

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Tese

**Proteínas associadas a polissacarídeos como materiais de parede na
encapsulação de óleo de palma**

Michele Maciel Crizel Cardozo

Pelotas, 2017

Michele Maciel Crizel Cardozo

**Proteínas associadas a polissacarídeos como materiais de parede na
encapsulação de óleo de palma**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de Orientação: Prof. PhD Rui Carlos Zambiasi
Prof^a. Dr^a. Caroline Dellinghausen Borges

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C268p Cardozo, Michele Maciel Crizel

Proteínas associadas a polissacarídeos como materiais de parede na encapsulação de óleo de palma. / Michele Maciel Crizel Cardozo ; Rui Carlos Zambiasi, orientador. — Pelotas, 2017.

102 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Carotenoides. 2. Emulsão-liofilização. 3. Liberação controlada. 4. Estabilidade. I. Zambiasi, Rui Carlos, orient. II. Título.

CDD : 664

Michele Maciel Crizel Cardozo

Proteínas associadas a polissacarídeos como materiais de parede na encapsulação
de óleo de palma

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 05 de maio de 2017.

Banca examinadora:

.....
Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi (Orientador)
Doutor em Food and Nutrition Science pela University of Manitoba

.....
Prof^a. Dr^a. Andressa Carolina Jacques
Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

.....
Dr^a Luciana Prietto Prietsch
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

.....
Prof^a Dr^a. Carla Rosane Barbosa Mendonça
Doutora em Química pela Universidade do Rio Grande do Sul

.....
Prof^a Dr^a Janaína Fernandes de Medeiros Burkert
Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas

Agradecimentos

A Deus por estar sempre presente em minha vida, dando-me a coragem e a paciência necessária para enfrentar os obstáculos.

Aos meus pais, Volnei e Tania, por todo amor, preocupação e incentivo, nunca me deixando desistir. Foi por vocês que consegui chegar até aqui. Amo vocês!

Ao meu marido, Dians, que esteve sempre ao meu lado durante todo o caminho, me apoiando e me dando forças para continuar acreditando que no final tudo iria dar certo. Obrigada por sempre acreditar na minha capacidade e por ter tanta paciência e compreensão. Te amo!

Aos meus amigos lindos do Laboratório de Cromatografia, Alexandre Lorini, Bruna Maas, Bruna Antunes, Cristina Alves, Déborah Otero, Fernanda Krumreich, Fernanda Oliveira, Karina Fernandes, Lorena Aguiar e Raquel Oliveira, pelo carinho, amizade, apoio e por todos os momentos de descontração. Com certeza, nossas risadas tornaram essa jornada mais leve e mais fácil de ser percorrida.

Às amigas Josiane Rutz e Roseane D'Ávila, que participaram e me apoiaram em vários momentos.

Ao professor Claiton Lencina do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos e à técnica do Laboratório de Farmácia, Edila Ferrer, pela disponibilidade e boa vontade.

À professora Daniela Bianchini da Central de Química Analítica e às estagiárias da Química Orgânica, Gabriela Guerra e Thalia Soares, pela ajuda e disponibilidade.

À Embrapa Clima Temperado pelo empréstimo de equipamentos.

Aos meus orientadores, professor Rui Carlos Zambiasi e professora Caroline Borges, pelos ensinamentos e suporte.

A todos os amigos, professores e funcionários do DCTA, que de alguma forma contribuíram com meu crescimento.

À UFPel e DCTA pela realização deste trabalho.

À CAPES, FAPERGS e CNPQ.

Resumo

CRIZEL-CARDOZO, Michele Maciel. **Proteínas associadas a polissacarídeos como materiais de parede na encapsulação de óleo de palma**. 2017. 102f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

O óleo de palma, um dos óleos vegetais mais consumidos no mundo, possui como característica principal o elevado conteúdo em carotenoides, o qual apresenta atividade antioxidante. No entanto, estes compostos são suscetíveis a degradação quando expostos ao oxigênio, luz e calor. Como alternativa para aumentar a estabilidade desses compostos, pode ser empregada a técnica de microencapsulação, pela qual pode-se possibilitar a aplicação de carotenoides em matrizes alimentares, promovendo a liberação controlada destes compostos no meio desejado. Nesse contexto, objetivou-se microencapsular o óleo de palma, pelo método de emulsão-liofilização, utilizando como materiais de parede proteínas de origem animal e vegetal, associadas com polissacarídeos e avaliar o perfil de liberação dos carotenoides em fluido gastrointestinal simulado após aplicação em pudim de formulação convencional e instantânea, assim como, avaliar a estabilidade dos carotenoides encapsulados, durante armazenamento na presença e ausência de luz, e a diferentes temperaturas. No primeiro estudo, foram utilizadas albumina sérica bovina, gelatina, proteína de arroz, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas a quitosana. A eficiência de encapsulação foi superior para as micropartículas de proteína de ervilha/quitosana e proteína isolada de soja/quitosana. O perfil de liberação dos carotenoides foi dependente da composição do material de parede, assim como da matriz alimentar, sendo que as micropartículas de albumina sérica bovina/quitosana e de proteína de arroz/quitosana, aplicadas ao pudim convencional, apresentaram perfil de liberação controlado e adequado nas condições, gástrica ou intestinal, simuladas. No pudim instantâneo, não foi obtido perfil de liberação adequado com qualquer das micropartículas testadas. No segundo estudo, foram avaliados como materiais de parede para encapsulação do óleo de palma, albumina sérica bovina, gelatina, ovoalbumina, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas com inulina. Assim como no primeiro estudo, a maior eficiência de encapsulação foi obtida para as micropartículas de proteína de ervilha/inulina e proteína isolada de soja/inulina, sendo que essas últimas propiciaram maior estabilidade aos carotenoides quando armazenadas por 42 dias, tanto na presença quanto na ausência de luz, assim como nas temperaturas de 4,0 °C e 24 °C. Entretanto, a 60,0 °C todas as micropartículas, independente do material de parede, apresentaram baixa capacidade de retenção dos carotenoides. Em ambos estudos, a encapsulação dos carotenoides foi confirmada pelos termogramas de calorimetria diferencial de varredura (DSC), e todas as micropartículas apresentaram formato irregular, com superfície lisa e sem porosidades.

Palavras-chave: carotenoides; emulsão-liofilização; liberação controlada; estabilidade.

Abstract

CRIZEL-CARDOZO, Michele Maciel. **Proteins associated with polysaccharides as wall materials in the encapsulation of palm oil.** 2017. 102f. Thesis (doctorate degree in Food Science and Technology) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Palm oil, one of the most consumed vegetable oils in the world, shows as its main characteristic the high content of carotenoids which ones present antioxidant activity. However, these compounds are susceptible to degradation when exposed to oxygen, light and heat. As an alternative to increase the stability of these compounds, the microencapsulation technique can be used, by which it is possible to apply carotenoids in food matrices, promoting the controlled release of these compounds in the desired medium. In this context, the objective was to microencapsulate palm oil by the emulsion-freeze-drying method, using as wall materials animal and vegetable proteins, associated with polysaccharides, as well as to evaluate the release profile of carotenoids in simulated gastrointestinal fluid after application in pudding of conventional and instant formulation, as well as evaluating the stability of the encapsulated carotenoids during storage in the presence and absence of light and at different temperatures. In the first study, bovine serum albumin, gelatin, rice protein, pea protein and isolated soy protein, all associated with chitosan were used. The encapsulation efficiency was higher for the pea protein/chitosan and isolated soy protein/chitosan microparticles. The release profile of the carotenoids was dependent on the composition of the wall material, as well as the food matrix, and the microparticles of bovine serum albumin/chitosan and rice protein/chitosan, applied to the conventional pudding, showed a controlled release profile in simulated gastric or intestinal conditions. In the instantaneous pudding, no suitable release profile was obtained with any of the microparticles tested. In the second study, it was evaluated as wall materials for the encapsulation of palm oil, bovine serum albumin, gelatin, ovalbumin, pea protein and isolated soy protein, all associated with inulin. As in the first study, the higher efficiency of encapsulation was obtained for the microparticles of pea protein/inulina and isolated soy protein/inulin, and the latter provided greater stability to carotenoids when stored for 42 days, both in the presence and in the absence of light, as well as in the temperatures of 4,0 °C and 24,0 °C. However, at 60,0 °C all microparticles, regardless of the wall material, presented low carotenoid retention capacity. In both studies, carotenoid encapsulation was confirmed by differential scanning calorimetry (DSC) thermograms, and all microparticles presented irregular shape, smooth surface and no porosity.

Keywords: carotenoids; emulsion-freeze-drying; controlled release; stability.

Lista de Figuras

Figura 1	Frutos do dendezeiro <i>Elaeis guineensis</i> Jacq.....	15
Figura 2	Estrutura química de alguns carotenos e xantofilas.....	18
Figura 3	Atividade provitamina A do β -caroteno.....	19
Figura 4	Ligação peptídica que forma as proteínas.....	22
Figura 5	Aminoácidos que compõem as proteínas.....	23
Figura 6	Representação esquemática da formação de um dissacarídeo.....	26
Figura 7	Estrutura química da quitosana.....	27
Figura 8	Estrutura química da inulina.....	28

Capítulo 1 - Proteínas e quitosana como agentes encapsulantes de óleo de palma para aplicação em matrizes alimentares.

Figura 1	Morfologia das micropartículas contendo óleo de palma, utilizando os diferentes materiais de parede: (A) albumina sérica bovina/quitosana; (B) gelatina/quitosana; (C) proteína de arroz/quitosana; (D) proteína de ervilha/quitosana; (E) proteína isolada de soja/quitosana; (F) superfície característica apresentada por todas as micropartículas.....	40
Figura 2	Termogramas de DSC. (a) albumina sérica bovina/quitosana, (b) gelatina/quitosana, (c) proteína de arroz/quitosana, (d) proteína de ervilha/quitosana e (e) proteína isolada de soja/quitosana.....	42
Figura 3	Perfil de liberação de carotenoides das micropartículas de proteínas e quitosana, em condições gastrointestinais simuladas. ABQ: albumina sérica bovina/quitosana; GQ: gelatina/quitosana; PAQ: proteína de arroz/quitosana; PEQ: proteína de ervilha/quitosana; PSQ: proteína isolada de soja/quitosana.....	43

Figura 4	Perfil de liberação de carotenoides das micropartículas de quitosana e proteínas, em condições gastrointestinais simuladas, após aplicação em (A) pudim com formulação convencional (com aquecimento e agitação leve) e (B) em pudim de formulação instantânea (sem aquecimento e com agitação vigorosa). ABQ: albumina sérica bovina/quitosana; GQ: gelatina/quitosana; PAQ: proteína de arroz/quitosana; PEQ: proteína de ervilha/quitosana; PSQ: proteína isolada de soja/quitosana.....	45
----------	---	----

Capítulo 2 - Estabilidade dos carotenoides do óleo de palma microencapsulado com proteínas animais e vegetais associadas com inulina.

Figura 1	Morfologia das micropartículas de (A1) ovoalbumina/inulina; (B1) proteína de ervilha/inulina e (C1) proteína isolada de soja/inulina, e suas respectivas ampliações em 1000x em A2, B2 e C2.....	59
Figura 2	Termogramas de DSC obtidos para o óleo de palma, (A) ovoalbumina/inulina, (B) proteína de ervilha/inulina, (C) proteína isolada de soja/inulina (C), e para as micropartículas contendo o óleo.....	61
Figura 3	Carotenoides presentes no óleo de palma microencapsulado com: (A) ovoalbumina/inulina; (B) proteína de ervilha/inulina; (C) proteína isolada de soja/inulina, durante o armazenamento a 24,0 °C na presença e na ausência de luminosidade por 42 dias.....	66
Figura 4	Carotenoides presentes no óleo de palma microencapsulado com: (A) ovoalbumina/inulina; (B) proteína de ervilha/inulina; (C) proteína isolada de soja/inulina, após armazenamento a 4,0 °C, 24,0 °C e 60,0 °C, por 42 dias.....	70

Lista de Tabelas

Capítulo 1 - Proteínas e quitosana como agentes encapsulantes de óleo de palma para aplicação em matrizes alimentares.

Tabela 1	Eficiência de encapsulação dos carotenoides presentes no óleo de palma.....	39
----------	---	----

Capítulo 2 - Estabilidade dos carotenoides do óleo de palma microencapsulado com proteínas animais e vegetais associadas com inulina.

Tabela 1	Eficiência de encapsulação dos carotenoides presentes no óleo de palma.....	57
----------	---	----

Tabela 2	Percentual de carotenoides presentes no óleo de palma microencapsulado com ovoalbumina/inulina, proteína de ervilha/inulina e proteína isolada de soja/inulina, armazenados a 24,0 °C na presença e ausência de luminosidade, por 42 dias.....	64
----------	--	----

Tabela 3	Percentual de carotenoides presentes no óleo de palma microencapsulado com ovoalbumina/inulina, proteína de ervilha/inulina e proteína isolada de soja/inulina, armazenados a 4,0 °C, 24,0 °C e 60,0 °C, por 42 dias.....	68
----------	---	----

Apêndice A - Tabelas de liberação de carotenoides em condições gastrointestinais simuladas, antes e após aplicação em matrizes alimentares

Tabela 1	Perfil de liberação de carotenoides do óleo de palma encapsulado, em condições gastrointestinais simuladas.....	101
----------	---	-----

Tabela 2	Perfil de liberação de carotenoides do óleo de palma encapsulado, em condições gastrointestinais simuladas, após aplicação em pudim convencional e instantâneo.....	102
----------	---	-----

Sumário

1 Introdução.....	12
1.1 Hipóteses.....	13
1.2 Objetivos.....	14
1.2.1 Objetivo geral.....	14
1.2.2 Objetivos específicos.....	14
2 Revisão de literatura.....	15
2.1 Óleo de palma.....	15
2.2 Carotenóides.....	17
2.3 Microencapsulação.....	19
2.3.1 Emulsão-liofilização.....	20
2.3.2 Materiais de parede.....	21
2.3.2.1 Proteínas.....	21
2.3.2.1.1 Albumina sérica bovina.....	24
2.3.2.1.2 Gelatina.....	24
2.3.2.1.3 Ovoalbumina.....	24
2.3.2.1.4 Proteína de arroz.....	25
2.3.2.1.5 Proteína de ervilha.....	25
2.3.2.1.6 Proteína isolada de soja.....	25
2.3.2.2 Polissacarídeos.....	26
2.3.2.2.1 Quitosana.....	27
2.3.2.2.2 Inulina.....	27
2.3.3 Aplicação em matrizes alimentares.....	29
2.3.4 Liberação controlada.....	30
2.3.5 Estabilidade das micropartículas.....	30
3 Capítulo 1 - Proteínas e quitosana como agentes encapsulantes de óleo de palma para aplicação em matrizes alimentares.....	32
Resumo.....	32
3.1 Introdução.....	32
3.2 Materiais e métodos.....	35
3.2.1 Materiais.....	35
3.2.2 Determinação de carotenóides no óleo de palma.....	35
3.2.3 Preparo das micropartículas.....	35

3.2.4 Caracterização das micropartículas.....	36
3.2.4.1 Eficiência de Encapsulação (EE)	36
3.2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	36
3.2.4.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	36
3.2.4.4 Perfil de liberação dos carotenoides em condições gastrointestinais simuladas.....	37
3.2.5 Aplicação das micropartículas às matrizes alimentares.....	37
3.2.5.1 Elaboração de pudim convencional e instantâneo.....	37
3.2.5.2 Perfil de liberação dos carotenoides em condições gastrointestinais simuladas.....	38
3.3 Análise estatística.....	38
3.4 Resultados e Discussão.....	38
3.4.1 Eficiência de encapsulação.....	38
3.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	40
3.4.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	41
3.4.4 Liberação dos carotenoides encapsulados antes e após a aplicação em matriz alimentar.....	43
3.5 Conclusão.....	46
3.6 Referências.....	47
4 Capítulo 2 – Estabilidade dos carotenoides do óleo de palma microencapsulado com proteínas animais e vegetais associadas com inulina.....	52
Resumo.....	52
4.1 Introdução.....	52
4.2 Materiais e métodos.....	54
4.2.1 Materiais.....	54
4.2.2 Determinação de carotenoides no óleo de palma.....	54
4.2.3 Preparo das micropartículas.....	55
4.2.4 Caracterização das micropartículas.....	55
4.2.4.1 Eficiência de Encapsulação (EE)	55
4.2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	56
4.2.4.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	56
4.2.4.4 Estudo da estabilidade.....	56

4.3 Análise estatística.....	57
4.4 Resultados e discussão.....	57
4.4.1 Carotenoides no óleo de palma.....	57
4.4.2 Eficiência de encapsulação.....	57
4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura.....	58
4.4.4 Calorimetria diferencial de varredura.....	60
4.4.5 Estudo da estabilidade.....	63
4.5 Conclusão.....	72
4.6 Referências.....	73
5. Considerações finais.....	80
6 Referências.....	81
Apêndice.....	100
Apêndice A - Tabelas de liberação de carotenoides em condições gastrointestinais simuladas, antes e após aplicação em matrizes alimentares.....	101

1 Introdução

O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), espécie tropical originária da parte oeste e central da África, é pertencente à família das Arecaceae e produz um dos óleos mais consumidos no mundo, o óleo de palma. O Brasil é responsável por 0,5% da produção mundial desse óleo, sendo o estado do Pará o maior produtor, com mais de 90,0% da produção nacional (ALVES et al., 2011). Uma das principais características do óleo de palma é seu elevado conteúdo em carotenoides (NG et al., 2012; MBA; DUMONT; NGADI, 2015), os quais apresentam propriedades antioxidantes, e assim são capazes de proteger as células contra radicais livres e espécies reativas de oxigênio. No entanto, devido à sua estrutura altamente insaturada, apresentam elevada instabilidade mediante luz, calor e oxigênio (KOTIKOVA et al., 2016; PETITO et al., 2016).

A microencapsulação é uma estratégia para aumentar a estabilidade dos carotenoides, através da utilização de materiais de parede que isolam o núcleo bioativo e protegem de condições adversas, e além disso, promovem liberação controlada do composto durante a digestão (ALVIM; GROSSO, 2010). Numerosas técnicas são utilizadas para microencapsular substâncias bioativas, sendo que a emulsificação é uma tecnologia importante na microencapsulação de compostos lipofílicos, a qual é aplicada associada à um método de secagem, como a liofilização (BACRY et al., 2016; BURGOS-DÍAZ et al., 2016). A metodologia de emulsão-liofilização consiste na formação de uma emulsão óleo/água através da utilização de um dispositivo mecânico de homogeneização, seguida pela secagem à vácuo do material previamente congelado (MCCLEMENTS et al., 2009).

O material de parede utilizado na microencapsulação determina a eficiência do processo de encapsulação, a estabilidade das micropartículas, o grau de proteção do composto encapsulado (BACRY et al., 2016) e a liberação do núcleo ativo no local e tempo desejados a uma taxa específica (GONÇALVES; ESTEVINHO; ROCHA, 2016). Entre os materiais de parede utilizados na microencapsulação tem-se as proteínas e polissacarídeos (NESTERENKO et al., 2013; LIU et al., 2015; DEVI et al., 2017; XU et al., 2016). As proteínas, tanto de origem animal, como vegetal, mostram-se excelentes emulsionantes devido ao seu caráter anfifílico, sendo amplamente utilizadas na microencapsulação de substâncias bioativas, entretanto, as emulsões são altamente sensíveis, afetando a estabilidade do composto encapsulado (GUZEI;

MCCLEMENTS, 2006; YIN et al., 2012), sendo assim, a combinação com polissacarídeos torna-se uma estratégia para estabilizar as emulsões através de interações com a camada de proteína (BURGOS-DÍAZ et al., 2016). Entre os polissacarídeos utilizados com esta finalidade, tem-se a quitosana, um aminopolissacarídeo catiônico que vem se destacando como um excelente agente encapsulante, por proteger e liberar as substâncias ativas de forma adequada (ANCHÉOL; YOUN-HO, 2009). E mais recentemente, estudos têm demonstrado, que a inulina, um carboidrato prebiótico, também possui um grande potencial para microencapsulação de compostos bioativos (BOTREL et al., 2014; FERNANDES et al., 2014; ROBERT et al., 2015; SILVA et al., 2016).

Dentro desse contexto, objetivou-se microencapsular o óleo de palma, através do método de emulsão-liofilização, utilizando como materiais de parede albumina sérica bovina, gelatina, proteína de arroz, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas à quitosana, a fim de caracterizar essas micropartículas e avaliar seu perfil de liberação em condições gastrointestinais simuladas, após sua aplicação em pudim de formulação convencional e instantânea, assim como, avaliar o potencial de microencapsulação do óleo de palma, por emulsão-liofilização, com albumina sérica bovina, gelatina, ovoalbumina, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas à inulina, através de sua caracterização e estudo da estabilidade durante armazenamento dos carotenoides encapsulados, frente a presença e ausência de luminosidade, e a temperatura de 4,0 °C, 24,0 °C e 60,0 °C.

1.1 Hipóteses

É possível microencapsular óleo de palma utilizando como materiais de parede albumina sérica bovina, gelatina, proteína de arroz, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas com quitosana, pelo método de emulsão-liofilização.

É possível microencapsular óleo de palma utilizando como materiais de parede albumina sérica bovina, gelatina, ovoalbumina, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas com inulina, pelo método de emulsão-liofilização.

As micropartículas de proteínas e quitosana propiciam a liberação controlada, em fluido gastrointestinal simulado, dos carotenoides presentes no óleo de palma após a aplicação em matrizes alimentares.

As micropartículas de proteínas e inulina, são capazes de preservar os carotenoides do óleo de palma, por um período de 42 dias em presença e ausência de luminosidade e quando expostas a diferentes temperaturas de armazenamento.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Microencapsular óleo de palma utilizando diferentes materiais de parede e avaliar o perfil de liberação dos carotenoides em fluido gastrointestinal simulado após aplicação a matrizes alimentares, assim como, avaliar a estabilidade dos carotenoides encapsulados, durante armazenamento na presença e ausência de luz, e a diferentes temperaturas.

1.2.2 Objetivos específicos

Microencapsular óleo de palma, pelo método de emulsão-liofilização, utilizando como materiais de parede albumina sérica bovina, gelatina, proteína de arroz, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas com quitosana.

Microencapsular óleo de palma, pelo método de emulsão-liofilização, utilizando como materiais de parede albumina sérica bovina, gelatina, ovoalbumina, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas com inulina.

Caracterizar as micropartículas quanto à morfologia, eficiência de encapsulação e comportamento térmico.

Aplicar as micropartículas de proteínas e quitosana, em pudim de formulação convencional e instantânea, para avaliar o perfil de liberação dos carotenoides presentes no óleo de palma, em fluido gastrointestinal simulado.

Avaliar a estabilidade dos carotenoides microencapsulados com proteínas e inulina, na presença e ausência de luminosidade e a 4,0 °C, 24,0 °C e 60,0 °C por um período de 42 dias.

2 Revisão da literatura

2.1 Óleo de palma

A palma ou dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), uma monocotiledônea, pertencente à família Arecaceae (SHEIL et al., 2009; CURVELO et al., 2011), é uma espécie perene tropical de origem africana que expressa melhor seu potencial de produção sob alta temperatura, radiação solar, precipitação e umidade relativa do ar (CORLEY; TINKER, 2009). Seus frutos apresentam formato ovoide, medem de 2,0 a 5,0 cm de comprimento e possuem elevado conteúdo de lipídeos, sendo cerca de 73,0% no mesocarpo, de onde é extraído o óleo de palma ou azeite de dendê, e 32,0% nas amêndoas, de onde se obtém o óleo de palmiste (Figura 1) (BORGES; COLLICCHIO; CAMPOS, 2016).

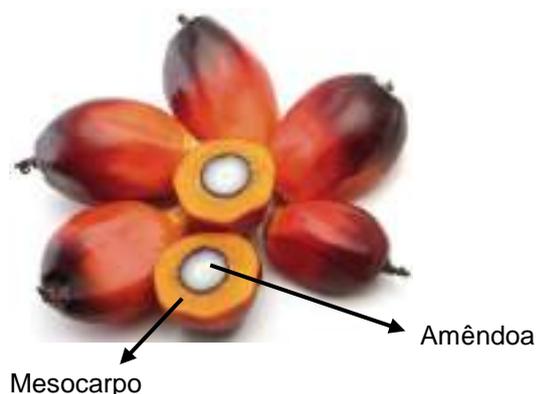


Figura 1 – Frutos do dendezeiro *Elaeis guineensis* Jacq.
Fonte: ALVES, 2014.

Entre as espécies oleaginosas cultivadas, o dendezeiro é a planta que apresenta a maior produtividade de óleo por área cultivada, produzindo, em média, 10 vezes mais óleo do que a soja. Em condições ecológicas favoráveis, chega a produzir 8 toneladas de óleo por hectare/ano (MORAIS et al., 2016). Sendo assim, a palmicultura possui importância mundial, por ser de grande destaque em diversos setores como na indústria alimentícia, farmacêutica, metalúrgica e química (BORGES; COLLICCHIO; CAMPOS, 2016) e por apresentar características peculiares e nutricionais, o óleo de palma se sobressai aos demais óleos vegetais no mercado internacional (CARVALHO et al., 2001). De acordo com o USDA (2016), o óleo de palma é o mais consumido mundialmente, representando em torno de 33,0% do

consumo de óleos vegetais. Com produção mundial estimada em 64,50 milhões de toneladas na safra 2016/2017, o dendezeiro se consolida com a maior produção de óleo no mundo, superando a produção de óleo de soja, que está estimada para 2016/2017 em 53,70 milhões de toneladas (UNITED STATES, 2016).

Os maiores produtores de palma são a Indonésia e a Malásia, que contribuem com cerca de 85,0% da produção global de óleo dessa cultura. No Brasil, o início da exploração industrial da palmicultura ocorreu na Bahia, a partir do século XVII, e se expandiu para a região Norte do Brasil, onde apresentou ótima adaptação, devido às condições edafoclimáticas favoráveis (FURLAN JÚNIOR et al., 2004). Atualmente, é produzida no Amazonas, Amapá, Bahia e em grandes áreas no estado do Pará, especificamente, na região nordeste do Estado, onde existem agroindústrias de processamento e grandes áreas plantadas para suprir a demanda agroindustrial de produção de óleo (RAMALHO FILHO; MOTTA, 2010), sendo esta região responsável por mais de 90,0% da produção nacional (REBELLO; COSTA, 2012).

O processo de extração do óleo de palma é realizado por prensagem mecânica, sem a utilização de solventes. Após a extração, pode ser utilizado como óleo de mesa, desde que apresente acidez de no máximo 2,0% de acordo com o estabelecido pela Anvisa (2005), podendo também ser refinado e fracionado, servindo assim de matéria-prima na produção de outros produtos na indústria alimentícia e química. O fracionamento é realizado por um processo de cristalização, devido à diferença no ponto de fusão dos triglicerídeos, levando a uma separação de frações com diferentes pesos moleculares. A fase líquida oriunda do fracionamento, comumente denominada de oleína, contém níveis elevados de ácidos graxos insaturados, sendo 43,0-49,0% de ácido oleico e 10,0-15,0% de ácido linoleico; esta fase é caracterizada por seu baixo ponto de fusão. A fase sólida contém altos conteúdos em ácidos graxos saturados, com teor de ácido palmítico entre 47,0-74,0%, denominada estearina, apresentando assim, ponto de fusão mais elevado. Na indústria alimentícia, essas frações em proporções adequadas para cada aplicação podem ser utilizadas na fabricação de gorduras para fritura, panificação, biscoitos e sorvetes (TRUJILLO-QUIJANO, 1999; GUNSTONE; LIN).

O óleo de palma apresenta importantes propriedades nutricionais, que proporcionam benefícios à saúde, em função da sua composição em ácidos graxos, sendo os principais os ácidos palmítico e oleico e também pela presença de componentes minoritários como carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis (O'BRIEN,

2010). Esses últimos são compostos responsáveis pela estabilidade e pela qualidade do óleo, que também atuam como antioxidantes biológicos (WU; NG, 2007). A característica peculiar do óleo de palma é seu elevado conteúdo de carotenoides (500-700 ppm) em relação a outros óleos, o que confere a este óleo coloração amarelo-alaranjada, sendo que 33,0% são α -caroteno, 65,0% β -caroteno e 2,0% de outros carotenoides como γ -caroteno e licopeno (GUNSTONE; LIN, 2011; NG et al., 2012; MBA; DUMONT; NGADI, 2015).

2.2 Carotenoides

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis naturais, encontrados no cloroplasto de plantas e outros organismos fotossintéticos, que promovem a coloração de tons amarelos aos vermelhos em plantas e frutas. Sua composição nos alimentos pode variar dependendo das práticas de produção, manipulação pós-colheita, processamento e armazenamento. Esses compostos são tetraterpenoides constituídos por 40 carbonos, formados por unidades de isopreno, e derivados da rota metabólica de produção de terpenos e esteróis pela via do mevalonato. Dividem-se em dois grupos, os carotenos, constituídos por hidrocarbonetos, e as xantofilas, que apresentam substituintes com oxigênio (Figura 2) (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; SCHOEFS, 2002; QUIRÓS; COSTA, 2006; GONG, BASSI, 2016).

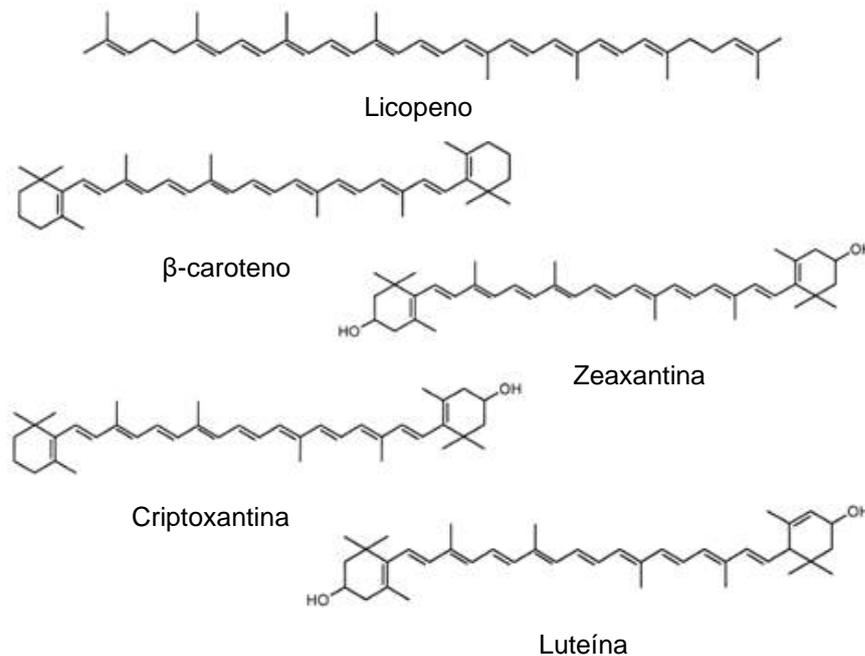


Figura 2 – Estrutura química de alguns carotenos e xantofilas
 Fonte: Adaptado de Oliver; Palou, 2000.

Os carotenoides podem atuar como antioxidantes naturais, protegendo as células contra espécies reativas de oxigênio e radicais livres, devido ao sistema de duplas ligações conjugadas presente em sua estrutura, as quais influenciam suas propriedades químicas, bioquímicas e físicas (QUIRÓS; COSTA, 2006; JOMOVA; VALKO, 2013; LIMON et al., 2015). Por serem altamente insaturados, são facilmente propensos à oxidação, bem como à isomerização, o que os converte da sua forma *trans*, configuração habitual e mais estável na natureza, para o isômero *cis*. Essa reação é promovida pela ação de ácidos, luz e altas temperaturas, resultando na alteração da cor e perda da atividade provitamina A de alguns carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA, 2006).

Foram identificados mais de 700 carotenoides provenientes naturalmente de plantas, animais, fungos e micro-organismos e cerca de 50 apresentam a capacidade de formar vitamina A (retinol) pela ação da enzima caroteno dioxigenase (LINTIG; VOGT; 2000; HURST, 2008). Os carotenoides provitamínicos contém no mínimo um anel β-ionona em sua estrutura, sendo convertidos em retinol. Esses incluem o β-caroteno, α-caroteno, γ-caroteno, β-criptoxantina e α-criptoxantina (SAINI et al., 2015). O β-caroteno possui grande importância por ser abundante em plantas e frutas, sendo o carotenoide majoritário presente na dieta humana. Esse carotenoide é o principal

precursor da vitamina A, sendo o único com potencial para produzir duas moléculas de retinol (Figura 3) (GUL et al., 2015; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004; SAINI et al., 2015).

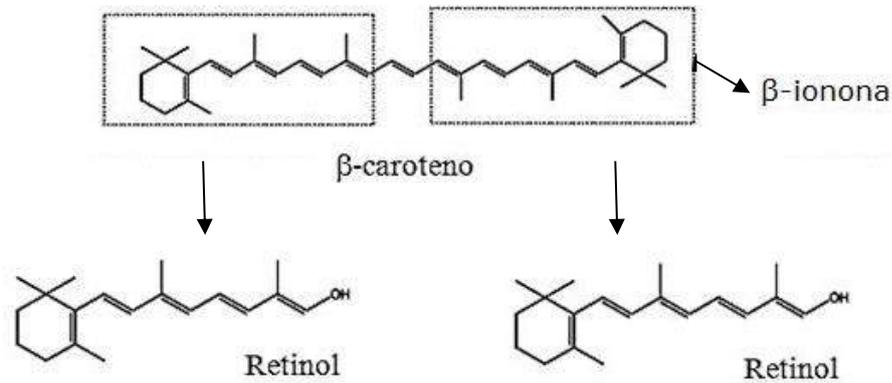


Figura 3 – Atividade provitamina A do β -caroteno
Fonte: Adaptado de Pacheco, 2009.

2.3 Microencapsulação

A microencapsulação é uma técnica na qual partículas sólidas, líquidas ou gasosas, denominadas de núcleo, são envolvidas por um revestimento, referido como material de parede, formando, em conjunto, uma micropartícula. A técnica é utilizada para promover maior estabilidade a compostos sensíveis, como os compostos bioativos, assim como, mascarar e preservar sabor/odor, permitindo a liberação dos compostos, de forma controlada no local desejado (NESTERENKO et al., 2013; DORDEVIC et al., 2015). Vários fatores devem ser considerados na microencapsulação, como o método de encapsulação utilizado, tipo de material de parede, a aplicação das micropartículas e os mecanismos de liberação (JYOTHI, SEETHADEVI, 2012; UMER et al., 2011).

A seleção do método de microencapsulação é complexa e depende, principalmente, das propriedades físicas e químicas do núcleo e dos materiais de revestimento, assim como da aplicação pretendida em matrizes alimentares e seu perfil de liberação controlado (VOS et al., 2010; POSHADRI, KUNA, 2010). A qualidade das micropartículas produzidas por um determinado método de encapsulação e pelo uso de condições específicas, é avaliada de acordo com a retenção e a estabilidade do material encapsulado e com sua liberação, que deve

ocorrer apenas no local desejado. Dessa forma, pretende-se diminuir a perda do composto bioativo durante o processamento e armazenamento, além de otimizar sua absorção (GONÇALVES, ESTEVINHO, ROCHA, 2016). Algumas técnicas de microencapsulação utilizadas incluem a coacervação, a emulsificação, o revestimento em leite fluidizado, a liofilização, a complexação de inclusão, lipossomas e a secagem por pulverização (ZUIDAM, SHIMONI, 2010).

2.3.1 Emulsão-Liofilização

A tecnologia de emulsificação é geralmente aplicada para a encapsulação de bioativos lipofílicos em soluções aquosas, em associação com a liofilização ou a atomização (FANG; BHANDARI, 2010; MAO et al., 2013). Essa técnica consiste na homogeneização de óleo, água, em conjunto com um emulsionante, utilizando um dispositivo mecânico de alto cisalhamento. A emulsão O/A consiste no óleo disperso num meio aquoso, estando as gotículas de óleo rodeadas por uma fina camada interfacial constituída por moléculas emulsionantes. As vantagens desse sistema são a relativa facilidade de preparo e baixo custo, mas apresentam as desvantagens da instabilidade física, quando expostas ao aquecimento, arrefecimento, congelamento, secagem, pH extremos e altas concentrações de minerais, além de possibilitar uma liberação controlada limitada (MCCLEMENTS et al., 2009).

A liofilização ou *freeze-drying*, é um método físico utilizado para a microencapsulação de compostos ativos, sendo uma técnica favorável para manter a estabilidade das micropartículas devido à baixa temperatura e quantidades restritas de oxigênio, utilizados no processo, conferindo assim, uma proteção adicional contra a degradação. O processo consiste na secagem do material previamente congelado, em que o solvente é removido por sublimação, sem a passagem pela fase líquida (DESAI, PARK, 2005; BORCHANI et al., 2011; POLAK, PITOMBO, 2011).

2.3.2 Materiais de parede

A definição do método de encapsulação e dos materiais de parede a serem utilizados são interdependentes. As propriedades físicas e químicas das micropartículas são determinadas pelo material de parede selecionado que deve ser capaz de formar uma película coesiva com o material do núcleo; proporcionar propriedades de revestimento específicas, como estabilidade, resistência,

flexibilidade; ser inerte aos compostos ativos e permitir a liberação controlada sob condições específicas (VENKATESAN; MANAVALAN; VALLIAPPAN, 2009; UMER et al., 2011; AGNIHOTRI et al., 2012, JYOTHI; SEETHADEVI, 2012; GONÇALVES; ESTEVINHO; ROCHA, 2016).

Os materiais de parede mais utilizados na indústria de alimentos incluem os carboidratos (amido, maltodextrina, quitosana, dextrano, amido modificado, ciclodextrinas), celulose (carboximetilcelulose, metilcelulose, etilcelulose), gomas (goma arábica, ágar, carragena), lipídeos (cera, parafina, cera de abelhas, óleos, gorduras) e proteínas (caseína, gelatina, albumina, peptídeos, proteína do soro de leite, proteína isolada de soja) (DESAI; PARK, 2005; FANG; BHANDARI, 2012). Geralmente, materiais de parede com diferentes propriedades químicas são utilizados em combinação para superar as limitações de quando são utilizados individualmente (NESTERENKO et al., 2013; AGUIAR; ESTEVINHO, 2016). Serão discutidos brevemente, os materiais de parede utilizados no presente estudo.

2.3.2.1 Proteínas

As proteínas derivadas de animais e de vegetais são amplamente utilizadas para encapsulação de substâncias ativas. Esses polímeros naturais anfifílicos apresentam várias vantagens, como biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades como solubilidade em água, emulsificação e capacidade de formação de espuma. Por interagirem com moléculas com propriedades diferentes, as proteínas são capazes de formar uma grande diversidade de nano e micropartículas, formadas através de diversas interações entre proteínas ou de proteínas com outros componentes (CROGUENNEC; TAVARES; BOUHALLAB, 2016). As proteínas vegetais são consideradas menos alérgicas que as proteínas animais. No entanto, a utilização das proteínas animais na indústria alimentícia ainda se sobressai às vegetais (NESTERENKO et al., 2013).

As proteínas são biopolímeros formados por até 20 diferentes tipos de L- α -aminoácidos ligados covalentemente em uma cadeia peptídica. Os aminoácidos que formam a estrutura proteica são caracterizados pela existência de um átomo de carbono central ao qual estão ligados um átomo de hidrogênio, um grupo amina (NH_2), um grupo carboxila (COOH) e um radical. A formação da ligação peptídica, ocorre

entre o grupo carboxila de um aminoácido e o grupamento amino de outro, com consequente liberação de água (Figura 4).

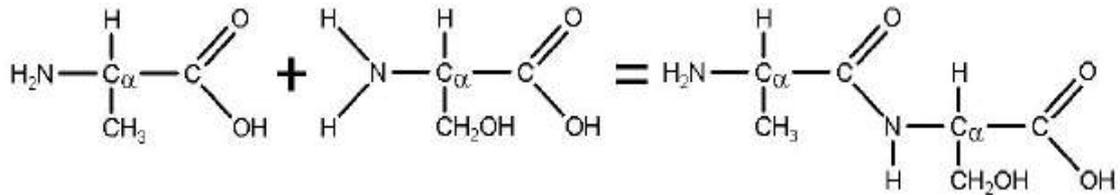


Figura 4 – Ligação peptídica que forma as proteínas.
Fonte: SCAPIN, 2005.

O que diferencia um aminoácido de outro são suas cadeias laterais (radical), ligadas ao carbono central, as quais variam em estrutura, tamanho, carga elétrica e solubilidade em água. Os aminoácidos são classificados como essenciais ou não essenciais, sendo os essenciais obtidos a partir de alimentos, tais como carnes e aves, enquanto os não essenciais são sintetizados naturalmente pelo organismo (DEVI et al., 2016) (Figura 5).

Nome	Abreviação		Fórmula Química
Alanina	Ala	A	$\text{CH}_3\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Arginina	Arg	R	$\text{HN=C(NH}_2\text{)-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Asparagina	Asn	N	$\text{H}_2\text{N-CO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Aspartato (Ácido Aspártico)	Asp	D	$\text{HOOC-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Cisteína	Cys	C	$\text{HS-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Glutamina (Glutamida)	Gln	Q	$\text{H}_2\text{N-CO-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Glutamato (Ácido Glutâmico)	Glu	E	$\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Glicina	Gly	G	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$
Histidina	His	H	$\text{NH-CH=N-CH=C-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Isoleucina	Ile	I	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH(CH}_3\text{)-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Leucina	Leu	L	$\text{(CH}_3\text{)}_2\text{-CH-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Lisina	Lys	K	$\text{H}_2\text{N-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Metionina	Met	M	$\text{CH}_3\text{-S-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Fenilalanina	Phe	F	$\text{Ph-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Prolina	Pro	P	$\text{NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH-COOH}$
Serina	Ser	S	$\text{HO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Treonina	Thr	T	$\text{CH}_3\text{-CH(OH)-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Triptofano (Triptofana)	Trp	W	$\text{Ph-NH-CH=C-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Tirosina	Tyr	Y	$\text{HO-p-Ph-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Valina	Val	V	$\text{(CH}_3\text{)}_2\text{-CH-CH(NH}_2\text{)-COOH}$

Figura 5 – Aminoácidos que compõem as proteínas.
Fonte: SCAPIN, 2005.

A elaboração das micropartículas é influenciada pela composição da proteína, que depende da fonte a partir da qual a proteína é derivada. Como as proteínas são compostas por frações de pesos moleculares diferentes, qualquer variação nessas frações pode influenciar nas características das micropartículas, devido às propriedades dos grupos funcionais na superfície da proteína. Essas modificações podem alterar propriedades importantes nas micropartículas resultantes, tais como biodisponibilidade, biocompatibilidade e estabilidade. Dessa forma, é necessário o conhecimento prévio dos aminoácidos que compõe a estrutura das proteínas utilizadas na microencapsulação, para prever as características das micropartículas (TARHINI; GREIGE-GERGES; ELAISSARI, 2017).

2.3.2.1.1 Albumina sérica bovina

A albumina sérica bovina (BSA) é uma proteína globular amplamente utilizada nos sistemas alimentares. A molécula de BSA é composta de uma única cadeia polipeptídica com uma massa molecular de 66,5 kDa, formada por 583 aminoácidos, sendo constituída majoritariamente por lisina, leucina e ácido glutâmico (KRUIF; WEINBRECK; VRIES, 2004; XU et al., 2011; RU et al., 2012; KIM; SHIN, 2015). Essa proteína vem demonstrando bons resultados na encapsulação de compostos ativos, sendo utilizada em combinação com polissacarídeos (LIU et al., 2015), principalmente quando utilizada com pectina (BUROVA et al., 1999; RU et al., 2012; LI, ZHAO, HUANG, 2014).

2.3.2.1.2 Gelatina

A gelatina é um polipeptídeo de elevado peso molecular, que é derivado da hidrólise parcial do colágeno animal, contido em ossos e peles, principalmente de suínos e bovinos. É uma proteína de fácil digestão, contendo a maioria dos aminoácidos essenciais, com exceção do triptofano. Dependendo do método de hidrólise do colágeno, são obtidos dois tipos de gelatina, sendo as do tipo A obtidas por tratamento ácido e as do tipo B obtidas por tratamento alcalino (SAHOO et al., 2015). Devido às suas propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, é frequentemente utilizada em conjunto com outros polímeros para a encapsulação de diferentes compostos bioativos (KANG; DAI; KIM, 2012; YANG et al., 2015; DEVI et al., 2016).

2.3.2.1.3 Ovoalbumina

A ovoalbumina, principal proteína da clara do ovo, possui peso molecular de 45,5 kDa, constituída por 385 aminoácidos, dos quais metade são hidrofóbicos e um terço são carregados negativamente. Sua temperatura de desnaturação fica em torno de 84,5 °C (SPONTON et al., 2015a; CROGUENNEC; TAVARES; BOUHALLAB, 2016; VISENTINI et al., 2017). A ovoalbumina tem sido amplamente estudada, devido à sua funcionalidade, e propriedades emulsionante e estabilizante de espuma (NIU et al., 2017). No entanto, não há muitos estudos sobre sua aplicação como material de parede para encapsulação de compostos bioativos (SPONTON et al., 2015b).

2.3.2.1.4 Proteína de arroz

O arroz está entre as culturas cerealistas mais importantes do mundo, sendo considerado como o alimento básico para mais da metade da população mundial. No farelo de arroz tem-se de 12,0 a 20,0% de proteínas, enquanto que no grão o percentual é ligeiramente menor, variando de 6,0 a 15,0%. Sua composição em aminoácidos é semelhante à da caseína e da proteína isolada de soja e possui temperatura de desnaturação em torno de 83,0 °C (CHANDI; SOGI, 2007). Essas proteínas têm grande relevância, por conterem aminoácidos essenciais, e por serem hipoalergênicas e hipocolesterolêmicas. Além disso, se associam bem aos polissacarídeos, apresentando características favoráveis para utilização como material de parede na microencapsulação (FABIAN; HUYNH; JU, 2010; NESTERENKO et al., 2013).

2.3.2.1.5 Proteína de ervilha

Existe um interesse crescente na utilização das proteínas de ervilha (*Pisum sativum* L.) por ser uma alternativa à utilização de proteína isolada de soja, que tem uma vantagem dominante no mercado. As proteínas de ervilha apresentam em sua composição um perfil de aminoácidos bem equilibrado (SHAO; TANG, 2016), estando presentes aminoácidos essenciais como leucina, isoleucina, fenilalanina e valina (LETERME; MONMART; BAUDART, 1990). Na microencapsulação são, geralmente, associadas com polissacarídeos ou utilizadas individualmente (LIU et al., 2009; SHAO; TANG, 2016; XU et al., 2016).

2.3.2.1.6 Proteína isolada de soja

Os grãos de soja contêm uma fração importante (35,0 – 40,0%) de proteínas. As proteínas de soja isoladas e purificadas possuem interessantes atributos físico-químicos e funcionais diferenciados, em particular, propriedades formadoras de gel, emulsionantes e surfactantes. O uso de proteína isolada de soja na microencapsulação vem sendo aplicado em vários estudos, sendo geralmente utilizada como um material de revestimento individual, mas também em combinação com polissacarídeos (MENDANHA et al., 2009; XIAO; YU, YANG, 2011; HUANG et al., 2012; NESTERENKO et al., 2013).

2.3.2.2 Polissacarídeos

Os polissacarídeos, constituem a maior parte dos carboidratos encontrados na natureza. Esses compostos são formados por longas cadeias de monossacarídeos unidas por ligações glicosídicas, as quais ocorrem entre um grupo hidroxila de um monossacarídeo e o carbono anomérico de outro (Figura 6). Podem possuir cadeias lineares ou ramificadas, assim como diferentes funções e propriedades biológicas, diferenciando-se em relação as unidades de monossacarídeos, grupos reativos, grau de ramificação, tipos e configurações das ligações, além do tamanho da cadeia (NELSON; COX, 2009).

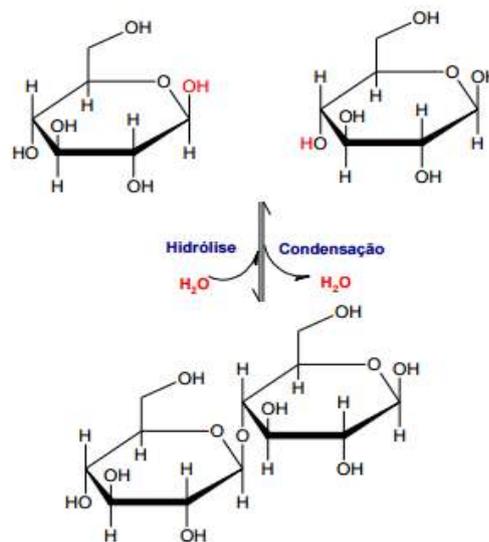


Figura 6 – Representação esquemática da formação de um dissacarídeo.

Fonte: Adaptado de Luna, 2016.

Os polissacarídeos são amplamente encontrados em várias fontes, podendo ser oriundos de algas, plantas, microrganismos e animais, ou produzidos por modificação química ou enzimática de grupos reativos presentes nas cadeias moleculares de polissacarídeos já existentes (ZONG et al., 2012). Entre os polissacarídeos utilizados em associação com proteínas, na microencapsulação, tem-se a quitosana (AN-CHEOL; YOUN-HO, 2009; HUANG et al., 2012; CHANG et al., 2016), a goma arábica (LIU et al., 2009; PIACENTINI et al., 2013), a pectina (MENDANHA et al., 2009) e mais recentemente, a inulina (FERNANDES et al., 2014; ROBERT et al., 2015).

2.3.2.2.1 Quitosana

A quitosana é um aminopolissacarídeo catiônico, derivado da desacetilação da quitina, que constitui a maior parte dos exoesqueletos dos insetos, crustáceos e parede celular de fungos. É um polímero natural abundante, de baixo custo, antimicrobiano, biodegradável, atóxico e biocompatível; composto por resíduos de N-acetil-D-glucosamina e D-glucosamina ligados entre si por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4) (Figura 7). É solúvel em soluções ácidas diluídas e sua solubilidade está relacionada com a protonação dos grupos amino ($-\text{NH}_2$) presentes lateralmente na cadeia polimérica. Muitos tipos de quitosana com diferentes propriedades funcionais podem ser preparados por modificação, a partir de fosforilação e carboximetilação, para melhorar sua solubilidade em meio aquoso (DEVI et al., 2016).

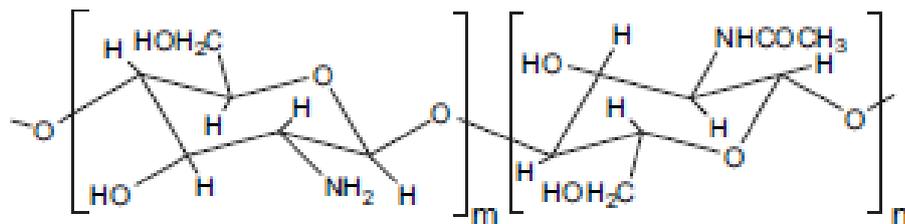


Figura 7 – Estrutura química da quitosana
Fonte: VOS et al., 2010.

A quitosana tem se destacado como um excelente agente encapsulante em combinação com outros polímeros, demonstrando alta eficiência das micropartículas em adsorver, proteger e liberar compostos ativos, beneficiando assim, diversos segmentos como o farmacêutico, alimentar, agroindustrial, químico, biomédico e de cosméticos (AN-CHEOL; YOUN-HO, 2009; HUANG et al., 2012).

2.3.2.2.2 Inulina

A inulina, um polissacarídeo de armazenamento natural de plantas, pertence ao grupo de frutanos e ocorre em muitos membros da família Asteraceae, como o yacon, a chicória e a alcachofra. É um polímero constituído por unidades de D-frutose ligadas em β (2 \rightarrow 1), de peso molecular variável, a qual está ligada a uma molécula de glicose (Figura 8).

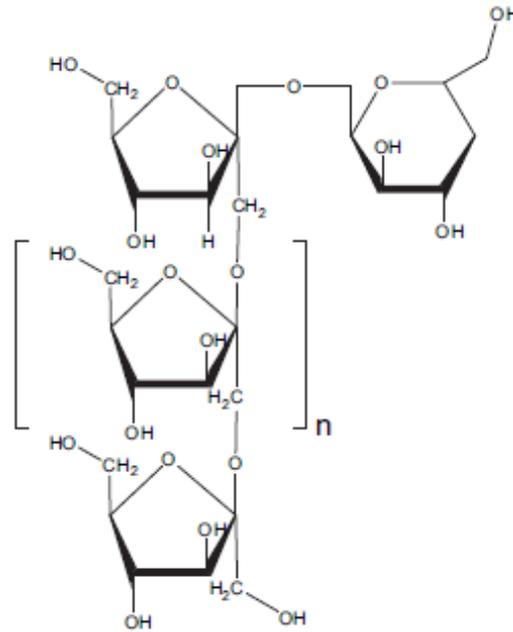


Figura 8 – Estrutura química da inulina
Fonte: VOS et al., 2010.

Suas ligações glicosídicas a tornam indigerível pelo organismo humano, apresentando ação de fibra dietética, sendo degradada apenas por certas bactérias do cólon, como as bifidobactérias. Devido a sua ação prebiótica tem se observado o interesse pelo uso da inulina como material para encapsulação de compostos bioativos susceptíveis a alteração/degradação ao longo do sistema digestivo humano, devido a liberação ocorrer apenas no intestino, onde os compostos serão absorvidos (BARCLAY et al., 2010; BEIRÃO-DA-COSTA et al., 2013).

A inulina é utilizada na agroindústria para produção de alimentos com baixo teor de gordura e como ingrediente funcional nas indústrias farmacêuticas (VAN et al., 2005). Na microencapsulação, a inulina já foi aplicada, individualmente, para encapsular compostos fenólicos (SAÉNZ et al., 2009) e óleo essencial de orégano (BEIRÃO-DA-COSTA et al., 2013), ambos utilizando *spray drying*; assim como a aplicação concomitante com outros polímeros como alginato (CUJIC et al., 2016), proteína isolada de soja (ROBERT et al., 2015), pectina (KRIVOROTOVA et al., 2016) e maltodextrina (LACERDA et al., 2016).

No entanto, o uso da inulina como material de parede para a encapsulação de substâncias bioativas ainda é pouco explorado. Por apresentar muitos benefícios para a saúde, ser de baixo custo e por promover liberação adequada dos compostos bioativos, a inulina possui grande potencial para aplicação na microencapsulação,

podendo ser utilizada em praticamente todas as técnicas de encapsulação (BARCLAY et al., 2010; VOS et al., 2010).

2.3.3 Aplicação em matrizes alimentares

O passo final de um processo de microencapsulação bem-sucedido, é a incorporação direta das partículas em produtos alimentares. A adição de micropartículas aos alimentos tem um efeito potencialmente positivo sobre a saúde, além da nutrição básica, resultando em um produto alimentar funcional. O processo de fortificação, incorporação ou adição de compostos bioativos pode afetar a composição, as propriedades físico-químicas e sensoriais do alimento original. Portanto, para obter alimentos com um apelo sensorial aceitável, deve-se evitar interações com componentes da matriz alimentar e possivelmente superar problemas durante o processo de fabricação e de trânsito gastrointestinal (AUGUSTIN; SANGUANSRI, 2014).

O conhecimento prévio das condições de processamento que as micropartículas podem ser expostas, como por exemplo, congelamento, arrefecimento, aquecimento, mistura, corte, desidratação, permite uma melhor formulação, visto que é possível definir as propriedades das micropartículas para evitar a degradação ou liberação precoce durante o processamento, facilitando a identificação do estágio mais adequado para sua adição sem a necessidade de qualquer alteração no processo (SHI, 2015).

Várias matrizes alimentares já foram adicionadas de micropartículas, com diferentes propósitos, como por exemplo, para melhorar propriedades antioxidantes em sorvete (ÇAM; IÇEYR; ERDOGAN, 2014) e em queijo (RASCHIDINEJAD et al., 2014); aumentar a estabilidade de compostos bioativos durante o cozimento de biscoitos (DAVIDOV-PARDO et al., 2012), bolo (ROCHA et al., 2012) e pão (RUTZ et al., 2016); fortificar produtos lácteos (JIMENEZ; GARCIA; BERISTAIN, 2008; ROMAN; BURRI; SINGH, 2012); enriquecer com células probióticas, suco de cenoura (PETRESKA-IVANOVSKA et al., 2014) e produtos de confeitaria (MALMO; STORIA; MAURIELLO, 2013) e aumentar a estabilidade de bactérias ácido lácticas aplicadas a produtos cárneos cozidos (PÉREZ-CHABELA et al., 2013).

2.3.4 Liberação controlada

A liberação controlada é uma das principais vantagens da microencapsulação, permitindo um efeito direcionado e também prolongado. A microencapsulação pode ser utilizada com o objetivo de retardar a liberação de compostos até o momento certo, no lugar desejado, ou para controlar a taxa de liberação. Vários fatores podem desencadear a liberação, porém, tipicamente, os principais sistemas envolvidos na liberação do núcleo podem ser causados por difusão, degradação, solvente, pH, temperatura e pressão (AZEREDO, 2005; DUBEY et al., 2009).

Em geral, o que determina o perfil de liberação são o tipo de micropartículas, sua geometria e as interações parede/núcleo (ZUIDAM; SHIMONI, 2010). A previsão dos perfis de liberação continua sendo um desafio nos sistemas biológicos, seja em alimentos ou no trato gastrointestinal. Os perfis de liberação controlada normalmente são investigados *in vitro* utilizando métodos de quantificação para medir a concentração de compostos liberados sob condições gastrointestinais simuladas (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016).

2.3.5 Estabilidade das micropartículas

As técnicas de microencapsulação têm sido amplamente utilizadas pela indústria para proteger os compostos bioativos sensíveis à altas temperaturas, luminosidade e umidade, por proporcionar proteção a estrutura dos compostos, aumentando sua estabilidade e conseqüentemente sua viabilidade para aplicação em matrizes alimentares (CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011). A escolha dos polímeros utilizados como material de parede, determina fortemente a estabilidade das micropartículas e o grau de proteção do seu núcleo ativo, o que tem incentivado a indústria alimentícia a buscar materiais de parede eficazes para preservar os compostos instáveis por períodos mais longos (MOSER et al., 2017).

Para avaliar a estabilidade dos compostos bioativos microencapsulados muitos estudos têm testado diferentes condições de armazenamento das micropartículas, como variações na umidade, presença e ausência de luminosidade e em temperaturas entre 4 °C e 60 °C, por períodos que variam de 44 a 150 dias, onde as micropartículas são analisadas em diferentes períodos, dependendo do composto bioativo encapsulado e do material de parede utilizado (SAENZ et al., 2009; ZHENG et al.,

2010; NORI et al., 2011; SANSONE et al., 2011; COSTA et al., 2015; ROBERT et al., 2015; GOMEZ-ESTACA et al., 2016; JAIN et al., 2016; MOSER et al., 2017).

3 Capítulo 1 – Proteínas e quitosana como agentes encapsulantes de óleo de palma para aplicação em matrizes alimentares

Resumo

O óleo de palma apresenta elevado conteúdo de carotenoides, compostos antioxidantes, os quais apresentam estrutura altamente insaturada, que os torna instáveis na presença de luz, calor e oxigênio. Sendo assim, objetivou-se promover maior estabilidade aos carotenoides presentes no óleo de palma, através da microencapsulação pelo método de emulsão-liofilização, utilizando como materiais de parede albumina sérica bovina, gelatina, proteína de arroz, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas com a quitosana. Além disso, objetivou-se caracterizar as micropartículas quanto à eficiência de encapsulação, à morfologia e ao comportamento térmico e aplicar essas micropartículas em pudim convencional (com aquecimento/agitação leve) e pudim instantâneo (sem aquecimento/agitação vigorosa), para avaliar o perfil de liberação dos carotenoides em condições que simulam o trato gastrointestinal. Observou-se que a eficiência de encapsulação foi dependente do material de parede utilizado. As micropartículas apresentaram formato irregular, superfície lisa, sem porosidades e independente do material de parede utilizado, a encapsulação foi confirmada pelos termogramas de DSC. As micropartículas de albumina sérica bovina/quitosana e de proteína de arroz/quitosana, aplicadas ao pudim convencional apresentaram perfil de liberação controlado tanto nas condições gástrica quanto na intestinal, entretanto, no pudim instantâneo, não foi obtido perfil de liberação adequado com qualquer das micropartículas.

Palavras chave: microencapsulação; emulsão-liofilização; carotenoides; liberação controlada.

3.1 Introdução

O óleo de palma é extraído do fruto da palmeira *Elaeis guineensis Jacqui*, a qual pertence à família das Arecaceae. Devido às suas vantagens econômicas como alta produtividade e baixo custo de produção, esse óleo está na primeira posição em termos de produção e consumo mundial (USDA, 2016). Em função da presença de componentes minoritários como carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis (O'BRIEN, 2010), o óleo de palma apresenta importantes propriedades químicas, que proporcionam benefícios à saúde. Além de atuarem como antioxidantes biológicos, esses compostos também são responsáveis pela estabilidade e pela qualidade do óleo de palma (WU; NG, 2007).

O óleo de palma é uma fonte natural com elevada concentração de carotenoides, contendo em torno de 500-700 ppm, dentre os quais 33,0% são α -caroteno, 65,0% β -caroteno e 2,0% de outros carotenoides como γ -caroteno e

licopeno (NG et al., 2012; MBA; DUMONT; NGADI, 2015). Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis, que desempenham um importante papel na fotossíntese de plantas. Os seres humanos são incapazes de sintetizá-los, sendo necessária sua ingestão através da dieta. Nesse grupo de compostos, além de estarem os precursores da vitamina A, estão presentes substâncias com atividade antioxidante, que protegem as células contra espécies reativas de oxigênio e radicais livres. Entretanto, esses compostos são facilmente degradados devido à estrutura altamente insaturada, especialmente na presença de luz, calor e oxigênio (JOMOVA; VALKO, 2013; LIMON et al., 2015).

Tendo em vista a grande instabilidade dos carotenoides, a microencapsulação torna-se uma alternativa para aumentar a estabilidade desses compostos, já que a técnica consiste no isolamento de substâncias ativas para obter partículas de tamanho micrométrico, em que o material ativo é protegido por uma membrana formada por materiais de parede (CHAMPAGNE; FAUTIER, 2007; NESTERENKO et al., 2013; EITAYEB et al., 2015). Diferentes princípios podem ser utilizados para promover a microencapsulação, através de métodos químicos, físicos ou físico-químicos (THIES, 2003). Entre os métodos tem-se a emulsão-liofilização (GRANT; ZHANG, 2011), o qual combina a formação de uma emulsão seja de formação química, pela presença de uma substância anfifílica ou física, pela intensa agitação (BENAVIDES et al., 2016), seguida de liofilização, a qual é considerada um método físico, que consiste na secagem de um material previamente congelado, em que a maior parte do solvente é removido por sublimação, sem a passagem pela fase líquida (POLAK; PITOMBO, 2011).

A escolha dos materiais de parede é muito importante, pois é necessário que estes compostos apresentem biocompatibilidade, biodegradabilidade e atoxicidade, sendo, portanto, requisitos que reduzem o número de polieletrólitos potencialmente disponíveis para serem utilizados (SILVA; ANDRADE, 2009). Dentre os materiais utilizados, polissacarídeos e proteínas têm sido comumente empregados para encapsular substâncias biologicamente ativas (MENDANHA et al., 2009; XIAO; YU; YANG, 2011; CHAO et al., 2014; JUN et al., 2015; VARANKOVICH et al., 2015).

Por apresentarem natureza anfifílica, as proteínas, tanto de origem animal quanto vegetal, tornam-se agentes de encapsulação ideais para óleos, devido a sua capacidade emulsionante, sendo assim amplamente utilizadas para a encapsulação de compostos ativos presentes em matrizes lipofílicas (NESTERENKO et al., 2013;

AVRAMENKO et al., 2016). Por serem compostas por diferentes aminoácidos, as proteínas apresentam propriedades distintas, as quais irão influenciar diretamente na formação das micropartículas (TARHINI; GREIGE-GERGES; ELAISSARI, 2017). A quitosana, obtida da desacetilação da quitina, é um polissacarídeo catiônico composto de β -(1-4)-2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranosose, que pode interagir com outros coloides, tais como as proteínas. A combinação entre esses polímeros tem demonstrado grande potencial para a microencapsulação de diferentes compostos bioativos (AN-CHEOL; YOUN-HO, 2009; ELMER et al., 2011; HUANG et al., 2012; KANG; DAI; KIM, 2012).

A microencapsulação também pode ser utilizada com o objetivo de retardar a liberação de compostos até o momento certo e/ou lugar, ou para controlar a taxa de liberação, sendo a liberação controlada, uma das principais vantagens da microencapsulação, permitindo um efeito direcionado e também prolongado (AZEREDO, 2005). Em geral, o que determina o perfil de liberação são os tipos de materiais de parede que formam as micropartículas, sua geometria e as interações parede/núcleo (ZUIDAM; SHIMONI, 2010; ROMAN; BURRI; SINGH, 2012; JAIN et al. 2015; WANG et al., 2015).

Considerando-se a importância dos carotenoides para a saúde e a sua instabilidade frente a condições de processamento e estocagem, este estudo objetivou microencapsular óleo de palma pelo método de emulsão-liofilização utilizando como material de parede albumina sérica bovina, gelatina, proteína de arroz, proteína de ervilha e proteína isolada de soja associadas com quitosana. Além disso, objetivou-se caracterizar e aplicar as micropartículas em pudim convencional (com aquecimento/agitação leve) e instantâneo (sem aquecimento/agitação vigorosa), a fim de avaliar o efeito do processamento das matrizes alimentares no perfil de liberação dos carotenoides em condições que simulam o trato gastrointestinal.

3.2 Materiais e métodos

3.2.1 Materiais

Os materiais de parede utilizados foram albumina sérica bovina (AB), gelatina tipo B (G) e quitosana (Q) 190 - 310 KDa (Sigma Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, Brasil), proteína de arroz (grau de pureza 73,0%) (PA), proteína de ervilha (grau de pureza 73,0%) (PE) e proteína isolada de soja (PS) (grau de pureza 80,0%) (Labonathus, São Paulo, Brasil). O material encapsulado foi o óleo de palma puro (Hemmer, Cia Hemmer Indústria e Comércio, Blumenau, SC, Brasil).

3.2.2 Determinação de carotenoides no óleo de palma

O conteúdo de carotenoides no óleo de palma foi quantificado segundo Rodriguez-Amaya (1997). Foi realizada dissolução de 0,1 g do óleo em 25 mL de hexano, fazendo-se a leitura em espectroscopia em UV visível a 450 nm (Jenway 6705 UV/Vis). A quantificação foi baseada em uma curva de calibração feita com padrão de β -caroteno, grau de pureza 97,0% ($Y = 0.2191x - 0,0045$, $R^2 = 0,9996$). Os resultados foram expressos em μg de β -caroteno. g^{-1} de amostra.

3.2.3 Preparo das micropartículas

A microencapsulação foi realizada seguindo a metodologia de Rutz et al. (2016) com algumas modificações. As soluções de proteínas (1,0%) foram preparadas por dissolução em água destilada. A albumina sérica bovina foi diluída a temperatura ambiente e a gelatina a 50 °C, enquanto que as de proteínas de arroz, de ervilha e de soja foram mantidas sob agitação por 1 h a 50 °C e sonicadas por 30 min. A solução de quitosana (1,0%) foi preparada por dissolução em HCl (0,1 mol.L⁻¹), mantida sob agitação por 12 h, e após o ajuste do pH para 5,6 com NaOH (0,2 mol.L⁻¹), foi filtrada e avolumada para o volume desejado.

Para o preparo das micropartículas utilizou-se uma proporção de 5:1 (m/m) de material de parede e óleo de palma, respectivamente. Realizou-se agitação vigorosa da solução de proteína com o óleo de palma (contendo 1429,13 μg de β -caroteno. g^{-1}), com Ultra-Turrax (IKA T18 básica) a 13500 rpm por 5 min, seguido da adição da solução de quitosana e agitação por mais 3 min, obtendo-se as seguintes associações: albumina sérica bovina/quitosana (ABQ), gelatina/quitosana (GQ),

proteína de arroz/quitosana (PAQ), proteína de ervilha/quitosana (PEQ) e proteína isolada de soja/quitosana (PSQ). As soluções finais apresentaram pH em torno de 5,0. Essas foram congeladas a -75 °C e liofilizadas (Terroni -Enterprise II).

3.2.4 Caracterização das micropartículas

3.2.4.1 Eficiência de Encapsulação (EE)

O conteúdo de carotenoides na superfície das micropartículas foi determinado através da homogeneização da amostra com hexano em vórtex (Biomixer QL-901) durante 1 min, seguido por centrifugação (206 Fanem-BL) a 1057xg por 3 min. A fase apolar foi coletada e analisada em espectrofotômetro (Jenway 6705 UV/Vis.) a 450 nm. A quantificação dos carotenoides foi realizada como descrito no item 3.2.2. A EE foi calculada de acordo com a equação 1.

$$\%EE = \frac{Ca - Cs}{Ca} \times 100 \quad Eq.1$$

Em que “Ca” representa o conteúdo de carotenoides do óleo de palma adicionado às micropartículas e “Cs”, o conteúdo de carotenoides na superfície.

3.2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das micropartículas foi determinada utilizando Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo SEM, JEOL JSM LV-6060). As amostras foram fixadas sobre um suporte de metal com fita de carbono dupla face e revestidas por uma camada fina de ouro. A visualização foi realizada com ampliação de 100 e 1000 X e voltagem de excitação entre 10 e 15 kV.

3.2.4.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As análises de DSC foram realizadas no óleo de palma, na combinação dos materiais de parede (ABQ, GQ, PAQ, PEQ, PSQ), e nas micropartículas referentes a cada combinação, utilizando o TA Instruments, modelo DSC Q20. Para cada amostra,

1,0 mg foi aquecido em panela de alumínio a uma taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ entre -25 e $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, com um fluxo de nitrogênio de $40\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

3.2.4.4 Perfil de liberação dos carotenoides em condições gastrointestinais simuladas

O perfil de liberação dos carotenoides encapsulados foi avaliado em sistema *in vitro* simulando o fluido gastrointestinal (FGI), de acordo com as metodologias propostas por Sansone et al. (2011) e Paramera, Konteles e Karathanos (2011), com modificações. Utilizou-se em torno de 20 mg de cada uma das micropartículas para cada tempo avaliado (0, 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 min). O FGI foi adicionado a cada amostra, as quais foram, posteriormente, incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. A análise foi realizada em triplicata.

Para simular as condições gastrointestinais, as amostras foram adicionadas de 5,0 mL de fluido gástrico, que consiste de uma solução de HCl $0,1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 2,0 contendo 0,3% de enzima pepsina. A partir dos 120 min, foi adicionado 3,5 mL de fluido intestinal, que consiste de uma solução de Na_2HPO_4 0,56 M contendo 0,3% da enzima pancreatina. As amostras foram removidas em cada período de tempo, adicionadas de hexano e homogeneizadas em vórtex (Biomixer QL-901) durante 1 min, seguido por centrifugação (206 Fanem-BL) a 1057 xg por 3 min. A fase apolar foi coletada e analisada em espectrofotômetro (Jenway 6705 UV/Vis) a 450 nm. A quantificação de carotenoides foi realizada de acordo com a descrição no item 3.2.2. O resultado foi expresso como % de liberação de carotenoides.

3.2.5 Aplicação das micropartículas às matrizes alimentares

3.2.5.1 Preparo de pudim convencional e instantâneo

Foram preparados dois tipos de pudins comerciais, uma formulação convencional, em que após a adição do leite e das micropartículas, a amostra foi aquecida a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 min, com leve agitação manual, e uma formulação instantânea, na qual, após a adição do leite e das micropartículas, aplicou-se intensa agitação com utilização de batedeira na velocidade máxima por 3 min, à temperatura ambiente, conforme instruções do fabricante. Os pudins foram elaborados com cada uma das micropartículas, e armazenados a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises.

Para estabelecer a quantidade de micropartículas adicionadas às matrizes alimentares, considerou-se o conteúdo de carotenoides presentes no óleo de palma encapsulado e a Resolução da Diretoria Colegiada nº 269, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2005), a qual determina que a ingestão diária recomendada (IDR) de vitamina A para adultos seja de 600 µg, sendo que cada µg de β-caroteno é equivalente a 0,167 µg de retinol (BRASIL, 2005). Assim, a porção de 120 g de pudim, tanto da formulação convencional quanto da instantânea, proporciona 10,0 % do teor de carotenoides necessários para satisfazer a IDR para adultos.

3.2.5.2 Perfil de liberação dos carotenoides em condições gastrointestinais simuladas

O perfil de liberação dos carotenoides presentes nas micropartículas adicionadas aos pudins foi avaliado nas condições gastrointestinais simuladas como descrito em 3.2.4.4.

3.3 Análise estatística

Os resultados foram expressos em médias referentes às determinações em triplicata e submetidos à análise de variância. O teste de Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para avaliar os materiais de parede em relação à eficiência de encapsulação e perfil de liberação de carotenoides das micropartículas em condições gastrointestinais simuladas. Esse teste também foi utilizado para avaliar os materiais de parede em relação ao perfil de liberação dos carotenoides encapsulados após a aplicação nas matrizes alimentares.

3.4 Resultados e Discussão

3.4.1 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação refere-se à percentagem de carotenoides encapsulados em relação à quantidade de carotenoides presentes no óleo de palma adicionado inicialmente às micropartículas (NESTERENKO et al., 2013), descontando-se o conteúdo de carotenoides presente na superfície das micropartículas. Os resultados de eficiência de encapsulação obtidos nas

micropartículas de proteínas associadas com quitosana estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Eficiência de encapsulação dos carotenoides presentes no óleo de palma

Material de Parede	Eficiência de Encapsulação (%)
ABQ	78,2 ± 0,02 C
GQ	69,0 ± 0,61 D
PAQ	60,9 ± 0,66 E
PEQ	87,0 ± 0,40 B
PSQ	96,4 ± 0,02 A

ABQ: albumina sérica bovina/quitosana; GQ: gelatina/quitosana; PAQ: proteína de arroz/quitosana; PEQ: proteína de ervilha/quitosana; PSQ: proteína isolada de soja/quitosana. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes, na coluna, diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$) avaliando o material de parede.

A eficiência de encapsulação dos carotenoides do óleo de palma foi significativamente influenciada pelos materiais de parede utilizados, sugerindo-se uma relação com a composição de aminoácidos das proteínas, que varia de acordo com sua origem (TARHINI; GREIGE-GERGES; ELAISSARI, 2017). Valores superiores a 85,0% foram obtidos para as proteínas de leguminosas, ervilha e soja, as quais apresentam baixas concentrações de aminoácidos sulfurados e triptofano, e diferentes proporções de aminoácidos hidrofóbicos, como alanina, valina, isoleucina, prolina, fenilalanina e metionina (DERBYSHIRE; WRIGHT; BOULTER, 1976; SHEWRY; NAPIER; TATHAM, 1995; LOURENÇO, 2000; NESTERENKO et al., 2013). Dessa forma, possivelmente, a presença de aminoácidos apolares nessas proteínas tenha possibilitado interações hidrofóbicas com os constituintes do óleo, refletindo em maiores valores de eficiência de encapsulação.

Além disso, um dos pré-requisitos para a encapsulação de óleos é a formação de uma emulsão óleo/água estável (AVRAMENKO; LOW; NICKERSON, 2013). Sendo assim, as diferenças observadas nos valores obtidos, também podem ter ocorrido devido à baixa capacidade da albumina sérica bovina, gelatina e proteína de arroz em estabilizar a interface óleo-água, quando comparadas às proteínas de leguminosas.

3.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na Fig. 1, podem-se visualizar as morfologias obtidas para as micropartículas de proteínas associadas com quitosana.

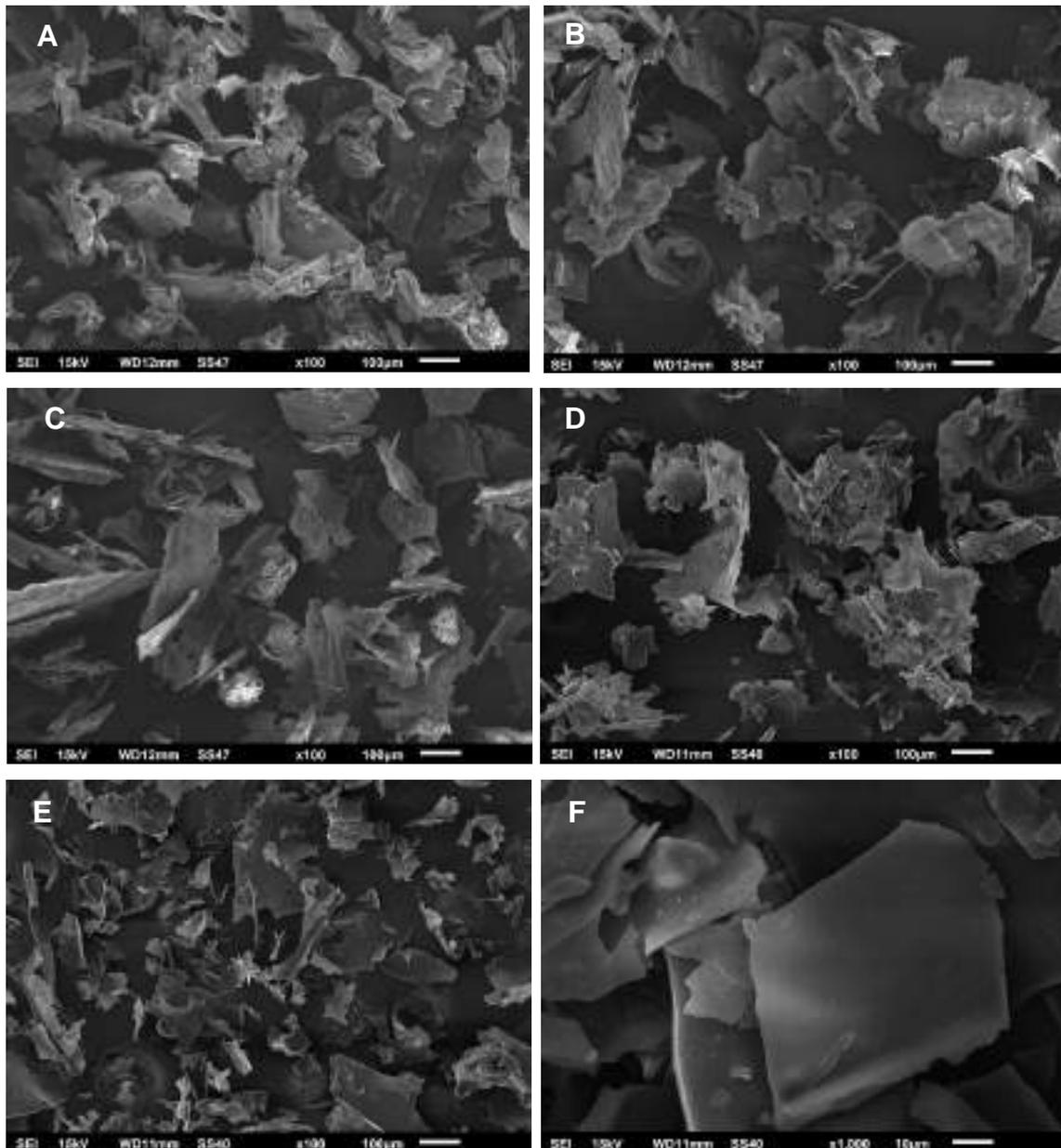


Figura 1 – Morfologia das micropartículas contendo óleo de palma, utilizando os diferentes materiais de parede: (A) albumina sérica bovina/quitosana; (B) gelatina/quitosana; (C) proteína de arroz/quitosana; (D) proteína de ervilha/quitosana; (E) proteína isolada de soja/quitosana; (F) superfície característica apresentada por todas as micropartículas.

As micropartículas de proteínas associadas com quitosana, contendo o óleo de palma, apresentaram formato irregular, sendo visualmente semelhantes ao obtido por outros autores quando utilizaram a liofilização como método de encapsulação de micropartículas de quitosana e proteínas (AN-CHEOL, YOUN-HO, 2009; GUO-QING et al., 2012). As micropartículas apresentaram superfície lisa, sem fissuras e isentas de porosidades (Fig. 1; F), o que sugere alta integridade dos materiais de parede ao formar as micropartículas, e conseqüentemente, a efetiva proteção do material encapsulado, confirmado pelos resultados da eficiência de encapsulação.

3.4.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Os termogramas de DSC do óleo de palma, dos materiais de parede (ABQ, GQ, PAQ, PEQ e PSQ) e de suas respectivas micropartículas contendo óleo de palma, estão apresentados na Fig. 2.

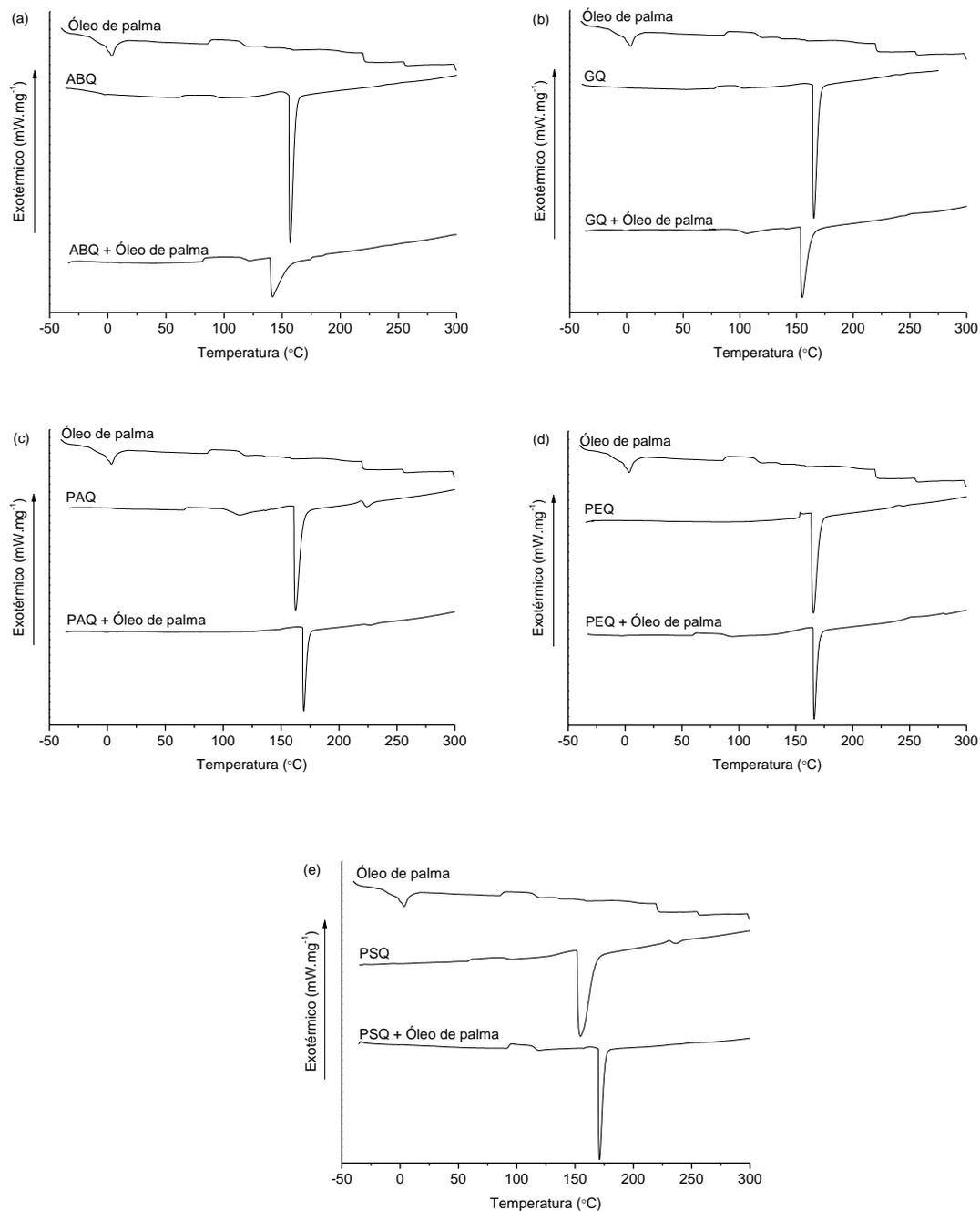


Figura 2 – Termogramas de DSC. (a) albumina sérica bovina/quitosana, (b) gelatina/quitosana, (c) proteína de arroz/quitosana, (d) proteína de ervilha/quitosana e (e) proteína isolada de soja/quitosana.

No termograma do óleo de palma se observa um evento endotérmico a 3,78 °C, referente ao seu ponto de fusão, segundo Martini et al. (2010). Nos termogramas dos materiais de parede ABQ, GQ, PAQ, PEQ e PSQ pode-se observar eventos endotérmicos em temperaturas de 156,85 °C, 165,23 °C, 162,45 °C, 165,34 °C e 154,72 °C, respectivamente. A maioria das micropartículas apresentou deslocamento

dos picos característicos aos obtidos pelos respectivos materiais de parede e em todos termogramas foi observado a ausência do evento endotérmico do óleo de palma. Essas variações de temperatura nos termogramas das micropartículas em relação aos respectivos materiais de parede, evidenciam a interação do óleo com os materiais utilizados. Outros autores (PAN; ZHONG; BAEK, 2013; ZHANG; ZHONG, 2013; RUTZ et al., 2016) também confirmaram a encapsulação a partir dos termogramas de DSC, devido ao desaparecimento ou deslocamento dos picos referente aos materiais encapsulados.

3.4.4 Liberação dos carotenoides encapsulados antes e após a aplicação em matriz alimentar

Pode-se visualizar na Fig. 3, o perfil de liberação, em condições gastrointestinais simuladas, dos carotenoides do óleo de palma encapsulado com proteínas e quitosana.

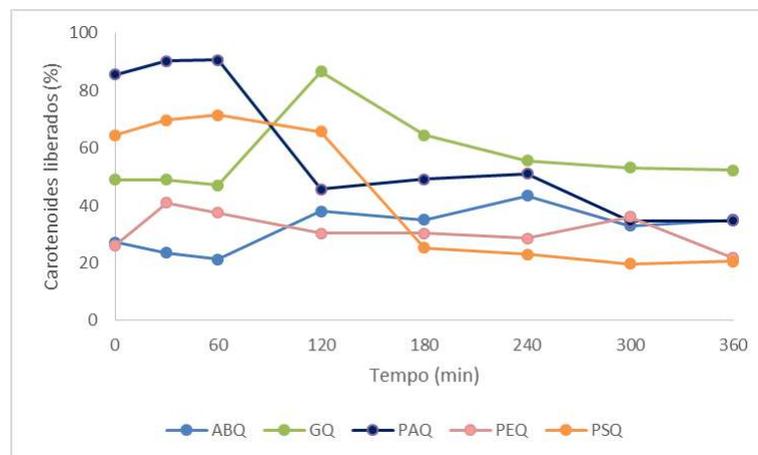


Figura 3 – Perfil de liberação de carotenoides das micropartículas de proteínas e quitosana, em condições gastrointestinais simuladas. ABQ: albumina sérica bovina/quitosana; GQ: gelatina/quitosana; PAQ: proteína de arroz/quitosana; PEQ: proteína de ervilha/quitosana; PSQ: proteína isolada de soja/quitosana.

De uma forma geral, o perfil de liberação dos carotenoides em fluido gastrointestinal simulado foi significativamente influenciado pelo material de parede utilizado. Nas micropartículas de ABQ (24,0%), PEQ (34,9%) e GQ (48,3%) ocorreram, em média, percentuais de liberação significativamente inferiores às micropartículas de PAQ (88,8%) e PSQ (68,6%), nos primeiros 60 min, nas condições

gástricas simuladas. Jain et al. (2016) sugerem que a rápida liberação inicial pode estar relacionada com a liberação do composto bioativo presente na superfície das micropartículas ou com a perda da integridade da parede durante a elaboração ou liofilização das mesmas. Os autores também mencionam que as irregularidades no formato das micropartículas podem favorecer a liberação, devido ao aumento da área de superfície das micropartículas. A partir dos 120 min, as micropartículas apresentaram percentuais médios de liberação de 37,0%, 62,5%, 43,1%, 29,4%, 30,8% para ABQ, GQ, PAQ, PEQ e PSQ, respectivamente. De acordo com estes resultados e considerando que as micropartículas devem liberar o maior percentual do composto encapsulado nas condições do fluido intestinal (SAUVANT et al., 2012; YUN; CHUAN-HE, 2016), nenhuma das micropartículas avaliadas apresentou comportamento ideal.

A matriz alimentar influencia diretamente no comportamento das micropartículas em condições gastrointestinais, devido às interações entre os nutrientes e às condições do processo de preparo dos alimentos, sendo um desafio obter uma estrutura de encapsulamento estável na matriz alimentar, que não altere o aspecto sensorial dos alimentos, mas que ofereça a liberação controlada do composto encapsulado dentro do nível desejado (SAUVANT et al., 2012). Dessa forma, neste estudo, optou-se por adicionar as micropartículas em pudim de formulação convencional (com aquecimento e com agitação leve) e em pudim de formulação instantânea (sem aquecimento e com agitação vigorosa), a fim de avaliar a influência do processamento no perfil de liberação dos carotenoides encapsulados em condições gastrointestinais simuladas. O perfil de liberação, em fluido gastrointestinal simulado, dos carotenoides encapsulados após aplicação às matrizes alimentares, está demonstrado na Fig. 4.

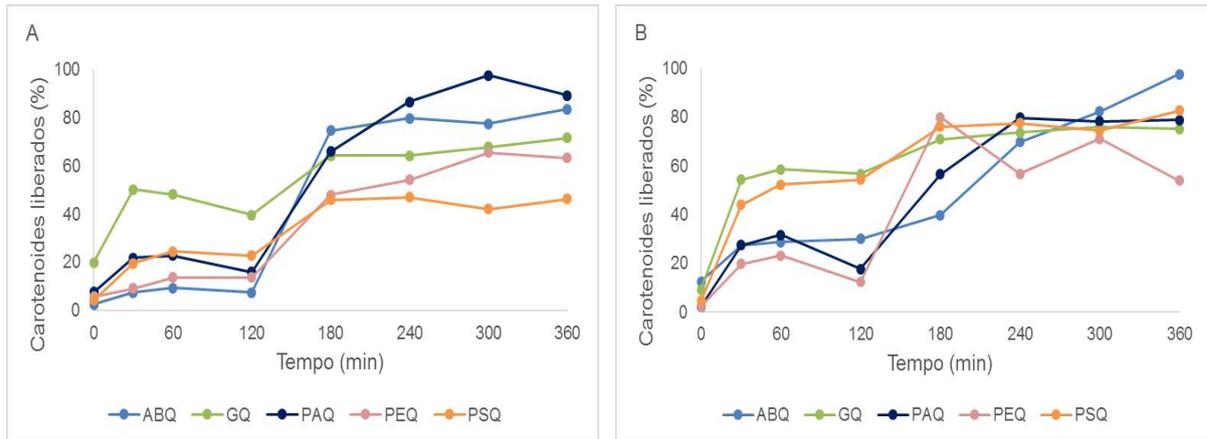


Figura 4 – Perfil de liberação de carotenoides das micropartículas de quitosana e proteínas, em condições gastrointestinais simuladas, após aplicação em (A) pudim com formulação convencional (com aquecimento e agitação leve) e (B) em pudim de formulação instantânea (sem aquecimento e com agitação vigorosa). ABQ: albumina sérica bovina/quitosana; GQ: gelatina/quitosana; PAQ: proteína de arroz/quitosana; PEQ: proteína de ervilha/quitosana; PSQ: proteína isolada de soja/quitosana.

A aplicação das micropartículas às matrizes alimentares afetou significativamente o perfil de liberação dos carotenoides, para todos os materiais de parede avaliados. No fluido gástrico simulado até 60 min, a liberação dos carotenoides adicionados ao pudim convencional, em média, foi de 6,4%, 39,5%, 17,4%, 9,5% e 16,1% para ABQ, GQ, PAQ, PEQ e PSQ, respectivamente, verificando-se menor percentual de liberação para as micropartículas de ABQ e PEQ. No pudim instantâneo obteve-se maior percentual de liberação dos carotenoides no fluido gástrico, sendo, em média, 22,9%, 40,7%, 20,5%, 15,1% e 33,7%, para as micropartículas de ABQ, GQ, PAQ, PEQ e PSQ, respectivamente.

No entanto, nas condições intestinais simuladas, após os 120 min, a liberação foi dependente do produto e dos materiais de parede. A liberação média observada no pudim convencional foi de 79,0% (ABQ), 67,1% (GQ), 85,0% (PAQ), 57,8% (PEQ) e 45,3% (PSQ), dos 180 aos 360 min. No pudim instantâneo observou-se liberação dos carotenoides das micropartículas de ABQ, GQ, PAQ, PEQ e PSQ, com percentual médio de 72,4%, 74,0%, 73,4%, 65,5% e 77,8%, respectivamente.

De forma geral, os resultados demonstram que os diferentes materiais de parede e as diferenças de processamento dos pudins influenciaram no perfil de liberação dos carotenoides. As micropartículas de albumina sérica bovina/quitosana, assim como proteína de arroz/quitosana aplicadas em pudim de formulação convencional, apresentaram o perfil de liberação mais adequado em condições

gastrointestinais simuladas. Para esses materiais de parede, o aquecimento associado à leve agitação aplicado no pudim convencional proporcionou a liberação de menor porcentagem de carotenoides nas condições gástricas e maior nas condições intestinais, sendo este um dos principais objetivos da microencapsulação, visto que uma liberação adequada e orientada melhora a absorção do composto ativo (GOUIN, 2004; CHAMPAGNE; FAUSTIER, 2007; HYE-YEUM; HONGKEE, 2009; XIAO-YING; ZHI-PING; JIAN-GUO, 2011). Por outro lado, de uma forma geral, a intensa agitação realizada durante o preparo do pudim instantâneo pode ter ocasionado a destruição parcial da parede das partículas favorecendo um alto percentual de liberação dos carotenoides no fluido gástrico.

3.5 Conclusão

Foi possível encapsular o óleo de palma pelo método de emulsão-liofilização utilizando proteínas associadas à quitosana. A eficiência de encapsulação foi dependente do material de parede utilizado, sendo obtidos melhores resultados com proteína de ervilha/quitosana e proteína isolada de soja/quitosana. As micropartículas apresentaram formato irregular, superfície lisa, sem fissuras e independente do material de parede, pode-se confirmar a encapsulação pelos termogramas de DSC.

A liberação dos carotenoides das micropartículas foi influenciada pela composição do material de parede e dependente da matriz alimentar, associada a forma de preparo. As micropartículas de albumina sérica bovina/quitosana e proteína de arroz/quitosana, aplicadas ao pudim convencional, apresentaram perfil de liberação controlado e adequado nas condições, gástrica ou intestinal, simuladas. No pudim instantâneo, não foi obtido perfil de liberação adequado com qualquer das micropartículas testadas. Assim, é necessário considerar o processo pelo qual é submetida a matriz alimentar na qual deseja-se aplicar as micropartículas, devido à grande influência do tipo de processamento sobre o comportamento de liberação do composto ativo.

3.6 Referências

AN-CHEOL, L.; YOUN-HO, H. Coacervate formation of α -lactalbumin–chitosan and β -lactoglobulin–chitosan complexes. **Food Research International**, v.42 p.733–738, 2009.

AVRAMENKO, N. A.; CHANG, C., LOW, N. H., NICKERSON, M. T. Encapsulation of flaxseed oil within native and modified lentil protein-based microcapsules. **Food Research International**, v.81, p.17–24, 2016.

AVRAMENKO, N. A.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate. **Food Research International**, v.51, p.162–169, 2013.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.16, n.1, p.89-97, 2005.

BENAVIDES, M.; FERNÁNDEZ-LODEIRO, J.; COELHO, P.; LODEIRO, C.; DINIZ, M. S. Single and combined effects of aluminum (Al_2O_3) and zinc (ZnO) oxide nanoparticles in a freshwater fish, *Carassius auratus*. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, n.24, p.24578-24591, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, de 22 de setembro de 2005.

CHAMPAGNE, C. P.; FUSTIER, P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Food biotechnology**, v.18, p.184–190, 2007.

CHAO, P.; SU-QING, Z.; JUN, Z.; GUI-YING, H.; LAN-YING, C.; FENG-YI, Z. Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed essential oil by complex coacervation. **Food Chemistry**, v.165, p.560–568, 2014.

CURVELO, F. M.; ALMEIDA, D. T.; NUNES, I.L.; FEITOSA, S. Qualidade do óleo de palma bruto (*Elaeis guineensis*): matéria-prima para fritura de acarajés The quality of crude palm oil (*Elaeis guineensis*): raw material for deep-frying acarajés. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.4, p.641-646, 2011.

DERBYSHIRE, E.; WRIGHT, D., J.; BOULTER, D. Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds. **Phytochemistry**, v.15, n.1, p.3-24, 1976.

ELMER, C.; KARACA, A. C.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. Complex coacervation in pea protein isolate–chitosan mixtures. **Food Research International**, v.44, p. 1441–1446, 2011.

ELTAYEB, M.; STRIDE, E.; EDIRISINGHE, M. Preparation, characterization and release kinetics of ethylcellulose nanoparticles encapsulating ethylvanillin as a model functional component. **Journal of Functional Foods**, v.14, p.726–735, 2015.

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

GRANT, N.; ZHANG, H. Poorly water-soluble drug nanoparticles via an emulsion-freeze-drying approach. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.356, p.573–578, 2011.

GUO-QING, H.; YAN-TING, S.; JUN-XIA, X.; JIAN, Y. Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. **Food Chemistry**, v.135, p.534–539, 2012.

HYE-YEUM, I., HONGKEE, S. Ammonolysis-based microencapsulation technique using isopropyl formate as dispersed solvent. **International Journal of Pharmaceutics**, v.382, p.130–138, 2009.

JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O. P.; SHIVHARE, U. S. Microencapsulation by complex coacervation using whey protein isolates and gum acacia: an approach to preserve the functionality and controlled release of β -carotene. **Food and Bioprocess Technology**, v.8, p.1635–1644, 2015.

JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O. P.; SHIVHARE, U. S. Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.87, p.101–113, 2016.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.70, p.102-110, 2013.

JUN, L.; YOUN, Y. S.; YONG, W.; MARTIN J. T. R. Intermolecular interaction and complex coacervation between bovine serum albumin and gum from whole flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **Food Hydrocolloids**, v.49, p.95-103, 2015.

KANG, M. K.; DAI, J.; KIM, J. C. Ethylcellulose microparticles containing chitosan and gelatin: pH-dependent release caused by complex coacervation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.18, p.355–359, 2012.

LIMÓN, P.; MALHEIRO, R.; CASAL, S.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; RODRIGUES, N.; CRUZ, R.; BERMEJO, R.; PEREIRA, J. A. Improvement of stability and carotenoids fraction of virgin olive oils by addition of microalgae *Scenedesmus almeriensis* extracts. **Food Chemistry**, v.175, p.203–211, 2015.

LOURENÇO, E. J. **Tópicos de proteínas de alimentos**. Jaboticabal: Funep, 2000. 344p.

MARTINI, S.; D'ADDARIO, C.; BONECHI, C.; LEONE, G.; TOGNAZZI, A.; CONSUMI, M.; ROSSI, C. Increasing photostability and water-solubility of carotenoids: Synthesis and characterization of β -carotene–humic acid complexes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.101, p.355–361, 2010.

MBA, O. I.; DUMONT, M. J.; NGADI, M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. **Food Bioscience**, v.10, p.26-41, 2015.

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

NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v.42, p.469–479, 2013.

NG, T. K. W.; LOW, C. X.; KONG, J. P.; CHO, Y. L. Use of red palm oil in local snacks can increase intake of provitamin A carotenoids in young aborigines children: A Malaysian experience. **Malaysian Journal of Nutrition**, v.18, p.393–397, 2012.

O'BRIEN, R. D. **Fats and oils: Formulating and processing for applications**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 3ed, 2010.

PAN, K.; ZHONG, Q.; BAEK, S. J. Enhanced dispersibility and bioactivity of curcumin by encapsulation in casein nanocapsules. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, p.6036–6043, 2013.

PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Chemistry**, v.125, p.892-902, 2011.

POLAK, R.; PITOMBO, R. N. M. Care during freeze-drying of bovine pericardium tissue to be used as a biomaterial. A comparative study. **Cryobiology**, v.63, p.61-66, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods**. Washington DC: Usaid-Omni, 1997. 88p.

ROMAN, M. J.; BURRI, B. J.; SINGH, R. P. Release and Bioaccessibility of β -Carotene from Fortified Almond Butter during in Vitro Digestion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.9659-9666, 2012.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; ROSA, C. G.; SILVA, M. M. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, v.202, p.324–333, 2016.

SANSONE, F.; PICERNO, P.; MENCHERINI, T.; VILLECCO, F.; D'URSI, A. M.; AQUINO, R. P. LAURO, M. R. Flavonoid microparticles by spray-drying: Influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability. **Journal of Food Engineering**, v.103, n.2, p.188-196, 2011.

SAUVANT, P., CANCELL, M., SASSI, A. H., ATGIÉ, C. Vitamin A enrichment: Caution with encapsulation strategies used for food applications. **Food Research International**, v.46, p.469–479, 2012.

SHEWRY, P. R.; NAPIER, J. A.; TATHAM, A. S. Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis. **The Plant Cell**, v.7, p.945-956, 1995.

SILVA, M. C.; ANDRADE, C. T. Evaluating conditions for the formation of chitosan/gelatina microparticles. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.19, n.2, p. 133-137, 2009.

TARHINI, M.; GREIGE-GERGES, H.; ELAISSARI, A. Protein-based nanoparticles: From preparation to encapsulation of active molecules. **International Journal of Pharmaceutics**, v.522, n.1-2, p.172-197, 2017.

THIES, C. **Microcapsules**. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. 2ed, p. 3892-3903, 2003.

USDA. United States Department of Agriculture. Oilseeds: World markets and trade. 2016.

VARANKOVICH, N. V.; KHAN, N. H.; NICKERSON, M. T.; KALMOKOFF, M.; KORBER, D. R. Evaluation of pea protein-polysaccharide matrices for encapsulation of acid-sensitive bacteria. **Food Research International**, v.70, p.118–124, 2015.

WANG, Z.; JUA, X.; HE, R.; YUAN, J.; ALUKO, R. E. Effect of high pressure treatment on rapeseed protein microparticle properties and gastrointestinal release behavior of the encapsulated peptides. **Food Research International**, v.77, p.549–555, 2015.

WU, S. J.; NG, L. T. Antioxidant and antihepatoma activities of palm oil extract. **Journal of Food Lipids**, v.14, p.122–137, 2007.

XIAO J.; YU, H.; YANG, J. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. **Food Chemistry**, v.125 p. 1267–1272, 2011.

XIAO-YING, Q.; ZHI-PING, Z.; JIAN-GUO, J. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. **Food Hydrocolloids**, v.25, p.1596-1603, 2011.

YUN, S.; CHUAN-HE, T. Gel-like pea protein Pickering emulsions at pH 3.0 as a potential intestine-targeted and sustained-release delivery system for β -carotene. **Food Research International**, v.79, p.64–72, 2016.

ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Encapsulation of bixin in sodium caseinate to deliver the colorant in transparent dispersions. **Food Hydrocolloids**, v.33, p.1–9, 2013.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. **Overview of microencapsulation for use in food products or process and methods to make them**. In Encapsulation Technologies for active food ingredients and food processing, p.3-30, 2010.

4 Capítulo 2 – Estabilidade dos carotenoides do óleo de palma microencapsulado com proteínas animais e vegetais associadas com inulina

Resumo

O óleo de palma apresenta elevado conteúdo de carotenoides, os quais são altamente instáveis quando submetidos à luminosidade, à presença de oxigênio e ao calor. Com o objetivo de aumentar a estabilidade desses compostos, o óleo de palma foi microencapsulado utilizando como materiais de parede a albumina sérica bovina, ovoalbumina, gelatina, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas com inulina, através do processo de emulsão-liofilização. As micropartículas foram caracterizadas quanto à eficiência de encapsulação, à morfologia e ao comportamento térmico. Esses materiais também foram submetidos ao estudo da estabilidade em presença e ausência de luz, e nas temperaturas de 4,0 °C, 24,0 °C e 60,0 °C por 42 dias. A eficiência de encapsulação foi dependente do material de parede utilizado, sendo que as maiores eficiências foram obtidas para as micropartículas de proteína de ervilha/inulina e de proteína isolada de soja/inulina. A encapsulação do óleo foi confirmada pelos termogramas de DSC e todas as micropartículas apresentaram superfícies lisas e sem fissuras. As micropartículas de proteína isolada de soja/inulina proporcionaram maior estabilidade aos carotenoides do óleo de palma encapsulado e armazenado por 42 dias, tanto na presença quanto na ausência de luz, assim como quando submetidas a temperaturas de 4,0 °C e 24 °C. A 60,0 °C, todas as micropartículas, independente do material de parede, apresentaram baixa capacidade de retenção dos carotenoides.

Palavras-chave: pigmentos lipofílicos; microencapsulação; armazenamento.

4.1 Introdução

O óleo de palma é um óleo vegetal extraído da palma ou dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), espécie vegetal de origem africana que pertence à família Arecaceae (SHEIL et al., 2009; CURVELO et al., 2011), sendo considerada uma espécie perene tropical (CORLEY; TINKER, 2009). Os maiores produtores de palma são Indonésia e Malásia, os quais contribuem com cerca de 85,0% da produção global. No Brasil este óleo é produzido no Amazonas, Amapá, Bahia e em grandes áreas no estado do Pará (RAMALHO FILHO; MOTTA, 2010). O óleo de palma é o mais produzido e também o que apresenta o maior consumo mundial dentre os óleos vegetais, representando em torno de 33,0% do consumo, com uma produção estimada em 64,50 milhões de toneladas na safra 2016/2017 (USDA, 2016). A característica peculiar do óleo de palma é seu elevado conteúdo de carotenoides em

relação a outros óleos vegetais, e dentre os carotenoides presentes, cerca de 65,0% consiste em β -caroteno (GUNSTONE; LIN, 2011; NG et al., 2012; MBA; DUMONT; NGADI, 2015).

Os carotenoides constituem-se em um dos grupos de pigmentos naturais mais abundantes na natureza, com mais de 700 compostos conhecidos, os quais são classificados em duas classes: os carotenos, que não apresentam em sua estrutura molecular o oxigênio, como o α -caroteno, β -caroteno e o licopeno; e as xantofilas, também denominados de hidroxicarotenoides por apresentarem o oxigênio, como a luteína, zeaxantina e β -criptoxantina. Os carotenoides são pigmentos isoprenoides lipofílicos, sintetizados em todos os organismos fotossintéticos, como pelas bactérias, algas e plantas, assim como por algumas bactérias e fungos não-fotossintéticos (NAMITHA; NEGI, 2010; NISAR et al., 2015). Devido ao grande número de duplas ligações conjugadas, estes compostos podem apresentar ação antioxidante, atuando na eliminação de radicais livres e de espécies reativas ao oxigênio. Além disso, alguns carotenoides apresentam atividade pró-vitamina A, por serem constituídos de anéis de β -ionona. Devido às características destes compostos, suas aplicações em alimentos têm aumentado nos últimos anos. Contudo, a baixa solubilidade em água e elevada instabilidade frente à luz, aos tratamentos térmicos e na presença de oxigênio, têm dificultado a utilização destes compostos na indústria alimentar (ACHIR et al., 2010; KHOO et al., 2011).

A microencapsulação tem sido utilizada como uma alternativa para preservar substâncias sensíveis contra a degradação (SRI et al., 2012; CORONEL-AGUILERA; MARTÍN-GONZÁLEZ, 2015), sendo um processo no qual o componente ativo é aprisionado ou revestido por uma matriz polimérica, que promove o isolamento da molécula bioativa do ambiente circundante, devendo manter-se estável, até a ocorrência da liberação do material encapsulado no local desejado (RASCÓN et al., 2011; SAGIS, 2015.).

O material de parede utilizado na microencapsulação pode ser selecionado a partir de uma gama de polímeros naturais ou sintéticos, de acordo com as características desejadas das micropartículas (FERNANDES et al., 2014). Entre os polímeros mais utilizados, as proteínas derivadas de animais e vegetais têm sido amplamente empregadas para encapsulação de substâncias ativas (GUO-QING et al., 2012; NESTERENKO et al., 2013; LIU et al., 2015; DEVI et al., 2017; SHAO; TANG, 2016; XU et al., 2016). Esses compostos naturais anfílicos apresentam várias

vantagens, como a biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de propriedades como ação emulsificante e a capacidade de formação de espuma. Assim como as proteínas, a inulina, um polissacarídeo natural de plantas, constituído por unidades de D-frutose ligadas em β (2 \rightarrow 1), também já foi aplicada para microencapsular compostos bioativos, individualmente ou em conjunto com outros polímeros como alginato, proteína isolada de soja, pectina e maltodextrina (SAÉNZ et al., 2009; BEIRÃO-DA-COSTA et al., 2013; ROBERT et al., 2015; CUJIC et al., 2016; KRIVOROTOVA et al., 2016; LACERDA et al., 2016).

Considerando que o óleo de palma apresenta elevado conteúdo em carotenoides, e esses compostos apresentam grande instabilidade, objetivou-se com este estudo elaborar micropartículas utilizando como material de parede as proteínas albumina sérica bovina, ovoalbumina, gelatina, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, em associação com inulina, pelo processo de emulsão-liofilização, a fim de avaliar a capacidade das micropartículas em manter a estabilidade dos carotenoides durante o armazenamento na presença/ausência de luminosidade, bem como em diferentes temperaturas.

4.2 Materiais e métodos

4.2.1 Materiais

Os materiais de parede utilizados foram albumina sérica bovina (AB) (Sigma Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, Brasil), gelatina tipo B (G) (Sigma Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, Brasil), ovoalbumina (grau de pureza 83,0%) (AO), proteína de ervilha (grau de pureza 73,0%) (PE), proteína isolada de soja (grau de pureza 80,0%) (PS) (Labonathus, São Paulo, Brasil) e inulina (I) (Frutafit IQ, São Paulo, Brasil). O material encapsulado foi o óleo de palma puro (Hemmer, Cia Hemmer Indústria e Comércio, Blumenau, SC, Brasil).

4.2.2 Determinação de carotenoides no óleo de palma

O conteúdo de carotenoides no óleo de palma foi quantificado segundo a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (1997). Foi realizada dissolução de 0,1 g do óleo em 25 mL de hexano, fazendo-se a leitura em espectroscopia em UV visível a 450 nm (Jenway 6705 UV/Vis). A quantificação foi baseada em uma curva de

calibração obtida com o padrão de β -caroteno, grau de pureza 97,0% ($Y = 0.2191x - 0,0045$, $R^2 = 0,9996$). Os resultados foram expressos em μg de β -caroteno. g^{-1} de amostra.

4.2.3 Preparo das micropartículas

As soluções das proteínas (1,0%) albumina sérica bovina e ovoalbumina foram preparadas por dissolução em água destilada à temperatura ambiente, e para a gelatina à 50 °C. As soluções de proteína de ervilha e de soja foram mantidas sob agitação por 1 h a 50 °C e sonicadas por 30 min. Para o preparo da solução de inulina (1,0%), esta foi previamente hidratada por 12 h, seguido de aquecimento a 60 °C por 5 min e arrefecida a 40 °C, de acordo com Saézn et al. (2009) e Robert et al. (2015).

As micropartículas foram preparadas com base nos métodos descritos por Saézn et al. (2009) e Rutz et al. (2016), com adaptações. Utilizou-se uma proporção de 5:1 (m/m) de material de parede e óleo de palma, respectivamente. Realizou-se agitação vigorosa da solução de proteína com o óleo de palma, em Ultra Turrax (IKA T18 básica) a 13500 rpm por 5 min, seguido da adição da solução de inulina e agitação por mais 3 min, obtendo-se as seguintes associações: albumina sérica bovina/inulina (ABI), gelatina/inulina (GI), ovoalbumina/inulina (AOI), proteína de ervilha/inulina (PEI) e proteína isolada de soja/inulina (PSI). As soluções foram congeladas a -75 °C e liofilizadas (Terroni -Enterprise II).

4.2 4 Caracterização das micropartículas

4.2.4.1 Eficiência de Encapsulação (EE)

A eficiência de encapsulação foi determinada a partir da quantidade de carotenoides encapsulados em relação à quantidade de carotenoides do óleo de palma adicionado inicialmente às micropartículas, descontando-se o conteúdo de carotenoides presentes na superfície das micropartículas. O conteúdo de carotenoides na superfície foi determinado através da homogeneização da amostra com hexano em homogeneizador vórtice (Biomixer QL-901) durante 1 min, seguido por centrifugação (206 Fanem-BL) a 1057 xg por 3 min. A fase apolar foi coletada e analisada em espectrofotômetro (Jenway 6705 UV/Vis.) a 450 nm. A quantificação do

conteúdo de carotenoides foi realizada como descrito no item 2.2. A EE foi calculada de acordo com a equação 1.

$$\%EE = \frac{Ca - Cs}{Ca} \times 100 \quad Eq. 1$$

Em que, “Ca” representa o conteúdo de carotenoides no óleo de palma adicionado às micropartículas e “Cs”, o conteúdo de carotenoides na superfície.

4.2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das micropartículas foi determinada utilizando Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo SEM, JEOL JSM LV-6060). As amostras foram fixadas sobre um suporte de metal com fita de carbono dupla face e revestidas por uma camada fina de ouro. A visualização foi realizada com ampliação de 100 e 1000 X e voltagem de excitação entre 10 e 15 kV.

4.2.4.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As análises de DSC foram realizadas no óleo de palma, nos materiais de parede e nas micropartículas, utilizando o DSC 200 F3 Maia. Para cada amostra, 2,0 mg foram aquecidos em panela de alumínio a uma taxa de 10 °C.min⁻¹ entre -20 e 300 °C, com um fluxo de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹.

4.2.4.4 Estudo da estabilidade

A estabilidade dos carotenoides do óleo de palma microencapsulado foi investigada de acordo com Jain et al. (2016), com modificações. As micropartículas foram acondicionadas em frascos de vidro, sendo armazenadas em sala climatizada a 24 °C na ausência e na presença de luz, com lâmpada de 100 W como fonte de luz artificial, disposta perpendicularmente e suspensa a 50 cm das amostras. Para avaliar o efeito da temperatura na estabilidade dos carotenoides, as amostras foram armazenadas em refrigerador a 4 °C; em sala climatizada a 24 °C e em estufa a 60 °C. O conteúdo de carotenoides das micropartículas foi analisado a cada 7 dias, por um período de 42 dias, expressando-se os resultados em % de carotenoides residual.

4.3 Análise estatística

Os resultados foram expressos em médias referentes às determinações em triplicata e submetidos à análise de variância. O teste de Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para avaliar os materiais de parede em relação à eficiência de encapsulação e para avaliar a estabilidade dos materiais frente a diferentes temperaturas, enquanto que o teste LSD ($p < 0,05$) foi utilizado para avaliar os materiais em relação à presença/ausência de luminosidade. O teste de Tukey também foi utilizado para comparar os materiais de parede em cada condição de armazenamento.

4.4 Resultados e discussão

4.4.1 Carotenoides no óleo de palma

A amostra de óleo de palma utilizada para a microencapsulação apresentou 142,91 mg β -caroteno.100 g⁻¹, resultado superior aos encontrados por Szydłowska-Czerniak et al. (2011), que relataram conteúdos entre 32,70 – 45,80 mg β -caroteno.100 g⁻¹; porém, inferior aos valores obtidos por Sanagi et al. (2005), que oscilaram entre 280,00 – 350,00 mg β -caroteno.100 g⁻¹.

4.4.2 Eficiência de encapsulação

Os resultados obtidos para eficiência de encapsulação de carotenoides presentes no óleo de palma, ao utilizar proteínas animais e vegetais, em associação com inulina, como materiais de parede, podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Eficiência de encapsulação dos carotenoides presentes no óleo de palma

Material de Parede	Eficiência de Encapsulação (%)
ABI	48,55 ± 0,55 D
GI	32,96 ± 0,65 E
AOI	63,29 ± 0,51 C
PEI	70,59 ± 0,22 A
PSI	64,00 ± 0,37 B

ABI: albumina sérica bovina/inulina; GI: gelatina/inulina; AOI: ovoalbumina/inulina; PEI: proteína de ervilha/inulina; PSI: proteína isolada de soja/inulina. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes, na coluna, diferem pelo teste Tukey ($p < 0,05$) avaliando o material de parede.

Observa-se que houve diferença significativa nos valores de eficiência de encapsulação em função dos materiais de parede utilizados para microencapsular o óleo de palma. As micropartículas de ovoalbumina, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas com inulina, apresentaram as maiores eficiências de encapsulação. Isto ocorreu, possivelmente devido à maior exposição dos aminoácidos hidrofóbicos durante a formação das micropartículas, devido a diminuição nas interações intramoleculares e ao aumento no desdobramento das proteínas. Essas alterações conformacionais dependem da composição de cada proteína, de sua concentração e das condições de preparo das micropartículas (PATHAK; TASSU, 2009). Como as proteínas são compostas por distintos aminoácidos e por frações de pesos moleculares diferentes, dependendo da fonte a partir da qual é derivada, qualquer variação na composição influencia significativamente as características das micropartículas (TARHINI; GREIGE-GERGES; ELAISSARI, 2017). Além disso, diferenças na capacidade de cada proteína em manter a emulsão O/A estável, também pode ter influenciado os resultados de eficiência de encapsulação (AVRAMENKO; LOW; NICKERSON, 2013).

Considerando-se que a obtenção de uma elevada eficiência de encapsulação é de grande relevância, sendo um dos requisitos essenciais na microencapsulação, optou-se por dar continuidade no estudo apenas com as micropartículas que apresentaram resultados superiores a 50,0%, sendo ovoalbumina/inulina, proteína de ervilha/inulina e proteína isolada de soja/inulina, visto que o material de parede deve ser capaz de reter a substância ativa da forma mais eficiente possível, através da formação de uma película coesiva, proporcionando propriedades de revestimento específicas, como estabilidade e resistência (GONÇALVES; ESTEVINHO; ROCHA, 2016).

4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia das micropartículas de ovoalbumina, proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas com inulina, contendo óleo de palma estão dispostas na Fig. 1.

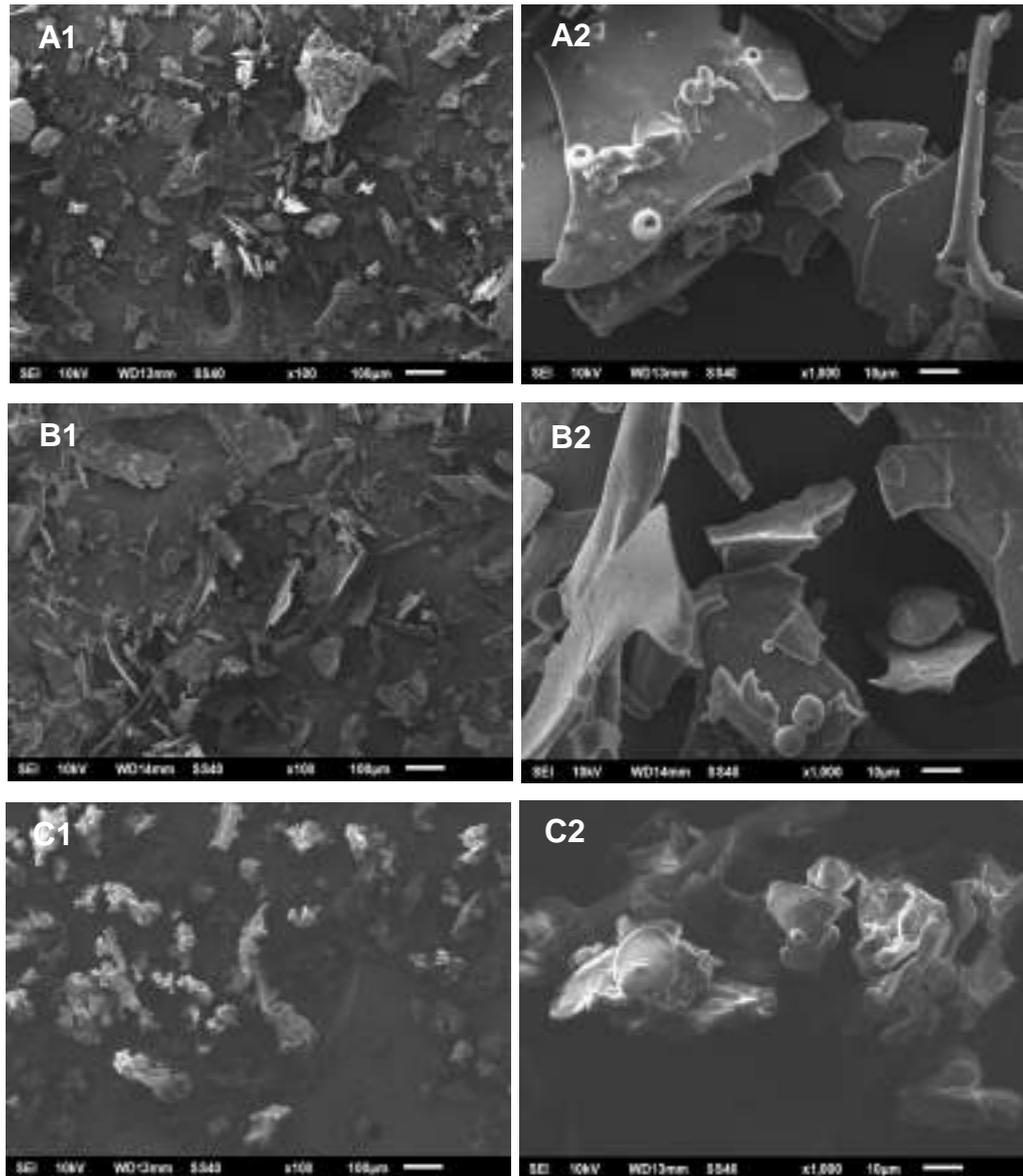


Figura 1 – Morfologia das micropartículas de (A1) ovoalbumina/inulina; (B1) proteína de ervilha/inulina e (C1) proteína isolada de soja/inulina, e suas respectivas ampliações em 1000x em A2, B2 e C2.

Independente do material de parede utilizado, todas as micropartículas apresentaram morfologia irregular, devido à utilização do processo de liofilização, assim como já abordado por outros autores (SAIKIA et al., 2015; CHRANIOTI; CHANIOTI; TZIA, 2016; ZABOT et al., 2016). Essa morfologia é o resultado da quebra da estrutura esponjosa formada após a remoção de cristais de gelo através da sublimação (SILVA et al., 2016). A superfície lisa obtida nas micropartículas possibilita maior retenção do material do núcleo, podendo ser afetada pela presença de fissuras e/ou porosidades (FERNANDES et al., 2016).

4.4.4 Calorimetria diferencial de varredura

Na Figura 2 podem-se visualizar os termogramas de DSC obtidos para o óleo de palma, para os materiais de parede (AOI, PEI e PSI) e para as diferentes micropartículas contendo o óleo.

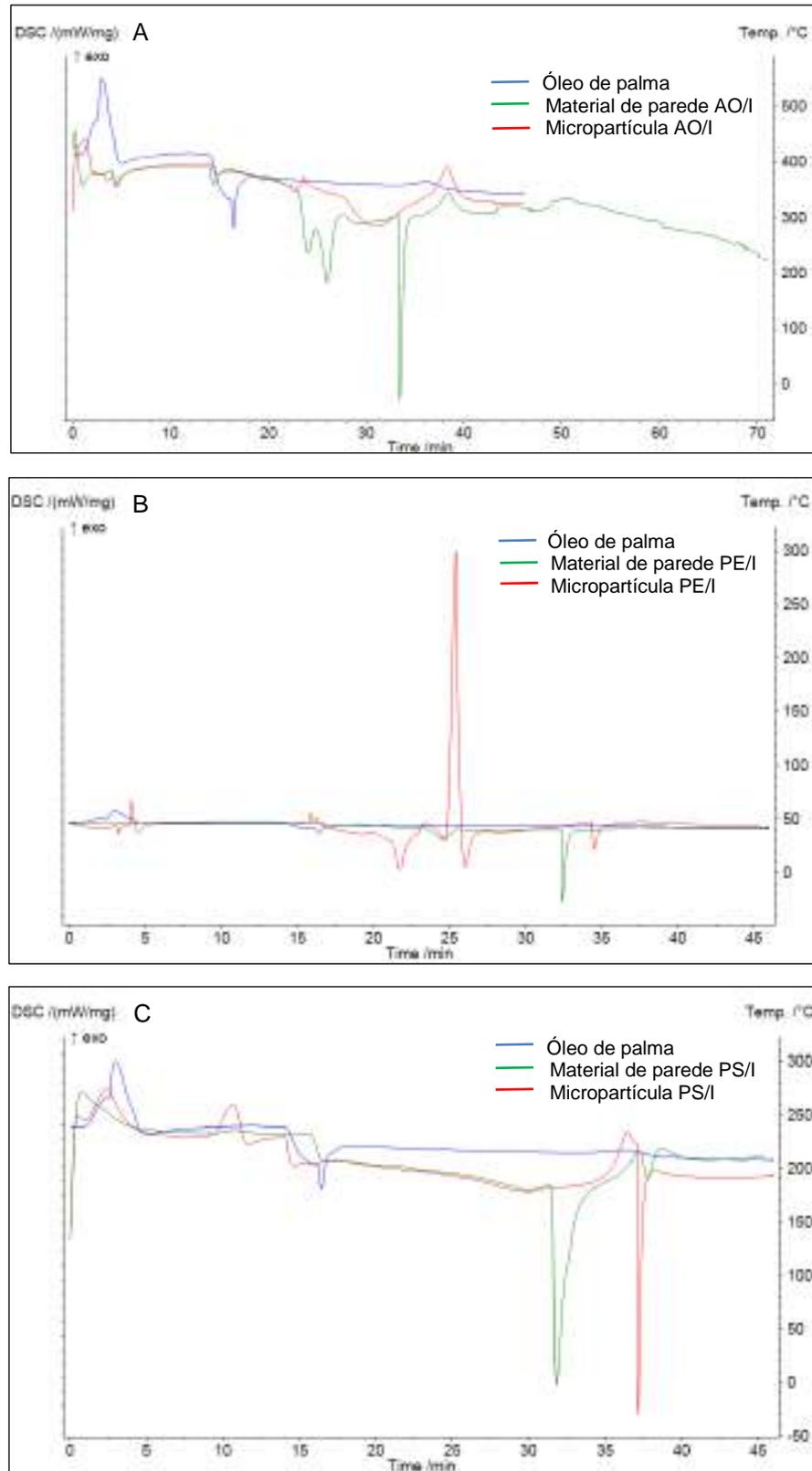


Figura 2 – Termogramas de DSC obtidos para o óleo de palma, para os materiais de parede (A) ovoalbumina/inulina, (B) proteína de ervilha/inulina, (C) proteína isolada de soja/inulina (C), e para as respectivas micropartículas contendo o óleo.

Como pode ser observado no termograma do óleo de palma (Fig.2), ocorreu um evento exotérmico em $-9,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e um evento endotérmico em $2,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, os quais podem estar relacionados à temperatura de cristalização e de fusão dos compostos do óleo, respectivamente, conforme relatos de Oliveira et al. (2015a,b). No termograma do material de parede referente à AOI (Fig.2, A), foram observados eventos exotérmicos em $16,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $224,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, e eventos endotérmicos em $-21,7\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-18,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $7,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, $80,9\text{ }^{\circ}\text{C}$, $100,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, $174,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $224,4\text{ }^{\circ}\text{C}$. No material de parede PEI (Fig.2, B) não foram observados eventos exotérmicos, e os eventos endotérmicos ocorreram a $81,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $163,9\text{ }^{\circ}\text{C}$. No termograma de PSI (Fig.2, C), o evento exotérmico foi à $20,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ e os eventos endotérmicos à $157,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $217,8\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Possivelmente os diversos eventos observados sejam decorrentes da associação dos eventos endotérmicos da inulina, os quais foram relatados como serem decorrentes da fusão e da desidratação em temperaturas acima de $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ (BEIRÃO-DA-COSTA et al., 2013), e ainda àqueles relacionados as proteínas, como eventos endotérmicos relativos a desnaturação na faixa de temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (CAVALCANTI et al., 2010; YUAN et al., 2014), a desidratação em $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a fusão da fração cristalina em temperaturas superiores a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ (YANG et al., 2015). As proteínas podem exibir mecanismos de desnaturação complexos envolvendo vários estados intermediários (CASIMIRO et al., 2006). Eventos exotérmicos observados nos termogramas podem estar relacionados com a cristalização e com reações de decomposição das proteínas e/ou da inulina (IONASHIRO et al., 2005). Cabe ressaltar que os concentrados proteicos apresentam em sua composição outros compostos, como por exemplo carboidratos e lipídeos, que podem ter influenciado no comportamento observado.

No termograma da micropartícula AOI (Fig.2, A), ocorreram eventos exotérmicos à $14,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $75,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ e eventos endotérmicos à $-22,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-17,8\text{ }^{\circ}\text{C}$, $151,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $223,0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Na micropartícula PEI (Fig.2, B), ocorreu o surgimento de eventos exotérmicos à $-18,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-5,8\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-1,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $89,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, e os eventos endotérmicos foram observados em $-10,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $56,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, $99,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $185,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Na micropartícula PSI (Fig.2, C), foram observados eventos exotérmicos em $-23,3\text{ }^{\circ}\text{C}$, $3,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, $21,8\text{ }^{\circ}\text{C}$, $204,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e um evento endotérmico à $211,6\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Nos termogramas das micropartículas, observou-se ausência dos picos exotérmicos e endotérmicos referentes ao óleo de palma, confirmando a sua encapsulação, sendo condizente com o encontrado em outros estudos (NORI et al.,

2011; SOUZA et al., 2015; RUTZ et al., 2016). Dependendo do material de parede observou-se ausência e deslocamento de picos nos termogramas das micropartículas, quando comparados com os termogramas de seus materiais de parede, sugerindo uma mudança no comportamento dos materiais ao interagir com o óleo de palma na formação das micropartículas.

4.4.5 Estudo da estabilidade

Na Tabela 2 estão expostos os resultados de estabilidade na presença e ausência de luz, dos carotenoides do óleo de palma microencapsulado com os diferentes materiais de parede em cada tempo de armazenamento.

Tabela 2 – Percentual de carotenoides presentes no óleo de palma microencapsulado com ovoalbumina/inulina, proteína de ervilha/inulina e proteína isolada de soja/inulina, armazenados a 24,0 °C na presença e ausência de luminosidade, por 42 dias

Micropartículas	Tempo (dias)					
	Presença de luz					
	7	14	21	28	35	42
AO/I	80,9 ± 0,17 Ba	81,3 ± 1,09 Ba	69,7 ± 0,46 Bb	70,0 ± 0,81 Bb	69,0 ± 0,62 Ba	65,9 ± 0,21 Ba
PE/I	68,9 ± 0,72 Cb	44,1 ± 0,67 Cb	42,5 ± 0,47 Cb	38,4 ± 0,31 Cb	37,9 ± 0,50 Cb	33,0 ± 0,37 Cb
PS/I	92,3 ± 0,47 Ab	90,0 ± 0,85 Ab	83,1 ± 0,24 Ab	82,5 ± 0,35 Ab	79,8 ± 0,52 Ab	76,3 ± 0,67 Ab
Micropartículas	Ausência de luz					
	7	14	21	28	35	42
	AO/I	78,6 ± 0,12 Cb	79,3 ± 0,14 Cb	75,9 ± 0,46 Ca	76,7 ± 0,16 Ca	68,2 ± 0,62 Ba
PE/I	83,2 ± 0,25 Ba	82,1 ± 0,59 Ba	83,0 ± 0,92 Ba	79,8 ± 0,29 Ba	49,3 ± 0,01 Ca	47,9 ± 0,67 Ca
PS/I	94,3 ± 0,47 Aa	94,0 ± 0,68 Aa	93,3 ± 0,02 Aa	89,8 ± 0,08 Aa	87,2 ± 0,27 Aa	82,8 ± 0,40 Aa

AO/I: ovoalbumina/inulina; PE/I: proteína de ervilha/inulina; PS/I: proteína isolada de soja/inulina. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste LSD ($p < 0,05$), avaliando o mesmo material de parede na presença e ausência de luz. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$), avaliando os materiais de parede em cada condição de armazenamento.

Pode-se observar uma degradação significativa dos carotenoides encapsulados nas matrizes proteicas de ervilha/inulina e de proteína isolada de soja/inulina quando as micropartículas foram expostas a luz, independente do período avaliado. Com a utilização da ovoalbumina/inulina nas micropartículas, os resultados foram dependentes do tempo de avaliação. Entretanto, o percentual de retenção dos carotenoides foi distinto entre as micropartículas com os diferentes materiais de parede.

As micropartículas de proteína de soja/inulina proporcionaram estabilidade dos carotenoides significativamente superior em relação as demais, tanto na presença quanto na ausência de luz, com percentuais superiores a 75,0%, seguidas das micropartículas de ovoalbumina/inulina, que em presença de luz, apresentaram retenção dos carotenoides acima de 65,0%, em todos os períodos avaliados. As micropartículas com proteína de ervilha/inulina demonstraram-se pouco eficazes na proteção dos carotenoides na presença de luz, sendo que na ausência de luminosidade, estas micropartículas exibiram maior retenção dos carotenoides até os 28 dias de armazenamento, quando comparadas às micropartículas de ovoalbumina/inulina.

Independente do material de parede e das condições de armazenamento, a degradação dos carotenoides do óleo de palma, iniciou nos primeiros 7 dias, o que pode ser melhor visualizado pela Figura 3.

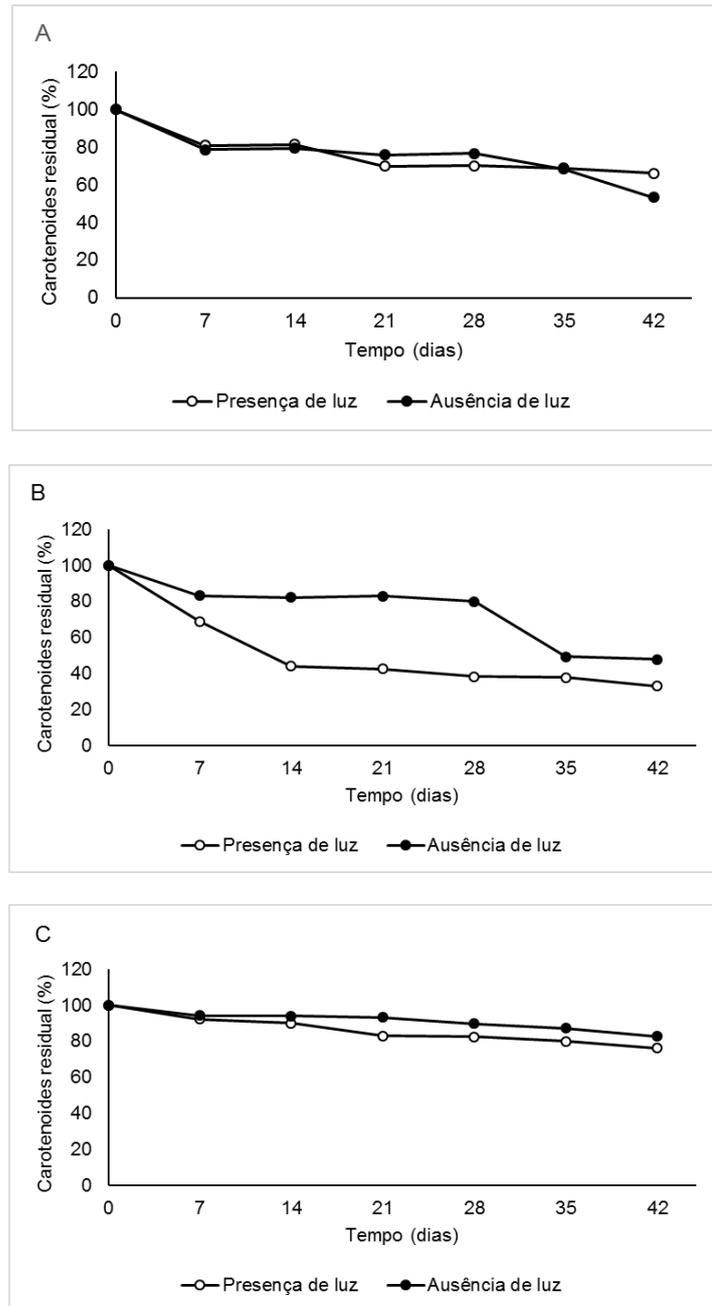


Figura 3 – Carotenoides presentes no óleo de palma microencapsulado com: (A) ovoalbumina/inulina; (B) proteína de ervilha/inulina; (C) proteína isolada de soja/inulina, durante o armazenamento a 24,0 °C na presença e na ausência de luminosidade por 42 dias.

As micropartículas de ovoalbumina/inulina (Fig.3; A), quando armazenadas em presença e na ausência de luz, proporcionaram uma retenção de 80,0% dos carotenoides presentes no óleo de palma durante os primeiros 14 dias de armazenamento, a partir do qual, na presença de luz, observou-se uma degradação dos carotenoides que se manteve constante até os 42 dias, obtendo-se um residual

de 65,9%. No entanto, na ausência de luz houve redução gradual desses compostos a partir dos 28 dias, observando-se um residual de 53,2% ao final do armazenamento.

Em relação às micropartículas de proteína de ervilha/inulina (Fig.3; B) foi possível observar que a exposição a luz propiciou uma elevada degradação dos carotenoides até os 14 dias, obtendo-se residual de 44,1% de carotenoides neste período, e de apenas 33,0% ao final do armazenamento. Quando na ausência de luz, essas micropartículas proporcionaram elevada retenção dos carotenoides até os 28 dias (79,8%), a partir do qual ocorreu uma degradação contínua, observando-se percentual final de 47,9%. Os carotenoides microencapsulados com proteína isolada de soja/inulina (Fig.3; C), mantiveram-se estáveis na ausência de luz até a terceira semana de armazenamento, a partir da qual ocorreu rápida degradação, com retenção de 82,8% ao término do armazenamento. Em presença de luz, obteve-se retenção de 90,0% dos carotenoides aos 14 dias de armazenamento, seguido de uma degradação, com retenção final de 76,3%.

Spada et al. (2012), observaram comportamento semelhante, ao avaliar a estabilidade de β -caroteno microencapsulado com amido de pinhão, por liofilização. De acordo com os resultados, as amostras armazenadas sob luminosidade apresentaram maior degradação de β -caroteno do que as micropartículas armazenadas na ausência de luz. Além disso, os autores observaram baixas taxas de retenção durante o armazenamento na presença e ausência de luminosidade, possivelmente, devido à falta de emulsificação e baixa capacidade de formação de uma película deste material de parede. Matioli; Rodriguez-Amaya (2003) também observaram degradação dos carotenoides sob efeito da luz. Esses autores encapsularam licopeno com goma arábica/maltodextrina por liofilização, e relataram que ocorreu 50,0% de degradação do licopeno em 13 e 10 dias para as micropartículas armazenadas na ausência e na presença de luminosidade à temperatura ambiente, respectivamente. Esses valores foram inferiores aos obtidos no presente estudo, evidenciando a maior capacidade das micropartículas de proteínas/inulina em manter a estabilidade de carotenoides.

Na Tabela 3 pode-se visualizar os dados referentes a estabilidade dos carotenoides do óleo de palma microencapsulado com ovoalbumina/inulina, proteína de ervilha/inulina e proteína isolada de soja/inulina, armazenados a 4,0 °C, 24,0°C e 60,0 °C, por 42 dias.

Tabela 3 - Percentual de carotenoides presentes no óleo de palma microencapsulado com ovoalbumina/inulina, proteína de ervilha/inulina e proteína isolada de soja/inulina, armazenados a 4,0 °C, 24,0 °C e 60,0 °C, por 42 dias.

Micropartículas	Tempo (dias)					
	4,0 °C					
	7	14	21	28	35	42
AO/I	82,3 ± 0,96 Ba	81,6 ± 0,23 Ba	81,9 ± 0,41 Ba	81,7 ± 0,11 Ba	79,8 ± 0,30 Ba	80,7 ± 0,23 Ba
PE/I	83,9 ± 0,20 Ba	81,5 ± 0,93 Ba	81,7 ± 0,38 Ba	81,0 ± 0,26 Ba	54,9 ± 0,82 Ca	51,8 ± 0,28 Ca
PS/I	95,2 ± 0,49 Aa	94,9 ± 0,71 Aa	94,4 ± 0,75 Aa	94,7 ± 0,07 Aa	93,9 ± 1,19 Aa	93,7 ± 0,50 Aa
	24,0 °C					
	7	14	21	28	35	42
	AO/I	78,6 ± 0,12 Cb	79,2 ± 0,14 Cb	75,9 ± 0,46 Cb	76,7 ± 0,16 Cb	68,2 ± 0,62 Bb
PE/I	83,2 ± 0,25 Ba	82,1 ± 0,59 Ba	83,0 ± 0,92 Ba	79,8 ± 0,29 Bb	49,3 ± 0,01 Cb	47,9 ± 0,67 Cb
PS/I	94,3 ± 0,47 Aa	94,0 ± 0,68 Aa	93,3 ± 0,02 Aa	89,8 ± 0,08 Ab	87,2 ± 0,27 Ab	82,8 ± 0,40 Ab
	60,0 °C					
	7	14	21	28	35	42
	AO/I	46,0 ± 0,22 Bc	20,7 ± 0,58 Cc	21,0 ± 0,41 Cc	16,9 ± 0,46 Cc	8,5 ± 0,21 Cc
PE/I	35,7 ± 0,41 Cb	34,8 ± 0,37 Ab	25,6 ± 0,39 Ab	25,2 ± 0,78 Ac	10,0 ± 0,05 Ac	0,0 ± 0,0 Ac
PS/I	55,0 ± 0,75 Ab	27,4 ± 0,13 Bb	23,0 ± 0,48 Bb	22,3 ± 0,51 Bc	9,3 ± 0,17 Ac	0,0 ± 0,0 Ac

AO/I: ovoalbumina/inulina; PE/I: proteína de ervilha/inulina; PS/I: proteína isolada de soja/inulina. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$), avaliando o mesmo material de parede em diferentes temperaturas de armazenamento. Médias seguidas por letras diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$), avaliando os diferentes materiais de parede em cada condição de armazenamento.

De uma forma geral, independente do material de parede utilizado, obteve-se uma preservação significativa dos carotenoides encapsulados e submetidos, a 4,0 °C e uma degradação significativa nas micropartículas submetidas a 60,0 °C. Nas micropartículas submetidas à temperatura de 24,0 °C, o comportamento foi dependente do material de parede.

Quando armazenadas a 4,0 °C e a 24,0 °C, todas as micropartículas demonstraram elevada capacidade de proteção dos carotenoides até os 42 dias de armazenamento, sendo que as micropartículas de proteína isolada de soja/inulina apresentaram percentuais de retenção significativamente superiores (90,0%, enquanto que nas duas últimas semanas de armazenamento apenas as micropartículas de proteína de ervilha/inulina apresentaram valores de retenção inferiores a 55,0%, em ambas temperaturas de estocagem.

Os materiais de parede avaliados não proporcionaram proteção aos carotenoides encapsulados e armazenados à 60,0 °C. Um pequeno percentual de retenção de carotenoides foi observado aos 7 dias de armazenamento, sendo que as micropartículas de proteína de soja/inulina apresentaram a maior retenção. Nos demais períodos de armazenamento, as micropartículas de proteína de ervilha/inulina conferiram maior retenção de carotenoides. No entanto, ao final do período de estocagem foram observados percentuais de retenção inferiores a 35,0%, para todas as micropartículas, ficando evidente a baixa capacidade desses materiais de parede em proteger os carotenoides à temperatura de 60,0 °C.

Na Figura 4 podem ser visualizados os resultados de estabilidade dos carotenoides presentes no óleo de palma microencapsulado, obtidos durante o armazenamento à 4,0 °C, 24,0 °C e 60 °C, pelo período de 42 dias.

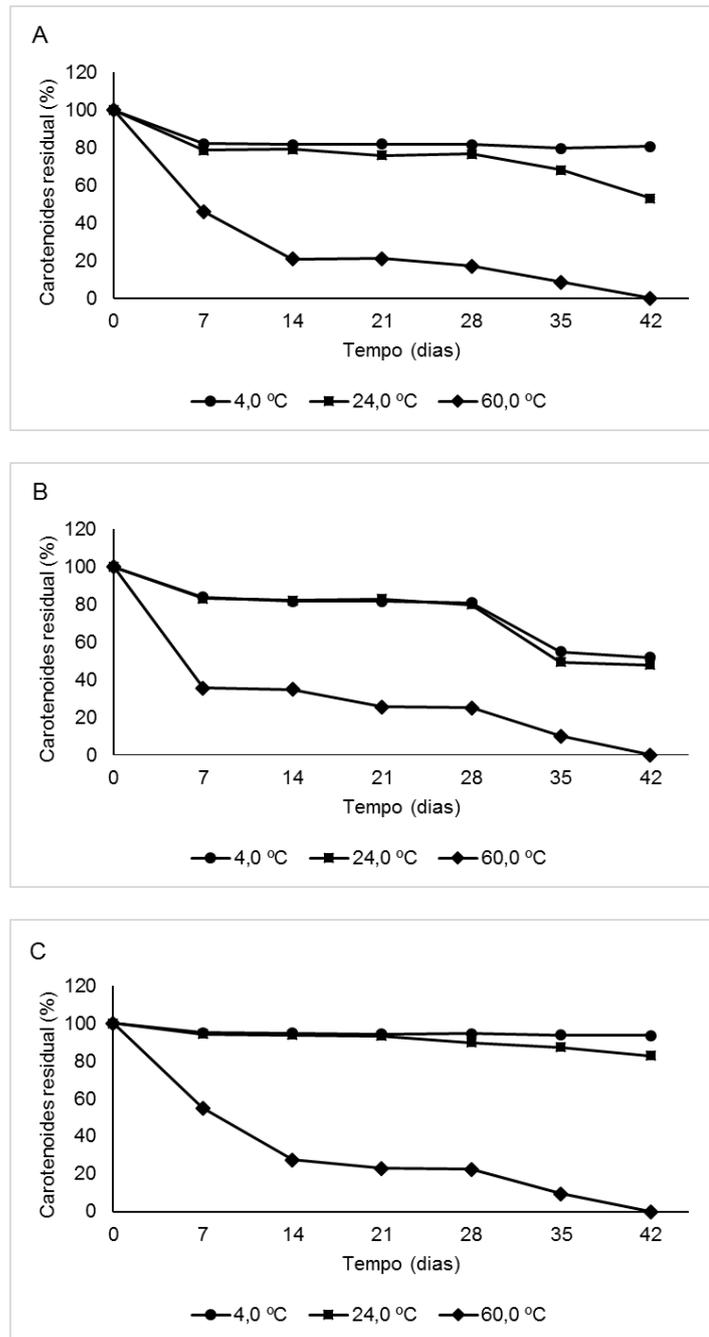


Figura 4 – Carotenoides presentes no óleo de palma microencapsulado com: (A) ovoalbumina/inulina; (B) proteína de ervilha/inulina; (C) proteína isolada de soja/inulina, após armazenamento a 4,0 °C, 24,0 °C e 60,0 °C, por 42 dias.

De uma forma geral, ocorreu uma degradação significativa dos carotenoides ao longo do período de armazenamento, independente do material de parede e da temperatura aplicada, assim como o relatado por outros autores (ROCHA-SELMÍ; FAVARO-TRINDADE; GROSSO, 2013; COSTA et al., 2015; BUSTAMANTE et al.,

2016; GOMEZ-ESTACA et al., 2016) ao avaliar a estabilidade de compostos lipofílicos utilizando diferentes materiais de parede e temperaturas de armazenamento.

Os carotenoides microencapsulados com ovoalbumina/inulina (Fig.4; A) mantiveram-se estáveis após os 7 dias de armazenamento a 4,0 °C, apresentando retenção de 80,7% aos 42 dias. Quando essas micropartículas foram armazenadas a 24,0 °C, ocorreu uma degradação dos carotenoides a partir dos 28 dias de armazenamento, com retenção de 53,2% ao término da estocagem. A 60,0 °C pode-se observar elevada degradação dos carotenoides, que foi mais acentuada na primeira semana de armazenamento e continuou de forma gradual até os 42 dias.

As micropartículas de proteína de ervilha/inulina, aos 7 dias de armazenamento demonstraram uma retenção de carotenoides de 83,9% e 83,2%, quando expostas a 4,0 °C e 24,0 °C, respectivamente. Estes percentuais mantiveram-se estáveis até os 28 dias, a partir dos quais foi observada uma degradação mais acentuada, atingindo uma retenção de 51,8% (4,0 °C) e de 47,9% (24,0 °C) no período final de armazenamento. Ao serem armazenadas a 60,0 °C, as micropartículas de proteína de ervilha/inulina propiciaram intensa degradação dos carotenoides nos primeiros 7 dias (35,7%), que continuou a ocorrer até o término do período de armazenamento.

Quando microencapsulados com proteína isolada de soja/inulina, os carotenoides do óleo de palma apresentaram elevada estabilidade a 4,0 °C durante os 42 dias de estocagem, com percentuais de retenção acima de 93,0%. O mesmo foi observado até os 28 dias quando estas micropartículas foram submetidas a 24,0 °C, obtendo-se 82,8% de retenção no final do armazenamento. Ao serem expostos a temperatura de 60,0 °C, os carotenoides microencapsulados com proteína isolada de soja/inulina apresentaram uma degradação acentuada até os 14 dias iniciais de estocagem, mantendo-se estáveis até a quarta semana, e a partir da qual observou-se uma degradação gradativa. Todas as micropartículas submetidas a 60,0 °C apresentaram uma degradação de 100,0% dos carotenoides aos 42 dias de armazenamento.

Assim como no presente estudo, Jain et al. (2015) observaram maior retenção de carotenoides na temperatura ambiente e de refrigeração, em relação a temperatura mais elevada, ao encapsular β -caroteno com proteína isolada do soro do leite/goma de acácia. As micropartículas armazenadas a 40,0 °C demonstraram menor teor residual quando comparadas com as micropartículas armazenadas à 5,0 °C e 25,0 °C, durante 3 meses de armazenamento. Entretanto, esses autores observaram que a

40,0 °C os percentuais de retenção de β -caroteno foram em torno de 50,0%, ao final do armazenamento. Rocha-Selmi; Favaro-Trindade; Grosso (2013), ao avaliarem a estabilidade do licopeno microencapsulado com gelatina/goma arábica, também relataram que a retenção dos carotenoides foi diretamente influenciada pela temperatura de armazenamento, sendo obtidos maiores percentuais a 10,0 °C (em média 75,1%) do que a 25,0 °C (em média 63,1%).

Yuting et al. (2017), em estudo de estabilidade do β -caroteno encapsulado com proteína isolada do soro de leite/dextrana conjugada, com diferentes pesos moleculares, observaram diminuição na retenção de β -caroteno ao longo de 30 dias de armazenamento, tanto a 25,0 °C quanto a 50,0 °C. A temperatura elevada acelerou gradualmente a degradação do β -caroteno, em comparação com a retenção a 25,0 °C, sendo obtido em média 76,3% de retenção, em temperatura ambiente, e variações de 30,0 a 40,0% a 50,0 °C, ao final do armazenamento. Yi et al. (2014) avaliaram a capacidade de retenção de β -caroteno utilizando proteína isolada de soja como material de parede e relataram uma degradação gradativa à medida que avançou o armazenamento à 25,0 °C. No término dos 30 dias obtiveram 41,8% de retenção do β -caroteno. Este percentual de retenção foi inferior ao obtido no presente estudo, sugerindo que a associação da proteína isolada de soja com inulina, pode favorecer a estabilização da micropartícula e, conseqüentemente, a maior retenção de carotenoides.

4.5 Conclusão

A utilização de proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas à inulina, demonstraram-se eficientes para a microencapsulação de óleo de palma, sendo que as maiores eficiências foram obtidas para as micropartículas de proteína de ervilha/inulina e proteína isolada de soja/inulina. Independente do material de parede, todas as micropartículas apresentaram superfície lisa, sem fissuras, sendo possível confirmar a encapsulação do óleo pelos termogramas de DSC. As micropartículas de proteína isolada de soja/inulina proporcionaram maior estabilidade aos carotenoides do óleo de palma encapsulado, armazenadas por 42 dias, tanto na presença quanto na ausência de luz, como também à 4,0 °C e 24 °C. A 60,0 °C, todas as micropartículas, independente do material de parede, apresentaram baixa capacidade de retenção dos carotenoides.

4.6. Referências

ACHIR, N.; RANDRIANATOANDRO, V. A.; BOHUON, P.; LAFFARGUE, A.; AVALLONE, S. Kinetic study of b-carotene and lutein degradation in oils during heat treatment. **European Journal of Lipid Science and Technology**, n.112, p.349–361, 2010.

AVRAMENKO, N. A.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate. **Food Research International**, v.51, p.162–169, 2013.

BEIRÃO-DA-COSTA, S.; DUARTE, C.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; JANUÁRIO, M. I. N.; VICENTE, A. A.; BEIRÃO-DA-COSTA, M. L.; DELGADILLO, I. Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of oregano essential oil. **Food Hydrocolloids**, v.33, p.199-206, 2013.

BUSTAMANTE, A.; MASSON, L.; VELASCO, J.; VALLE, J. M.; ROBERT, P. Microencapsulation of *H. pluvialis* oleoresins with different fatty acid composition: kinetic stability of astaxanthin and alpha-tocopherol. **Food Chemistry**, v.190, p.1013-1021, 2016.

CASIMIRO, M. H.; LEAL, J. P.; GIL, M. H.; CASTRO, C. A. N. Análise calorimétrica aplicada a polímeros biológicos. Parte II: Exemplos de aplicações práticas. **Química**, v.100, 2006.

CAVALCANTI, M. T.; BORA, P. S.; FLORÊNCIO, I. M.; FLORENTINO, E. R.; SILVA, F. L. H. Avaliação da estabilidade térmica das proteínas das amêndoas da faveleira (*Cnidoscylus phyllacanthus* (Mart) Pax. Et k. Hoffm). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, n.1, p.37-43, 2010.

CHRANIOTI, C.; CHANIOTI, S.; TZIA, C. Comparison of spray, freeze and oven drying as a means of reducing bitter aftertaste of steviol glycosides (derived from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant) – Evaluation of the final products. **Food Chemistry**, v.190, p.1151–1158, 2016.

CORLEY, R. H. V.; TINKER, P. B. **La palma de aceite**, Londres: Blackwell, World Agriculture Series, 4ed., 2009, 604p.

CORONEL-AGUILERA, C. P.; MARTÍN-GONZALEZ, M. F. S. Encapsulation of spray dried b-carotene emulsion by fluidized bed coating technology. **LWT Food Science and Technology**, v.62, p.187-193, 2015.

COSTA, A.M. M.; NUNES, J. C.; LIMA, B.N. B.; PEDROSA, C.; CALADO, V.; TORRES, A. G.; PIERUCCI, A. P. T. R. Effective stabilization of CLA by microencapsulation in pea protein. **Food Chemistry**, v.168, p.157–166, 2015.

CUJIC, N.; TRIFKOVIC, K.; BUGARSKI, B.; IBRIC, S.; PLJEVLJAKUSIC, D.; SAVIKIN, K. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) extract loaded in alginate and alginate/inulin system. **Industrial Crops and Products**, v.86, p.120–131, 2016.

CURVELO, F. M.; ALMEIDA, D. T.; NUNES, I.L.; FEITOSA, S. Qualidade do óleo de palma bruto (*Elaeis guineensis*): matéria-prima para fritura de acarajés. The quality of crude palm oil (*Elaeis guineensis*): raw material for deep-frying acarajés. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.4, p.641-646, 2011.

DEVI, N.; SARMAH, M.; KHATUN, B.; MAJI, T. K. Encapsulation of active ingredients in polysaccharide–protein complex coacervates. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.239, p.136-145, 2017.

FERNANDES, R. V. B.; MARQUES, G. R.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Effect of solids content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil. **Industrial Crops and Products**, n.58, p.173–181, 2014.

FERNANDES, R. V. R.; BOTREL, D. A.; SILVA, E. K.; BORGES, S. V.; OLIVEIRA, C. R.; YOSHIDA, M. I.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, R. C. M. Cashew gum and inulin: New alternative for ginger essential oil microencapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v.153, p.133–142, 2016.

GOMEZ-ESTACA, J.; COMUNIAN, T. A.; MONTERO, P.; FERRO-FURTADO, R.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatine-cashew gum complex. **Food Hydrocolloids**, v.61, p.155-162, 2016.

GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.51, p.76-87, 2016.

GUNSTONE, F. D.; LIN, S. W. **Palm oil**. In *Vegetable oils in food technology: composition, properties and use*. Iowa: Blackwell Publishing, 2ed., 2011, p.59-93.

GUO-QING, H.; YAN-TING, S.; JUN-XIA, X.; JIAN, Y. Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. **Food Chemistry**, v.135, p.534–539, 2012.

IONASHIRO, M. **Giolito: Fundamentos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial**. São Paulo: Editora Giz Editorial. 2005. 96p.

JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O. P.; SHIVHARE, U. S. Microencapsulation by complex coacervation using whey protein isolates and gum acacia: an approach to preserve the functionality and controlled release of β -carotene. **Food and Bioprocess Technology**, v.8, p.1635–1644, 2015.

JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O. P.; SHIVHARE, U. S. Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.87, p.101–113, 2016.

KHOO, H. E.; PRASAD, K. N.; KONG, K. W.; JIANG, Y.; ISMAIL, A. Carotenoids and their isomers: Color pigments in fruits and vegetables. **Molecules**, n.16, v.2, p.1710–1738, 2011.

KRIVOROTOVA, T.; STANEVICIENE, R.; LUKSA, J.; SERVIENE, E.; SEREIKAITĖ, J. Preparation and characterization of nisin-loaded pectin-inulin particles as antimicrobials. **LWT Food Science and Technology**, v.72, p.518-524, 2016.

LACERDA, E. C. Q.; CALADO, V. M. A.; MONTEIRO, M.; FINOTELLI, P. V.; TORRES, A. G.; PERRONE, D. Starch, inulin and maltodextrin as encapsulating agents affect the quality and stability of jussara pulp microparticles. **Carbohydrate Polymers**, v.151, p.500–510, 2016.

LIU, J.; SHIM, Y. Y.; WANG, Y.; REANEY, M. J. T. Intermolecular interaction and complex coacervation between bovine serum albumin and gum from whole flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **Food Hydrocolloids**, v.49, p.95-103, 2015.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Licopeno encapsulado em goma arábica e maltodextrina: Estudo da estabilidade. Lycopene encapsulated with gum arabic and maltodextrin: Stability study. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.5, p.197–203, 2003.

MBA, O. I.; DUMONT, M. J.; NGADI, M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. **Food Bioscience**, v.10, p.26-41, 2015.

NAMITHA, K. K.; NEGI, P. S. Chemistry and biotechnology of carotenoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, n.50, v.8, p.728–760, 2010.

NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v.42, p.469–479, 2013.

NG, T. K. W.; LOW, C. X.; KONG, J. P.; CHO, Y. L. Use of red palm oil in local snacks can increase intake of provitamin A carotenoids in young aborigines children: A Malaysian experience. **Malaysian Journal of Nutrition**, v.18, n., p.393–397, 2012.

NISAR, N.; LI, L.; LU, S.; KHIN, N. C.; POGSON, B. J. Carotenoid metabolism in plants. **Molecular Plant**, v.8, p.68-82, 2015.

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

OLIVEIRA, G. M.; RIBEIRO, A. P. B.; SANTOS, A. O.; CARDOSO, L. P.; KIECKBUSCH, T. G. Hard fats as additives in palm oil and its relationships to crystallization process and polymorphism. **LWT Food Science and Technology**, v.63, p.1163-1170, 2015b.

OLIVEIRA, M. G.; RIBEIRO, A. P. B.; KIECKBUSCH, T. G. Hard fats improve technological properties of palm oil for applications in fat-based products. **LWT Food Science and Technology**, v.63, p.1155-1162, 2015a.

PATHAK, Y.; THASSU, D. **Drugs and the pharmaceutical sciences: Drug delivery nanoparticles formulation and characterization**. New York: Informa Healthcare USA, v. 191, 2009. 418p.

RAMALHO FILHO, A.; MOTTA, P. E. F. **Zoneamento agroecológico para a cultura da palma de óleo (dendzeiro) nas áreas desmatadas da Amazônia Legal**. In: Zoneamento agroecológico, produção e manejo da cultura de dendê na Amazônia. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2010. 216p.

RASCÓN, M. P.; BERISTAIN, C. I.; GARCÍA, H. S.; SALGADO, M. A. Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated páprica oleoresin using gum Arabic and Soy protein isolate as wall materials. **LWT Food Science and Technology**, v.44, n.2, p.549–557, 2011.

ROBERT, P.; TORRES, V.; GARCÍA, P.; VERGARA, C.; SAENZ, C. The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. **LWT Food Science and Technology**, v.60, p.1039-1045, 2015.

ROCHA-SELMÍ, G. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Morphology, stability, and application of lycopene microcapsules produced by complex coacervation. **Journal of Chemistry**, p.1-7, 2013.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods**. Washington DC: Usaid-Omni, 1997. 88p.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; ROSA, C. G.; SILVA, M. M. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, v.202, p.324–333, 2016.

SAÉNIZ, C.; TAPIA, S.; CHÁVEZ, J.; ROBERT, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v.114, p.616–622, 2009.

SAGIS, L. M. C. **Microencapsulation and microspheres for food applications**. London: Academic Press, 1ed., 2015.

SAIKIA S., MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L. Optimisation of phenolic extraction from *Averrhoa carambola* pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. **Food Chemistry**, v.171, p.144–152, 2015.

SANAGI, M. M.; SEE, H. H.; IBRAHIM, W. A. W.; NAIM, A. A. Determination of carotene, tocopherols and tocotrienols in residue oil from palm pressed fiber using pressurized liquid extraction-normal phase liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v.538, p.71–76, 2005.

SHAO, Y.; TANG, C. H. Gel-like pea protein Pickering emulsions at pH 3.0 as a potential intestine-targeted and sustained-release delivery system for β -carotene. **Food Research International**, v.79, p.64–72, 2016.

SHEIL, D.; CASSON, A.; MEIJAARD, E.; NOORDWIJK, M.; GASKELL, J.; SUNDERLAND-GROVES, J.; WERTZ, K.; KANNINEN, M. **The impacts and**

opportunities of oil palm in Southeast Asia: what do we know and what do we need to know? Occasional paper n.51, Bogor: CIFOR, Indonésia, 2009, 67p.

SILVA, E. K.; ZABOT, G. L.; BARGAS, M. A.; MEIRELES, M. A. A.
Microencapsulation of lipophilic bioactive compounds using prebiotic carbohydrates: Effect of the degree of inulin polymerization. **Carbohydrate Polymers**, v.152, p.775–783, 2016.

SOUZA, C. A. G.; SIQUEIRA, S. M. C.; AMORIMA, A. F. V.; MORAISA, S. M.; GONÇALVES, T.; GOMES, R. N.; CUNHA, A. P.; RICARDO, N. M. P. S.
Encapsulação do ácido l-ascórbico no biopolímero natural galactomanana por *spray-drying*: preparação, caracterização e atividade antioxidante. **Química Nova**, v.38, n.7, p.877-883, 2015.

SPADA, J. C.; NORENA, C. P. Z.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Study on the stability of β -carotene microencapsulated with pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch. **Carbohydrate Polymers**, v.89, p.1166–1173, 2012.

SRI, J. S.; SEETHADEVI, A.; PRABHA, K. S.; MUTHUPRASANNA, P.; PAVITRA, P.
Microencapsulation: A review. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, n.3, p.512–531, 2012.

SZYDLOWSKA-CZERNIAK, A.; TROKOWSKI, K.; KARLOVITS, G.; SZLYK, E Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils. **Food Chemistry**, v.129, p.1187–1192, 2011.

TARHINI, M.; GREIGE-GERGES, H.; ELAISSARI, A. Protein-based nanoparticles: From preparation to encapsulation of active molecules. **International Journal of Pharmaceutics**, v.522, n.1-2, p.172-197, 2017.

USDA. United States Department of Agriculture. Oilseeds: World markets and trade. 2016.

XU, M.; GAGNÉ-BOURQUE, F.; DUMONT, M. J.; JABAJI, S. Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 cells and evaluation of their survival after freeze-drying, storage and under gastrointestinal conditions. **Journal of Food Engineering**, v.168, p.52-59, 2016.

YANG, X.; GAO, N.; HUA, L.; LI, J.; SUN, Y. Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v.161, p.87–93, 2015.

YI, J.; LAM, T. I.; YOKOYAMA, W.; CHENG, L. W.; ZHONG, F. Cellular uptake of β -carotene from protein stabilized solid lipid nanoparticles prepared by homogenization–evaporation method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, n.5, p. 1096–1104, 2014.

YUTING, F.; JIANG, Y.; YUZHU, Z.; ZHEN, W.; LIQING, Z. Physicochemical stability and in vitro bioaccessibility of b-carotene nanoemulsions stabilized with whey protein-dextran conjugates. **Food Hydrocolloids**, v.63, p.256-264, 2017.

ZABOT, G. L.; SILVA, E. K.; AZEVEDO, V.M.; MEIRELES, M. A. A. Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds. **Food Research International**, v.85, p.26–35, 2016.

5 Considerações finais

Foi possível microencapsular óleo de palma pela técnica de emulsão-liofilização, obtendo-se maior eficiência de encapsulação para as micropartículas de proteína de ervilha e proteína isolada de soja, associadas tanto com quitosana quanto com inulina. Independente do material de parede, foram obtidas micropartículas de formato irregular, com superfície lisa e sem fissuras, sendo a encapsulação dos carotenoides confirmada pela técnica de DSC.

No primeiro estudo, o perfil de liberação dos carotenoides foi dependente da composição do material de parede e da matriz alimentar, na qual as micropartículas foram aplicadas, sendo que as micropartículas de albumina bovina/quitosana e proteína de arroz/quitosana, aplicadas ao pudim convencional, apresentaram perfil de liberação controlado e adequado nas condições, gástrica ou intestinal, simuladas. No entanto, não foi obtido perfil de liberação adequado com qualquer das micropartículas testadas, quando essas foram aplicadas ao pudim instantâneo.

No segundo estudo, as micropartículas de proteína isolada de soja/inulina propiciaram maior estabilidade aos carotenoides do óleo de palma, quando armazenadas por 42 dias, tanto na presença quanto na ausência de luz, assim como quando submetidas às temperaturas de 4,0 °C e 24 °C. Entretanto, quando submetidas a 60,0 °C, todas as micropartículas, independente do material de parede, apresentaram baixa capacidade de retenção dos carotenoides.

6 Referências

ACHIR, N.; RANDRIANATOANDRO, V. A.; BOHUON, P.; LAFFARGUE, A.; AVALLONE, S. Kinetic study of b-carotene and lutein degradation in oils during heat treatment. **European Journal of Lipid Science and Technology**, n.112, p.349–361, 2010.

AGNIHOTRI, N.; MISHRA, R.; GODA, C.; ARORA, M. Microencapsulation e a novel approach in drug Delivery: A review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.2, n.1, p.1-20, 2012.

AGUIAR, B. N. J.; ESTEVINHO, L. S. Microencapsulation of natural antioxidants for food application and the specific case of coffee antioxidants e A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.58, p.21-39, 2016.

ALVES, G. Óleoquímica: para entender o mercado atual de óleos láuricos. Disponível em <<http://www.quimica.com.br/oleoquimica-para-entender-o-mercado-atual-de-oleos-lauricos/>>. Acessado em: 20 out 2016.

ALVES, S. A. O.; LEMOS, O. F.; SANTOS, F. B. G.; SILVA, A. L. *In vitro* embryo rescue of interespecifics hybrids of oil palm (*Elaeis guineensis* x *Elaeis oleifera*). **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.2, p.1-7, 2011.

ALVIM, I. D.; GROSSO, C. R. F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type ofreticulation and the drying process on the release of the core material Micropartículas produzidas por coacervação complexa: influência do tipo de reticulação e do processo de secagem na liberação do material de recheio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.4, p.1069-1076, 2010.

AN-CHEOL, L.; YOUN-HO, H. Coacervate formation of a-lactalbumin–chitosan and b-lactoglobulin–chitosan complexes. **Food Research International**, v.42, p.733–738, 2009.

AUGUSTIN, M. A.; SANGUANSRI, L. Challenges and solutions to incorporation of nutraceuticals in foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v.6, p.1-15, 2014.

AVRAMENKO, N. A.; CHANG, C., LOW, N. H., NICKERSON, M. T. Encapsulation of flaxseed oil within native and modified lentil protein-based microcapsules. **Food Research International**, v.81, p.17–24, 2016.

AVRAMENKO, N. A.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate. **Food Research International**, v.51, p.162–169, 2013.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.16, n.1, p.89-97, 2005.

BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques and applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.15, p.143-182, 2016.

BARCLAY, T.; GINIC-MARKOVIC, M.; COOPER, P.; PETROVSKY, N. Inulin - A versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, v.1, n.3, 2010.

BEIRÃO-DA-COSTA, S.; DUARTE, C.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; JANUÁRIO, M. I. N.; VICENTE, A. A.; BEIRÃO-DA-COSTA, M. L.; DELGADILLO, I. Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of oregano essential oil. **Food Hydrocolloids**, v.33, p.199-206, 2013.

BENAVIDES, M.; FERNÁNDEZ-LODEIRO, J.; COELHO, P.; LODEIRO, C.; DINIZ, M. S. Single and combined effects of aluminum (Al₂O₃) and zinc (ZnO) oxide nanoparticles in a freshwater fish, *Carassius auratus*. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, n.24, p.24578-24591, 2016.

BORCHANI, C.; BESBES, S.; MASMOUDI, M.; BLECKER, C.; PAQUOT, M.; ATTIA, H. Effect of drying methods on physico-chemical and antioxidant properties of date fibre concentrates. **Food Chemistry**, v.125, n.4, p.1194–1201, 2011.

BORGES, A. J.; COLLICCHIO, E.; CAMPOS, G. A. A cultura da palma de óleo (*Elaeis guineenses* Jacq.) no Brasil e no mundo: aspectos agronômicos e tecnológicos - uma revisão. **Revista Liberato**, v.17, n.27, p.01-118, 2016.

BOTREL, D. A.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V.; YOSHIDA, M. I. Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. **Food Research International**, v.62, p.344–352, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico sobre a

ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, de 22 de setembro de 2005.

BURGOS-DÍAZ, C.; WANDERSLEBEN, T.; MARQUÉS, A. M.; RUBILAR, M. Multilayer emulsions stabilized by vegetable proteins and polysaccharides. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.25, p.51–57, 2016.

BUROVA, T. V.; GRINBERG, N. V.; GOLUBEVA, I. A.; MASHKEVICH, A. Y.; GRINBERG, V.Y.; TOLSTOGUZOV, V. B. Flavour release in model bovine serumalbumin/pectin/2-octanone systems. **Food Hydrocolloids**, v. 13, n.1, p. 7–14, 1999.

BUSTAMANTE, A.; MASSON, L.; VELASCO, J.; VALLE, J. M.; ROBERT, P. Microencapsulation of H. pluvialis oleoresins with different fatty acid composition: kinetic stability of astaxanthin and alpha-tocopherol. **Food Chemistry**, v.190, p.1013-1021, 2016.

ÇAM, M.; IÇYER, N. C.; ERDOGAN, F. Pomegranate peel phenolics: microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT Food Science and Technology**, v. 55, p.117–123, 2014.

CARVALHO, A. R. V.; BALDANI, V. L.D.; REIS, V.M.; **O dendê (*Elaeis guineenses* Jacq.)**. Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, n.138, 2001. 25p.

CASIMIRO, M. H.; LEAL, J. P.; GIL, M. H.; CASTRO, C. A. N. Análise calorimétrica aplicada a polímeros biológicos. Parte II: Exemplos de aplicações práticas. **Química**, v.100, 2006.

CAVALCANTI, M. T.; BORA, P. S.; FLORÊNCIO, I. M.; FLORENTINO, E. R.; SILVA, F. L. H. Avaliação da estabilidade térmica das proteínas das amêndoas da faveleira (*Cnidoscopus phyllacanthus* (Mart) Pax. Et k. Hoffm). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, n.1, p.37-43, 2010.

CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems - An overview. **Food Research International**, v.44, n.2, p.499–509, 2011.

CHAMPAGNE, C. P.; FUSTIER, P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Food biotechnology**, v.18, p.184–190, 2007.

CHANDI, G. K.; SOGI, D. S. Functional properties of rice bran protein concentrates. **Journal of Food Engineering**, v.79, p.592–597, 2007.

CHANG, P. G.; GUPTA, R.; TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, B. Optimisation of the complex coacervation between canola protein isolate and chitosan. **Journal of Food Engineering**, v.191, p.58-66, 2016.

CHAO, P.; SU-QING, Z.; JUN, Z.; GUI-YING, H.; LAN-YING, C.; FENG-YI, Z. Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed essential oil by complex coacervation. **Food Chemistry**, v.165, p.560–568, 2014.

CHRANIOTI, C.; CHANIOTI, S.; TZIA, C. Comparison of spray, freeze and oven drying as a means of reducing bitter aftertaste of steviol glycosides (derived from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant) – Evaluation of the final products. **Food Chemistry**, v.190, p.1151–1158, 2016.

CORLEY, R. H. V.; TINKER, P. B. **La palma de aceite**, Londres: Blackwell, World Agriculture Series, 4ed., 2009, 604p.

CORONEL-AGUILERA, C. P.; MARTÍN-GONZALEZ, M. F. S. Encapsulation of spray dried b-carotene emulsion by fluidized bed coating technology. **LWT Food Science and Technology**, v.62, p.187-193, 2015.

COSTA, A.M. M.; NUNES, J. C.; LIMA, B.N. B.; PEDROSA, C.; CALADO, V.; TORRES, A. G.; PIERUCCI, A. P. T. R. Effective stabilization of CLA by microencapsulation in pea protein. **Food Chemistry**, v.168, p.157–166, 2015.

CROGUENNEC, T.; TAVARES, G. M.; BOUHALLA, S. Heteroprotein complex coacervation: A generic process. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.239, p.115-126, 2016.

CUJIC, N.; TRIFKOVIC, K.; BUGARSKI, B.; IBRIC, S.; PLJEVLJAKUSIC, D.; SAVIKIN, K. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) extract loaded in alginate and alginate/inulin system. **Industrial Crops and Products**, v.86, p.120–131, 2016.

CURVELO, F. M.; ALMEIDA, D. T.; NUNES, I.L.; FEITOSA, S. Qualidade do óleo de palma bruto (*Elaeis guineensis*): matéria-prima para fritura de acarajés. The quality of crude palm oil (*Elaeis guineensis*): raw material for deep-frying acarajés. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.4, p.641-646, 2011.

DAVIDOV-PARDO, G.; MORENO, M.; AROZARENA, I.; MARÍN-ARROYO, M. R.; BLEIBAUM, R. N.; BRUHN, C. M. Sensory and consumer perception of the addition of grape seed extracts in cookies. **Journal of Food Science**, v. 77, p.430–438, 2012.

DERBYSHIRE, E.; WRIGHT, D., J.; BOULTER, D. Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds. **Phytochemistry**, v.15, n.1, p.3-24, 1976.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v.23, n.7, p.1361-1394, 2005.

DEVI, N.; SARMAH, M.; KHATUN, B.; MAJI, T. K. Encapsulation of active ingredients in polysaccharide–protein complex coacervates. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.239, p136-145, 2017.

DORDEVIC, V.; BALANC, B.; BELSCAK-CVITANOVIC, A.; LEVIC, S.; TRIFKOVIC, K.; KALUSEVIC, A.; KOSTIC, I.; KOMES, D.; BUGARSKI, B.; NEDOVIC, V. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. **Food Engineering Reviews**, v.7, p.452–490, 2015.

DUBEY, R.; SHAMI, T.C.; RAO, K. U. B. Microencapsulation technology and application. **Defence Science Journal**, v.59, p.82–95, 2009.

ELMER, C.; KARACA, A. C.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. Complex coacervation in pea protein isolate–chitosan mixtures. **Food Research International**, v.44, p. 1441–1446, 2011.

ELTAYEB, M.; STRIDE, E.; EDIRISINGHE, M. Preparation, characterization and release kinetics of ethylcellulose nanoparticles encapsulating ethylvanillin as a model functional component. **Journal of Functional Foods**, v.14, p.726–735, 2015.

FABIAN, C. B.; HUYNH, L. H.; JU, Y. H. Precipitation of rice bran protein using carrageenan and alginate. **Food Science and Technology**, v.43, p.375–379, 2010.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols – a review. Trends **Food Science and Technology**, v.21, p.510–23, 2010.

FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A.; OLIVEIRA, C. R. Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using

wey protein–inulin blends as carriers. **International Journal of Food Science and Technology**, v.49, p.1522–1529, 2014.

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

FERNANDES, R. V. B.; MARQUES, G. R.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Effect of solids content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil. **Industrial Crops and Products**, n.58, p.173–181, 2014.

FERNANDES, R. V. R.; BOTREL, D. A.; SILVA, E. K.; BORGES, S. V.; OLIVEIRA, C. R.; YOSHIDA, M. I.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, R. C. M. Cashew gum and inulin: New alternative for ginger essential oil microencapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v.153, p.133–142, 2016.

FURLAN JÚNIOR, J.; KALTNER, F. J.; ALVES, S. de M.; BARCELOS, E. A **utilização de óleo de palma como componente do biodiesel na Amazônia**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, Comunicado Técnico, n.103, 2004, 5p.

GOMEZ-ESTACA, J.; COMUNIAN, T. A.; MONTERO, P.; FERRO-FURTADO, R.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatine-cashew gum complex. **Food Hydrocolloids**, v.61, p.155-162, 2016.

GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.51, p.76-87, 2016.

GONG, M.; BASSI, A. Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. **Biotechnology Advances**, v.34, p.1396–1412, 2016.

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

GRANT, N.; ZHANG, H. Poorly water-soluble drug nanoparticles via an emulsion-freeze-drying approach. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.356, p.573–578, 2011.

GUL, K.; TAK, A.; SINGH, A. K.; SINGH, P.; YOUSUF, B.; WANI, A. A. Chemistry, encapsulation, and health benefits of β -carotene - A review. **Cogent Food & Agriculture**, v.1, p.1-12, 2015.

GUNSTONE, F. D.; LIN, S. W. **Palm oil**. In Vegetable oils in food technology: composition, properties and use. Iowa: Blackwell Publishing, 2ed., 2011, p.59-93.

GUO-QING, H.; YAN-TING, S.; JUN-XIA, X.; JIAN, Y. Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. **Food Chemistry**, v.135, p.534–539, 2012.

GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.128-130, p.227–48, 2006.

HURST, W. J. **Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals**. Boca Raton Florida 33487, USA: CRC Press. Taylor & Francis Group, 2008.

HYE-YEUM, I., HONGKEE, S. Ammonolysis-based microencapsulation technique using isopropyl formate as dispersed solvent. **International Journal of Pharmaceutics**, v.382, p.130–138, 2009.

IONASHIRO, M. **Giolito: Fundamentos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial**. São Paulo: Editora Giz Editorial. 2005. 96p.

JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O. P.; SHIVHARE, U. S. Microencapsulation by complex coacervation using whey protein isolates and gum acacia: an approach to preserve the functionality and controlled release of β -carotene. **Food and Bioprocess Technology**, v.8, p.1635–1644, 2015.

JAIN, A.; THAKUR, D.; GHOSHAL, G.; KATARE, O. P.; SHIVHARE, U. S. Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.87, p.101–113, 2016.

JAMOVA, K.; VALKO, M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.70, p.102-110, 2013.

JIMENEZ, M.; GARCIA, H. S.; BERISTAIN, C. I. Sensory evaluation of dairy products supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid (CLA). **LWT Food Science and Technology**, v.41, p.1047–1052, 2008.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.70, p.102-110, 2013.

JUN, L.; YOUN, Y. S.; YONG, W.; MARTIN J. T. R. Intermolecular interaction and complex coacervation between bovine serum albumin and gum from whole flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **Food Hydrocolloids**, v.49, p.95-103, 2015.

JYOTHI, S.; SEETHADEVI, D. Microencapsulation: A review. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v.3, n.1, p.509-531, 2012.

KANG, M. K.; DAI, J.; KIM, J. C. Ethylcellulose microparticles containing chitosan and gelatin: pH-dependent release caused by complex coacervation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.18, p.355–359, 2012.

KHOO, H. E.; PRASAD, K. N.; KONG, K. W.; JIANG, Y.; ISMAIL, A. Carotenoids and their isomers: Color pigments in fruits and vegetables. **Molecules**, n.16, v.2, p.1710–1738, 2011.

KIM, D. Y.; SHIN, W. S. Characterisation of bovine serum albumin–fucoidan conjugates prepared via the Maillard reaction. **Food Chemistry**, v.173, p.1–6, 2015.

KOTIKOVA, Z.; SULC, M.; LACHMAN, J.; PIVEC, J.; ORSÁK, M.; HAMOUZ, K. Carotenoid profile and retention in yellow-, purple- and red-fleshed potatoes after thermal processing. **Food Chemistry**, v.197, p.992–1001, 2016.

KRIVOROTOVA, T.; STANEVICIENE, R.; LUKSA, J.; SERVIENE, E.; SEREIKAITĖ, J. Preparation and characterization of nisin-loaded pectin-inulin particles as antimicrobials. **LWT Food Science and Technology**, v.72, p.518-524, 2016.

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

LACERDA, E. C. Q.; CALADO, V. M. A.; MONTEIRO, M.; FINOTELLI, P. V.; TORRES, A. G.; PERRONE, D. Starch, inulin and maltodextrin as encapsulating

agents affect the quality and stability of jussara pulp microparticles. **Carbohydrate Polymers**, v.151, p.500–510, 2016.

LETERME, P.; MONMART, T.; BAUDART, E. Amino acid composition of pea (*Pisum sativum*) proteins and protein profile of pea flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.53, p.107-110, 1990.

LI, Y.; ZHAO, Q.; HUANG, Q. Understanding complex coacervation in serum albumin and pectin mixtures using a combination of the Boltzmann equation and Monte Carlo simulation. **Carbohydrate Polymers**, v.101, p.544–553, 2014.

LIMÓN, P.; MALHEIRO, R.; CASAL, S.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J.M.; RODRIGUES, N.; CRUZ, R.; BERMEJO, R.; PEREIRA, J. A. Improvement of stability and carotenoids fraction of virgin olive oils by addition of microalgae *Scenedesmus almeriensis* extracts. **Food Chemistry**, v.175, p.203–211, 2015.

LINTIG, J. V.; VOGT, K. Filling the gap in vitamin A research: molecular identification of an enzyme cleaving β -carotene to retinal. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n.16, p.11915–11920, 2000.

LIU, J.; SHIM, Y. Y.; WANG, Y.; REANEY, M. J. T. Intermolecular interaction and complex coacervation between bovine serum albumin and gum from whole flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **Food Hydrocolloids**, v.49, p.95-103, 2015.

LIU, S.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. Effect of pH, salt, and biopolymer ratio on the formation of pea protein isolate-gum arabic complexes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.1521–1526, 2009.

LOURENÇO, E. J. **Tópicos de proteínas de alimentos**. Jaboticabal: Funep, 2000. 344p.

LUNA, W. N. S. **Acetilação do exopolissacarídeo (1-6)- β -D-glucana (lasiodiplodana): derivatização química e caracterização**. 2016. 64f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Tecnológica do Paraná, Pato Branco, 2016.

MALMO, C.; STORIA, A. L.; MAURIELLO, G. Microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 cells coated in alginate beads with chitosan by spray drying to use as a probiotic cell in a chocolate soufflé. **Food Bioprocess Technology**, v.6, p.795–805, 2013.

MAO, Y.; DUBOT, M.; XIAO, H.; MCCLEMENTS, D. J. Interfacial engineering using mixed protein systems: Emulsion-based delivery systems for encapsulation and stabilization of β -carotene. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, p.5163–5169, 2013.

MARTINI, S.; D'ADDARIO, C.; BONECHI, C.; LEONE, G.; TOGNAZZI, A.; CONSUMI, M.; ROSSI, C. Increasing photostability and water-solubility of carotenoids: Synthesis and characterization of β -carotene–humic acid complexes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.101, p.355–361, 2010.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Licopeno encapsulado em goma arábica e maltodextrina: Estudo da estabilidade. Lycopene encapsulated with gum arabic and maltodextrin: Stability study. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.5, p.197–203, 2003.

MBA, O. I.; DUMONT, M. J.; NGADI, M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. **Food Bioscience**, v.10, p.26-41, 2015.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; PARK, Y.; WEISS, J. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.49, n.6, p.577-606, 2009.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.54, n.2, 2004.

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

MORAIS, R. P.; RODRIGUES, V. K. M.; VERAS, A. T. R.; NETA, L. C.B. Aspectos fisiográficos da paisagem em são joão da baliza – rr e sua favorabilidade na plantação da palma de óleo para a produção de biodiesel. **Revista Geonorte**, Edição especial, v3, n.4, p.42-50, 2012.

MOSER, P.; TELIS, V. R. N.; NEVES, N, A.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Storage stability of phenolic compounds in powdered BRS Violeta grape juice microencapsulated with protein and maltodextrin blends. **Food Chemistry**, v.214, p.308–318, 2017.

NAMITHA, K. K.; NEGI, P. S. Chemistry and biotechnology of carotenoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, n.50, v.8, p.728–760, 2010.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Carboidratos e Glicobiologia**. Princípios de Bioquímica de Lehninger. Porto Alegre - RS, Brasil: Artmed, 5ed., 2009, p.235–270.

NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v.42, p.469–479, 2013.

NG, T. K. W.; LOW, C. X.; KONG, J. P.; CHO, Y. L. Use of red palm oil in local snacks can increase intake of provitamin A carotenoids in young aborigines children: A Malaysian experience. **Malaysian Journal of Nutrition**, v.18, n., p.393–397, 2012.

NISAR, N.; LI, L.; LU, S.; KHIN, N. C.; POGSON, B. J. Carotenoid metabolism in plants. **Molecular Plant**, v.8, p.68-82, 2015.

NIU, F.; ZHANG, Y.; CHANG, C.; PAN, W.; SUN, W.; SU, Y.; YANG, Y. Influence of the preparation method on the structure formed by ovalbumin/gum arabic to observe the stability of oil-in-water emulsion. **Food Hydrocolloids**, v.63, p.602-610, 2016.

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

O'BRIEN, R. D. **Fats and oils: Formulating and processing for applications**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 3ed. 2010.

OLIVEIRA, G. M.; RIBEIRO, A. P. B.; SANTOS, A. O.; CARDOSO, L. P.; KIECKBUSCH, T. G. Hard fats as additives in palm oil and its relationships to crystallization process and polymorphism. **LWT Food Science and Technology**, v.63, p.1163-1170, 2015b.

OLIVEIRA, M. G.; RIBEIRO, A. P. B.; KIECKBUSCH, T. G. Hard fats improve technological properties of palm oil for applications in fat-based products. **LWT Food Science and Technology**, v.63, p.1155-1162, 2015a.

OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal of Chromatography A**, v.881, p.543–555, 2000.

- PACHECO, S. **Preparo de padrões analíticos, estudo de estabilidade e parâmetros de validação para ensaio de carotenoides por cromatografia líquida**. 2009. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Seropédica-RJ, 2009.
- PAN, K.; ZHONG, Q.; BAEK, S. J. Enhanced dispersibility and bioactivity of curcumin by encapsulation in casein nanocapsules. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, p.6036–6043, 2013.
- PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Chemistry**, v.125, p.892-902, 2011.
- PATHAK, Y.; THASSU, D. **Drugs and the pharmaceutical sciences: Drug delivery nanoparticles formulation and characterization**. New York: Informa Healthcare USA, v.191, 2009. 418p.
- PÉREZ-CHABELA, M. L.; LARA-LABASTIDA, R.; RODRIGUEZ-HUEZO, E.; TOTOSAUS, A. Effect of spray drying encapsulation of thermotolerant lactic acid bacteria on meat batters properties. **Food Bioprocess Technology**, v.6, p.1505–1515, 2013.
- PETITO, N. L.; DIAS, D. S.; COSTA, V. G.; FALCÃO, D. Q.; ARAUJO, K. G. L. Increasing solubility of red bell pepper carotenoids by complexation with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Food Chemistry**, v.208, p.124–131, 2016.
- PETRESKA-IVANOVSKA, T.; PETRUSHEVSKA-TOZI, L.; GROZDANOV, A.; PETKOVSKA, R.; HADJIEVA, J.; POPOVSKI, E.; STAFILOV, T.; MLADENOVSKA, K. From optimization of synbiotic microparticles prepared by spray-drying to development of new functional carrot juice. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**, v.20, n.4, p.549-564, 2014.
- POLAK, R.; PITOMBO, R. N. M. Care during freeze-drying of bovine pericardium tissue to be used as a biomaterial. A comparative study. **Cryobiology**, v.63, p.61-66, 2011.
- POSHADRI, A.; KUNA, A. Microencapsulation technology: A review. **Journal of Research ANGR Agricultural University**, v.38, n.1, p.86-102, 2010.

QUIRÓS, A. R. B.; COSTA, H. S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.97–111, 2006.

RAMALHO FILHO, A.; MOTTA, P. E. F. **Zoneamento agroecológico para a cultura da palma de óleo (dendzeiro) nas áreas desmatadas da Amazônia Legal**. In: Zoneamento agroecológico, produção e manejo da cultura de dendê na Amazônia. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2010. 216p.

RASCÓN, M. P.; BERISTAIN, C. I.; GARCÍA, H. S.; SALGADO, M. A. Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated páprica oleoresin using gum Arabic and Soy protein isolate as wall materials. **LWT Food Science and Technology**, v.44, n.2, p.549–557, 2011.

RASHIDINEJAD, A.; BIRCH, E. J.; SUN-WATERHOUSE, D.; EVERETT, D. W. Delivery of green tea catechin and epigallocatechin gallate in liposomes incorporated into low-fat hard cheese. **Food Chemistry**, v.156, p.176–183, 2014.

REBELLO, F. K.; COSTA, D. H. M. A experiência do Banco da Amazônia com projetos integrados de dendê na agricultura familiar. **Contexto Amazônico**, v.5, n.22, p.1- 8, 2012.

ROBERT, P.; TORRES, V.; GARCÍA, P.; VERGARA, C.; SAENZ, C. The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agentes. **LWT Food Science and Technology**, v.60, p.1039-1045, 2015.

ROCHA-SELMI, G. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Morphology, stability, and application of lycopene microcapsules produced by complex coacervation. **Journal of Chemistry**, p.1-7, 2013.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods**. Washington DC: Usaid-Omni, 1997. 88p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analysis in foods**. Washington: Ilsi, 1999. 119p

ROMAN, M. J.; BURRI, B. J.; SINGH, R. P. Release and Bioaccessibility of β -Carotene from Fortified Almond Butter during in Vitro Digestion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.9659-9666, 2012.

RU, Q.; WANG, Y.; LEE, J.; DING, Y.; HUANG, Q. Turbidity and rheological properties of bovine serum albumin/pectin coacervates: Effect of salt concentration and initial protein/polysaccharide ratio. **Carbohydrate Polymers**, v.88, n.3, p.838–846, 2012.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; ROSA, C. G.; SILVA, M. M. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, v.202, p.324–333, 2016.

SAÉNZ, C.; TAPIA, S.; CHÁVEZ, J.; ROBERT, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v.114, p.616–622, 2009.

SAGIS, L. M. C. **Microencapsulation and microspheres for food applications**. London: Academic Press, 1ed., 2015.

SAHOO, N.; SAHOO, R. K.; BISWAS, N.; GUHA, A.; KUOTSU, K. Recent advancement of gelatin nanoparticles in drug and vaccine delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, p. 317-331, 2015.

SAIKIA S., MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. **Food Chemistry**, v.171, p.144–152, 2015.

SAINI, R. K.; NILE, S. H.; PARK, S. W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, v.76, p.735–750, 2015.

SANAGI, M. M.; SEE, H. H.; IBRAHIM, W. A. W.; NAIM, A. A. Determination of carotene, tocopherols and tocotrienols in residue oil from palm pressed fiber using pressurized liquid extraction-normal phase liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v.538, p.71–76, 2005.

SANCHEZ, V.; BAEZA, R.; GALMARINI, M. V.; ZAMORA, M. C.; CHIRIFE, J. Freeze-Drying encapsulation of red wine polyphenols in an amorphous matrix of maltodextrin. **Food and Bioprocess Technology**, v.6, n.5, p.1350-1354, 2011.

SANSONE, F.; PICERNO, P.; MENCHERINI, T.; VILLECCO, F.; D'URSI, A. M.; AQUINO, R. P. LAURO, M. R. Flavonoid microparticles by spray-drying: Influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability. **Journal of Food Engineering**, v.103, n.2, p.188-196, 2011.

SAUVANT, P., CANSELL, M., SASSI, A. H., ATGIÉ, C. Vitamin A enrichment: Caution with encapsulation strategies used for food applications. **Food Research International**, v.46, p.469–479, 2012.

SCAPIN, M. P. **Um algoritmo genético híbrido aplicado à predição da estrutura de proteínas utilizando o modelo hidrofóbico-polar bidimensional**. 2005. 132 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica e Informática Industrial) – Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná, Curitiba, 2005.

SCHOEFS, B. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v.13, p.361–371, 2002.

SCIENTIFIC PSYCHIC. Inulin. Disponível em <<http://www.scientificpsychic.com/fitness/inulin.gif>>. Acesso em 15 fevereiro 2017.

SEPTEVANI, A. A.; EVANS, D. A. C.; CHALEAT, C.; MARTIN, D. J.; ANNAMALAI, P. K. A systematic study substituting polyether polyol with palm kernel oil based polyester polyol in rigid polyurethane foam. **Industrial Crops and Products**, v.66, p.16–26, 2015.

SHAO, Y.; TANG, C. H. Gel-like pea protein Pickering emulsions at pH 3.0 as a potential intestine-targeted and sustained-release delivery system for β -carotene. **Food Research International**, v.79, p.64–72, 2016.

SHEIL, D.; CASSON, A.; MEIJAARD, E.; NOORDWIJK, M.; GASKELL, J.; SUNDERLAND-GROVES, J.; WERTZ, K.; KANNINEN, M. **The impacts and opportunities of oil palm in Southeast Asia: what do we know and what do we need to know?** Occasional paper n.51, Bogor: CIFOR, Indonésia, 2009, 67p.

SHEWRY, P. R.; NAPIER, J. A.; TATHAM, A. S. Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis. **The Plant Cell**, v.7, p.945-956, 1995.

SHI, J. **Functional food ingredients and nutraceuticals. Processing Technologies**, 2ed., p.639-660, 2015.

- SILVA, E. K.; ZABOT, G. L.; BARGAS, M. A.; MEIRELES, M. A. A. Microencapsulation of lipophilic bioactive compounds using prebiotic carbohydrates: Effect of the degree of inulin polymerization. **Carbohydrate Polymers**, v.152, p.775–783, 2016.
- SILVA, M. C.; ANDRADE, C. T. Evaluating conditions for the formation of chitosan/gelatina microparticles. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.19, n.2, p. 133-137, 2009.
- SOUZA, C. A. G.; SIQUEIRA, S. M. C.; AMORIMA, A. F. V.; MORAISA, S. M.; GONÇALVES, T.; GOMES, R. N.; CUNHA, A. P.; RICARDO, N. M. P. S. Encapsulação do ácido l-ascórbico no biopolímero natural galactomanana por *spray-drying*: preparação, caracterização e atividade antioxidante. **Química Nova**, v.38, n.7, p.877-883, 2015.
- SPADA, J. C.; NORENA, C. P. Z.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Study on the stability of β -carotene microencapsulated with pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch. **Carbohydrate Polymers**, v.89, p.1166–1173, 2012.
- SPONTON, O. E.; PEREZ, A. A.; CARRARA, C. R.; SANTIAGO, L. G. Linoleic acid binding properties of ovalbumin nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.128, p.219-226, 2015b.
- SPONTON, O. E.; PEREZ, A. A.; CARRARA, C. R.; SANTIAGO, L. G. Impact of environment conditions on physicochemical characteristics of ovalbumin heat-induced nanoparticles and on their ability to bind PUFAs. **Food Hydrocolloids**, v.48, p.165-173, 2015a.
- SRI, J. S.; SEETHADEVI, A.; PRABHA, K. S.; MUTHUPRASANNA, P.; PAVITRA, P. Microencapsulation: A review. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, n.3, p.512–531, 2012.
- SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A.; TROKOWSKI, K.; KARLOVITS, G.; SZLYK, E. Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils. **Food Chemistry**, v.129, p.1187–1192, 2011.
- TARHINI, M.; GREIGE-GERGES, H.; ELAISSARI, A. Protein-based nanoparticles: From preparation to encapsulation of active molecules. **International Journal of Pharmaceutics**, v.522, n.1-2, p.172-197, 2017.

THIES, C. **Microcapsules. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition.** 2ed, p. 3892-3903, 2003.

TRUJILLO-QUIJANO, J. A. Óleo de palma: um produto premium. **Revista Óleos e Grãos**, p.37-39,1999.

UMER, H.; NIGAM, H.; TAMBOLI, A. M.; NAINAR, M. S. M. Microencapsulation: Process, techniques and applications. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v.2, n.2, p.474-481, 2011.

USDA. United States Department of Agriculture. Oilseeds: World markets and trade. 2016.

VAN, J.; CLUNE, Y.; BOSSCHER, D.; FRANCK, A. Prebiotic oligofructose enriched chicory inulin combination with probiotics: in the prevention of colon câncer in experimental models and human volunteers. **Agro Food Industry Hi Tech**, v.16, n.4, p.6 -8, 2005.

VARANKOVICH, N. V.; KHAN, N. H.; NICKERSON, M. T.; KALMOKOFF, M.; KORBER, D. R. Evaluation of pea protein–polysaccharide matrices for encapsulation of acid-sensitive bacteria. **Food Research International**, v.70, p.118–124, 2015.

VENKATESAN, P.; MANAVALAN, R.; VALLIAPPAN, K. Microencapsulation: A vital technique in novel drug delivery system. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v.1, n.4, p.26-35, 2009.

VISENTINI, F. F.; SPONTON, O. E.; PEREZ, A. A.; SANTIAGO, L. G. Formation and colloidal stability of ovalbumin-retinol nanocomplexes. **Food Hydrocolloids**, v.67, p,130-138, 2017.

VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v.20, n.4, p.292-302, 2010.

WANG, Z.; JUA, X.; HE, R.; YUAN, J.; ALUKO, R. E. Effect of high pressure treatment on rapeseed protein microparticle properties and gastrointestinal release behavior of the encapsulated peptides. **Food Research International**, v.77, p.549–555, 2015.

WU, S. J.; NG, L. T. Antioxidant and antihepatoma activities of palm oil extract. **Journal of Food Lipids**, v.14, p.122–137, 2007.

XIAO, J.; YU, H.; YANG, J. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. **Food Chemistry**, v.125, p.1267–1272, 2011.

XIAO-YING, Q.; ZHI-PING, Z.; JIAN-GUO, J. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. **Food Hydrocolloids**, v.25, p.1596-1603, 2011.

XU, M.; GAGNÉ-BOURQUE, F.; DUMONT, M. J.; JABAJI, S. Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 cells and evaluation of their survival after freeze-drying, storage and under gastrointestinal conditions. **Journal of Food Engineering**, v.168, p.52-59, 2016.

XU, M.; GAGNÉ-BOURQUE, F.; DUMONT, M. J.; JABAJI, S. Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 cells and evaluation of their survival after freeze-drying, storage and under gastrointestinal conditions. **Journal of Food Engineering**, v.168, p.52-59, 2016.

XU, Y.; MAZZAWI, M.; CHEN, K.; SUN, L.; DUBIN, P. L. Protein purification by polyelectrolyte coacervation: Influence of protein charge anisotropy on selectivity. **Biomacromolecules**, v.12, n.5, p.1512–1522, 2011.

YANG, X.; GAO, N.; HUA, L.; LI, J.; SUN, Y. Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v.161, p.87–93, 2015.

YI, J.; LAM, T. I.; YOKOYAMA, W.; CHENG, L. W.; ZHONG, F. Cellular uptake of β -carotene from protein stabilized solid lipid nanoparticles prepared by homogenization–evaporation method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, n.5, p. 1096–1104, 2014.

YIN, B.; DENG, W.; XU, K.; HUANG, L.; YAO, P. Stable nano-sized emulsions produced from soy protein and soy polysaccharide complexes. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.380, p.51–9, 2012.

YUN, S.; CHUAN-HE, T. Gel-like pea protein Pickering emulsions at pH 3.0 as a potential intestine-targeted and sustained-release delivery system for β -carotene. **Food Research International**, v.79, p.64–72, 2016.

- YUTING, F.; JIANG, Y.; YUZHU, Z.; ZHEN, W.; LIQING, Z. Physicochemical stability and in vitro bioaccessibility of b-carotene nanoemulsions stabilized with whey protein-dextran conjugates. **Food Hydrocolloids**, v.63, p.256-264, 2017.
- ZABOT, G. L.; SILVA, E. K.; AZEVEDO, V.M.; MEIRELES, M. A. A. Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds. **Food Research International**, v.85, p.26–35, 2016.
- ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Encapsulation of bixin in sodium caseinate to deliver the colorant in transparent dispersions. **Food Hydrocolloids**, v.33, p.1–9, 2013.
- ZHENG, L.; DING, Z.; ZHANG, M.; SUN, J. Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization. **Journal of Food Engineering**, v.104, n.1, p.89-95, 2010.
- ZONG, A.; CAO, H.; WANG, F. Anticancer polysaccharides from natural resources: a review of recent research. **Carbohydrate polymers**, v.90, n.4, p.1395–410, 2012.
- ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. **Overview of microencapsulation for use in food products or process and methods to make them.** In Encapsulation Technologies for active food ingredients and food processing, p.3-30, 2010.

Apêndice

Apêndice A – Tabelas de liberação de carotenoides em condições gastrointestinais simuladas, antes e após aplicação em matrizes alimentares

Tabela 1 – Perfil de liberação de carotenoides do óleo de palma encapsulado, em condições gastrointestinais simuladas

Micropartículas	Tempo (minutos)							
	0	30	60	120	180	240	300	360
QAB	27,2±0,23D	23,5±0,40E	21,3±0,44E	38,1±0,52D	35,1±0,01C	43,5±0,16C	33,0±0,01D	35,1±0,51B
QG	48,9±0,43C	49,0±0,52C	47,1±0,56C	86,7±0,22A	64,5±0,47A	55,6±0,19A	53,2±0,14A	52,3±0,50A
QPA	85,6±0,36A	90,3±0,57A	90,7±0,08A	45,8±0,90C	49,2±0,21B	51,0±0,41B	34,6±0,43C	34,7±0,49B
QPE	26,1±0,53D	41,0±0,78D	37,5±0,14D	30,3±0,17E	30,4±0,19D	28,5±0,37D	36,1±0,42B	21,8±0,11C
QPS	64,4±0,26B	69,7±0,08B	71,6±0,35B	65,7±0,37B	25,2±0,54E	23,0±0,21E	19,7±0,48E	20,6±0,90C

QAB: quitosana/albumina bovina; QG: quitosana/gelatina; QPA: quitosana/proteína isolada de arroz; QPE: quitosana/proteína isolada de ervilha; QPS: quitosana/proteína isolada de soja. Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 2 - Perfil de liberação de carotenoides do óleo de palma encapsulado, em condições gastrointestinais simuladas, após aplicação em pudim convencional e instantâneo

Micropartículas	Tempo (minutos)							
	0	30	60	120	180	240	300	360
Pudim convencional								
QAB	2,4±0,04E	7,3±0,09E	9,4±0,12E	7,3±0,26E	74,7±0,20A	79,9±0,45B	77,5±0,03B	83,8±0,43B
QG	20,0±0,01A	50,3±0,26A	48,2±0,15A	39,7±0,19A	64,2±0,16C	64,3±0,05C	68,0±0,76C	71,8±0,01C
QPA	7,6±0,23B	21,9±0,47B	22,8±0,57C	15,8±0,03C	66,1±0,16B	86,7±0,19A	97,8±0,17A	89,4±0,15A
QPE	5,7±0,08C	9,0±0,80D	13,6±0,25D	13,6±0,23D	47,9±0,40D	54,2±0,91D	65,7±0,24D	63,4±0,26D
QPS	4,2±0,03D	19,6±0,08C	24,4±0,01B	22,7±0,20B	45,9±0,13E	47,1±0,04E	42,2±0,44E	46,2±0,23E
Pudim instantâneo								
QAB	12,5±0,12A	27,4±0,09C	28,7±0,09D	30,1±0,17C	39,7±0,04E	69,8±0,49D	82,5±0,38A	97,7±0,18A
QG	9,1±0,06C	54,4±0,25A	58,6±0,14A	56,8±0,02A	71,0±0,68C	73,7±0,04C	76,1±0,06C	75,2±0,21D
QPA	2,3±0,15D	27,5±0,20C	31,7±0,26C	17,7±0,11D	56,6±0,13D	79,8±0,30A	78,3±0,04B	78,8±0,21C
QPE	2,3±0,16D	19,8±0,08D	23,2±0,15E	12,3±0,04E	80,0±0,48A	56,8±0,12E	71,2±0,32E	54,0±0,24E
QPS	4,7±0,11B	44,1±0,23B	52,3±0,24B	54,3±0,15B	76,1±0,02B	77,7±0,13B	74,5±0,19D	82,8±0,19B

QAB: quitosana/albumina bovina; QG: quitosana/gelatina; QPA: quitosana/proteína isolada de arroz; QPE: quitosana/proteína isolada de ervilha; QPS: quitosana/proteína isolada de soja. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p < 0,05$), avaliando os materiais de parede, dentro de cada matriz alimentar