

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA – FEQ
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

ALINNE BRANDÃO ANDALÉCIO CAMARGOS BRAGA

**ESTUDO DE CONSTITUINTES DO LEITE E SORO DE LEITE COMO MATERIAIS
DE PAREDE NO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO
COMPLEXA**

**PATOS DE MINAS
DEZEMBRO DE 2015**

ALINNE BRANDÃO ANDALÉCIO CAMARGOS BRAGA

**ESTUDO DE CONSTITUINTES DO LEITE E SORO DE LEITE COMO MATERIAIS
DE PAREDE NO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO
COMPLEXA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Engenharia Química da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra.: Milla Gabriela dos Santos

PATOS DE MINAS

DEZEMBRO 2015

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, meu melhor amigo, por ser fiel e sempre me amparar nos momentos que preciso, colocando as pessoas certas ao meu redor.

Agradeço de forma especial aos meus pais, Rosimeire e Geraldo, e irmãos, Marcos Paulo e Andressa, por sempre me incentivarem. O orgulho que vocês sentem de mim foi meu maior incentivo para chegar até aqui. E a saudade que eu sentia por estar longe de casa foi apenas uma preparação para lutar por meus sonhos.

Agradeço ao meu esposo Rodrigo, pelos anos de companheirismo e amor. Obrigada por ser a pessoa que você é. Eu te amo!

Aos colegas e tutor do grupo PET-Engenharia de Alimentos, pelos anos que compartilhamos juntos. Com vocês vivi os melhores momentos de minha graduação.

A petiana Jéssica, por ter me auxiliado nos meus primeiros testes de microencapsulação, sempre sendo muito prestativa e atenciosa.

As técnicas dos laboratórios de Engenharia de Alimentos, especialmente, Ana, Laís e Betânia, por todos os ensinamentos que me foram passados.

As empresas New Química, Nexira e Gelita, pelas doações das amostras utilizadas neste estudo.

Ao longo da graduação tive a oportunidade de conviver com colegas maravilhosos, mas alguns se tornaram mais que especiais, Cleonice, Eliane e Adam... O Quarteto Fantástico ou os “Padoqueiros Fantásticos”, para os mais íntimos. Muito mais que apenas uma indústria de paçocas, construímos nossos sonhos juntos. Quantas vezes nos reunimos para estudar juntos?

Não tenho nem noção. Quantas vezes vocês me ajudaram a entender alguma matéria de cálculo, física, termodinâmica ou operações unitárias? Foram inúmeras vezes...O Adam foi meu primeiro “professor-aluno” da graduação. Me ajudou desde o início, com GAAL, Cálculo I, Química orgânica, etc. Esse menino é um verdadeiro Príncipe Adam, e não é atoa que seu apelido é He-Man.

Eliane foi uma grande companheira ao longo destes anos. Quantas risadas e ensinamentos nós compartilhamos? Quantas vezes nós dissemos as frases: “Vai dar certo!!!” ou “Vamos matar um leão por dia!!!”? Tínhamos nosso canto e mesa de estudos preferida na biblioteca. Quantas horas passamos juntas quebrando a cabeça com aquelas equações de fenômenos de transporte ou modelagem? E os cálculos da torta do Ricardo? Sonho com eles até hoje e espero sonhar por mais alguns anos.

Cleonice, meu anjo da guarda. Se eu fosse contar aqui nestes agradecimentos todas as coisas que passamos juntas eu acabaria com as árvores da Amazônia. Mas o que eu posso dizer é que você foi a colega que mais me apoiou e incentivou durante todos os momentos. Tivemos uma relação de amizade e companheirismo desde IPQ, e deve ser por isso que encerramos também com a tal IPQ. Por fim, resumo tudo que passamos em uma única frase de Drummond de Andrade: “Tinha uma pedra no meio do caminho”. Obrigada por tudo!!! gosto muito de vocês!!!

Aos demais colegas, Sarah (Um amor de pessoa), Lara, Carla, Flávia, Luis, Taylon, Lauane e Carolina. Obrigada por tudo.

Não vou conseguir expressar em palavras a minha alegria de chegar até aqui. Só quem conviveu comigo nestes últimos cinco anos sabe da felicidade em fazer parte da Universidade

Federal de Uberlândia – *Campus* Patos de Minas. Digo o nome da UFU com orgulho todas as vezes que a referencio. Parte do meu orgulho é sem dúvida devido aos professores maravilhosos que encontrei durante o curso, em especial, Danylo (meu eterno tutor e conselheiro), Carla, líbia, marta, michelle, wilian, paulo e rodrigo. VOCÊS SÃO DEMAIS!!!

Quero agradecer também quem tanto me ajudou com o meu TCC, minha orientadora Milla Gabriela dos Santos. Obrigada por todas as dicas, sugestões e ensinamentos. O meu trabalho é dedicado a você.

Por fim, agradeço a todos os meus amigos. Em especial ao meu segundo melhor amigo, Nathanaell, que mesmo distante sempre me incentivou e ajudou, não medindo esforços para me apoiar.

DEVER SE SONHAR...

“Eu tenho uma espécie de dever, dever de sonhar, de sonhar sempre, pois sendo mais do que um espetáculo de mim mesmo, eu tenho que ter o melhor espetáculo que posso. E, assim, me construo a ouro e sedas, em salas supostas, invento palco, cenário para viver o meu sonho entre luzes brandas e músicas invisíveis”. Fernando Pessoa

“Existem recompensas para quem se esforça em fazer o melhor de si”. Autor desconhecido

ALINNE BRANDÃO ANDALÉCIO CAMARGOS BRAGA

**ESTUDO DE CONSTITUINTES DO LEITE E SORO DE LEITE COMO MATERIAIS
DE PAREDE NO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO
COMPLEXA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Engenharia Química da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Banca de Avaliação:

Prof. Dr.: Milla Gabriela dos Santos
Orientadora

Prof. Dr.: Rodrigo Aparecido Moraes de Souza
Membro

Mr.: Talita Aline Comunian
Membro

Patos de Minas (MG), 30 dezembro de 2015.

ESTUDO DE CONSTITUINTES DO LEITE E SORO DE LEITE COMO MATERIAIS DE PAREDE NO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO POR COACERVAÇÃO COMPLEXA

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo para testar o potencial de aplicação de proteínas e carboidratos constituintes do leite e soro do leite como materiais de parede no processo de coacervação complexa. Os materiais de parede utilizados foram lactose, concentrado protéico de leite e caseinato de sódio, e como núcleo foi utilizado óleo de soja. Os materiais de parede foram homogeneizados com materiais de parede tradicionais no processo de coacervação complexa (goma arábica e gelatina). Foram analisadas diferentes concentrações. As formulações que apresentaram formação das microcápsulas foram secas por liofilização e foram caracterizadas por testes de umidade, solubilidade em água, cor instrumental, higroscopicidade e atividade de água. Para comparação dos resultados foi produzida uma amostra controle, com gelatina e goma arábica, ambas com 5% (massa/mL) de concentração e recheio (óleo de soja) de 0,05 g/mL de solução proteica. As microcápsulas coacervadas apresentaram tamanho médio de aproximadamente 30 μm , porém este tamanho se mostrou bastante irregular e variável em algumas formulações. Faz-se necessário a realização de outros testes para avaliar a eficiência das microcápsulas. Porém, pode-se dizer que a aplicação dos materiais de parede lactose, concentrado protéico de leite e caseinato de sódio apresentam uma alternativa interessante de utilização para a indústria de alimentos.

Palavras-chave: Microcápsula. Liofilização. Estabilidade. Lactose. Concentrado proteico do leite.

***STUDY OF CONSTITUENTS OF MILK AND WHEY AS WALL MATERIAL USING
PROCESS FOR MICROENCAPSULATION OF COMPLEX COACERVATION***

ABSTRACT

The objective of this study was to conduct a study to test the potential application of protein and carbohydrate constituent of milk and whey as wall materials and also their association with traditional products encapsulating the technique complex coacervation process. Wall materials were used: lactose, milk protein concentrate and sodium caseinate was used as the core and soybean oil. The wall materials were homogenized with traditional wall materials in complex coacervation process (gum arabic and gelatin). Different concentrations were analyzed. The formulations that had undergone formation of microcapsules were subjected to lyophilization and then characterized according to humidity tests, water solubility, instrumental color, hygroscopicity and water activity. In order to compare the results a control sample was produced using gelatin and Arabic Goma, both at 5% (weigh/mL) concentration and core (soybean oil) of 0.05 g/mL 0.05 g/ml protein solution. The coacervated microcapsules had an average size of about 30µm, however this size proved quite irregular and variable in some formulations. Conducting further tests to assess the efficiency of the microcapsules is necessary. However, it can be said that the application of there materials: lactose, milk protein concentrated and sodium caseinate showed an interesting alternative for use in the food industry.

Key-word: Microcapsule. Lyophilization. Stability. Lactose. Milk protein concentrate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo esquemático de microencapsulação por coacervação complexa.	12
Figura 2. Liofilizador de bancada.	15
Figura 3. Morfologia da emulsão simples obtida por microscópio óptico (100x).	19
Figura 4. Fotografias dos testes preliminares.	20
Figura 5. Fotografias dos testes preliminares.	21
Figura 6. Fotografias dos testes preliminares.	22
Figura 7. Fotografias dos testes preliminares.	23
Figura 8. Resultado do ajuste de ph na formação de microcápsulas no tratamento T1.	25
Figura 9. Resultado do ajuste de ph na formação de microcápsulas no tratamento T4.	26
Figura 10. Resultado do ajuste de ph na formação de microcápsulas no tratamento T7.	26
Figura 11. Morfologia das microcápsulas obtidas por microscopia óptica (T1, T2, T3 e T4).	28
Figura 12. Morfologia das microcápsulas obtidas por microscopia óptica (T5, T6, T7 e T8).	29
Figura 13. Morfologia das microcápsulas obtidas por microscopia óptica (T9).	30
Figura 14. Morfologia das microcápsulas obtidas por microscopia óptica da amostra controle	30

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1	O mercado lácteo brasileiro	2
2.2	Soro de leite	3
2.3	Microencapsulação.....	4
2.3.1	Aplicações da microencapsulação	5
2.3.2	Principais métodos de microencapsulação	6
2.4	Coacervação complexa.....	6
2.5	Materiais de parede	7
2.5.1	Goma arábica	7
2.5.2	Gelatina.....	8
2.5.3	Proteínas do leite e do soro de leite	8
2.5.4	Lactose	8
2.5.4	Caseinato de sódio	9
3.	OBJETIVOS	9
4.	MATERIAL E MÉTODOS	10
4.1	Materiais	10
4.2	Equipamentos.....	10
4.3	Preparo das emulsões	11
4.3.1	Preparo das soluções aquosas	11
4.3.2	Preparo das emulsões simples (óleo em água O/A)	11
4.4	Coacervação complexa.....	11
4.5.1	Morfologia das microcápsulas	16
4.5.2	Tamanho das microcápsulas	16
4.5.3	Umidade.....	16
4.5.4	Atividade de água	16
4.5.4	Cor instrumental	17
4.5.5	Higroscopicidade	17
4.5.7	Análise dos resultados	18
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5.1	Emulsões	18
5.1.1	Morfologia das emulsões simples	18
5.1.4	Morfologia do teste preliminar	18
5.2	Ajuste de pH durante o processo de coacervação complexa	24

5.3 Caracterização das microcápsulas (testes secundários):.....	27
5.3.1 Morfologia	27
5.3.2 Umidade das microcápsulas liofilizadas	31
5.3.4 Atividade de água (Aw) das microcápsulas	33
5.3.5 Cor das microcápsulas	34
5.3.6 Higroscopicidade das microcápsulas	35
5.3.7 Solubilidade das microcápsulas	36
6. CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um grande produtor de leite e produtos lácteos, principalmente queijos. A produção de queijos no Brasil está em uma curva crescente. Em 2011, foram produzidos 867,1 mil toneladas de queijos no país, 9,4% mais que em 2010, segundo dados divulgados pela Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ, 2015).

A tendência crescente de aumento da produção de queijos tem geração de grande volume de soro. O soro é altamente poluente e cria problemas ambientais seríssimos se não destinado de forma correta (ANTUNES; GOMEZ, 1990).

Devido ao valor nutricional do soro e o alto custo para descarte adequado é interessante a aplicação de seus componentes na indústria de alimentos. De acordo com Mizubuti (1994) 74% dos sólidos do soro são de lactose. Da mesma forma, outros componentes também presentes, como as proteínas, podem ser empregados em diversos produtos. Uma aplicação interessante para estes componentes do soro está no uso em microencapsulação, devido as propriedades funcionais tecnológicas e fisiológicas (PACHECO; SGARBIERI; FARFÁN, 2002).

Os objetivos do processo de microencapsulação na área de alimentos, além das possibilidades de proteção de determinado composto, como controle de umidade ou contato com o oxigênio, pode fornecer melhorias sensoriais nos produtos, como o realce de sabor e cor, por exemplo (MAJETI, 2000).

O método de coacervação complexa é conhecido e muito utilizado na formação das cápsulas, por apresentar eficiência de encapsulação e estabilidade nos produtos encapsulados. Dependendo da aplicação desejada, as microcápsulas coacervadas podem passar por processo de secagem, aumentando assim seu tempo de vida útil e ainda apresentar custo moderado em comparação com outros métodos, isto é interessante quando se pensa em aplicações industriais.

Diversos materiais podem ser utilizados como estrutura de parede das microcápsulas, sendo os mais utilizados, goma guar, goma arábica, gelatina, carboximetilcelulose, pectina, alginato, entre outros. Porém alguns destes produtos apresentam alto custo devido aos processos de extração e purificação aos quais são obtidos. Sendo assim, este estudo propõe a utilização de carboidratos e proteínas derivados do leite e soro de leite, uma vez que estes são em alguns casos subprodutos de processos e nem sempre são utilizados em outras aplicações.

É fato que o processo de microencapsulação vem se tornando cada dia mais utilizado na área de alimentos, devido as suas inúmeras vantagens, assim, pesquisar materiais de parede alternativos para o processo de coacervação complexa é de fundamental importância para otimizar, diminuir os custos do processo e reduzir os impactos ambientais pelo aproveitamento de resíduos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O mercado lácteo brasileiro

O Brasil se destaca como produtor de leite no cenário mundial. A produção leiteira é hoje um dos setores do agronegócio mais relevantes para a economia brasileira (SIQUEIRA et al, 2010). O leite ocupa o quarto lugar entre as commodities agropecuárias no Brasil, ficando atrás apenas da soja, cana-de-açúcar e milho (SIQUEIRA et al, 2010).

Em 2013 a produção leiteira no Brasil foi de 35 bilhões de litros, valor 35% a mais que os 26 bilhões produzidos em 2007 (COOPEAVI, 2014).

Juntamente com a produção de leite, o mercado de lácteos cresceu gradativamente. Entre os anos de 2009 a 2013, o faturamento do setor aumentou 61%. Dados recentes indicam que o brasileiro tem um consumo médio de 171 kg per capita de lácteos (RABELO, 2015).

Dentre os produtos lácteos tem-se destaque especial para os queijos. Em 2005, a produção global de queijos no país se distribuía em 11% para processados, 2% para queijos fundidos, 11% para queijos finos, 68% para os commodities e 8% para demais tipos (SEBRAE, 2008).

A produção de queijos no Brasil está em uma curva crescente. O queijo mussarela, principal queijo produzido, representa 28,1% do total, seguido por requeijão culinário (18,7%), queijo prato (18,6%), requeijão cremoso (8,3%), petit suisse (6,3%) e ricota, minas padrão e provolone, que juntos somam 10% (ABIQ, 2015).

Os últimos estudos de consumo realizados pela ABIQ mostraram que em 2014 o Brasil bateu o recorde de consumo de queijo. O estudo revelou que o brasileiro está consumindo em média 5 kg de queijo por ano, valor bem mais alto, comparado com a média registrada de 3 kg das últimas pesquisas (ABIQ, 2015).

Acredita-se que a produção de queijos aumente ainda mais, pois a demanda, impulsionada pelo aumento no poder aquisitivo tende a crescer. Além disso, o Brasil está encerrando negociações de aberturas de novos mercados, como por exemplo o acordo com a China, que abrirá pela primeira vez o mercado para lácteos brasileiros. Estima-se que tais exportações para o mercado chinês poderão incrementar aproximadamente 45 milhões de dólares por ano (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2015).

Um problema enfrentado pelas empresas produtoras de queijo é o alto volume de soro gerado. Segundo Mizubuti (1994) o soro é altamente poluente e cria problemas ambientais seríssimos, como a poluição ambiental de rios, esgotos e oceanos se não destinado de forma correta.

2.2 Soro de leite

O soro de leite possui alto valor nutricional, devido a presença de proteínas e teor de aminoácidos essenciais (NEVES, 2001). É um subproduto resultante da fabricação de queijos, por coagulação da caseína, é obtido por acréscimo de ácido ou enzima durante o processo de produção (MIZUBUTI, 1994).

Existem diferentes formas para a utilização do soro: soro fresco, soro em pó, pasteurizado ou não pasteurizado, soro condensado, soro condensado adoçado, e também pode-se utilizar os componentes individuais, tais como a lactose e proteínas (NEVES, 2001).

O soro de leite tem sido utilizado na produção de bebidas lácteas no Brasil, principalmente em bebidas fermentadas e não fermentadas. Porém essa aplicação não é suficiente para utilizar todo o soro de leite gerado. Segundo Neves (2001) apenas 15% do volume de soro é utilizado.

Segundo Mizubuti (1994) o descarte adequado do soro gera alto custo para as indústrias, assim, a utilização do soro ou de seus componentes é interessante.

A presença de proteínas e carboidratos em sua composição lhe confere alto valor nutricional (NEVES, 2001). Dentre os benefícios de suas aplicações em produtos alimentícios destaca-se a utilização das proteínas do soro, devido a propriedades tecnológicas, elevada solubilidade e capacidade de gelificação (SGARBIERI; PACHECO, 1999).

2.3 Microencapsulação

A história da microencapsulação na indústria alimentícia inicia-se por volta do ano de 1951, quando Griffin iniciou a preparação de concentrados de óleo (GRIFFIN, 1951, apud MARTINS, 1951, p. 15). Segundo Ré (2000) em 1960 os estudos com óleos continuaram, com o intuito de prevenir oxidação e perda de compostos voláteis.

Em 1988, testou-se o uso de microcápsulas para o acondicionamento de óleo de laranja em indústrias de aroma e produção de medicamentos na indústria farmacêutica (DZIEZAK, 1988).

Para alguns autores a microencapsulação consiste em uma técnica a qual utiliza-se um material de parede, que age encapsulando materiais em diversos estados físicos, como sólidos, líquidos ou gasosos em microcápsulas. Estas cápsulas têm a capacidade de liberar o conteúdo de forma controlada, de acordo com o que é desejado (FAVARO-TRINDADE, 2008; SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2001).

Segundo Azeredo (2005) a encapsulação é um processo de empacotamento de compostos em cápsulas comestíveis. Estas partículas podem ser compostos aromáticos, pigmentos, vitaminas, óleos, enzimas, micro-organismos pro-bióticos, dentre outros diversos tipos de materiais. Basicamente, a microcápsula é formada de duas partes, o material encapsulado, também denominado de recheio, núcleo ou meio ativo e o material que gera a cápsula, conhecido como material de parede ou cobertura.

Para Sparks (1981) o objetivo da microencapsulação é isolar a substância de interesse, protegendo-a de certas condições do ambiente, dessa forma se adquire aumento de vida útil do produto.

Dentre os objetivos e benefícios da microencapsulação para o setor alimentício pode-se destacar: barreira contra luz, umidade e oxigênio; diminuição da taxa de transferência de massa; redução da higroscopicidade do material do núcleo; em condições controladas tem-se liberação controlada e gradativa dos produtos de recheio; facilidade de manuseio e estocagem dos produtos; retenção de diversos compostos voláteis de sabor e aroma, para liberação sob condições pré-definidas; transformação de um composto líquido em pó; realce das características sensoriais, por meio de efeitos de textura e efeitos visuais (SPARKS, 1981; ENGELHARDT et al., 1988; DESAI, PARK, 2005).

Dentro do estudo da microencapsulação é importante saber diferenciar microcápsulas de microesferas. Quando o núcleo é nitidamente concentrado na região central, circundado por um filme definido e contínuo do material de parede tem-se as microcápsulas e quando o núcleo é uniformemente disperso em uma matriz tem-se as microesferas (AZEREDO, 2005).

Uma forma bastante comum de classificar as cápsulas é por meio de seu tamanho, sendo fundamentalmente divididas em três grupos principais, as macrocápsulas ($>5000\text{ }\mu\text{m}$), microcápsulas ($0,2\text{-}5000\text{ }\mu\text{m}$) e nanocápsulas ($<0,2\text{ }\mu\text{m}$) (AZEREDO, 2005).

Segundo Santos (2001) o tipo, a porosidade e o tamanho das microcápsulas podem variar de acordo com o produto de interesse a ser microencapsulado. Dependendo do tamanho das moléculas a serem retidas têm-se possíveis variações da porosidade. Por exemplo, para se reter moléculas pequenas como glicose (180 D) ou permitir o fluxo controlado de moléculas maiores, tais como a imunoglobulina (155000 D).

2.3.1 Aplicações da microencapsulação

A partir dos anos 80 as pesquisas com microencapsulação se expandiram para diversas áreas, apresentando atualmente uma série de aplicações. A microencapsulação tem uma vasta aplicação na indústria de alimentos, e estas aplicações estão ampliando, uma vez que o mercado de produtos alimentícios industrializados está em uma linha crescente (SANTOS, 2014).

Segundo Martins et al. (2014) o nível de aplicação da microencapsulação no setor de fármacos é o maior, correspondendo a 68%, em seguida tem-se o setor alimentício com 13% e cosméticos com 8%.

Dentre os vários materiais que podem ser encapsulados na indústria alimentícia se destacam os óleos, ácidos, bases, vitaminas, enzimas e micro-organismos (SANTOS, 2001; JACKSON; LEE, 1991).

Pesquisas têm demonstrado que as culturas probióticas podem ser significativamente protegidas através da técnica de microencapsulação. Realiza-se o revestimento de microrganismos por uma matriz encapsulante. Esta tem sido uma alternativa para resolver os problemas de instabilidade e inviabilidade de alimentos probióticos (KAILASAPATHY, 2009; PEDROSO et al 2012).

2.3.2 Principais métodos de microencapsulação

Os métodos utilizados para microencapsulação podem ser divididos em três classes, métodos físicos, métodos físico-químicos e métodos químicos. Métodos físicos: spray drying, spray chilling, spray coating, extrusão centrífuga com múltiplos orifícios, leito fluidizado. Métodos físico-químicos: coacervação simples, coacervação complexa, separação por fase orgânica, pulverização em agente formador de reticulação, evaporação do solvente. Métodos químicos: polimerização interfacial, inclusão molecular (JACKSON e LEE, 1991).

Para se escolher uma técnica alguns fatores devem ser levados em consideração para alcançar os melhores resultados possíveis, particularmente deve-se avaliar o meio ativo que se deseja encapsular, pois as propriedades do mesmo influenciam consideravelmente na estabilidade e proteção da microcápsula (ZUANON, 2012).

Outros fatores importantes a serem considerados também são o custo e disponibilidade de equipamentos e materiais, pois em consequência de uma futura aplicação industrial o custo é um fator relevante.

2.4 Coacervação complexa

Alguns autores definem a técnica coacervação complexa como sendo o método no qual ocorre a separação de fases de dois hidrocolóides a partir da solução inicial e a subsequente sedimentação do coacervado que teve formação ao redor do núcleo (COMUNIAN, 2013; ARAÚJO, 2011; GOIUN, 2004).

Este processo é uma das técnicas mais antigas de microencapsulação, sendo que realiza total revestimento do produto ativo por meio do material de parede (ARAÚJO, 2011).

A coacervação complexa é uma técnica com excelentes perspectivas em virtude das possibilidades de liberação controlada do meio ativo, baseadas no estresse mecânico, liberação modulada e/ou modificação da temperatura (GOIUN, 2004). É descrita por uma separação espontânea de fases, devido a formação de um complexo insolúvel de polímeros. Esse processo acontece devido a interações eletrostáticas entre macromoléculas presentes na solução (JACKSON; LEE, 1991).

A palavra coacervado é descendente do latim. “Co” significa união e “acervus” agregação de partículas (MENGER et al., 2000).

A coacervação simples é menos utilizada que a coacervação complexa na área de alimentos. A diferença básica das duas é que na coacervação simples existe apenas um polímero no processo, enquanto que a coacervação complexa é realizada com dois ou mais tipos de polímeros de cargas opostas (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

2.5 Materiais de parede

O material de parede da microcápsula deve ser escolhido mediante sua capacidade de manter a estabilidade do composto encapsulado. As características físicas e químicas do mesmo devem ser investigadas, a fim de produzir produtos desejáveis em relação ao tamanho, carga, estrutura, permeabilidade, solubilidade, higroscopicidade, atividade de água, etc. (SUAVE et al., 2006).

Outra característica importante dos materiais de parede, principalmente para o uso em produtos alimentícios, é que sejam atóxicos, possuam um mecanismo de liberação eficiente e que não possibilite reatividade com o material a ser encapsulado. (FAVARO-TRINDADE, 2008).

Para Porte, et al. (2011) a escolha do agente encapsulante é crítica, pois influenciará na estabilidade da emulsão antes e depois da secagem.

Diversos materiais têm sido reportados como materiais de parede, sendo os mais utilizados: carboidratos (amidos, dextrinas), celulosos (carboximetilcelulose), gomas (goma arábica, goma guar); e proteínas (gelatina, glúten, caseína, isolado protéico de soro de leite) segundo Shahidi e Han (1993) apud Araújo (2011). As proteínas e polissacarídeos são os polímeros mais utilizados como agentes encapsulantes para alimentos (PASQUEL, 2001 apud ARAÚJO, 2011).

2.5.1 Goma arábica

A goma arábica é o material de parede mais antigo utilizado na técnica de microencapsulação, é também considerado o mais importante e sua aplicação se estende por muitas áreas, incluído a indústria de alimentos (VERBEKEN; DIERCKX; DEWETTINCK,

2003). É considerada historicamente como material encapsulante por excelência, graças à sua solubilidade, baixa viscosidade, propriedades emulsificantes, sabor suave e alta estabilidade oxidativa conferida a óleos (VERBEKEN; DIERCKX; DEWETTINCK, 2003).

2.5.2 Gelatina

As gelatinas apresentam carga negativa acima de seu ponto isoelétrico e carga positiva abaixo dele (BERTAN, 2003). A gelatina é muito utilizada em associação a goma arábica para a produção de microcápsulas devido as suas características benéficas de formação de películas com boas propriedades plastificantes e de aderência (ESPOSITO et al., 1996).

2.5.3 Proteínas do leite e do soro de leite

As proteínas do leite e do soro do leite são uma opção que tem sido avaliada, principalmente, por serem produtos derivados de um resíduo industrial de laticínios e de altíssima qualidade. Em estudos recentes as proteínas do soro de leite tem apresentado promissora atividade para produção de microcápsulas (FRASCARELI et al., 2012).

As proteínas do soro de leite estão sendo muito utilizadas para microencapsulação de ingredientes alimentícios por spray drying (CHAVES; REINECCIUS, 2009 apud CARNEIRO, 2011), mas na coacervação complexa o par gelatina-goma arábica ainda é mais utilizado.

Em relação à proteção contra oxidação, as proteínas do soro têm demonstrado ótimos comportamentos em relação a outros agentes comumente utilizados, como amido e goma arábica (CHAVES; REINECCIUS, 2009 apud CARNEIRO, 2011).

2.5.4 Lactose

A lactose é o principal carboidrato do leite e encontra-se presente também no soro de leite, em torno de 70%. No leite integral a quantidade é menor, cerca de 5% (MORIWAC; MATIOLI, 2000).

A lactose é encontrada sob duas formas isoméricas cristalinas, que são α hidratada e β anidra, as quais apresentam propriedades físicas distintas. O fenômeno conhecido como mutarrotação possibilita que essas formas entrem em equilíbrio (ORDÓÑEZ, 2005).

Na indústria de alimentos a lactose apresenta um papel muito importante, sendo utilizada em diferentes setores, mas com destaque especial para produtos lácteos, como iogurtes e queijos (ORDÓÑEZ, 2005).

2.5.4 Caseinato de sódio

O caseinato de sódio é um coágulo protéico obtido por meio de um processo tecnológico que consiste na obtenção da caseína ácida e na sua neutralização química com hidróxido de sódio. Possui oito aminoácidos essenciais em sua composição, o que lhe confere alto valor nutricional (UDAETA; TERRA, 1995).

Devido à baixa percentagem de hélices, os caseinatos quase não apresentam geleificação e desnaturação pelo calor e possuem alta viscosidade em solução. Os caseinatos têm uma alta carga elétrica e vários grupos hidrofóbicos. A alta carga torna-os solúveis em água, isto também torna-os emulsificantes ideais para interfaces como: gordura/água ou ar/água (UDAETA; TERRA, 1995).

Os caseinatos constroem membranas flexíveis e fortes, isto faz com que seja difícil a destruição das mesmas pelo calor. Além disso, o caseinato de sódio tem propriedades de estabilizar, reter água, controlar a textura e consistência de produtos e ainda melhorar a cor e características sensoriais (HOVEN, 1987).

3. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Realizar um estudo para testar o potencial de aplicação de constituintes do leite e soro de leite, como materiais de parede e também a associação destes com goma arábica e gelatina na formação de microcápsulas pela técnica de coacervação complexa.

Objetivos específicos:

- Produzir e avaliar por microscopia ótica microcápsulas formadas por goma arábica e gelatina utilizando a técnica de coacervação complexa;

- Avaliar o potencial de aplicação de lactose, concentrado protéico de leite e caseinato de sódio para formação de material de parede em diferentes concentrações e parâmetros, tendo como meio ativo de teste óleo de soja;
- Caracterizar as microcápsulas secas por liofilização por meio de testes de umidade, solubilidade em água, higroscopicidade, cor instrumental, atividade de água e microscopia ótica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Caseinato de sódio, concentrado protéico de leite (CPL – 80%), lactose (New Química, Belo Horizonte, MG, Brasil), goma arábica (Nexira Brasil Comercial Ltda, Perdizes, SP, Brasil) e gelatina suína tipo B (Gelita, Cotia, SP, Brasil) foram utilizados como material de parede. Óleo de soja (Cargill Agrícola S.A, Mairinque, SP, Brasil) foi utilizado como núcleo.

4.2 Equipamentos

Placas de agitação magnética com aquecimento, digital (Marca: IKA; Modelo: C-MAG HS 7), mesa agitadora (Marca: QUIMIS; Modelo: Q225K), balança analítica (Marca: SHIMADZU; Modelo: AUW320), banho maria para aquecimento, termômetro digital (Marca: UNILAB; Modelo: RS008), homogeneizador digital ultraturrax (Marca: IKA; Modelo: T 25 D S32), microscópio ótico (Marca: BIOVAL; Modelo: L2000I), medidor de pH digital (Marca: TECNOPON; Modelo: MPA210), liofilizador de bancada microprocessado (Marca: LIOTOP; Modelo: L), analisador de umidade por infravermelho (Marca: GEHAKA; Modelo: IV 2500), analisador de atividade de água de bancada (Marca: DECAGON; Modelo: Aqualab Lite), colorímetro portátil digital (Marca: KONICA MINOLTA; Modelo: CR-400), dessecador em vidro, estufa (Marca: QUIMIS, Modelo: Q314M252), centrífuga de bancada digital microprocessada (Marca: QUIMIS; Modelo: Q222TM208).

4.3 Preparo das emulsões

4.3.1 Preparo das soluções aquosas

As soluções aquosas foram preparadas com os materiais estudados em diferentes concentrações (Tabela 2 e 3). Para melhor hidratação dos materiais as emulsões ficaram em agitação por 1 hora em placa de agitação magnética e posteriormente foram acondicionadas sob refrigeração (5-8 °C) durante 24 horas.

4.3.2 Preparo das emulsões simples (óleo em água O/A)

As emulsões simples foram preparadas utilizando soluções aquosas dos materiais proteicos estudados (gelatina, concentrado proteico do soro de leite (CPL 80%) ou caseinato de sódio) e óleo de soja (5 g/100 mL de solução simples com 5% de concentração). A homogeneização dos materiais foi feita em homogeneizador Ultraturrax com 8.000 rpm (rotações por minuto) durante cinco minutos. As emulsões simples foram visualizadas em microscópio óptico.

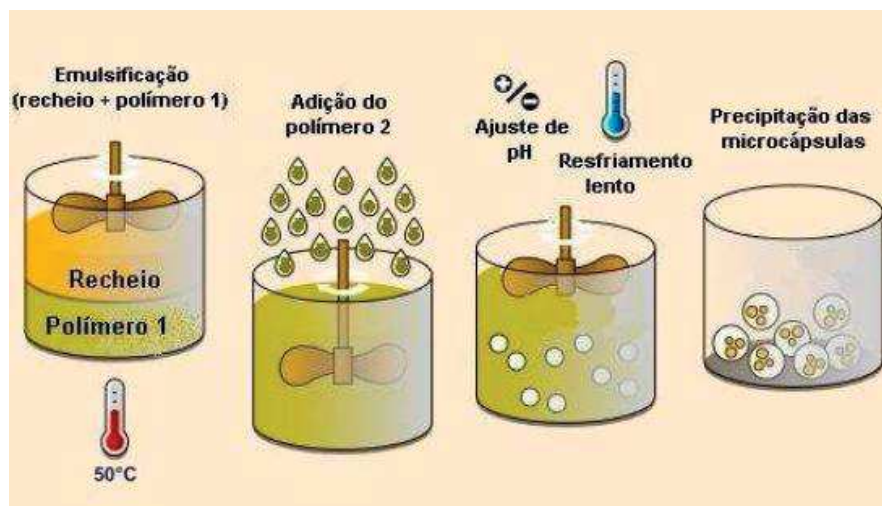
4.4 Coacervação complexa

As emulsões simples (óleo em água) foram adicionadas lentamente em 100 mL das soluções aquosas de carboidrato (soluções de goma arábica, lactose ou lactose-goma arábica). A emulsificação foi feita utilizando-se placa de agitação durante 5 minutos e temperatura de 50°C. Utilizou inicialmente diferentes concentrações de teste e posteriormente utilizando concentrações de gelatina (5%, 4,5%, 4,0% 3,5%), concentrado proteico de leite (CPL 80%) (0,5%, 1%, 1,5%), caseinato de sódio (0,5%, 1%, 1,5%), lactose (0,5%, 1%, 1,5%) e goma arábica (5%, 4,5%, 4,0% 3,5%).

O processo de coacervação utilizado neste trabalho está ilustrado na Figura 1. 100 mL de solução aquosa de carboidrato (lactose, goma arábica ou lactose-goma arábica) a 50°C foi lentamente adicionado na emulsão simples (óleo em água). Em seguida adicionou-se 150 mL

de água destilada a 50°C, para facilitar a visualização da separação de fases. Este processo foi realizado sob agitação constante e ininterrupta.

Figura 1. Modelo esquemático de microencapsulação por coacervação complexa.



Fonte: ARAÚJO (2011).

Testes preliminares

Os testes preliminares foram necessários para familiarização com a técnica de produção das micropartículas e também para direcionar a escolha das variáveis e condições das mesmas. Nos testes preliminares (Tabela 2) testou-se diferentes pHs (4, 5 e 6). A quantidade de núcleo (óleo de soja) foi de 0,05 g/mL de água.

Para realizar o ajuste adequado utilizou-se ácido orto-fosfórico. Foi realizado resfriamento lento em banho de gelo até a solução atingir 10°C.

Testes secundários

Nos testes secundários (Tabela 3) o pH foi ajustado para 4,0 em todos os tratamentos. A quantidade de núcleo (óleo de soja) foi de 0,05 g/mL de solução simples.

Assim como nos testes preliminares para realizar o ajuste adequado utilizou-se ácido orto-fosfórico e foi realizado resfriamento lento em banho de gelo até a solução atingir 10°C.

Após o processo de coacervação, o coacervado foi armazenado sob refrigeração (5-8°C) durante 24 horas. Após este período a fase aquosa separou-se do coacervado por decantação.

A secagem das microcápsulas foi realizada em liofilizador (Figura 2), utilizou-se bandejas com 18 cm de diâmetro do equipamento para espalhar as amostras em finas camadas. A temperatura do liofilizador permaneceu por volta de -48°C e a pressão manteve-se em torno de 300 e 380 μmHg .

O ciclo de liofilização utilizado para este trabalho foi de 24 horas. O material resultante adquiriu forma de finas camadas de pó, as quais foram trituradas com pistilo em almofariz para quebrar as crostas formadas.

As condições operacionais utilizadas durante o processo estão apresentadas na Tabela

1.

Tabela 1. Condições operacionais durante a coacervação complexa.

Primeira etapa de emulsificação	8.000 rpm/5 minutos
Segunda etapa de emulsificação	8.000 rpm/5 minutos
Agitação durante o processo de coacervação	Placa de agitação magnética
Temperatura durante a coacervação	50°C
Temperatura de resfriamento	10°C
pH de coacervação	4,0
Separação das microcápsulas por decantação	5-8°C durante 24 horas

Tabela 2. Formulação dos testes preliminares de coacervação.

Amostra	Gelatina (%) m/v	CPL (%) m/v	CS (%) m/v	Lactose (%) m/v	GA (%) m/v	pH
Controle	5	-	-	-	5	4
Teste 01	-	5	-	5	-	4
Teste 02	-	5	-	5	-	5
Teste 03	-	5	-	5	-	6
Teste 04	-	-	5	5	-	4
Teste 05	-	-	5	5	-	5
Teste 06	-	-	5	5	-	6
Teste 07	5	-	-	5	-	4
Teste 08	5	-	-	5	-	5
Teste 09	5	-	-	5	-	6
Teste 10	-	5	-	-	5	4
Teste 11	-	5	-	-	5	5
Teste 12	-	5	-	-	5	6
Teste 13	-	-	5	-	5	4
Teste 14	-	-	5	-	5	5
Teste 15	-	-	5	-	5	6

CPL: Concentrado proteico de leite (80%); CS: Caseinato de sódio. GA: Goma arábica. m/v: massa por volume.

A escolha das concentrações dos materiais de parede utilizados nos testes preliminares foram baseadas nos trabalhos de Comunian (2013) e Santos (2014), ambas trabalharam com gelatina e goma arábica como agente encapsulante.

Tabela 3. Formulação dos testes secundários de coacervação.

Amostra	Gelatina (%) m/v	CPL (%) m/v	CS (%) m/v	Lactose (%) m/v	GA (%) m/v	pH
Controle	5	-	-	-	5	4
T1	5	-	-	0,5	4,5	4
T2	5	-	-	1	4	4
T3	5	-	-	1,5	3,5	4
T4	4,5	0,5	-	-	5	4
T5	4	1	-	-	5	4
T5	3,5	1,5	-	-	5	4
T7	4,5	-	0,5	-	5	4
T8	4	-	1	-	5	4
T9	3,5	-	1,5	-	5	4

CPL: Concentrado proteico de leite (80%); CS: Caseinato de sódio. GA: Goma arábica. m/v: massa por volume.

A determinação das concentrações dos materiais de parede utilizados nos testes secundários foi feita utilizando-se valores inferiores as concentrações testadas inicialmente nos testes preliminares, visando encontrar melhores resultados.

Figura 2. Liofilizador de bancada.



Fonte: LIOTOP (2015).

Caracterização das microcápsulas

A caracterização das microcápsulas foi feita com as amostras obtidas nos testes secundários. Para comparação dos resultados foi produzida uma amostra controle, com gelatina e goma arábica, ambas com 5% de concentração e recheio (óleo de soja) de 0,05 g/mL de solução aquosa de gelatina (massa/volume).

4.5.1 Morfologia das microcápsulas

As microcápsulas antes do processo de liofilização foram avaliadas quanto à morfologia por meio de microscopia óptica. Logo após o processo de coacervação amostras das microcápsulas foram colocadas em lâminas de vidro para visualização em microscópio. As fotografias foram tiradas com câmera digital acoplada ao microscópio óptico (Marca: BIOVAL; Modelo: L2000I) com zoom de 100 vezes.

4.5.2 Tamanho das microcápsulas

Utilizou-se o programa de análise de imagens ImageJ para tratar as imagens e após a calibração do software realizou-se as medidas do tamanho médio das microcápsulas.

4.5.3 Umidade

O teste de umidade foi realizado nas microcápsulas secas (após o processo de liofilização) em analisador de umidade por infravermelho (marca Gehaka, modelo IV 2500).

4.5.4 Atividade de água

O teste de atividade de água foi realizada nas microcápsulas secas (após o processo de liofilização). Foi determinado utilizando-se equipamento AQUALAB (analisador de atividade de água de bancada) (marca Decagon, modelo: Aqualab Lite), com leitura digital (marca Gehaka, modelo IV 2500).

4.5.4 Cor instrumental

A cor instrumental das microcápsulas foi analisada com um colorímetro (Marca: KONICA MINOLTA; Modelo: CR-400) após o processo de liofilização. Os resultados foram apresentados seguindo o sistema de coordenadas de cor CIElab, avaliando-se L^* ($L^*=0$ preto e $L^*=100$ branco), a^* ($+a^*$ =vermelho e $-a^*$ =verde) e b^* ($+b^*$ =amarelo e $-b^*$ =azul).

4.5.5 Higroscopicidade

As microcápsulas liofilizadas foram analisadas em relação à higroscopicidade após o processo de secagem por liofilização. Foi escolhida a metodologia de Cai e Corke (2000, apud SANTOS, 2014). Amostras com 0,3 gramas foram colocadas em cadinhos de porcelana e armazenadas por sete dias em dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio. Determinou-se a higroscopicidade das amostras quantificando a massa de água absorvida pela amostra no período considerado. As análises foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos em g de água absorvida/100 gramas de matéria seca.

4.5.6 Solubilidade em água

A solubilidade em água foi determinada pelo método gravimétrico, de acordo com Eastman e Moore (1984), citado por Cano-Chauca et al (2005) e Santos (2014), com algumas modificações. Uma amostra de 0,12 g foi adicionada em um erlenmeyer contendo 12 mL de água destilada, em seguida o mesmo foi agitado em mesa agitadora com 100 rpm durante 30 minutos. Posteriormente, a solução foi centrifugada a 3500 rpm por 5 minutos. Uma alíquota de 11 mL do sobrenadante foi levada a estufa a 105 °C até que o peso da amostra se mantivesse constante.

Para avaliar a solubilidade calculou-se a massa inicial de amostra que se solubilizou na alíquota de 11 mL do sobrenadante. O procedimento foi realizado em triplicata. O resultado do ensaio foi expresso em porcentagem.

4.5.7 Análise dos resultados

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Para avaliar os dados obtidos nos ensaios utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias com 5% de significância. O pacote estatístico utilizado foi o Assistat (Assistência estatística), versão 7.7 beta.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Emulsões

5.1.1 Morfologia das emulsões simples

Para avaliar a morfologia das emulsões simples utilizou-se microscópio ótico. Devido ao reduzido tamanho das gotículas a visualização das mesmas se torna difícil, como pode ser visto na Figura 3.

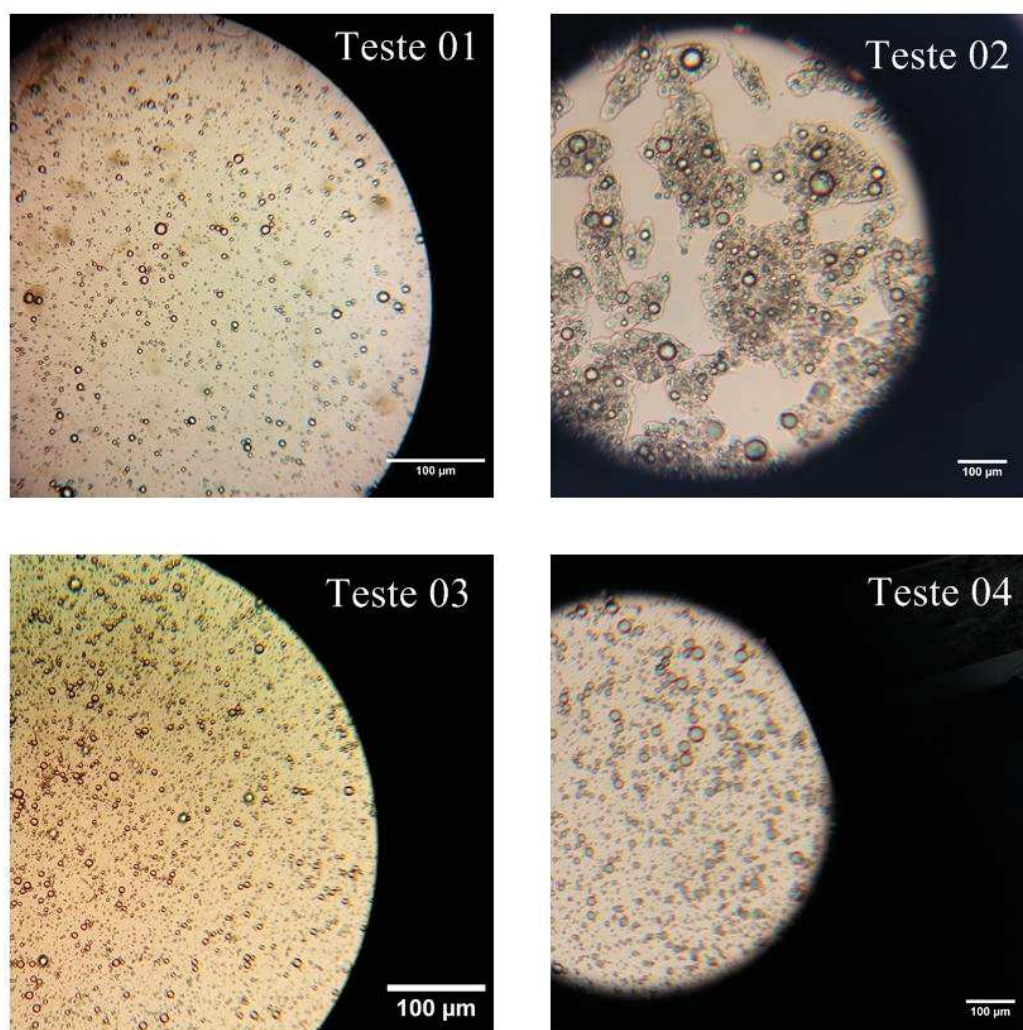
5.1.4 Morfologia do teste preliminar

Devido à influência da concentração dos materiais utilizados nas emulsões, 15 tratamentos com diferentes concentrações de ingredientes foram testados. As Figuras 4, 5, 6 e 7 mostram a morfologia dos testes avaliados.

Figura 3. Morfologia da emulsão simples obtida por microscópio óptico (100x).

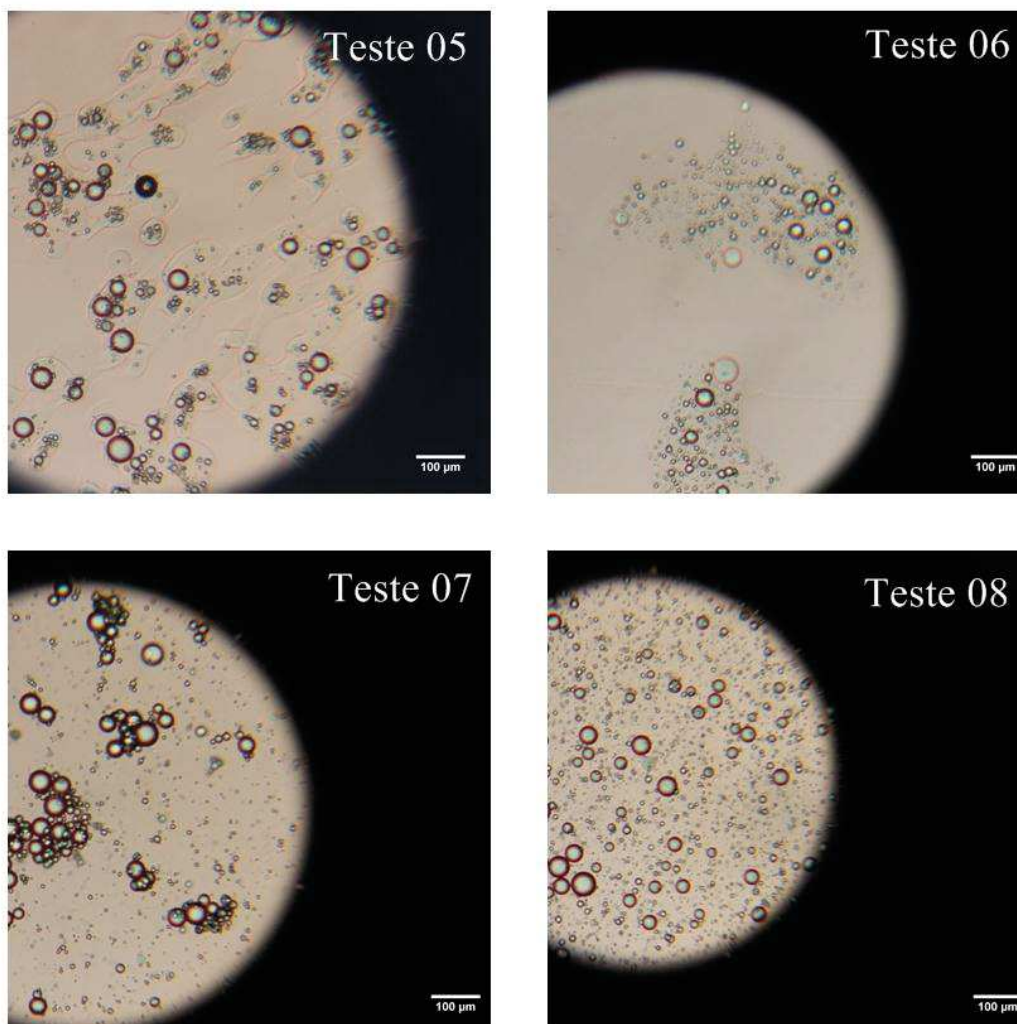


Figura 4. Fotografias dos testes preliminares.



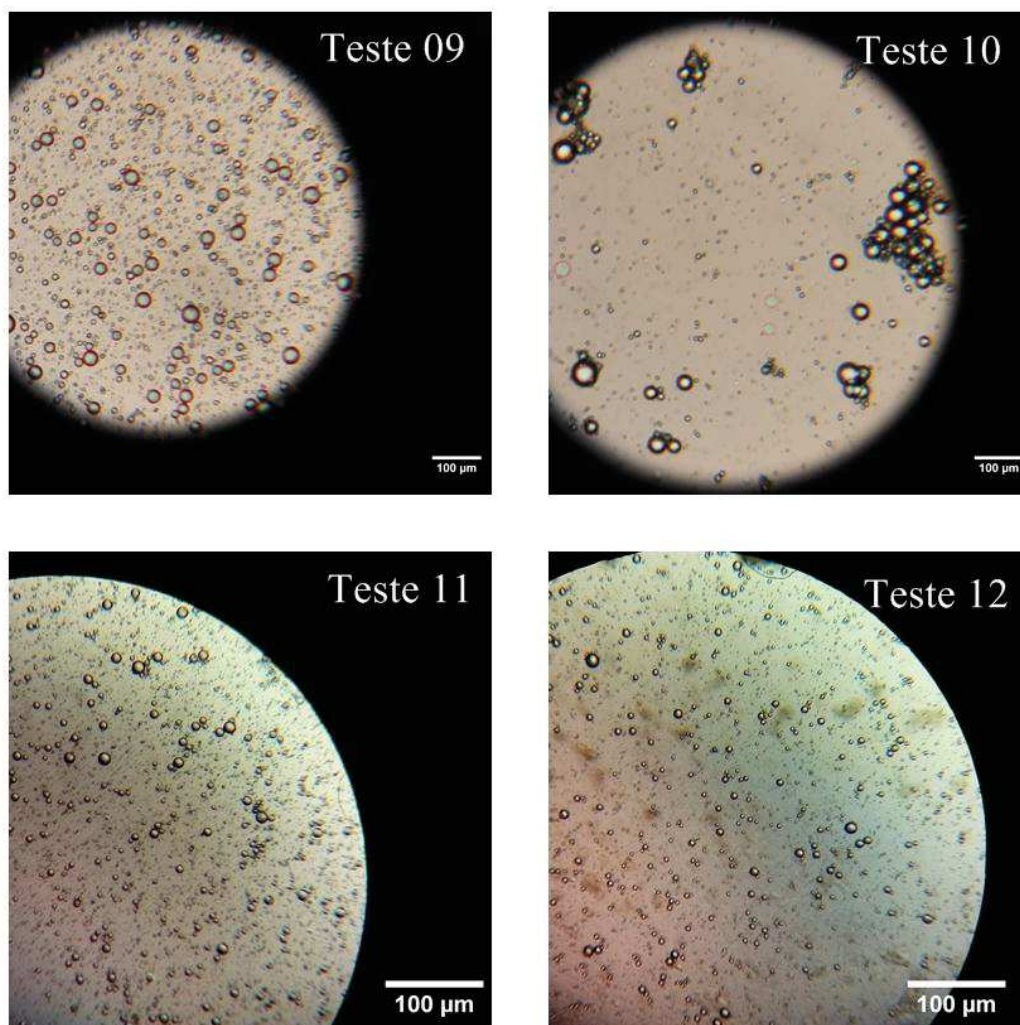
A concentração de polímeros e o pH foi: Teste 01 (5% CPL, 5% lactose e pH 4); Teste 02 (5% CPL, 5% lactose e pH 5); Teste 03 (5% CPL, 5% lactose e pH 6); Teste 04 (5% caseinato de sódio, 5% lactose e pH 4). A barra corresponde a 100 µm. Imagens obtidas com zoom de 100 vezes.

Figura 5. Fotografias dos testes preliminares.



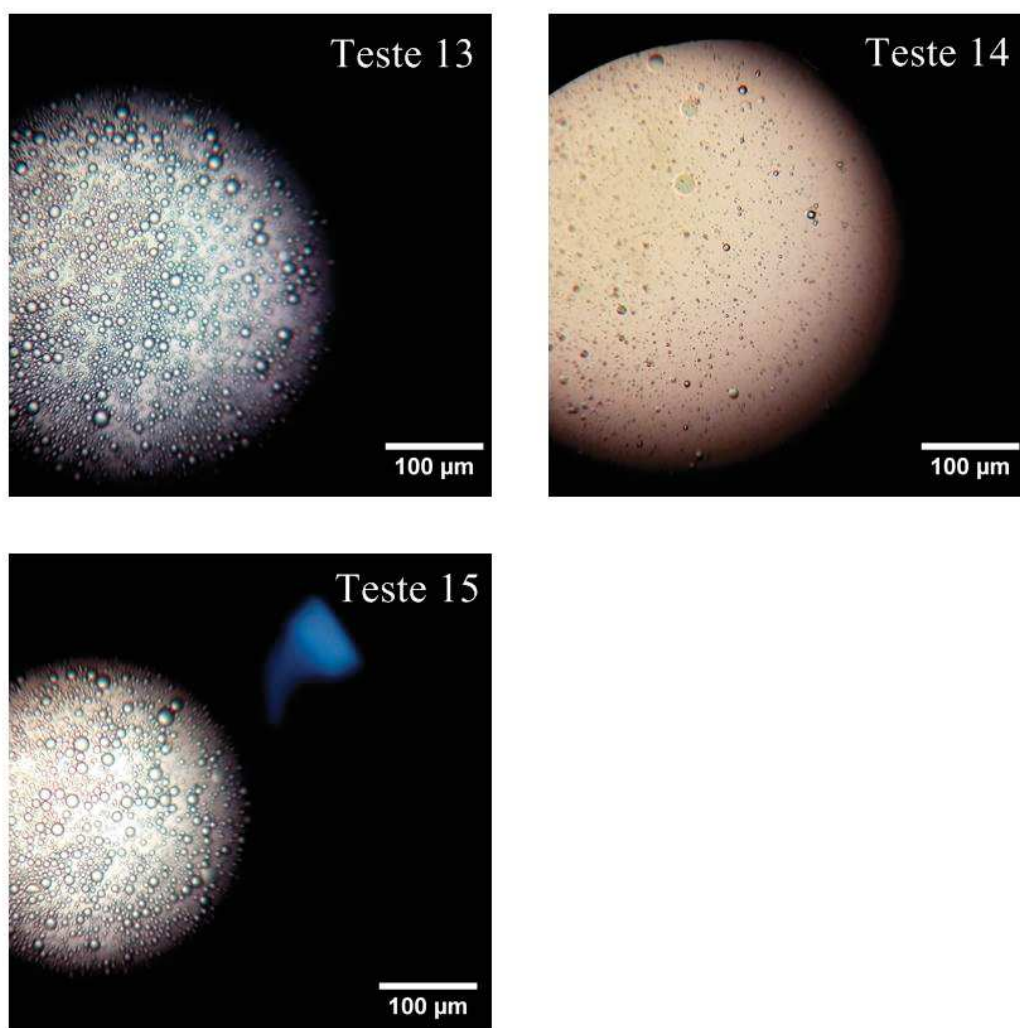
A concentração de polímeros e o pH foi: Teste 05 (5% caseinato de sódio, 5% lactose e pH 5); Teste 06 (5% caseinato de sódio, 5% lactose e pH 6); Teste 07 (5% gelatina, 5% lactose e pH 4); Teste 08 (5% gelatina, 5% lactose e pH 5). A barra corresponde a 100 µm. Imagens obtidas com zoom de 100 vezes.

Figura 6. Fotografias dos testes preliminares.



A concentração de polímeros e o pH foi: Teste 09 (5% gelatina, 5% lactose e pH 6); Teste 10 (5% CPL, 5% goma arábica e pH 4); Teste 11 (5% CPL, 5% goma arábica e pH 5); Teste 12 (5% CPL, 5% goma arábica e pH 6). A barra corresponde a 100 µm. Imagens obtidas com zoom de 100 vezes.

Figura 7. Fotografias dos testes preliminares.



A concentração de polímeros e o pH foi: Teste 13 (5% caseinato de sódio, 5% goma arábica e pH 4); Teste 14 (5% caseinato de sódio, 5% goma arábica e pH 4); Teste 15 (5% caseinato de sódio, 5% goma arábica e pH 5). A barra corresponde a 100 µm. Imagens obtidas com zoom de 100 vezes.

Por meio da visualização em microscópio, como pode ser visto nas Figuras 4, 5, 6 e 7 não houve formação de microcápsula por meio da coacervação complexa em nenhum teste avaliado. Os testes 02 e 05 apresentaram certa aglomeração de polímeros, porém tal situação deve ser investigada em trabalhos futuros. Diversos fatores podem ter influenciado na coacervação de forma negativa, como a concentração de polímeros, pH do meio, turbulência no sistema, tamanho das gotículas da emulsão, força iônica e temperatura do processo.

5.2 Ajuste de pH durante o processo de coacervação complexa

Segundo Santos (2014) o pH ideal para a coacervação varia muito dependendo da proteína e do carboidrato utilizado no processo. Para definir o ajuste ideal do pH foram testadas diferentes condições, obtendo intencionalmente pH 3,0; 4,0; 5,0 6,0. O ajuste foi feito utilizando-se ácido ortofosfórico. As figuras a seguir esboçam os resultados encontrados.

Percebe-se claramente pelas Figura 8, Figura 9, Figura 10 que o coacervado com pH 4 apresenta melhor separação de fase entre o coacervado e a fase aquosa. Os pH 3, 5 e 6 não apresentaram a mesma coacervação que o pH 4, pois parte do material coacervado ficou disperso na fase aquosa, dificultando assim sua separação. O mesmo resultado foi encontrado por Santos (2014) ao se trabalhar com microcápsulas de gelatina e goma arábica.

É possível avaliar também que as amostras com pH 4 apresentaram menor turbidez em relação aos outros pH (3, 5 e 6). Segundo Thies (1995) a diminuição da turbidez é um indicativo de maior interação polimérica.

Foi observado que, para os sistemas com correção do pH para 3 não houve formação de precipitado, mostrando que não houve coacervação. Para os testes com correção do pH para 4 ocorreu a formação de precipitado, sendo observado na microscopia a presença de partículas esféricas e com parede definida.

Nos sistemas de pH 5 e 6 o sobrenadante mostrou-se ligeiramente turvo, indicando a presença de polímeros em solução. Fato semelhante ocorreu com Alvim (2005) em seu trabalho com microcápsulas de gelatina e goma arábica para encapsulação de oleoresina de páprica. Alvim (2005) diz que o pH 4,0 apresentou solução límpida e isto é um indicativo de maior interação entre os polímeros e consequentemente maior formação de coacervado, sendo assim escolhido para aplicação nos testes. Tanto Alvim (2005) como Lima (2014) que trabalhou com microencapsulação de óleo de bacuri, utilizaram o pH 4,0 para formação das microcápsulas.

Com a alteração das condições do pH para promover a coacervação ocorre a deposição do complexo ao redor das estruturas, formando um filme retentor do recheio (SCHMITT et al., 1998; TOLSTOGUZOV, 1991). Por isso, o ajuste do pH é de extrema importância para a formação da microcápsula.

Segundo Schmitt et al (1998) como a maior parte das interações são do tipo eletrostática é necessário que o valor do pH esteja inferior ao ponto isoelétrico das proteínas, isso garante a desprotonação necessária para que a coacervação ocorra.

Figura 8. Resultado do ajuste de pH na formação de microcápsulas no tratamento T1.



Figura 9. Resultado do ajuste de pH na formação de microcápsulas no tratamento T4.

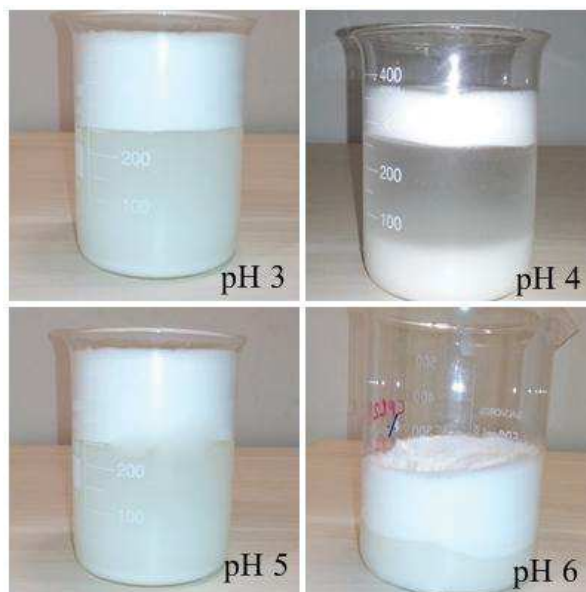


Figura 10. Resultado do ajuste de pH na formação de microcápsulas no tratamento T7.



Segundo Zuanon (2012) a coacervação complexa utilizando o par gelatina/arábica só é possível em pH abaixo do ponto isoelétrico da gelatina, pois neste ponto a mesma se torna positivamente carregada, enquanto a goma arábica continua carregada negativamente. Segundo Schmitt et al. (1998) gelatina e caseína formam coacervados quando estão em condições próximas aos seus respectivos pontos isoelétricos.

No trabalho de Comunian (2013) o pH para promover a coacervação complexa foi ajustado para 4,4, trabalhando com gelatina e goma arábica como materiais de parede e ácido ascórbico como núcleo.

Capitani (2004) variou o pH em seu estudo de interação de proteínas do soro de leite com polissacarídeos, para verificar a influência deste parâmetro e obter máxima precipitação protéica na fração de proteínas totais. Foi observado uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias obtidas de concentração de proteínas nos sobrenadantes quando optou-se pelo pH 3, em relação a pH 2, 4 e 4,5. Na faixa de pH 3 houve máxima precipitação de proteínas. Segundo o autor neste pH, os sítios de ligação das proteínas que estão carregadas com carga positiva são grupos amino que se ligam aos grupos carboxílicos da goma que estão desprotonados.

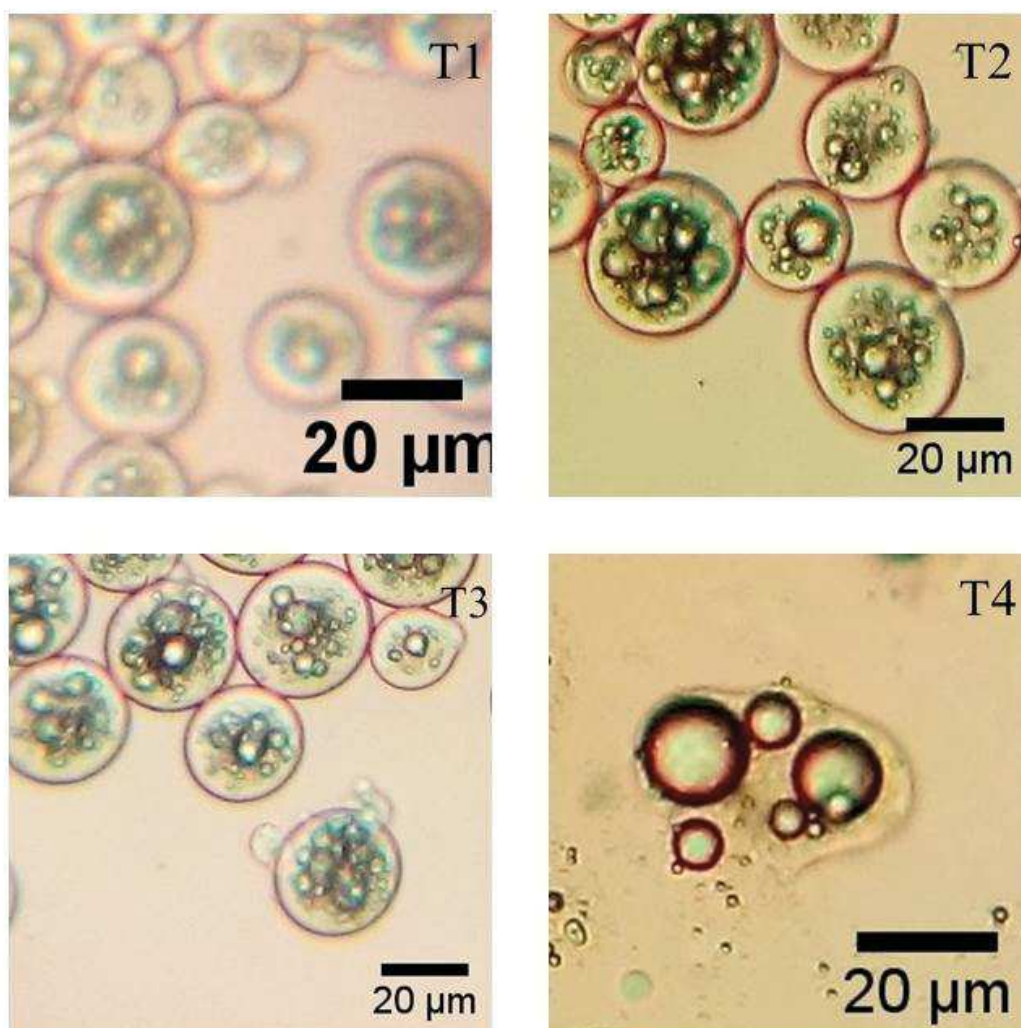
Devido aos bons resultados encontrados com o pH 4 na avaliação inicial dos testes secundários este foi utilizado na finalização do estudo.

5.3 Caracterização das microcápsulas (testes secundários):

5.3.1 Morfologia

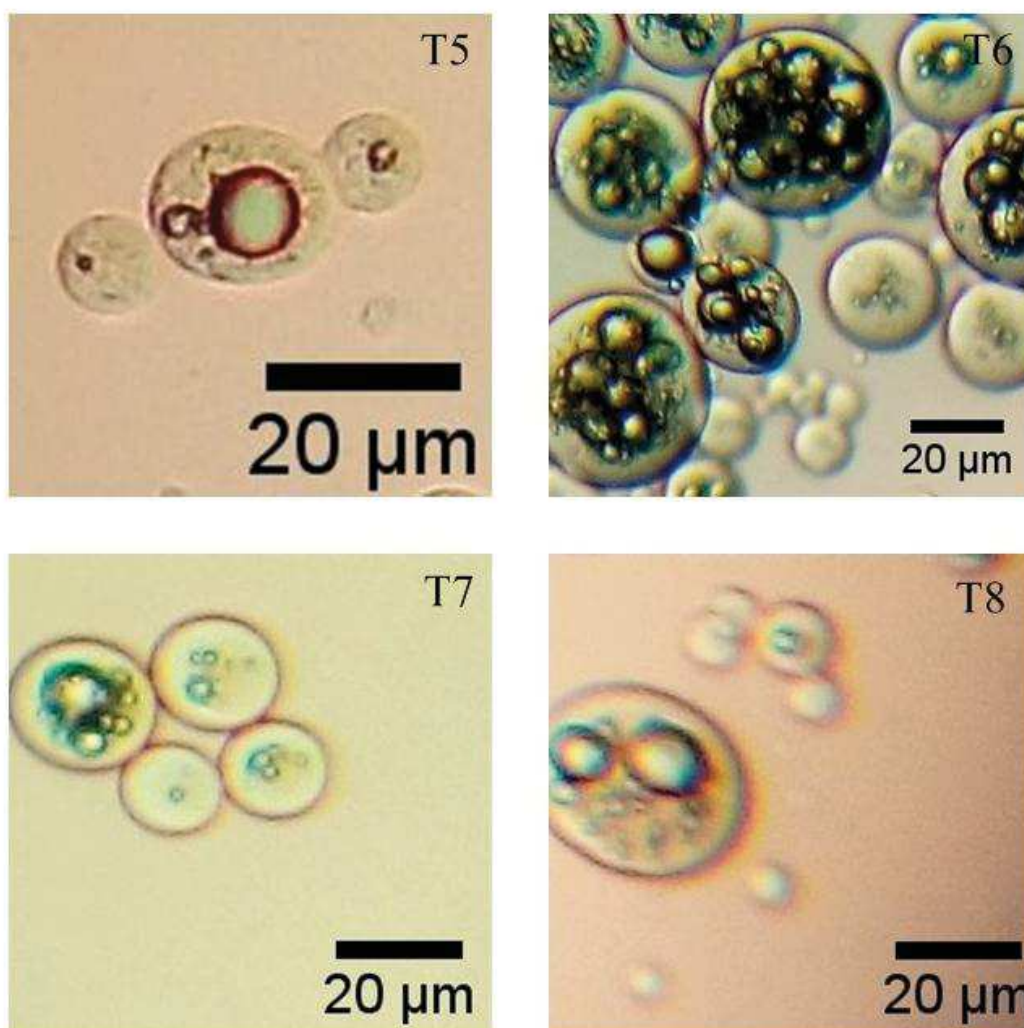
As Figuras 11, 12 e 13 apresentam a microscopia ótica das microcápsulas coacervadas antes do processo de liofilização em todas as formulações testadas.

Figura 11. Morfologia das microcápsulas obtidas por microscopia óptica (T1, T2, T3 e T4).



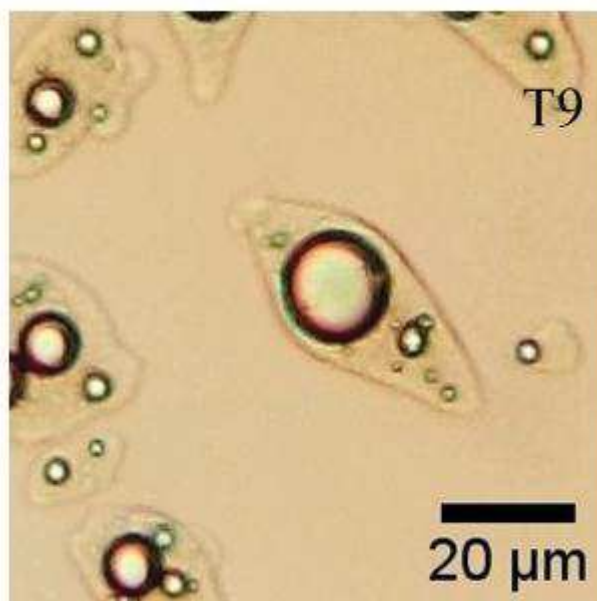
A concentração de polímeros foi: T1 (5% gelatina, 0,5% lactose e 4,5% de goma arábica); T2 (5% gelatina, 1% lactose e 4% de goma arábica); T3 (5% gelatina, 1,5% lactose e 3,5% de goma arábica); T4 (4,5% gelatina, 0,5% CPL e 5% de goma arábica). A barra corresponde a 20 µm. Imagens obtidas com zoom de 100 vezes.

Figura 12. Morfologia das microcápsulas obtidas por microscopia óptica (T5, T6, T7 e T8).



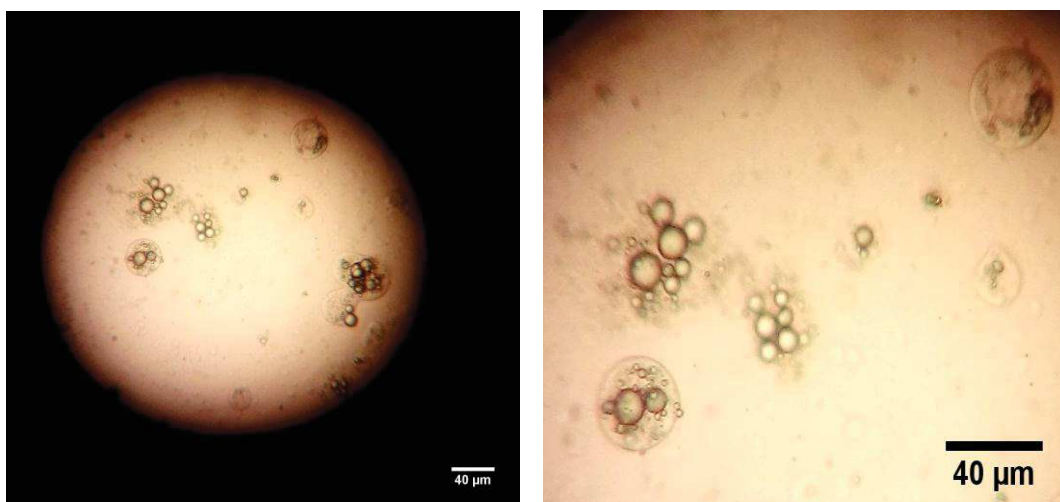
A concentração de polímeros foi: T5 (4% gelatina, 1% CPL e 5% de goma arábica); T6 (3,5% gelatina, 1,5% CPL e 5% de goma arábica); T7 (4,5% gelatina, 0,5% caseinato de sódio e 5% de goma arábica); T8 (4% gelatina, 1% caseinato de sódio e 5% de goma arábica). A barra corresponde a 20 µm. Imagens obtidas com zoom de 100 vezes.

Figura 13. Morfologia das microcápsulas obtidas por microscopia óptica (T9).



A concentração de polímeros foi: T9 (3,5% gelatina, 1,5% caseinato de sódio e 5% de goma arábica). A barra corresponde a 20 µm. Imagem obtida com zoom de 100 vezes.

Figura 14. Morfologia das microcápsulas obtidas por microscopia óptica da amostra controle



A formulação da amostra controle foi feita com 5% gelatina e 5% de goma arábica (massa/volume) e cinco gramas de óleo de soja/100 mL de solução simples. A barra corresponde a 40 µm. Imagem obtida com zoom de 100 vezes.

É possível observar em Figura 10, Figura 11 e Figura 12 a formação de microcápsulas em todas as formulações testadas e a predominância de formato esférico e multinucleado, entretanto formato oval também foi encontrado em quase todos os tratamentos.

Os tratamentos T1, T2, T3 e T7 foram os que apresentaram maior homogeneidade no tamanho das microcápsulas, apresentando valor médio em torno de 20-30 μm , enquanto os tratamentos T4, T6, T8 e T9 se mostraram irregulares.

Não é possível afirmar diretamente que o aumento na concentração de material de parede ou o tipo deste (lactose, CPL e caseinato de sódio) influenciou na esfericidade e tamanho das microcápsulas, pois ao se analisar outras lâminas das amostras às vezes eram encontrados formatos e tamanhos diferentes também, e isto é característico da técnica de coacervação complexa.

5.3.2 Umidade das microcápsulas liofilizadas

A umidade é uma variável muito importante de ser avaliada na produção de microcápsulas, sendo um fator determinante no aumento do tempo de armazenamento de pós. Segundo Araújo (2011) quanto menor a umidade de um produto alimentício menor serão as chances de contaminação microbiológica, o que torna o período de armazenagem muito maior.

Neste trabalho o teor de umidade variou de 4,01% a 5,37%, tendo os tratamentos T9 e T2 os valores mínimos e máximos, respectivamente. As amostras T6 e T9 foram as únicas que apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade da amostra controle. As formulações testadas (T1, T2, T3, T4, T5, T7 e T8) não diferiram estatisticamente da amostra controle, aplicando-se o Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

A Tabela 4 ilustra os resultados encontrados para a umidade das microcápsulas nas diferentes formulações testadas e para os materiais utilizados.

Tabela 4. Umidade das microcápsulas obtidas após o processo de liofilização e dos materiais de parede utilizados.

Tratamentos	Formulação (%) m/v	Umidade (%)
Controle	5 G; 5 GA; 5 O	5,61 ± 0,60 ^a
T1	5 G; 0,5 L; 4,5 GA; 5 O	5,33 ± 0,62 ^{ab}
T2	5 G; 1 L; 4 GA; 5 O	5,37 ± 0,09 ^{ab}
T3	5 G; 1,5 L; 3,5 GA; 5 O	4,91 ± 0,14 ^{ab}
T4	4,5 G; 0,5 CPL; 5 GA; 5 O	4,36 ± 0,61 ^{ab}
T5	4 G; 1 CPL; 5 GA; 5 O	5,12 ± 0,41 ^{ab}
T6	3,5 G; 1,5 CPL; 5 GA; 5 O	4,09 ± 0,10 ^b
T7	4,5 G; 0,5 CS; 5 GA; 5 O	4,4 ± 0,58 ^{ab}
T8	4 G; 1 CS; 5 GA; 5 O	4,60 ± 0,30 ^{ab}
T9	3,5 G; 1,5 CS; 5 GA; 5 O	4,01 ± 0,50 ^b
Lactose		5,49 ± 0,8
Concentrado proteico de leite		5,21 ± 0,91
Caseinato de sódio		5,42 ± 0,72
Goma arábica		8,76 ± 0,79
Gelatina		6,66 ± 0,84

Observação: A tabela ilustra a média e desvio padrão dos testes. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Siglas das formulações: G=gelatina, GA=goma arábica, O=óleo de soja, CPL=concentrado proteico do leite, CS= caseinato de sódio e L=lactose. m/v= massa por volume.

É possível que a semelhança nos resultados possa ser explicada devido a utilização de gelatina e goma arábica como materiais de parede em todos os tratamentos avaliados no processo de microencapsulação, entretanto as diferentes concentrações não apresentaram uma relação muito clara.

No trabalho de Zuanon (2012) avaliou-se a microencapsulação de oleoresina de cúrcuma em matrizes de gelatina e goma arábica e os resultados de umidade variaram de 2,71% a 3,34 %, valores inferiores aos encontrados neste estudo (4,01% a 5,37%).

Os resultados de umidade obtidos por Santos (2014) para microencapsulação de xilitol utilizando goma arábica e gelatina também diferenciaram deste trabalho, variando de 6,14% a 11,6%. Provavelmente a diferença nos resultados foi devido a maior quantidade de água utilizada no processo de microencapsulação de um material hidrofílico, no caso o xilitol, a água fica aprisionada no interior da microcápsula.

5.3.4 Atividade de água (Aw) das microcápsulas

A importância de avaliar a atividade de água de um produto está na sua relação com a conservação do alimento. A Tabela 5 apresenta os valores encontrados de Aw para os materiais de parede e tratamentos realizados.

Tabela 5. Atividade de água (Aw) das microcápsulas após o processo de liofilização e dos materiais de parede utilizados.

Tratamentos	Formulação (%) m/v	Aw
Controle	5 G; 5 GA; 5 O	0,28 ± 0,004 ^b
T1	5 G; 0,5 L; 4,5 GA; 5 O	0,35 ± 0,005 ^a
T2	5 G; 1 L; 4 GA; 5 O	0,34 ± 0,005 ^{ab}
T3	5 G; 1,5 L; 3,5 GA; 5 O	0,33 ± 0,008 ^{ab}
T4	4,5 G; 0,5 CPL; 5 GA; 5 O	0,31 ± 0,005 ^{ab}
T5	4 G; 1 CPL; 5 GA; 5 O	0,32 ± 0,008 ^{ab}
T6	3,5 G; 1,5 CPL; 5 GA; 5 O	0,33 ± 0,005 ^{ab}
T7	4,5 G; 0,5 CS; 5 GA; 5 O	0,29 ± 0,008 ^b
T8	4 G; 1 CS; 5 GA; 5 O	0,30 ± 0,012 ^{ab}
T9	3,5 G; 1,5 CS; 5 GA; 5 O	0,30 ± 0,042 ^{ab}
Lactose		0,34 ± 0,1
Concentrado proteico de leite		0,32 ± 0,09
Caseinato de sódio		0,31 ± 0,11
Goma arábica		0,4 ± 0,15
Gelatina		0,42 ± 0,19

Observação: A tabela ilustra a média e desvio padrão dos testes. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Siglas das formulações: G=gelatina, GA=goma arábica, O=óleo de soja, CPL=concentrado proteico do leite, CS= caseinato de sódio e L=lactose. m/v= massa por volume.

Os valores de Aw neste estudo variaram de 0,29 a 0,35. Segundo Araújo (2011) valores inferiores a 0,35 possibilitam a conservação de um alimento por mais tempo. Sendo assim, os tratamentos são considerados estáveis microbiologicamente, devido as atividades de água inferiores a 0,35 (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A atividade de água destes tratamentos foram menores que as encontradas por Comunian (2013) durante a microencapsulação de ácido ascórbico (variação de 0,37 a 0,61) e semelhantes às de Santos (2014) na microencapsulação de xilitol (variação de 0,16 a 0,39), ambas por coacervação complexa e gelatina e goma arábica como materiais de parede.

No trabalho de Costa (2013) os valores de atividade de água variaram de 0,12 a 0,37, utilizando maltodextrina e amido modificado como agentes encapsulantes, e ácido propiônico e ácido acético como recheio.

5.3.5 Cor das microcápsulas

A Tabela 6 apresenta os valores de L^* , a^* e b^* encontrados para os tratamentos avaliados.

Tabela 6. Parâmetros L^* , a^* e b^* obtidos para os pós das microcápsulas formuladas.

Tratamentos	Formulação (%) m/v	L^*	a^*	b^*
Controle	5 G; 5 GA; 5 O	$83,16 \pm 0,08^a$	$-0,13 \pm 0,01^{cd}$	$5,57 \pm 0,01^a$
T1	5 G; 0,5 L; 4,5 GA; 5 O	$83,5 \pm 2,02^a$	$-0,25 \pm 0,06^b$	$5,42 \pm 0,07^a$
T2	5 G; 1 L; 4 GA; 5 O	$84,09 \pm 1,24^a$	$-0,16 \pm 0,02^{bc}$	$5,86 \pm 0,39^a$
T3	5 G; 1,5 L; 3,5 GA; 5 O	$82,95 \pm 1,30^a$	$-0,41 \pm 0,03^a$	$5,13 \pm 0,39^a$
T4	4,5 G; 0,5 CPL; 5 GA; 5 O	$82,79 \pm 1,25^a$	$-0,22 \pm 0,01^{bc}$	$5,62 \pm 0,19^a$
T5	4 G; 1 CPL; 5 GA; 5 O	$84,53 \pm 0,76^a$	$-0,05 \pm 0,03^d$	$5,18 \pm 0,31^a$
T6	3,5 G; 1,5 CPL; 5 GA; 5 O	$82,53 \pm 0,77^a$	$-0,20 \pm 0,03^{bc}$	$5,99 \pm 0,60^a$
T7	4,5 G; 0,5 CS; 5 GA; 5 O	$84,73 \pm 0,40^a$	$-0,18 \pm 0,01^{bc}$	$5,94 \pm 0,34^a$
T8	4 G; 1 CS; 5 GA; 5 O	$85,31 \pm 0,53^a$	$-0,16 \pm 0,02^{bcd}$	$5,73 \pm 0,38^a$
T9	3,5 G; 1,5 CS; 5 GA; 5 O	$83,18 \pm 0,43^a$	$-0,36 \pm 0,03^a$	$5,11 \pm 0,20^a$

Observação: A tabela ilustra a média e desvio padrão dos testes. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Siglas das formulações: G=gelatina, GA=goma arábica, O=óleo de soja, CPL=concentrado proteico do leite, CS= caseinato de sódio e L=lactose. m/v= massa por volume.

Em relação à luminosidade os valores variaram de 82,53 a 85,31. Ao nível de 5% de probabilidade nenhum tratamento apresentou diferença estatística da amostra controle e demais tratamentos. Pode-se afirmar que as diferentes concentrações e materiais encapsulantes deste estudo não influenciaram na claridade das amostras.

Os valores de luminosidade encontrados por Comunian (2013) em microcápsulas de ácido ascórbico variaram de 37,94 a 55,92, em temperaturas de 20°C e 37°C. As microcápsulas de xilitol liofilizadas de Santos (2014) variaram o parâmetro L^* de 57,39 a 67,93, ambas inferiores aos valores encontrados neste estudo.

Analisando-se a variação do verde ao vermelho (a^*) nota-se a predominância em todos os tratamentos da cor verde sobre a intensidade do vermelho. Os valores variaram de -0,05 a

-0,41. Sendo que T3 e T9 apresentaram coloração mais próxima do verde que as demais formulações. As amostras T1, T3 e T9 apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) da formulação controle.

Fato semelhante ocorreu com Santos (2014), onde os valores de a^* variaram de -0,71 a -0,46, sendo menores que os encontrados neste trabalho.

O aumento da concentração e variação dos materiais de parede não ocasionou mudança na coloração b^* , que varia do azul (-) ao amarelo (+). Em todos os tratamentos houve predominância da colocação amarela ($+b^*$) em relação a azul ($-b^*$). Ao olho nu essas diferenças não foram perceptíveis.

5.3.6 Higroscopicidade das microcápsulas

Os valores de higroscopicidade das microcápsulas, apresentados na Tabela 7 variaram de 6,95 (g de água/100 g de amostra seca) a 12,17 (g de água/100 g de amostra seca).

Tabela 7. Higroscopicidade das microcápsulas e dos materiais de parede utilizados.

Tratamento	Formulação (%) m/v	Higroscopicidade (g/100g)
Controle	5 G; 5 GA; 5 O	8,77 ± 0,43 ^{ab}
T1	5 G; 0,5 L; 4,5 GA; 5 O	10,76 ± 0,15 ^{ab}
T2	5 G; 1 L; 4 GA; 5 O	8,10 ± 0,65 ^{ab}
T3	5 G; 1,5 L; 3,5 GA; 5 O	12,17 ± 0,58 ^a
T4	4,5 G; 0,5 CPL; 5 GA; 5 O	7,61 ± 2,64 ^{ab}
T5	4 G; 1 CPL; 5 GA; 5 O	10,64 ± 0,27 ^{ab}
T6	3,5 G; 1,5 CPL; 5 GA; 5 O	11,34 ± 0,11 ^{ab}
T7	4,5 G; 0,5 CS; 5 GA; 5 O	8,60 ± 3,08 ^{ab}
T8	4 G; 1 CS; 5 GA; 5 O	6,95 ± 0,08 ^b
T9	3,5 G; 1,5 CS; 5 GA; 5 O	7,59 ± 0,36 ^{ab}
Lactose		7,54 ± 0,87
Concentrado proteico de leite		9,71 ± 0,92
Caseinato de sódio		6,13 ± 0,75
Goma arábica		8,36 ± 0,68
Gelatina		5,6 ± 1,2

Observação: A tabela ilustra a média e desvio padrão dos testes. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Siglas das formulações: G=gelatina, GA=goma arábica, O=óleo de soja, CPL=concentrado proteico do leite, CS= caseinato de sódio e L=lactose. m/v= massa por volume.

Apenas os tratamentos T3 e T8 apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$).

Alguns tratamentos apresentaram higroscopicidade maior que os materiais de sua composição puros, mesmo assim os valores são considerados baixos. Os valores mais altos de higroscopicidade para os tratamentos podem ser explicados pela mistura de gelatina nas formulações, a gelatina apresenta higroscopicidade maior que a lactose e caseinato de sódio.

Os valores obtidos neste trabalho são maiores que os encontrados por Comunian (2014) no estudo de microencapsulação do ácido ascórbico com gelatina e goma arábica como materiais de parede (variação de 3,83 a 4,92).

5.3.7 Solubilidade das microcápsulas

A Tabela 8 apresenta a solubilidade das microcápsulas avaliadas após o processo de liofilização.

Tabela 8. Solubilidade das microcápsulas

Tratamento	Formulação (%)	Solubilidade (%)
Controle	5 G; 5 GA; 5 O	7,08 ± 0,71 ^e
T1	5 G; 0,5 L; 4,5 GA; 5 O	7,08 ± 0,12 ^e
T2	5 G; 1 L; 4 GA; 5 O	7,85 ± 0,61 ^e
T3	5 G; 1,5 L; 3,5 GA; 5 O	9,16 ± 0,50 ^{de}
T4	4,5 G; 0,5 CPL; 5 GA; 5 O	15,96 ± 0,38 ^{bc}
T5	4 G; 1 CPL; 5 GA; 5 O	15,77 ± 0,78 ^{bc}
T6	3,5 G; 1,5 CPL; 5 GA; 5 O	23,12 ± 0,70 ^a
T7	4,5 G; 0,5 CS; 5 GA; 5 O	17,97 ± 2,15 ^{bc}
T8	4 G; 1 CS; 5 GA; 5 O	13,97 ± 2,04 ^{cd}
T9	3,5 G; 1,5 CS; 5 GA; 5 O	18,50 ± 2,58 ^{ab}

Observação: A tabela ilustra a média e desvio padrão dos testes. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Siglas das formulações: G=gelatina, GA=goma arábica, O=óleo de soja, CPL=concentrado proteico do leite, CS= caseinato de sódio e L=lactose. m/v= massa por volume.

As variações na solubilidade dos tratamentos ocorreram de 7,08% (T1) a 23,12% (T6). Os tratamentos T4, T5, T6, T7, T8 e T9 apresentaram diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade. Os tratamentos contendo CPL (80%) (T4, T5 e T6) e caseinato de sódio (T7, T8 e T9) em sua composição foram os que apresentam os maiores valores de solubilidade, sendo as composições de 1,5% de CPL (T6=23,12%) e caseinato de sódio (T9=18,50%) os maiores índices.

As moléculas de alguns polissacarídeos são lineares e outras ramificadas. Podem ocorrer modificações nas propriedades de solubilidade, viscosidade e geleificação devido ao grau de ramificação (STEPHEN; CHURMS, 1995).

A solubilidade das microcápsulas encontradas neste trabalho é menor que as encontradas por Zuanon (2012) onde a variação foi de 82,7% a 96,8% ao se trabalhar com microcápsulas de oleoresina de cúrcuma em matrizes de gelatina, goma arábica e colágeno hidrolisado.

Os tratamentos T4, T5, T6, T7, T8 e T9 apresentaram solubilidade maior (variação de 5,31 a 13,90) que os resultados encontrados por Santos et al (2014) que trabalharam com microcápsulas produzidas apenas com gelatina e goma arábica. Podendo assim dizer que a adição dos materiais (concentrado protéico de leite 80% e caseinato de sódio) aumentou a solubilidade das microcápsulas.

Segundo Martins (2006) a microencapsulação do corante carmim de cochonilha com o biopolímero quitosana proporcionou melhor solubilidade em pH ácido, sendo que o corante puro precipita neste meio. Percebe-se com isto a importância da avaliação de solubilidade em diferentes solventes.

6. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que utilizar como material de parede apenas os carboidratos e proteínas do leite com as condições testadas neste trabalho não foi suficiente para formar microcápsulas. Porém acrescentar essas proteínas e carboidratos com gelatina e goma arábica, respectivamente, é possível a obtenção de microcápsulas.

As microcápsulas coacervadas apresentaram tamanho médio de aproximadamente 30 μm , porém este tamanho se mostrou bastante irregular e variável, tendo tamanhos maiores e menores também. Além disso, as microcápsulas apresentaram baixa higroscopicidade, atividade de água e umidade, e cor e solubilidade semelhante à amostra controle de gelatina e goma arábica.

A maioria dos tratamentos avaliados obteve formatos esféricos para as microcápsulas, entretanto formatos ovais e irregulares também foram encontrados. Alguns tratamentos se mostraram mais homogêneos em relação ao formato (T1, T3 e T7) e outros se mostraram bastante heterogêneos (T4, T6, T8 e T9).

Experimentos futuros são necessários, como eficiência de encapsulação, estabilidade ao longo do tempo e isoterma de sorção com os tratamentos estudados para avaliar a eficiência das microcápsulas. Porém, pode-se dizer que a aplicação dos materiais lactose, concentrado protéico de leite (80%) e caseinato de sódio se mostrou como uma alternativa interessante de utilização na indústria de alimentos.

Para trabalhos futuros sugere-se quantificar o total do núcleo microencapsulado e definir qual tratamento apresenta a melhor eficiência de encapsulação, avaliar a estabilidade física e térmica das microcápsulas, e estudar a utilização dos materiais de parede em diferentes núcleos, tais como vitaminas e óleos essenciais e aplicá-los em alimentos para posterior realização de análise sensorial, avaliando assim a aceitação dos produtos.

REFERÊNCIAS

- ABIQ – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. Disponível em <http://www.abiq.com.br/40icropar_queijosbrasil_classificacao.asp>. Acesso em 17 de agosto de 2015.
- ALVIM, I. D. **Produção e caracterização de micropartículas obtidas por spray drying e coacervação complexa e seu uso para alimentação de larvas de peixes.** Universidade Estadual de Campinas. Tese de doutorado. Campinas-SP. 2005. P. 90-93.
- ARAÚJO, A. L. **Microencapsulação do ferro através da técnica de coacervação complexa.** Porto Alegre, 2011.p. 11-15.
- ARAÚJO, J. A. **Química de Alimentos.** 5 ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. P. 600-620.
- AZEREDO, H. M. C. **Encapsulação:** Aplicação à tecnologia de alimentos. Revista: Alim. Nutr., Araraquara. V. 16, n. 1, p. 89-95, jan./mar. 2005.
- BERTAN, L. C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos a base de gelatina, ácidos graxos e breu branco.** Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
- 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, 2000. p. 1249-1251 apud SANTOS, Milla Gabriela. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de xilitol e mentol por coacervação complexa e sua aplicação em gomas de mascar.** Pirassungunga, p. 35-101, 2014.
- CAPITANI, C. D. **Interação de proteínas do soro de leite com polissacarídeo:** fracionamento e estudo das propriedades funcionais dos complexos. Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. 2004. P. 54.
- CHAVES, J.; REINECCIUS, G. A. **Encapsulation performance of proteins and traditional materials for spray dried flavors.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. v. 57, n.6. p. 2488, 2009 apud CARNEIRO, Helena Cristina Ferrer. **Microencapsulação de óleo de linhaça por Spray Drying:** influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede.
- COMUNIAN, T. A. **Microencapsulação de ácido ascórbico por coacervação complexa e dispositivos microfluídicos: estudo estrutural, estabilidade e aplicação das microcápsulas.** Pirassununga, p. 30-40, 2013.
- COOPEAVI. **Produção de leite no Brasil em 2014:** 37 bilhões de litros. Disponível em: <www.coopeavi.coop.br>. Acesso em: 3 de setembro de 2015.

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

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. **Recent developments in microencapsulation of food ingredients**. *Drying Technology: An International Journal*, v. 23, p. 1362, 2005.

DZIEZAK, J. D. **Microencapsulation and encapsulated ingredients**. *Food Technology*, April, p. 136, 1998.

EDWARDS, W. P. **The Science of sugar confectionery**. The Royal Society of Chemistry, 2000. P. 95-97.

ENGELHARDT, J. **Annatto**: the natural colour of choice in the modern food industry, Natural Food Colours Association, Basle, Switzerland, Natcol Quaterly Information Bulletin, v. 2, p. 4 -10, 1988.

ESPOSITO, E. *et al.* **Gelatin microspheres**: influence of preparation parameters and thermal treatment on chemico-physical and biopharmaceutical properties. *Biomaterials*, Surrey, v. 17, n. 20, p. 2009-2010, 1996.

ESTUDOS DE MERCADO SEBRAE/ESPM (2008). **Queijos Nacionais**. Disponível em<[http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/4416AA3881FA433B832574DC00471EF1/\\$File/NT0003909A.pdf](http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/4416AA3881FA433B832574DC00471EF1/$File/NT0003909A.pdf)>. Acesso em 05 de dezembro de 2013.

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

FRASCARELI, E. C. *et al.* **Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying**. *Food and Bioproducts Processing*, v. 90, n. 3, p. 414-416, 2012.
GOUIN, S. **Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends**. *Trends in food science and technology*, v. 15, p. 331-333, 2004.

HOVEN, M. V. D. **Functionality of dairy ingredients in meat products**. *Food Technology*. P. 72-77, 1987.

JACKSON, L. S.; LEE, K. **Microencapsulation and food industry**. *Lebensmittel-Wissenschaftat Technologie*, v. 24, n.4, p. 289-291, 1991.

JIZOMOTO, H.; KANAOKA, E.; SUGITA, K.; HIRANO, K. **Gelatin-Acacia microcapsules for trapping micro oil droplets containing lipophilic drugs and ready disintegration in the gastrointestinal tract**. *Pharmaceutical Research*, v. 10, n. 8, p. 115, 1993.

KAILASAPATHY, K. **Encapsulation Technologies for functional foods and nutraceutical product development**. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, v. 4, n. 6, 2009.

LIMA, F. F. **Microencapsulação do óleo de bacuri por coacervação complexa: obtenção, caracterização e avaliação biológica.** Dissertação de mestrado em ciência e tecnologia ambiental. Dourados-MG, 2014. P. 20.

LIOTOP. **Liofilizador de bancada.** Disponível em: < <http://www.liotop.com.br/portfolio-view/1101/> >. Acesso em: 1 de outubro de 2015.

MAJETI, N. V.; KUMAR, R. **Nano and microparticles as controlled drug delivery devices.** Journal of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences, v. 2, n. 3, p. 234-258, 2000.

MARTINS, A. D. **Microencapsulação e estudo de liberação do corante natural carmin de cochonilha.** Florianópolis, p. 43. 2006.

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. 192, 2014.

MENGER, F. M.; PERESYPKIN, A. V.; CARAN, K. L.; APKARIAN, R. P. A. **Sponge morphology in a elementary oacervate.** Langmuir, v. 16, p. 9113, 2000.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **China abre pela primeira vez mercado para lácteos brasileiros.** Notícias – Comércio exterior. 2015. Disponível em: <www.ministeriodaagricultura.org.br>. Acesso em: 1 de setembro de 2015.

MIZUBUTI, I. Y. **Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação.** Seminário: Ci. Agr., Londrina, v. 15, n.1, p. 80. 1994.

MORIWAC, C.; MATIOLI, G. **Influência da β -galactosidase na tecnologia do leite e na má digestão da lactose.** Ciências da Saúde, Umuarama, v. 4, n. 3, p. 285-289, 2000.

NEVES, B.S. Aproveitamento de subprodutos da indústria de laticínios. In: EMBRAPA GADO DE LEITE. **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar.** Juiz de Fora, p.98 -101. 2001.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos.** São Paulo: Artmed, 2005. p. 279-281.

PACHECO, M. T. B.; FARFAN-AMAYA, J.; SGARBIERI, V. **Obtenção de hidrolisados de concentrados protéicos de soro de leite por diferentes enzimas.** Proteínas y polissacarídios como ingredientes funcionales. La Plata, 2002. P. 122.

PASQUEL, A. **Gomas: uma aproximação a la industria de alimentos.** Revista Amazônica de Investigación Alimentaria, v.1. n.1, p.1-8, 2001 apud ARAÚJO, Aline Luvielmo. **Microencapsulação do ferro através da técnica de coacervação complexa.** Porto Alegre. p. 18-19. 2011.

PEDROSO, D. L.; THOMAZINI, M.; HEINEMANN, R. J. B.; FAVARO-TRINDADE, C. S. **Protection of Bifidobacterium lactis and Lactobacillus acidophilus by**

microencapsulation using spray-chilling. International Dairy Journal. v. 26, p. 127-128. 2012.

PORTE, L. H. M.; LEÃO, M. H. M. R.; PORTE, A. **Avaliação da porosidade de microcápsulas contendo proteína bioativa por porosimetria de mercúrio e adsorção de nitrogênio.** rev. química nova, vol. 34. n.9, p.1582. 2011.

RABELO, M. **Boas perspectivas no mercado de lácteos: queijos e proteínas.** Sistema FAEG. Disponível em: <<http://sistemafaeg.com.br/noticias/artigos/11466-boas-perspectivas-no-mercado-de-lacteos-queijos-e-proteina-do-soro-do-leite-em-alta>>. Acesso em: 15 de set. 2015.

RÉ, M. I. **Microencapsulação:** em busca de produtos inteligentes. Ciência Hoje, v. 27, n. 162, p. 24-27, 2000.

ROBINSON, R. K. **Modern Dairy Technology.** London, 1986, v. 1, p. 438 apud MIZUBUTI, I. Y. **Soro de leite:** composição, processamento e utilização na alimentação. Semina: Ci. Agr., Londrina, v. 15, n. 1, 1994. P. 84.

SANTOS, A. B.; FERREIRA, V. P.; GROSSO, C. R. F. **Microcápsulas:** uma alternativa viável. Rev.: Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, Brasília, ano 3. N. 16, p.26-30, 2001.

SANTOS, M. G. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de xilitol e mentol por coacervação complexa e sua aplicação em gomas de mascar.** Pirassungunga, p. 35-101, 2014.

SANTOS, M. G.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C. S. **Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation.** Rev. Food Chemistry, 171. 2015. p 32–39.

SCHMITT, C. *et al.* **Structure and technofunctional properties of proteinpolysaccharide complexes.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, London, v. 38, 1998. P. 680-695.

SHAHIDI, F; HAN, X.Q. **Encapsulation of food ingredients.** Critical reviews in food science and nutrition, v. 33, n. 6, 1993 apud ARAÚJO, Aline Luvielmo. **Microencapsulação do ferro através da técnica de coacervação complexa.** Porto Alegre, 2011. p. 18-19.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. **Métodos para Avaliação do Grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante.** Química Nova, 22 (1): 94 p. 2009.

SIQUEIRA, K. B.; CARNEIRO, A. V.; ALMEIDA, M. F.; NALON, R. C. S. **O mercado lácteo brasileiro no contexto mundial.** Circular Técnica – EMBRAPA, Juiz de Fora, 2010. p. 1.

SPARKS, R. E. **Microencapsulation.** In: Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 3. Ed., vol. 15, John Wiley & Sons, New York, 1981, p. 470.

STEPHEN, A. M.; CHURMS, S. C. **Food Polysaccharides and their applications**. Nova York: Marcel Dekker. p. 5-8. 1995.

SUAVE, J. *et al.* **Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas**. Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal, v. 7, n. 2, p. 12-20, 2006.

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

TOLSTOGUSOV, V. B. **Functional properties of food proteins and roles of proteinspolisaccharides**. Food Hydrocolloids, Oxford, v. 4, 1991. P. 430-432.

UDAETA, J. E. M.; TERRA, N. N. **Efeito do caseinato de sódio nas propriedades sensoriais do presunto “Cook-in”**. Revista: Ciência Rural, Santa Maria, v. 25. N.1, p. 157-162, 1995.

VERBEKEN, D.; DIERCKX, S.; DEWETTINCK, K. **Exudate gums: occurrence, production, and applications**. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 63, p.3-9, 2003.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. **Overview of microencapsulates for use in Food Products or Processes and Methods to Make Them**. Encapsulation Technologies for active food ingredients and food processing. NY, EUA: Springer, 2010. P. 2-4.

ZUANON, L. A. C. **Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) em matrizes de gelatina, goma arábica e colágeno hidrolisado**. São José do Rio Preto. Dissertação de mestrado apresentada para obtenção do título de mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos. Unesp. 2012. P.27-30.