception of chewing gum. **Journal of Food Science**, v.61, p.636–638, 1996.

FERREIRA, V. L. P. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000. 127p.

GALMARINI, M. V.; SYMONEAUX, R.; VISALLI, M.; ZAMORA, M. C.; SCHLICH, P. Static vs. dynamic liking in chewing gum: A new approach using a background task and a natural setting. **Food Quality and Preference**, 2014. Article In Press. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.01.002>. Acesso em 09 de junho de 2014.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v.15, p.330–347, 2004.

GUINARD, J. X.; ZOUMAS-MORSE, C.; WALCHAK, C.; SIMPSON, H. Relation between saliva flow and flavor release from chewing gum. **Physiology & Behavior**, v.61, p.591–596, 1997.

HAAHR, A.-M.; BARDOW, A.; THOMSEN, C. E.; JENSEN, S. B.; NAUNTOFTE, B.; BAKKE, M.; ADLER-NISSEN, J.; BREDIE, W. L. P. (2004). Release of peppermint flavour compounds from chewing gum: effect of oral functions. **Physiology & Behavior**, v.82, p.531–540, 2004.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ed. Artmed, 2005.712p.

JING, X. **Chewing gum with capsules**. PI CN202842261, 2013.

JÓJÁRT, I.; KELEMEN, A.; KÁSA, P.; PINTYE-HÓDI, K. Tracking of the post-compressional behaviour of chewing gum tablets. **Composites: Part B**, v.49, p.1–5, 2013.

LAKKIS, J. M. Confectionary products as delivery systems for flavors, health and oral-care actives. In: LAKKIS, J. M. **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**. Blackwell Publishing, 2007. Cap.8. p171-200.

LAZZARI, M. R. **Estabilidade de gomas de mascar adicionadas de lactato de sódio armazenadas sob diferentes condições de umidade relativa**. 2008. 96 f. Dissertação (mestrado). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI), Erechim, 2008.

MAGGI, G. C. **Chewing gum with a varying effect in taste and time**. PI 580240, 1994.

MCGOWAN, B. A.; LEE, S.-Y. Comparison of methods to analyze time–intensity curves in a corn zein chewing gum study. **Food Quality and Preference**, v.17, p.296–306, 2006.

MERRITT, C. G.; WINGERD, W. H.; KELLER, D. J. **Encapsulated flavorant material , method for its preparation , and food and other compositions incorporating same**. PI 4515769, 1985.

MEULLENETI, J.; LYON, B. G.; CARPENTER, J. A.; LYON, C. E. Relationship between sensory and instrumental texture profile attributes. **Journal of Sensory Studies**, v.13, p.77–93, 1998.

NEYRAUD, E.; PRINZ, J.; DRANSFIELD, E. NaCl and sugar release, salivation and taste during mastication of salted chewing gum. **Physiology & Behavior**, v.79, p.731–737, 2003.

NUNES, C. A.; PINHEIRO, A. C. M. **SensoMaker: User Guide**. Universidade Federal de Lavras, 2013. Disponível em: <http://www.dca.ufla.br/site/index.php?id=105&menu=m14&t=sensomaker>. Acesso em: 09 de junho de 2014.

OVEJERO-LÓPEZ, I.; BRO, R.; BREDIE, W. L. P. Univariate and multivariate modelling of flavour release in chewing gum using time-intensity: a comparison of data analytical methods. **Food Quality and Preference**, v.16, p.327–343, 2005.

ROCHA-SELMÍ, G. A. **Desenvolvimento de microcápsulas de edulcorantes produzidas por emulsão dupla seguida de coacervação complexa e estudo de sua funcionalidade em gomas de mascar**. 2014. 111 f. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

SONG, J. H. **Gradual release structures for chewing gum**. PI 4978537, 1990.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v.13, p.215–225, 2002.

WOLF, F. R.; MCGREW, G. N.; HOOK, J. S.; RICHEY, L. C.; PATEL, M. M.; GREENBERG, M. J.; TYRPIN, H. T.; NELSON, K. T. **Chewing Gum Containing Physiological Cooling Agents**. PI 20080199565, 2008.

YASUHIKO, S. **Microcapsules containing sugar coated chewing gum**. PI 4304848, 1992.

CONCLUSÃO GERAL

Considerando os objetivos propostos e os resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que é possível microencapsular xilitol e mentol utilizando o método de coacervação complexa, uma vez que foi confirmado que esses ativos são completamente recobertos pelos materiais de parede.

As microcápsulas obtidas apresentam características adequadas para aplicação em alimentos, como tamanhos médio de aproximadamente 100 μm e baixos valores de umidade, atividade de água, higroscopicidade e solubilidade.

A microencapsulação de xilitol utilizando o método emulsão dupla seguido de coacervação complexa pode ser utilizada para prolongar a doçura deste ingrediente, mas não sua refrescância, uma vez que o xilitol se encontra no estado amorfo no produto final. No caso do mentol, sua refrescância independe do estado físico em que ele se encontra.

Por meio da aplicação das microcápsulas em gomas de mascar, conclui-se que as microcápsulas são hábeis para promover um controle de liberação dos ativos, sendo liberados gradualmente durante a mastigação.

Para um estudo futuro seria interessante secar as microcápsulas por outro método que não a liofilização, visando obtenção do xilitol na forma cristalina na microcápsula. Além disso, seria interessante investigar meios para aumentar a concentração dos compostos ativos nas microcápsulas, bem como aumentar a quantidade de microcápsulas incorporadas nas gomas de mascar.

APÊNDICE A - Lista de publicações resultantes deste trabalho

1) Resumos publicados em anais de congressos:

- SANTOS, M.G.; COMUNIAN, T.A.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Ajuste das formulações e parâmetros para encapsulação de xilitol utilizando a técnica de emulsão dupla seguida de coacervação. I Simpósio de Pós-Graduação, Pirassununga, Brasil, 2012.
- SANTOS, M.G.; MORAES, I.C.F.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation: preparation and physical-chemical characterization of microcapsules. XII International Symposium on the Properties of Water (ISOPOW). Fiskebackskil, Suécia, 2013.
- SANTOS, M.G.; MUNICHSHOFER, D.D.; MORAES, I.C.F.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation: effect of homogenization rate. XXI International Conference on Bioencapsulation. Berlin, Alemanha, 2013.
- MUNICHSHOFER, D.D.; SANTOS, M.G.; FAVARO-TRINDADE, C.S.; MORAES, I.C.F. Influencia da taxa de homogeneização no comportamento reológico e tamanho de gotículas de emulsões simples de xilitol em óleo de milho. 21º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP (SIICUSP). Piracicaba, Brasil, 2013.

2). Artigos completos aceitos para publicação:

- SANTOS, M.G.; BOZZA, F.T.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation. **Food Chemistry**. Aceito.

APÊNDICE B – Ficha utilizada no teste triangular

Nome: _____ Data: __ / __ / __

Você está recebendo três amostras codificadas. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Por favor, avalie o sabor das amostras da esquerda para a direita. Circule a amostra **DIFERENTE**.

598 246 894

Comentários: _____

APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Eu, Milla Gabriela dos Santos, CPF: 060.101.186-46, responsável pela pesquisa "Avaliação sensorial de gomas de mascar adicionadas de microcápsulas de xilitol e mentol", estou fazendo um convite para você participar como voluntário deste nosso estudo.

Esta pesquisa pretende avaliar a influencia da microencapsulação do xilitol e do mentol na prolongação do sabor de refrescância em gomas de mascar. Acreditamos que ela seja importante porque nos fornecerá respostas sobre a importância da microencapsulação no controle de liberação dos ingredientes.

Para sua realização será feito um teste de Tempo Intensidade (T-I), utilizando o software SENSOMAKER. Os provadores deverão indicar a intensidade do sabor de refrescância em função do tempo. A análise sensorial será realizada com no máximo três amostras por dia e terá duração de aproximadamente 30 minutos.

As microcápsulas de xilitol e mentol produzidas no presente estudo não apresentam riscos para a saúde dos consumidores, uma vez que são produzidas com ingredientes seguros para aplicação em alimentos, como óleo de milho, emulsificante PGPR, gelatina suína e goma arábica.

Os benefícios que esperamos deste estudo são bastante relevantes para indústria de alimentos, uma vez que visa prolongar os sabores de ingredientes quando aplicados em alimentos.

Durante todo o período da pesquisa você tem o direito de tirar qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento, bastando para isso entrar em contato, com algum dos pesquisadores ou com o Conselho de Ética em Pesquisa.

Você tem garantido o seu direito de não aceitar participar ou de retirar sua permissão, a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou retaliação, pela sua decisão.

As informações desta pesquisa serão confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação.

Os gastos necessários para a sua participação na pesquisa serão assumidos pelos pesquisadores. Fica também garantida indenização em casos de danos,

comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Eu, _____, CPF _____, após a leitura deste documento e ter tido a oportunidade de conversar com o pesquisador responsável, para esclarecer todas as minhas dúvidas, acredito estar suficientemente informado, ficando claro para mim que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Estou ciente também dos objetivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos possíveis danos ou riscos deles provenientes e da garantia de confidencialidade e esclarecimentos sempre que desejar. Diante do exposto expresso minha concordância de espontânea vontade em participar deste estudo.

Assinatura

___ / ___ / ___

ANEXO A – Parecer da Comissão de Ética

FACULDADE DE ZOOTECNIA E
ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DA USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação sensorial de gomas de mascar adicionadas de microcápsulas de xilitol e mentol

Pesquisador: Milla G Santos

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30587814.2.0000.5422

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 631.756

Data da Relatoria: 30/04/2014

Apresentação do Projeto:

Gomas de mascar adicionadas de microcápsulas de xilitol e mentol serão avaliadas através de uma análise sensorial de tempo intensidade para confirmar a eficiência das microcápsulas em prolongar o efeito de refrescância proporcionado pelo xilitol e pelo mentol.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do trabalho é produzir e caracterizar microcápsulas de xilitol e mentol, além da avaliação da sua funcionalidade, aplicando essas microcápsulas em gomas de mascar, visando prolongar a sensação de refrescância.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não haverá benefícios em função da participação na pesquisa. Da mesma forma, não se vislumbra qualquer tipo de risco aos sujeitos da pesquisa, pois os materiais a serem utilizados na elaboração das microcapsulas consistem em ingredientes de grau alimentício normalmente utilizados em alimentos, conforme descritos a seguir:

Xilitol: ocorre naturalmente em frutas e vegetais sendo aceito

como edulcorante seguro para aplicação em alimentos, sem limite máximo de uso (BRASIL, 2014).

Mentol: O mentol é o principal composto do óleo essencial de menta. É

Endereço: Avenida Duque de Caxias Norte, 225

Bairro: Campus Universitário da USP

CEP: 13.635-900

UF: SP

Município: PIRASSUNUNGA

Telefone: (19)3565-4299

Fax: (19)3565-4114

E-mail: apoiofzea@usp.br

FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA USP

Continuação do Parecer: 631.756

amplamente utilizado na indústria de alimentos devido ao seu poder de refrescância.

Óleo de milho: O produto é extraído das sementes de milho seguido de refino. P

PGPR 90: O emulsificante PGPR 90 utilizado para fins alimentícios é também conhecido como poliricínoleato de poliglicerol que adiciona funcionalidade ao chocolate, óleos, gorduras e produtos de panificação, fornecendo estabilidade às emulsões.

Gelatina Suína: Produto obtido pela hidrólise parcial do colágeno, extraído geralmente da pele e dos ossos de suínos.

Goma Arábica: Produto extraído das espécies Acacia senegal e Acacia seyal. É frequentemente usado como estabilizante e espessante para vários alimentos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa na qual os sujeitos envolvidos na pesquisa realizarão avaliação sensorial de gomas de mascar. Será realizado um teste sensorial de Tempo Intensidade (T-I) do sabor de refrescância. Será efetuada uma pré seleção de provadores para compor a equipe sensorial, sendo que serão recrutados de 20 a 25 voluntários, consumidores de goma de mascar e que tenham interesse em participar da equipe sensorial treinada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE apresentado está adequado, contendo todas as informações necessárias para os sujeitos da pesquisa.

A Folha de Rosto contém todas as informações e assinaturas necessárias.

Recomendações:

Sem recomendações adicionais

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Em função do exposto apresento meu parecer favorável à aprovação deste projeto pelo CEP-FZEA.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Avaliação da CONEP:

Não

Endereço: Avenida Duque de Caxias Norte, 225
Bairro: Campus Universitário da USP **CEP:** 13.635-900
UF: SP **Município:** PIRASSUNUNGA
Telefone: (19)3565-4299 **Fax:** (19)3565-4114 **E-mail:** apoiofzea@usp.br

FACULDADE DE ZOOTECNIA E
ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DA USP

Continuação do Parecer: 631.756

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA aprova por unanimidade a execução do projeto.

PIRASSUNUNGA, 30 de Abril de 2014

Assinador por:
Marco Antonio Trindade
(Coordenador)

Endereço: Avenida Duque de Caxias Norte, 225
Bairro: Campus Universitário da USP **CEP:** 13.635-900
UF: SP **Município:** PIRASSUNUNGA
Telefone: (19)3565-4299 **Fax:** (19)3565-4114 **E-mail:** apoiofzea@usp.br