



AVALIAÇÃO DE ESTRUTURA MISTA DE PROTEÇÃO PARA MICROENCAPSULAÇÃO DE ÔMEGA-3

Isabela Porto **Ribeiro**¹; Izabela Dutra **Alvim**²; Ana Maria Rauen de Oliveira **Miguel**³; Lidiane Bataglia da **Silva**⁴; Ana Lúcia **Fadini**⁵

Nº 14203

RESUMO

Os ácidos graxos ômega-3 são altamente insaturados e compreendem os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e o docosahexaenóico (DHA) de origem marinha e o alfa-linolênico (ALA) de origem vegetal. Os óleos de peixe têm sido utilizados como fonte de EPA e DHA, devido ao seu comprovado papel positivo no desenvolvimento infantil, disfunções mentais e efeitos contra a inflamação, agregação plaquetária, hipertensão e hiperlipidemia. No entanto, apresentam propensão à oxidação e odores desagradáveis. O objetivo deste trabalho foi estudar uma mistura de leite em pó desnatado (LPD), goma acácia (GA) e suco de uva (SU) como uma estrutura mista de proteção para microencapsulação de óleo de peixe por spray drying. Utilizou-se um delineamento experimental de misturas simplex-centroid para avaliar o efeito da combinação das variáveis LPD (x_1), GA (x_2) e SU (x_3) na eficiência da encapsulação (EE), teor de óleo superficial (OS) e teor de óleo total (OT). Uma melhor EE (%) foi obtida com a mistura de LPD.SU e também com o uso dos 3 componentes juntos. A mistura de LPD.GA afetou negativamente a EE ($p \leq 0,05$). Para o teor de OS (%) a mistura dos 3 componentes foi quem impactou mais positivamente (menor OS) e para o teor de OT (%) os 3 componentes individualmente, assim como a mistura de GA.SU afetaram positivamente esta resposta e a mistura de LPD.SU afetou negativamente. A mistura destes 3 materiais de parede parece ser promissora para a microencapsulação de ômega-3, no entanto, a solubilidade desta matriz deverá ser reduzida para minimizar o impacto no sabor.

Palavras-chaves: microencapsulação, ômega-3, rancimat, goma acácia, leite desnatado, suco uva

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas-SP; isabelaportor@gmail.com

2 Colaborador, Pesquisador Cereal Chocotec/ITAL, Campinas-SP.

3 Colaborador, Pesquisador CCQA/ITAL, Campinas-SP.

4 Colaborador, Pesquisador Cereal Chocotec/ITAL, Campinas-SP.

5.Orientador: Pesquisador do Cereal Chocotec/ITAL, Campinas-SP; fadini@ital.sp.gov.br



ABSTRACT

Omega-3 fatty acids are highly unsaturated and include eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acids of marine origin and alpha-linolenic acid (ALA) from vegetable origin. Fish oils have been used as a source of omega-3 long chain fatty acids due to its proven positive role in child development and mental disorders and their effects against inflammation, platelet aggregation, hypertension and hyperlipidemia. The difficulties faced for the omega-3 food application are related to the decrease of sensory acceptance and oxidation what can be minimized through the use of microencapsulation. The aim of this study was to investigate the use of skim milk powder (SMP), acacia gum (AG) and grape juice (GJ) as wall materials for omega-3 microencapsulation. A simplex centroid design was applied to investigate the combined effect of the variables SMP (x_1), AG (x_2) and GJ (x_3) in the encapsulation efficiency (EE), surface oil (SO) and total oil content of the samples (TO). The better results for EE were obtained using a mixture of SMP.GJ and SMP/AG/GJ. The mixture of SMP.AG affected negatively the EE ($p \leq 0.05$). Regarding to the SO the mixture of the 3 components impacted more positively. The TO was positively affected by the 3 variables used individually as well by the mixture of AG.GJ. The mixture of SMP.GJ negatively affected this response. The results indicated that these wall materials are promising systems for having good microencapsulation efficiency but the solubility of the system should be reduced in order to minimize the impact on flavor.

Key-words: microencapsulation, omega-3, rancimat, acacia gum, skim milk, grape juice

1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos ômega-3 são altamente insaturados e propensos à oxidação, a qual produz rancidez e odores característicos encurtando a vida de prateleira dos produtos, portanto, durante muitos anos a indústria de alimentos removeu de seus produtos os ingredientes ricos em ômega-3, substituindo-os por gorduras saturadas. Devido ao crescente número de evidências científicas que reforça o papel positivo dos ácidos graxos ômega-3 para a saúde, a indústria alimentícia tem demonstrado interesse em aplicá-lo em seus produtos. O volume global de consumo de ômega-3, adicionados em alimentos processados registrou um aumento de 50 vezes entre 2004 e 2009. O maior volume vem sendo aplicado em pães industrializados (44%), em óleos e gorduras funcionais (32%) e em produtos lácteos (20%) (FORTIFICAÇÃO..., 2011). As dificuldades encontradas na utilização de ômega-3 em produtos alimentícios, relacionadas à propensão a oxidação e a presença de odores desagradáveis podem ser minimizadas através do



uso de tecnologia de microencapsulação destes compostos. Este trabalho teve como objetivo estudar uma mistura de ingredientes (goma acácia, leite em pó desnatado e suco de uva) como estrutura mista de proteção para microencapsulação do ômega-3 (óleo de peixe) por *spray drying*, tendo em vista a funcionalidade técnica de proteção do composto a ser encapsulado, além da agregação de valor nutricional e da coloração que poderá ser conferida aos produtos nos quais estas micropartículas venham a ser aplicadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais: Suco de uva (Bela Ischia), leite em pó desnatado (Tangará Foods), goma acácia encápcia (Nexira), ômega-3 (DSM), cereais expandidos e chocolate branco.

2.2 Planejamento experimental de mistura *simplex-centroid* com 3 fatores: Foram feitos 7 ensaios e 2 repetições do ponto 7 (mistura dos três componentes), totalizando 9 ensaios. O efeito das variáveis foi avaliado através das respostas: eficiência da encapsulação (EE, %), teor de óleo superficial (OS, %) e teor de óleo total da amostra (OT, %), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Níveis das variáveis independentes utilizadas no planejamento experimental

Variáveis independentes	Variáveis codificadas	0	0,5	1,0
Leite em pó desnatado	X ₁	0	50	100
Goma acácia	X ₂	0	50	100
Polpa ou suco de fruta	X ₃	0	50	100

2.3 Produção das micropartículas: Emulsões com 30% de sólidos totais (ST) e 20% de ativo, em relação ao ST (b.s.), foram secas em um mini *Spray Dryer* (Büchi, modelo B-290): temperatura de entrada de 150 °C; temperatura de saída de 85 ± 3 °C; potência da bomba de alimentação de 30%.

2.4 Umidade e atividade de água: A umidade foi determinada por estufa (AOAC, 1997) e atividade de água em analisador Aqualab 4TEV a 25 ± 0,05 °C. As análises foram realizadas em triplicata.

2.5 Eficiência de encapsulação (EE%): Foi determinada segundo a equação 1, conforme descrito por Davidov-Prado et al. (2008):

$$EE\% = ((OT - OS) / OT) \times 100 \quad (1)$$

Sendo que o OT foi determinado por *Bligh e Dyer* (1959) e o OS de acordo com *Bae & Lee* (2008).

2.6 Rendimento do processo (RP): Calculado de acordo com a Equação 2.

$$\% \text{ Rendimento} = \text{Massa de micropartículas (b.s.)} \times 100 / \text{Massa inicial (b.s.)} \quad (2)$$



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

2.7 Diâmetro médio e distribuições de tamanho das partículas: Determinados através do espalhamento de luz (Horiba – L950V2 - dispersante álcool etílico absoluto). Os resultados de diâmetros médios corresponderam a 50% das distribuições acumuladas (D50) das amostras.

2.8 Perfil dos ácidos graxos ômega-3 por cromatografia gasosa: AOCS, 2014 Met. Ce 1a-13 (FIRESTONE, D.); AOAC, 2010 Chapter 41, Met. 996.06, p.20 (HORWITZ,W. et al, 2010); Hartman, Lago (1973) e Food Standards Agency (2002).

2.9 Morfologia: Avaliada através da microscopia ótica, utilizando-se um microscópio Olympus, modelo BX41 e câmera digital Olympus Q-Color3 adaptada ao microscópio (Aumento 1000x).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta os valores experimentais e os codificados das variáveis independentes do planejamento experimental com 3 fatores e os resultados obtidos.

Tabela 2. Resultados das variáveis dependentes para as diferentes misturas utilizadas

Ensaio	Variáveis Independentes			Valores Reais (x)			Respostas (Y)		
	x ₁	x ₂	x ₃	LPD (%)	GA (%)	SU (%)	EE (%)	OT (%)	OS (%)
1	1,0	0	0	100,0	0	0	58,89 ^c ± 2,75	16,18 ^a ± 0,68	41,11 ^b ± 2,75
2	0	1,0	0	0	100,0	0	81,89 ^a ± 0,59	16,70 ^a ± 0,33	18,11 ^d ± 0,59
3	0	0	1,0	0	0	100,0	57,01 ^c ± 2,35	13,96 ^b ± 2,22	42,99 ^b ± 2,35
4	0,5	0,5	0	50,0	50,0	0	39,60 ^d ± 2,12	15,40 ^a ± 0,11	60,40 ^a ± 2,12
5	0,5	0	0,5	50,0	0	50,0	87,25 ^a ± 1,78	10,46 ^b ± 2,49	12,75 ^e ± 1,78
6	0	0,5	0,5	0	50,0	50,0	74,64 ^b ± 0,99	18,31 ^a ± 0,59	25,36 ^c ± 0,99
7	0,3	0,3	0,3	33,3	33,3	33,3	85,26 ^a ± 0,96	15,37 ^a ± 0,85	14,74 ^e ± 0,96
8	0,3	0,3	0,3	33,3	33,3	33,3	88,09 ^a ± 0,33	16,33 ^a ± 0,85	11,91 ^e ± 0,33
9	0,3	0,3	0,3	33,3	33,3	33,3	87,80 ^a ± 0,31	15,00 ^a ± 0,96	12,20 ^e ± 0,31

Os resultados se referem a uma média de 3 determinações. Os resultados seguidos de letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Os ensaios apresentaram teores de umidade inferiores a 3,00%, exceto o ensaio 3, cuja umidade foi 7,92% (maior teor de suco de uva, ingrediente com maior higroscopicidade comparado aos demais). Em relação à atividade de água (A_w), os resultados foram abaixo de 0,2, faixa onde as reações de oxidação lipídica ocorrem mais facilmente (FELLOWS, 2006). A amostra 2 foi a que estatisticamente se diferenciou de várias amostras, com o menor valor de A_w . Os valores obtidos estão dentro das faixas esperadas e de acordo com dados citados na literatura.



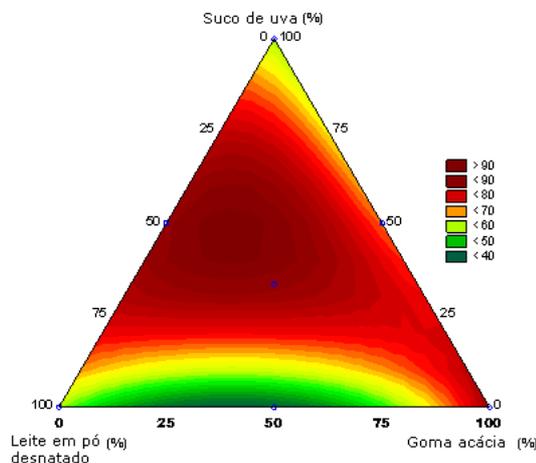
Quanto ao rendimento do processo observou-se uma variação de 18 a 40%, com melhores resultados para os testes 1, 6, 7, 8 e 9.

Tabela 3. Umidade e atividade de água das micropartículas produzidas por *spray drier*.

Ensaio	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Umidade (%)	1,62 ^f ±0,12	2,26 ^e ±0,16	7,92 ^a ±0,06	1,10 ^g ±0,06	3,73 ^b ±0,12	2,31 ^e ±0,07	3,11 ^c ±0,02	2,74 ^d ±0,03	2,59 ^d ±0,02
Aw	0,19 ^a ±0,01	0,16 ^{a,b} ±0,01	0,19 ^a ±0,01	0,12 ^b ±0,003	0,18 ^a ±0,004	0,16 ^{a,b} ±0,01	0,19 ^a ±0,02	0,18 ^a ±0,03	0,19 ^a ±0,04

Os resultados se referem a uma média de 3 determinações. Os resultados seguidos de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Eficiência de encapsulação (EE, %): O uso individual da GA resultou em uma boa EE, assim como as misturas do LPD.SU e LDP.GA.SU, com destaque para esta última combinação. A mistura do LPD.GA afetou negativamente a EE. A análise estatística apresentou um modelo de regressão significativo ($p \leq 0,05$), dentro da faixa estudada. Com exceção ao efeito da mistura da GA.SU, todos os parâmetros do modelo foram significativos. Portanto, de acordo com a equação 3 (coeficientes de regressão-CR significativos), a superfície de resposta quadrática ajustada é:



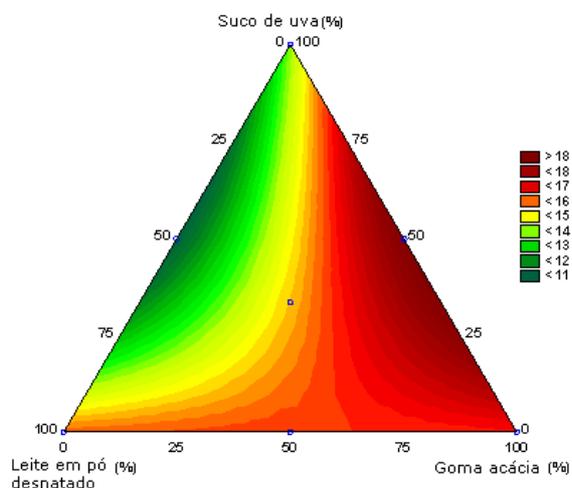
$$Y_{EE\%} = 58,89x_1 + 83,62x_2 + 58,74x_3 - 126,62x_1x_2 + 113,74x_1x_3 + 582,69x_1x_2x_3 \quad (3)$$

Os dados da Anova para os CR significativos resultaram em um R² de 99,2% e F calculado 7,8 vezes maior que o F tabelado, indicando boa reprodutibilidade dos dados experimentais. Pode-se concluir que a mistura dos 3 componentes apresentou resultados bastante satisfatórios.

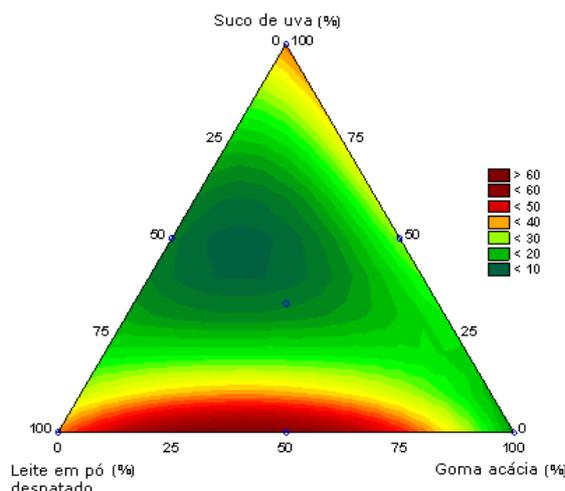
Óleo total (OT, %): Dentro das condições estudadas não foi possível estabelecer um modelo preditivo, para o nível de $p \leq 0,05$. Fez-se então a análise para $p \leq 0,1$. Com exceção ao efeito das interações das misturas LPD.GA e LPD.GA.SU, foi possível elaborar um modelo com as variáveis codificadas. Portanto, de acordo com a equação 4 (CR significativos), a superfície de resposta quadrática ajustada para o Óleo Total (OT) é:

$$Y_{OT\%} = 15,93x_1 + 16,43x_2 + 13,88x_3 - 15,68x_1x_3 + 14,52x_2x_3 \quad (4)$$

Os dados da Anova para os CR significativos resultaram em um R² de 93,4% e F calculado 2,7 vezes maior que o F tabelado. Quando analisados os componentes individualmente, a GA e o LPD resultaram nos maiores teores de OT. A mistura LPD.SU afetou negativamente o teor de OT. Os resultados obtidos para a mistura dos 3 componentes e para a GA e o LPD utilizados individualmente foram estatisticamente semelhantes entre si, novamente com destaque positivo para a mistura LPD.GA.SU.



Óleo superficial (OS, %): Numa análise individual dos componentes observou-se que a GA resultou nos menores teores de OS e que tanto o LPD quanto o SU, não apresentaram bons resultados (OS acima de 40%). A mistura dos 3 componentes resultou em micropartículas com teores de OS abaixo de 15%, assim com a mistura LPD.SU (todos estatisticamente similares entre si). A análise estatística apresentou um modelo de regressão significativo ($p \leq 0,05$), dentro da faixa estudada. Com exceção ao efeito da interação da GA.SU, todos os parâmetros do modelo foram significativos. De acordo com a equação 5 (CR significativos), a superfície de resposta quadrática ajustada para o OS% é:



$$Y_{OS\%} = 41,11 x_1 + 16,40 x_2 + 41,26 x_3 + 126,62 x_1x_2 - 113,74 x_1x_3 - 577,74 x_1x_2x_3 \quad (5)$$

Os dados da Anova para os coeficientes de regressão significativos resultaram em um R² de 99,1% e F calculado 7 vezes maior que o F tabelado, indicando boa reprodutibilidade dos dados experimentais ($p \leq 0,05$). Assim como observado para a EE (%) e teor de óleo total (%) a mistura dos três componentes se destacou, resultando em menores teores de OS (%).

Diâmetros médios e distribuição de tamanho das micropartículas: Variaram de 5,24 a 12,40 µm, ou seja, tamanhos convencionais normalmente obtidos para o tipo de atomizador utilizado. O diâmetro médio pode ser influenciado por fatores como as propriedades físicas das emulsões e variáveis de processo. Neste caso, considerando que as variáveis de processo foram similares para todos os ensaios, observa-se uma influência dos componentes utilizados. Os maiores

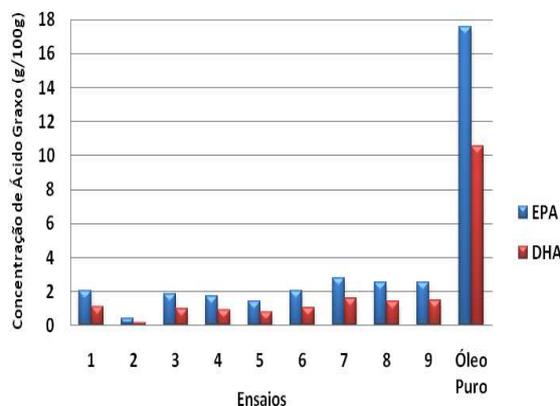
diâmetros médios foram obtidos para os ensaios onde os componentes foram utilizados individualmente. A mistura dos 3 componentes resultou nos menores valores (Tabela 4). A distribuição de tamanho de partículas apresentou uma distribuição normal. Não observou-se correlação entre os tamanhos de partículas e o teor de óleo superficial. Segundo alguns autores, partículas maiores poderiam ter menor área superficial e assim encapsular mais óleo. Soottitantawat et al. (2005), concluíram que o tamanho das partículas não apresentou efeito importante sobre o conteúdo de óleo superficial.

Tabela 4. Diâmetro médio das partículas

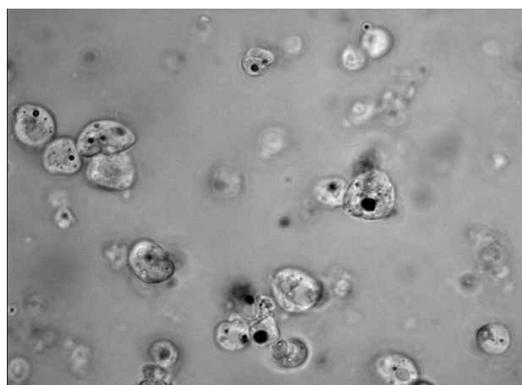
Ensaio	Diâmetro médio D ₅₀ (µm)	Ensaio	Diâmetro médio D ₅₀ (µm)	Ensaio	Diâmetro médio D ₅₀ (µm)
1	7,72 ^c ±0,01	4	6,02 ^e ±0,02	7	4,92 ^g ±0,09
2	8,17 ^b ±0,11	5	7,02 ^d ±0,13	8	5,88 ^e ±0,04
3	12,38 ^a ±0,10	6	5,73 ^e ±0,01	9	5,24 ^f ±0,08

Os resultados se referem a uma média de 3 determinações. Os resultados seguidos de letras iguais não diferem significativamente entre si (p≥0,05) pelo teste de Tukey.

Perfil de ácidos graxos ômega-3 por cromatografia gasosa: O processo de microencapsulação por *spray drying* resultou numa redução na concentração dos ácidos graxos EPA e DHA em relação ao óleo puro. Todos os ensaios tiveram as concentrações destes compostos reduzidas para menos que 3 mg/100g. Os ensaios com menores perdas foram 7, 8 e 9.



Morfologia: No geral, as micropartículas apresentaram formato tendendo ao circular e variedade de tamanhos, características típicas de partículas produzidas por *spray drying*. Aparências similares foram observadas em outros trabalhos de microencapsulação, utilizando a técnica de *spray drying* (ROCHA et al. 2012; TONON et al. 2011). Partículas esféricas podem contribuir para um melhor escoamento do pó obtido, mas não necessariamente implicam em uma melhor integridade das micropartículas.





8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

Aplicação das micropartículas em confeitos drageados: A fim de atender a RDC N°54 de 2012 para um produto fonte de ômega-3 (mínimo de 40 mg da soma de EPA e DHA por porção de 30 g), foram produzidos drageados de chocolate branco contendo as micropartículas do ensaio 7. Para atingir esta recomendação foram utilizados os resultados cromatográficos do perfil de ácidos graxos e feitos cálculos teóricos para definição da dosagem. Não houve necessidade de ajustes no processo de drageamento e o odor característico do ômega-3 não foi percebido durante a produção dos drageados. O produto final ficou com um ótimo aspecto. No entanto, devido à elevada solubilidade da matriz das partículas, o sabor do ômega-3 foi percebido durante a degustação e, portanto, decidiu-se por não realizar teste sensorial com consumidores.

4 CONCLUSÃO

A mistura dos três materiais de parede parece ser um sistema promissor para a microencapsulação de ômega-3 para aplicação em confeitos, no entanto, a solubilidade das matrizes deverá ser reduzida para minimizar o impacto do sabor observado.

5 AGRADECIMENTOS: Ao CNPq pela bolsa e ao CEREAL CHOCOTEC / ITAL pelo estágio.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAE, E.K.; LEE, S.J. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v.25, n.8, p.1-12, 2008.
- BLIGH, E. G. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry Physiology*. v.46, n.1, p.31 – 37, 1959.
- DAVIDOV-PRADO, G.; ROCCIA, P.; SALGADO, D.; LEÓN, A.E.; PEDROZA-ISLAS, R. Utilization of different wall materials to microencapsulate fish oil and evaluation of its behavior in bread products. **American Journal of Technology**, v.3, p.384-393, 2008.
- FELLOWS, P.J. Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e prática: In: FELLOWS, P.J. Porto Alegre: Artmed, 2 ed., 2006, 602p.
- FIRESTONE, D. (Ed.). **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society**. 6th ed., 3rd printing, Urbana: AOCS 2014 Met. Ce 1a-13.
- Food Standards Agency. Mc Cance and Widdowson's The Composition of Foods, Sixth Summary Edition. Cambridge: 2002, Royal Society of Chemistry. 537 p.
- Fortificação de alimentos com ômega-3 mostra forte crescimento. 2011. **Aditivos e Ingredientes**. EUROMONITOR INTERNATIONAL. Disponível em: <http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materiais/194.pdf>. Acesso em: 4 jun. 2014.
- HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Practice**, v.22, n.8, p.475-476, 1973.
- HORWITZ, W.; LATIMER J.R., GEORGE, W. (Ed.) **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18th ed. 2005. Current Through Revision 3, 2010. Chap. 41, met. 996.06, p.20.
- ROCHA, G.A.; FÁVARO-TRINDADE, C.S.; GROSSO, C.R.F. Microencapsulation of Lycopene by Spray Drying: Characterization, Stability and Application of Microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, p.37-42, 2012.
- SOOTTITANTAWAT, A.; YOSHII, H.; FURUTA, T.; OHKAWARA, M.; LINKO, P. Microencapsulation by Spray Drying: Influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. **Journal of Food Science**, v.68, n.7, p.2256-2262, 2003.
- TONON, R.V.; GROSSO, C.R.; HUBINGER, M.D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v.44, p.282-289, 2011.