



MISTURAS DE AMIDO MODIFICADO E CONCENTRADO PROTEICO DE ARROZ E ERVILHA COMO ADJUVANTES NO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO VEGETAL: CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E ESTABILIDADE OXIDATIVA DOS PÓS

GABRIELA S. V. NATAL¹, LÍDIA A. S. PAIVA¹, FABIANA PERRECHIL¹, MATHEUS B. BRAGA^{1*}

¹Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Engenharia Química
*e-mail: braga.matheus@unifesp.br

RESUMO – o óleo de linhaça é rico em ácidos graxos poli-insaturados e sua incorporação em formulações alimentícias é limitada devido à natureza lipofílica e à propensão à oxidação. O objetivo desse trabalho foi analisar a influência das misturas de adjuvantes (amido modificado Capsul[®] e concentrado proteico de arroz e de ervilha), na eficiência de encapsulação de óleo de linhaça via liofilização, caracterização física e estabilidade oxidativa. Mantendo-se a relação óleo-adjuvantes em 1:3, quatro formulações (emulsões) foram produzidas e caracterizadas. A relação mássica entre as proteínas de arroz e ervilha foi de 50%-50%. Variou-se a relação mássica da mistura de proteínas-Capsul[®] em 0%-100%, 10%-90%, 20%-80% e 30%-70%. A partir dos resultados de índice de cremeação, constatou-se que todas as emulsões apresentaram boa estabilidade após 24 horas de análise. Os pós apresentaram baixos valores de umidade (<3,23%), densidade *bulk* (<0,2659 kg/kg) e densidade *bulk* empacotada (<0,4389). A eficiência de encapsulação diminuiu com o aumento do teor de proteínas, variando de 93,40% (relação proteínas-Capsul[®] de 0%-100%) a 18,26% (relação proteínas-Capsul[®] de 30%-70%). Todavia, os melhores resultados de estabilidade oxidativa, menores aumentos dos valores de índice de peróxido ao final do estudo, foram obtidos para os pós contendo os maiores teores de proteínas vegetais (relação proteínas-Capsul[®] de 20%-80% e 30%-70%, respectivamente).

INTRODUÇÃO

A linhaça consiste em um grão oleaginoso rico em ácidos graxos poli-insaturados (53% de ácido α -linolênico e 13% de ácido linoleico, aproximadamente), além de teores expressivos de lignanas, proteínas vegetais, fibra alimentar, ácidos fenólicos, flavonoides, vitaminas e minerais. Tais substâncias possuem efeitos benéficos à saúde, principalmente em relação à prevenção de doenças cardiovasculares e neurológicas (Oomah *et al.*, 2000; Collins *et al.*, 2003; Bombo, 2006; Chen *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2004).

O processamento e manuseio podem agravar a oxidação do óleo de linhaça, em função de seu alto grau de insaturação, ocasionando odores desagradáveis e, conseqüentemente, a redução de vida de prateleira do produto (Carneiro *et al.*, 2013). Uma alternativa para ampliar a utilização de produtos suscetíveis à oxidação consiste na produção de emulsões. A depender das concentrações e propriedades dos ingredientes a serem utilizados, é possível produzir emulsões do tipo água em óleo (A/O) e óleo em água (O/A) (Neto, 2017). Segundo Oliveira *et al.* (2004), os agentes emulsificantes que possuem a propriedade de diminuir a tensão interfacial entre o óleo e a água são

fundamentais na estabilização das emulsões. As emulsões O/A podem ser utilizadas no processo de encapsulação de compostos hidrofóbicos, como o óleo de linhaça.

A microencapsulação pode ser empregada para aumentar a vida de prateleira e promover uma diversificação das aplicações dos produtos emulsionados, resultando na formação de um produto sólido particulado. Dentre as técnicas utilizadas para a microencapsulação, destacam-se a liofilização e a secagem por *spray dryer*. Especificamente, a liofilização é considerada a técnica mais nobre em se tratando da conservação de compostos biológicos, visto que envolve os dois métodos mais confiáveis de conservação, o congelamento e a desidratação (Ribeiro, 2012).

Um dos principais fatores a ser analisado no processo de microencapsulação é o tipo de adjuvante. Normalmente, os adjuvantes são protetores hidrofílicos ou pertencem à grupos hidrofóbicos, criando uma rede de proteção do composto de interesse, cuja seleção está relacionada ao material a ser protegido e às características desejadas das microcápsulas (Turchiuli *et al.*, 2005; Gharsallaoui *et al.*, 2007).

O interesse pelas proteínas de arroz e de ervilha tem aumentado devido à alta concentração de aminoácidos essenciais e ausência de glúten e lácteos, além da crescente escolha pelos estilos de vida vegetariano, vegano e flexitariano. Essas proteínas são hipoalergênicas e podem ser consumidas por pessoas com intolerância ao glúten e aos derivados do leite (Helm e Burks, 1996; Andreola *et al.*, 2018). As proteínas de ervilha e de arroz somadas possuem em sua composição os nove aminoácidos essenciais que o organismo humano não é capaz de sintetizar, mas que são necessários para o seu funcionamento. A proteína de ervilha possui alta quantidade de lisina, mas baixa quantidade de metionina (Boye *et al.*, 2010). Já as proteínas de arroz contêm grande quantidade de metionina e pouca quantidade de lisina (Juliano, 1993). Com isso, a mistura dessas proteínas em proporções corretas assegura a quantidade recomendada pela *Food and Agriculture Organization* (2011) de todos os

aminoácidos essenciais na dieta humana (Pietrysiaka *et al.*, 2018).

Os amidos são ingredientes baratos e largamente empregados na indústria alimentícia que podem ser submetidos a modificações com o intuito de melhorar suas propriedades funcionais, aumentar a consistência e maciez das pastas alimentícias, estabilizar os produtos durante os processos de congelamento e descongelamento e durante o armazenamento. Ainda, os amidos modificados são utilizados como emulsificantes e como adjuvantes em processos de microencapsulação (Eliasson e Gudmundsson, 1996; Hermansson e Svegmarm, 1996; Liu *et al.*, 2003).

O Capsul[®] é um tipo de amido modificado, produzido a partir da adição de um componente lipofílico (octenil succinato), que aumenta a estabilidade de emulsões em formulações. Esse amido modificado é um polímero amplamente empregado em sistemas de liberação controlada, uma vez que contribui para a obtenção de materiais menos porosos. O Capsul[®] também é utilizado para uma melhor retenção de compostos bioativos em matrizes filmogênicas e microcápsulas (Bastos *et al.*, 2009).

Frente ao apresentado, o objetivo desse trabalho foi analisar a influência das misturas de adjuvantes (amido modificado Capsul[®], concentrado proteico de arroz e concentrado proteico de ervilha), no processo de microencapsulação de óleo vegetal por liofilização, na caracterização física das partículas e na estabilidade oxidativa do óleo microencapsulado. Em termos de inovação, destaca-se que a pesquisa teve como foco o uso de proteínas de origem vegetal como adjuvantes e a utilização de emulsões para a produção das micropartículas contendo óleo encapsulado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os ingredientes utilizados no preparo das emulsões e produção dos pós foram o óleo de linhaça (adquirido no mercado local), concentrado proteico de arroz (CPA) (*Growth Supplements*, Brasil), concentrado proteico de ervilha (CPE) (*Growth Supplements*, Brasil), amido modificado Capsul[®] (*Ingredion Brasil Ingredientes*, Brasil) e água destilada.

Composição do Óleo em Ácidos Graxos

A análise da composição em ácidos graxos foi realizada por cromatografia em fase gasosa com coluna capilar após esterificação, empregando o método de Hartman e Lago (1973). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram preparados de acordo com o método AOCS Ce 2-66 (AOCS, 2009), em coluna DB-23 Agilent (50% cianopropil-metilpolisiloxano), dimensões 60 m, fint: 0,25 mm, 0,25 mm filme.

Condições de análise: temperatura do forno de 110°C-5min, 110°C-215°C (5°C/min), 215°C-24 min; temperatura do detector de 280°C; temperatura do injetor de 250°C; o gás de arraste foi o hélio; razão *split* 1:50; volume injetado de 1,0 µL. A composição foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os dos respectivos padrões de ácidos graxos.

Produção e Caracterização das Emulsões

As quatro formulações foram preparadas a partir da adição de adjuvantes (concentrado proteico de arroz, concentrado proteico de ervilha e amido modificado Capsul®) em água seguido de homogeneização a 5.000 rpm por 5 min. Posteriormente, o óleo foi adicionado e homogeneizado a 14.000 rpm por 5 minutos.

As formulações foram produzidas mantendo-se a relação mássica óleo-adjuvantes de 1:3, a partir dos resultados publicados por Perrechil *et al.* (2020). A relação mássica entre o CPA e o CPE foi de 50%-50%. Variou-se a relação mistura de proteínas-Capsul®, em porcentagem de massa: (formulação A) 0%-100%; (formulação B) 10%-90%; (formulação C) 20%-80%; (formulação D) 30%-70%. Imediatamente após o preparo, todas as formulações foram congeladas a -18 °C para então serem liofilizadas.

Todas as formulações foram caracterizadas em relação à concentração de sólidos, pH, reologia, distribuição de tamanho de gotas e estabilidade. A concentração de sólidos das emulsões foi determinada a partir da secagem de amostras de 3 g em estufa a 105 ± 2°C até peso constante, em triplicata. O pH das formulações foi medido em potenciômetro previamente calibrado, em triplicata.

Os ensaios reológicos foram realizados em um reômetro modular compacto MCR92 (Anton Paar, Áustria), utilizando uma geometria de placas paralelas de 60 mm. As curvas de escoamento foram obtidas a 25°C a partir de um programa de passos múltiplos, usando taxas de cisalhamento entre 0-300 s⁻¹. Os dados experimentais foram ajustados segundo o modelo reológico da Lei da Potência, Equação (1).

$$\sigma = k \cdot \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Onde: σ é a tensão de cisalhamento (Pa); k é o índice de consistência (Pa.sⁿ); n é o índice de comportamento (-); $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s⁻¹).

A distribuição de tamanho de gotas foi obtida empregando-se o equipamento Cilas modelo 1190 (CPS US Inc., EUA). Os tamanhos das gotas das emulsões foram determinados por difração a laser. A estabilidade das emulsões foi determinada a partir do índice de cremeação (ICr), empregando o método descrito em Carneiro *et al.* (2013).

Liofilização e Eficiência de Encapsulação

As quatro formulações foram secas pelo processo de liofilização. Para tanto, foi utilizado um liofilizador de bancada da série L101 da marca LIOTOP (São Carlos, Brasil). Esse liofilizador é composto por um condensador em aço inox AISI304 com capacidade de até 3,0 kg de gelo/24 horas, capacidade total de 5,0 kg e temperatura de -45°C, uma câmara transparente em acrílico sem emendas com 25 cm e tampa superior em aço inox, estantes com 4 prateleiras para bandejas, 3 bandejas em aço inox, uma bomba de vácuo de duplo estágio com palhetas rotativas banhadas a óleo que pode levar a pressão de até 50 µHg ao final do processo. Um painel frontal em policarbonato e display de LCD para indicação da temperatura no condensador e da pressão na câmara. As amostras foram congeladas em bandejas de alumínio por 120 horas a -18°C e liofilizadas por 168 horas. Ao final do processo, as amostras secas (pós) foram trituradas e, posteriormente, peneiradas em uma peneira com abertura de aproximadamente 1

mm. Os pós foram armazenados em embalagens herméticas a -18°C .

A eficiência de encapsulação (EE) foi definida como a razão entre a quantidade de óleo encapsulado (O_e) e a quantidade de óleo total (O_t). A quantidade de óleo não encapsulado (O_n) foi determinada a partir do método descrito por Bae e Lee (2008). Portanto, 15 mL de hexano foram adicionados a 1,5 g de amostra em pó em um tubo falcon, sendo a mistura agitada manualmente por 2 minutos a temperatura ambiente para a extração do óleo superficial. Posteriormente, a mistura partículas-solvente foi filtrada em um filtro de papel Whatman nº 1 e o material retido no filtro foi lavado mais duas vezes com 20 mL de hexano. O solvente foi evaporado a 25°C e posteriormente a 60°C , até massa constante. A quantidade de óleo não encapsulado foi determinada a partir da diferença de massa antes e após a extração. A eficiência de encapsulação foi determinada a partir da Equação (2).

$$EE (\%) = \frac{O_t - O_n}{O_t} \cdot 100 \quad (2)$$

Caracterização dos Pós

Os pós provenientes das quatro formulações foram analisados quanto à umidade, densidade *bulk*, densidade *bulk* empacotada, Índice de Carr, distribuição de tamanho de partículas e diâmetro médio De Brouckere $D[4,3]$.

A umidade do produto particulado foi determinada a partir da secagem de amostras de 1 g em estufa a $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ até massa constante, em triplicata. A densidade *bulk* (ρ_{bulk}) e a densidade *bulk* empacotada (ρ_{bulk}^C) foram determinadas seguindo as metodologias descritas em Tonon *et al.* (2010), as análises foram repetidas dez vezes para cada formulação de pó. A análise da escoabilidade dos pós foi realizada a partir da determinação do Índice de Carr (IC), conforme Equação (3).

$$IC = \left[1 - \frac{\rho_{bulk}}{\rho_{bulk}^C} \right] \cdot 100 \quad (3)$$

A distribuição do tamanho das partículas dos pós foi analisada utilizando o equipamento *Cilas Particle Size Analyzer*

(Modelo 1190, EUA), para uma faixa de tamanho de partículas entre $0,02-500 \mu\text{m}$. O tamanho de partícula foi expresso como diâmetro médio De Brouckere $D[4,3]$, ou seja, o diâmetro de uma esfera com mesmo volume de partícula.

Estabilidade Oxidativa

A estabilidade oxidativa do óleo foi determinada a partir do método do índice de peróxido, método padrão IDF 74A:1991. Portanto, as amostras do óleo puro e dos pós provenientes das quatro formulações foram armazenadas em recipientes a uma temperatura de 45°C , por um período de 21 dias.

A extração dos óleos presentes nos pós foi realizada segundo a metodologia descrita por Partanen *et al.* (2008), com algumas modificações (Carneiro *et al.*, 2013). A amostra de aproximadamente 0,5 g de pó foi acondicionada em tubo de ensaio e em seguida foram adicionados 5 mL de água. O tubo de ensaio foi agitado por um período de 30 minutos para a dissolução da amostra. Posteriormente, um volume de $300 \mu\text{L}$ foi retirado e agitado 3 vezes por 10 segundos com 1,5 mL de uma mistura iso-octano/isopropanol (2:1), para extração do óleo. As fases foram separadas por centrifugação a 4000 rpm por um período de 4 minutos. O processo de extração foi realizado em triplicata.

Para a determinação do índice de peróxido, aproximadamente 0,12 g de óleo puro ou uma alíquota de $200 \mu\text{L}$ do meio de extração foram adicionados a 10 mL de uma mistura de clorofórmio/metanol (7:3). Para a formação da cor, foram adicionados $50 \mu\text{L}$ de uma solução de cloreto de ferro (II) e $50 \mu\text{L}$ de uma solução de tiocianato de amônia. Em seguida, a amostra foi agitada, mantida em repouso no escuro por um período de 5 minutos e então foi realizada a medida a absorvância a 500 nm em um espectrofotômetro. As análises foram realizadas em triplicata.

Para a determinação do índice de peróxido (IP) foi construída uma curva padrão de concentração de Fe^{+3} em função da absorvância (Shantha e Decker, 1994). O valor do IP foi determinado a partir da Equação (4).

$$IP = \frac{(A_A - A_B)}{55,84 \cdot m_A \cdot 2 \cdot \alpha} \quad (4)$$

Onde: IP= índice de peróxido (mEq de peróxido/kg de óleo); A_A = absorvância da amostra; A_B = absorvância do branco; α = coeficiente angular da curva padrão; m_A = massa de óleo (g); 55,84= massa atômica do ferro; 2= fator para que o valor de IP seja expresso em miliequivalente de peróxido ao invés de miliequivalente de oxigênio.

Análise estatística

Os resultados das caracterizações das emulsões e do produto particulado foram submetidos ao Teste de Tukey, utilizando-se o *software* Minitab® 17 (Pennsylvania, EUA), para um nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$). O desvio médio (DM) foi calculado a partir da Equação (5).

$$DM = \frac{\sum |V_i - V_m|}{n} \quad (5)$$

Onde: V_i = valor observado; V_m = valor médio; n = número de repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição do Óleo em Ácidos Graxos

A Tabela 1 apresenta os resultados da análise de composição do óleo de linhaça em ácidos graxos. O óleo apresentou 15,58% de ácidos graxos saturados, 23,73% de ácidos graxos monoinsaturados e 60,68% de ácidos graxos poli-insaturados. Ainda, 23,26% de ácido graxo oleico (grupo ômega 9), 39,87% de ácido graxo linoleico (grupo ômega 6), e 20,48% de ácido graxo linolênico (grupo ômega 3).

Segundo o *Flax Council of Canada* o óleo de linhaça apresenta valores médios de ácidos graxos saturados de 9%, ácidos graxos monoinsaturados de 18% e ácidos graxos poli-insaturados de 73%. A porcentagem média de ácido graxo linoleico é de 16% e de ácido graxo α -linolênico é de 57% (Kouamé et al., 2021).

Mikolajczak e Tanska (2022) analisaram a composição de 30 amostras de óleo de linhaça obtidos por prensagem a frio. Os autores reportaram valores máximos e mínimos de ácido graxo palmítico de 4,83% e 6,23%, ácido graxo esteárico de 2,55% e 4,72%, ácido graxo oleico de 15,16% e 26,08%, ácido graxo linoleico de 11,72% e 21,87% e

ácido graxo linolênico de 48,68% e 62,76%. As variações da composição dos ácidos graxos linoleico e linolênico no óleo empregado nesse trabalho podem estar relacionadas à adição de outros óleos vegetais ao óleo de linhaça.

Tabela 1- Composição de ácidos graxos do óleo de linhaça.

Ácido graxo	% (m/m)
C12:0 Láurico	0,02
C14:0 Mirístico	0,08
C15:0 Pentadecanóico	0,01
C16:0 Palmítico	9,49
C16:1 Palmitoléico	0,09
C17:0 Margárico	0,10
C17:1 cis-10-heptadecenóico	0,04
C18:0 Esteárico	4,99
C18:1 Oléico	23,26
C18:2 t-linoléico	0,09
C18:2 Linoléico	39,87
C18:3 t-linolênico	0,24
C18:3 Linolênico	20,48
C20:0 Araquídico	0,37
C20:1 Eicosenóico	0,25
C22:0 Behênico	0,40
C22:1 Erúcico	0,09
C24:0 Lignocérico	0,12

Caracterização das Emulsões

A Tabela 2 apresenta os resultados de pH, concentração de sólidos (C_s), índice de cremeação (ICr), diâmetro de gotas e parâmetros reológicos para as quatro formulações estudadas. Observou-se que o aumento da concentração de Capsul® resultou em uma diminuição estatisticamente significativa do valor de pH. Tal comportamento também foi reportado por Perrechil *et al.* (2020), para as emulsões contendo Capsul®, CPA e óleo de linhaça.

Os valores de concentração de sólidos das emulsões não apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$). Esse resultado já era esperado uma vez que a relação mássica óleo-adjuvantes se manteve constante em 1:3, para as quatro formulações produzidas.

A estabilidade das emulsões foi avaliada a partir dos resultados de índice de cremeação. Para as formulações A, C e D não foram observadas separações de fase após 24 h de análise. Apenas para a formulação B foi observada uma pequena separação de fase,

resultando em um valor de índice de cremeação de apenas 2,7 (%).

Em relação aos resultados dos ensaios reológicos, observou-se que os valores de índice de consistência (k) aumentaram significativamente com o aumento da concentração de amido modificado nas formulações A (100% Capsul[®]) e B (90% Capsul[®]), quando comparado aos valores obtidos para as formulações C (80% Capsul[®]) e D (70% Capsul[®]). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as formulações A e B e entre as formulações C e D.

A partir da análise do índice de comportamento (n), constatou-se que todas as quatro formulações exibiram o comportamento de um fluido não newtoniano do tipo pseudoplástico ($n < 1$). Tal resultado se deve a presença de biopolímeros na formulação das emulsões, como a amilose, amilopectina e as proteínas do arroz e da ervilha (Sun-Waterhouse e Waterhouse, 2015; Braga, Rocha e Hubinger, 2018). Para uma taxa de deformação de 100 s^{-1} , observou-se valores de viscosidade aparente entre 111,35 e 72,61 mPa.s. As emulsões A, B e D não apresentaram variações estatisticamente significativas.

Tabela 2- Caracterização das emulsões A, B, C e D: pH, concentração de sólidos, estabilidade das emulsões, diâmetro de gotas e parâmetros reológicos.

Análise	A	B	C	D
pH	2,82 ^a	4,09 ^b	4,64 ^c	5,08 ^d
	± 0,01	± 0,01	± 0,02	± 0,01
C_s	0,3787 ^a	0,3636 ^a	0,3818 ^a	0,3786 ^a
(kg/kg)	± 0,0003	± 0,0099	± 0,0017	± 0,0003
ICr	0,0 ^b	2,7 ^a	0,0 ^b	0,0 ^b
(%)		± 0,9		
d_p (µm)	0,91 ^b	0,87 ^b	1,11 ^a	1,12 ^a
10%	± 0,07	± 0,06	± 0,04	± 0,03
d_p (µm)	1,64 ^b	1,64 ^b	2,19 ^b	3,13 ^a
50%	± 0,01	± 0,16	± 0,18	± 0,42
d_p (µm)	2,84 ^b	5,89 ^b ±	23,16 ^{a,b}	43,24 ^a
90%	± 0,16	4,55	± 10,61	± 3,39
\bar{d}_p (µm)	1,78 ^b	2,57 ^b	6,84 ^b	13,89 ^a
	± 0,04	± 1,29	± 2,68	± 1,57
k	0,1708 ^a	0,1693 ^a	0,1035 ^b	0,1251 ^b
(Pa.s ⁿ)	± 0,0035	± 0,0059	± 0,0127	± 0,0041
n	0,894 ^b	0,904 ^{a,b}	0,941 ^a	0,927 ^{a,b}
	± 0,003	± 0,013	± 0,009	± 0,005
μ_{ap}	104,09 ^a	108,97 ^a	78,88 ^b	89,82 ^{a,b}
(mPa.s)	± 0,38	± 2,38	± 6,27	± 0,86
100 s ⁻¹				

Os valores de diâmetro de gotas das quatro emulsões permaneceram abaixo de 1,15 µm para 10% das gotas e abaixo de 3,55 µm para 50% das gotas. Analisando os resultados para uma porcentagem de 90% das gotas, com o aumento da concentração das proteínas vegetais, constatou-se um aumento do diâmetro de gotas e do desvio médio das triplicadas, principalmente para as formulações B e C.

Com base nos resultados para o diâmetro médio, pôde-se afirmar que a formulação D (contendo 30% de proteínas vegetais e 70% de amido modificado) apresentou variação estatisticamente significativa em relação às demais formulações (maior diâmetro médio). O aumento da concentração de Capsul[®] resultou em um aumento da presença de pequenas gotas bem dispersas na fase contínua, o que pode estar relacionado às boas propriedades emulsificantes desse amido modificado (Bhosale e Singhal, 2006).

A Figura 1 apresenta os diagramas de distribuição de tamanho de gotas para as quatro emulsões analisadas. Para a emulsão A (contendo 100% de amido modificado), o diâmetro das gotas variou de aproximadamente 0,3 µm a 4 µm, com uma distribuição modal de apenas um pico.

Para a emulsão B (contendo 90% de amido modificado e 10% de proteínas vegetais), o diâmetro das gotas variou de aproximadamente 0,2 µm a 45 µm, com uma distribuição modal de três picos, indicando a ocorrência de 3 diâmetros de gotas dominantes.

A emulsão C (contendo 80% de amido modificado e 20% de proteínas vegetais), apresentou valores de diâmetro de gotas entre aproximadamente 0,2 µm e 58 µm, também com uma distribuição modal de três picos. Por fim, a emulsão D (contendo 70% de amido modificado e 30% de proteínas vegetais), apresentou valores de diâmetro das gotas entre aproximadamente 0,2 µm e 90 µm e apresentou uma distribuição modal de três picos, indicando a ocorrência de 3 diâmetros de gotas dominantes (aproximadamente 1,9, 10,1 e 40 µm).

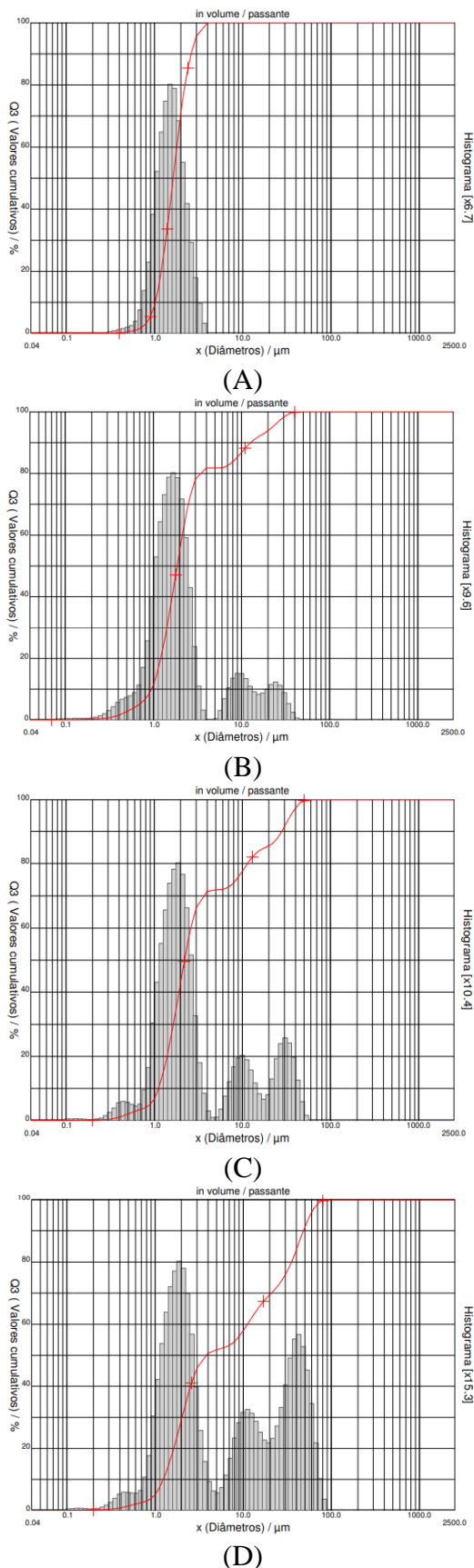


Figura 1: Distribuição de tamanho de gotas das emulsões: (A) emulsão A; (B) emulsão B; (C) emulsão C; (D) emulsão D.

Eficiência de Encapsulação e Caracterização dos Pós

A Tabela 3 apresenta os resultados de eficiência de encapsulação (EE), umidade (U), densidade *bulk* (ρ_{bulk}), densidade *bulk* empacotada (ρ_{bulk}^c), índice de Carr (IC) e diâmetro de partícula dos pós provenientes das quatro formulações estudadas.

Observa-se que a eficiência de encapsulação diminui significativamente com o aumento do CPA e CPE na mistura de adjuvantes. Analisando os resultados para o pó A (0% proteínas vegetais e 100% amido modificado) e o pó D (30% proteínas vegetais e 70% amido modificado), constatou-se uma diminuição de 80,44% na eficiência de encapsulação. Os resultados são condizentes com os dados reportados por Perrechil *et al.* (2020), que obtiveram EE de 90,58% para o óleo de linhaça microencapsulado apenas com Capsul[®] e EE de 12,93% para o óleo microencapsulado com uma mistura de adjuvantes (66,6 % Capsul[®] e 33,4 % CPA, m/m). Os baixos valores de EE foram relacionados às propriedades emulsificantes do concentrado proteico de arroz (um baixo valor do índice de atividade emulsificante do CPA de $1,15 \pm 0,03 \text{ m}^2/\text{g}$).

Tabela 3- Caracterização dos pós A, B, C e D: eficiência de encapsulação, umidade, densidade *bulk*, densidade *bulk* empacotada, índice de Carr e diâmetro de partícula.

Análise	A	B	C	D
EE (%)	93,40	71,45	58,47	18,26
U (kg/kg)	0,0313 ^a	0,0265 ^b	0,0094 ^c	0,0102 ^c
ρ_{bulk} (kg/m ³)	$\pm 0,0009$	$\pm 0,008$	$\pm 0,0009$	$\pm 0,0010$
ρ_{bulk}^c (kg/m ³)	0,2568 ^a	0,2622 ^a	0,2440 ^b	0,2208 ^c
ρ_{bulk}^c (kg/m ³)	$\pm 0,0060$	$\pm 0,0036$	$\pm 0,0041$	$\pm 0,3578$
IC	40,56	33,03	33,64	38,31
d_p (μm)	11,19 ^a	9,22 ^b	12,66 ^a	11,87 ^a
10%	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 1,11$	$\pm 0,12$
d_p (μm)	43,01 ^b	37,22 ^b	54,73 ^a	52,32 ^a
50%	$\pm 1,65$	$\pm 0,94$	$\pm 3,95$	$\pm 1,79$
d_p (μm)	76,81 ^{a,b}	68,46 ^b	110,06 ^a	109,14 ^a
90%	$\pm 5,49$	$\pm 3,66$	$\pm 17,44$	$\pm 11,31$
D[3,4] (μm)	44,04 ^{a,b}	38,26 ^b	59,15 ^a	58,20 ^a
	$\pm 2,33$	$\pm 1,51$	$\pm 8,09$	$\pm 5,01$

Os pós provenientes das quatro formulações estudadas apresentaram baixos valores de umidade (abaixo de 3,23%). É

importante destacar que um baixo valor de umidade resultará em uma menor quantidade de água disponível para a ocorrência de reações químicas e o desenvolvimento de microrganismos, impactando diretamente na estabilidade e qualidade do produto (Inada *et al.*, 2020).

As densidades *bulk* e *bulk* empacotada são parâmetros importantes na definição das condições de embalagem, transporte e armazenamento de um produto. Analisando a Tabela 3, constatou-se que todos os pós apresentaram baixos valores de densidade *bulk*. Os pós provenientes das formulações A e B apresentaram valores maiores de densidade *bulk* quando comparadas às formulações C e D. Em relação à densidade *bulk* empacotada, a formulação contendo 100% de amido modificado apresentou o maior valor. Além disso, pôde-se verificar uma tendência de diminuição dos valores das densidades com o aumento da concentração das proteínas vegetais.

Perrechil *et al.* (2020) reportaram valores de densidade *bulk* de 0,1977 kg/kg e densidade *bulk* empacotada de 0,3127 kg/kg para o óleo de linhaça microencapsulado com Capsul[®], em uma proporção mássica de 1:3. As diferenças nos valores das densidades reportadas na literatura e as obtidas nesse trabalho (considerando a mesma formulação), podem estar relacionadas ao processamento dos pós após a liofilização, forma de trituração e peneiramento do pó.

O índice de Carr possibilita a realização de uma análise indireta das propriedades de fluxo dos pós. Observou-se que todas as formulações apresentaram altos valores de IC (acima de 32), indicando que os pós apresentaram fluxos de má qualidade (USP, 2006). Os pós provenientes das quatro formulações estudadas apresentaram valores de diâmetro de partícula abaixo de 13,78 µm para 10% das partículas, abaixo de 58,69 µm para 50% das partículas e abaixo de 127,6 µm para 90% das partículas. A média do diâmetro médio dos pós foi de 49,91 µm e não foram observadas diferenças estatísticas entre as amostras dos pós A, C e D.

Perrechil *et al.* (2020) relataram valores de diâmetro médio de aproximadamente 42,37 µm para os pós produzidos com óleo de linhaça

e diferentes misturas de CPA e Capsul[®], mantendo-se uma relação mássica entre o óleo e adjuvantes de 1:3. Segundo os autores, as variações na concentração de amido modificado não influenciaram o diâmetro médio das partículas.

Estabilidade Oxidativa

A Figura 2 apresenta os resultados da estabilidade oxidativa do óleo puro e dos pós provenientes de cada uma das quatro formulações estudadas. Para o óleo puro, o índice de peróxidos (IP) inicial e final foi de 4,35 mEq peróxido/kg de óleo (DM= 0,21) e 17,12 mEq peróxido/kg de óleo (DM= 0,80), respectivamente, representando um aumento de 3,93 vezes do índice de peróxido ao final do estudo.

Analisando a Figura 2, observou-se que no tempo zero, todos os pós apresentaram baixos valores de IP (variando de 2,11 a 2,68 mEq peróxido/kg de óleo). Após 7 dias de armazenamento, os pós apresentaram valores de IP entre 4,54 e 5,09 mEq peróxido/kg de óleo (diferença estatisticamente não significativa, $p \leq 0,05$). Após 14 dias de armazenamento, os pós apresentaram valores de IP entre 5,53 e 6,00 mEq peróxido/kg de óleo (diferença estatisticamente não significativa, $p \leq 0,05$).

Ao final do período de análise, observou-se diferenças estatisticamente significativas nos valores de IP entre todas as formulações. O pó A (contendo apenas o amido modificado como adjuvante), apresentou o maior valor de IP dentre as quatro formulações, resultando em um aumento de 6,84 vezes do índice de peróxido ao final do estudo.

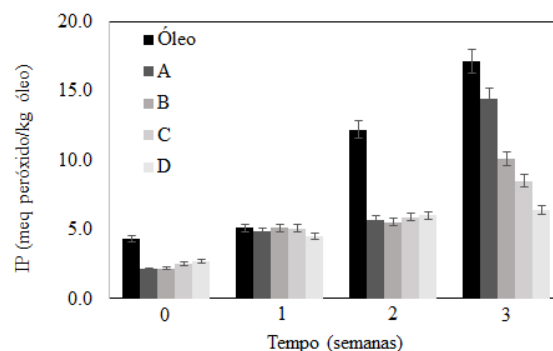


Figura 2: Estabilidade oxidativa do óleo puro e dos pós A, B, C e D. Os dados representam os valores médios de IP (n=3). Barra de erro ($p < 0,05$).

O pó B (10% de proteínas e 90% de amido modificado), apresentou um aumento de 4,59 vezes do índice de peróxido ao final do estudo. O pó C (20% de proteínas e 80% de amido modificado), apresentou um aumento de 3,38 vezes do índice de peróxido ao final do estudo. O pó D (30% de proteínas e 70% de amido modificado), apresentou um aumento de 2,38 vezes do índice de peróxido ao final do experimento. Apesar de apresentarem valores mais baixos de eficiência de encapsulação, constatou-se que as formulações dos pós C (EE= 58,47%) e D (EE= 18,26%), foram as mais adequadas para aumentar a estabilidade oxidativa do óleo.

Diversos trabalhos na literatura avaliaram a estabilidade do óleo de linhaça frente à distintas formas do produto e condições de armazenamento. Mikolajczak e Tanska (2022) analisaram a influência do estado inicial de 30 amostras de óleos de linhaça (prensados a frio), na estabilidade oxidativa e formação de produtos de oxidação, durante um período de armazenamento de um mês à temperatura ambiente e com exposição à luz. Os autores reportaram valores de IP nos óleos frescos (tempo 0) de 0,00 a 0,83 mEq O₂/kg de óleo e após o período de armazenamento, valores de IP entre 9,46 e 37,45 mEq O₂/kg.

Carneiro *et al.* (2013) avaliaram o efeito da combinação de maltodextrina com diferentes adjuvantes no processo de microencapsulação do óleo de linhaça por *spray dryer*, com o intuito de maximizar a eficiência de encapsulação e a estabilidade oxidativa do óleo. Para tanto, a maltodextrina foi misturada com os adjuvantes goma arábica, amido modificado Hi-Cap 100TM, concentrado proteico do soro de leite e amido modificado Capsul[®] TA, em uma proporção de 25:75. Os testes de estabilidade foram conduzidos a 45°C por quatro semanas. Os autores observaram que no tempo zero, todas os pós apresentaram baixos valores de índice de peróxido (variando de 6,12 a 8,77 mEq peróxido/kg de óleo). Após quatro semanas, os pós obtidos a partir das misturas de goma arábica/maltodextrina e Capsul[®] TA/maltodextrina apresentaram os maiores valores de IP (aproximadamente 140 mEq peróxido/kg de óleo). Embora a mistura de concentrado proteico do soro do leite/maltodextrina tenha resultado no menor

valor de eficiência de encapsulação (EE= 62,3%), essa combinação resultou no menor valor de IP (aproximadamente 110 mEq peróxido/kg de óleo).

Kaushik *et al.* (2016) estudaram o processo de microencapsulação do óleo de linhaça em uma matriz formada por coacervação complexa entre o isolado proteico de linhaça e a goma de linhaça. A matriz foi reticulada com glutaraldeído. As microcápsulas líquidas foram obtidas a partir de três proporções de óleo-adjuvantes: 1:2; 1:3; 1:4. Para formação do pó, as microcápsulas foram submetidas ao processo de liofilização e secagem por *spray dryer*. A estabilidade oxidativa do óleo de linhaça puro e dos pós foi analisada a partir da determinação do índice de peróxido durante o armazenando a 4° C por um período de 30 dias, sendo a primeira análise realizada no 5° dia de armazenamento. Para o óleo de linhaça puro, o índice de peróxido inicial e final variou de 3,18 a 8,72 mEq O₂/kg de óleo. Os pós obtidos por liofilização apresentaram valores de índice de peróxido inicial e final entre 3,25 e 8,72 mEq O₂/kg de óleo. Os pós obtidos via *spray-dryer* apresentaram valores de índice de peróxido inicial e final entre 2,85 e 5,52 mEq O₂/kg de óleo. Os autores concluíram que a liofilização não foi capaz de fornecer melhores resultados de estabilidade oxidativa em comparação ao óleo de linhaça puro. Todavia, a estabilidade oxidativa do óleo foi significativamente melhorada quando a técnica por *spray-dryer* foi empregada. Por fim, os pós obtidos por *spray-dryer* e nas proporções óleo-adjuvantes de 1:3 e 1:4 permaneceram estáveis até o final do experimento.

Elik, Yanik e Göğüş (2021) avaliaram a influência da adição de carotenóides (236,35 µg β-caroteno/g óleo de linhaça) na estabilidade oxidativa de pós obtidos por *spray-freeze-dryer* e *spray-dryer*. Como adjuvantes, empregou-se uma mistura (proporção de 6:1) de maltodextrina 6 DE + (pectina de baixa metoxilação e cera de girassol, em uma proporção fixa de 2:1, em massa). Os teste de estabilidade foram conduzidos a 25°C por um período de 45 dias.

Os autores reportaram valores de IP (inicial e final) para o óleo de linhaça (sem adição de carotenóides) microencapsulado via *spray-freeze-dryer* de 0,81 ± 0,07 e 3,25 ± 0,21

mEq O₂/kg de óleo, resultando em aumento de 4,01 vezes do IP ao final do armazenamento. Ainda, valores de IP (inicial e final) para o óleo de linhaça puro microencapsulado via *spray-dryer* de $6,39 \pm 0,11$ e $50,18 \pm 0,42$ mEq O₂/kg de óleo, aumento de 7,85 vezes do IP ao final do experimento. Os autores relacionaram a maior taxa de oxidação do pó obtido via *spray-dryer* ao alto valor de IP inicial, passando o período de indução de oxidação rapidamente.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados das caracterizações físicas das emulsões, constatou-se que o aumento do teor de amido modificado resultou em uma diminuição do pH. As quatro formulações apresentaram comportamento de um fluido não newtoniano do tipo pseudoplástico. A formulação contendo 30% de proteínas vegetais e 70% de amido modificado apresentou um valor de diâmetro médio de gota estatisticamente superior às demais formulações. Com base nos resultados de índice de cremação, constatou-se que todas as emulsões apresentaram boa estabilidade após 24 horas de análise.

Os pós apresentaram baixos valores de umidade, densidade *bulk* e densidade *bulk* empacotada. Observou-se uma relação inversa entre a concentração de proteínas vegetais e a eficiência de encapsulação. Para a formulação contendo 100% Capsul[®], obteve-se uma EE de 93,40% e para a formulação contendo 70% de Capsul[®] e 30% de proteínas vegetais a EE foi de 18,26%.

Os testes de estabilidade oxidativa foram conduzidos para o óleo puro e para os pós provenientes das quatro formulações estudadas, por um período de 21 dias. Observou-se para o óleo puro um aumento de 3,93 vezes do valor de índice de peróxido ao final do estudo. Os melhores resultados de estabilidade foram obtidos para os pós C (20% de proteínas e 80% de amido modificado) e D (30% de proteínas e 70% de amido modificado). O pó C e D apresentaram aumentos de apenas 3,38 e 2,38 vezes do índice de peróxido ao final do estudo, respectivamente.

Apesar de apresentarem valores mais baixos de eficiência de encapsulação, constatou-se que as formulações dos pós C

(EE= 58,47%) e D (EE= 18,26%), foram as mais adequadas para aumentar a estabilidade oxidativa do óleo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processo 2021/131341), pelo apoio financeiro e institucional.

NOMENCLATURA

A _A	Absorbância da amostra	(-)
A _B	Absorbância do branco	(-)
C _s	Concentração de sólidos	(kg/kg)
DM	Desvio médio	(-)
d _p	Diâmetro de partícula	(µm)
D[3,4]	Diâmetro De Brouckere	(µm)
EE	Eficiência de encapsulação	(%)
IC	Índice de Carr	(%)
ICr	Índice de cremação	(%)
IP	Índice de peróxido	meq/kg
m _A	Massa da amostra	(g)
n	Índice de comportamento	(-)
Q _e	Óleo encapsulado	(g)
O _n	Óleo não encapsulado	(g)
O _t	Óleo total	(g)
k	Índice de consistência	(Pa.s ⁿ)
U	Umidade	(kg/kg)
V _i	Valor observado	(-)
V _m	Valor médio	(-)
α	Coefficiente angular	(-)
ρ _{bulk}	Densidade <i>bulk</i>	(kg/m ³)
ρ _{bulk} ^c	Densidade empacotada	(kg/m ³)
σ	Tensão de cisalhamento	(N/m ²)
μ _{ap}	Viscosidade aparente	(Pa.s)

REFERÊNCIAS

- ANDREOLA, K.; SILVA, C. A. M.; TARANTO, O. P. (2018), Agglomeration process of rice protein concentrate using glucomannan as binder: In-line monitoring of particle size. *Chemical Engineering Research and Design*, v. 35, p. 37-51.
- BAE, E. K., LEE, S. J. (2008), Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *Journal of Microencapsulation*, v. 25, p. 549-560.
- BASTOS D. S.; ARAÚJO K. G. L.; LEÃO M. H. M. R. (2009), Ascorbic acid retaining using

- a new calcium alginate-Capsul based edible filme. *Journal of Microencapsulation*, v. 26, n. 6, p. 97-103.
- BHOSALE, R., SINGHAL, R. (2006), Process optimization for the synthesis of octenyl succinyl derivative of waxy corn and amaranth starches. *Carbohydrate Polymers*, v. 66, p. 521-527.
- BOMBO, A. J., (2006). Obtenção e caracterização nutricional de snacks de milho (*Zea mays* L.) e linhaça (*Linum usitatissimum* L.). 96 f. *Dissertação (Mestrado em Saúde Pública)*. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BOYE, J., ZARE, F., PLETCH, A., (2010). Pulse proteins: processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, v. 43, p. 414-431.
- BRAGA, M. B., ROCHA, S. C. dos S., & HUBINGER, M. D. (2018), Spray-Drying of Milk-Blackberry Pulp Mixture: Effect of Carrier Agent on the Physical Properties of Powder, Water Sorption, and Glass Transition Temperature. *Journal of Food Science*, v. 83(6), p. 1650-1659.
- CARNEIRO, H. C. F., TONON, R. V., GROSSO, C. R. F., HUBINGER, M. D. (2013), Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, v. 115, p. 443-451.
- CHEN, Y.C. et al. (2008), Chemical changes in omega-3-enhanced farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during abrasive-temperature storage. *Food Control*, v. 19, n.6, p.599-608.
- COLLINS, T.F.X et al. (2003), Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats. *Food and Chemical Toxicology*, v. 41, n. 6, p. 819-834.
- ELIASSON, A. C.; GUDMUNDSSON, M. (1996), Starch: physicochemical and functional aspects. *Carbohydrates in Food*. (ed.) Marcel Dekker, Inc.: New York, p. 431-503.
- ELIK, A.; YANIK, D.K.; GÖĞÜŞ, F. (2021), Comparative study of encapsulation of carotenoid enriched-flaxseed oil and flaxseed oil by spray freeze-drying and spray drying techniques. *LWT - Food Science and Technology*, v. 143, 111153.
- FIORAMONTI, S.A.; STEPANIC, E.M.; TIBALDO, A.M.; PAVÓN, Y.L.; SANTIAGO, L.G. (2019), Spray dried flaxseed oil powdered microcapsules obtained using milk whey proteins-alginate double layer emulsions. *Food Research International*, v. 119, p. 931-940.
- GHARSALLAOUI, A.; ROUDOUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. (2007), Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, Barking, v. 40, n° 9, p. 1107-1121, nov.
- HARTMAN, L. LAGO, R. (1973), Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*. v.22, p.475-476.
- HELM, R. M.; BURKS, A. W. (1996), Hypoallergenic of rice protein. *Cereal Food World*, v. 41, p. 839-842.
- HERMANSSON, A. M.; SVEGMARK, K. (1996), Developments in the understanding of starch functionality. *Trends in Food Science and Technology*, v. 7, p. 345-53.
- INADA, K. O. P., NUNES, S., MARTÍNEZ-BLÁZQUEZ, J. A., TOMÁS-BARBERÁN, F. A., PERRONE, D., & MONTEIRO, M. (2020), Effect of high hydrostatic pressure and drying methods on phenolic compounds profile of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel and seed. *Food Chemistry*, v. 309.
- JULIANO, B. O. Polysaccharides, proteins, and lipids of rice. In: B. O. (1995), Juliano (Ed.), *Rice: Chemistry and technology*. 2 ed. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, p.59-174.

- KAUSHIK, P.; DOWLING, K.; MCKNIGHT, S.; BARROW, C.J.; ADHIKARI, B. (2016), Microencapsulation of flaxseed oil in flaxseed protein and flaxseed gum complex coacervates. *Food Research International*, v. 86, p. 1-8.
- KOUAMÉ, K.J.E.; BORA, A.F.M.; LI, X.; SUN, Y.; LIU, L. (2021), Novel trends and opportunities for microencapsulation of flaxseed oil in foods: A review. *Journal of Functional Foods*, v. 87, 104812.
- LIU, H.; ESKIN, N. A. M.; CUI, S. W. (2003), Interaction of wheat and rice starches with yellow mustard mucilage. *Food Hydrocolloids*. v. 17, p. 863-869.
- MIKOŁAJCZAK, N.; TÁNSKA, M. (2022), Effect of initial quality and bioactive compounds content in cold-pressed flaxseed oils on oxidative stability and oxidation products formation during one-month storage with light exposure. *NFS Journal*, v. 26, p. 10-21.
- NETO, D. M. C. (2017), Estudo Reológico de Emulsões Água em Óleo de Petróleos Pesados. *Dissertação (Mestrado em Química)*. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. (2004), Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos, Departamento de Fármacos e Medicamentos. *Quim. Nova*, v. 27, Nº 1, p. 131-138.
- OOMAH, B. D.; MAZZA, G. (2000), Productos de linaza para la prevención de enfermedades. Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesamiento, *Zaragoza: Acríbia*, p. 457.
- PARTANEN, R.; RAULA, J.; SEPPANEN, R.; BUCHERT, J.; KAUPPINEN, E.; FORSSSELL, P. (2008), Effect of relative humidity on oxidation of flaxseed oil in spray dried whey protein emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56 (14), p. 5717–5722.
- PERRECHIL, F., LOUZI, V. C., PAIVA, L. A. S., NATAL, G. S. V., & BRAGA, M. B. (2021), Evaluation of modified starch and rice protein concentrate as wall materials on the microencapsulation of flaxseed oil by freeze-drying. *LWT*, v. 140.
- PIETRYSIKA, E., SMITH, D.M., SMITH, B.M., GANJYALI, G.M., (2018). Enhanced functionality of pea-rice protein isolate blends through direct steam injection processing. *Food Chemistry*, v. 243, p. 338-344
- RIBEIRO, P. F. F. A. C. Processo de Liofilização de Produtos Alimentares Perecíveis. 2012. 98 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica). ISEL – Instituto Superior de Engenharia de Lisboa.
- SHANTHA, N.C.; DECKER, E.A. (1994), Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide value of food lipid. *Journal of AOAC International*, v. 77 (2), p. 421–424.
- SPARROW, E. M. (1980), Fluid-to-Fluid Conjugate Heat Transfer for a Vertical Pipe. *ASME Journal of Heat Transfer*, v. 102, p.402-407.
- SUN-WATERHOUSE, D., & WATERHOUSE, G. I. N. (2015), Spray-drying of green or gold kiwifruit juice-milk mixtures; novel formulations and processes to retain natural fruit colour and antioxidants. *Food Bioprocess Technol*, v. 8, p. 191-207.
- TONON. R. V., BRABET, C., & HUBINDER, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, v. 43, p. 907-914.
- TURCHIULI, C.; FUCHS, M., BOHIN, M.; CUVELIER, M. E.; ORDONNAUD, C.; PEYRAT-MAILLARD, M. N.; DUMOULIN, E. (2005), Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, London, v. 6, n.1, p. 29-35, mar.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA (2006): USP 29. *Rockville: United States Pharmacopeial Convention*.