



INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos-CCQA

MARÍLIA PINHEIRO FILIPONI

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
CONTENDO COMPLEXOS DE FERRO E PEPTÍDEOS

CAMPINAS
2018

MARÍLIA PINHEIRO FILIPONI

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
CONTENDO COMPLEXOS DE FERRO E PEPTÍDEOS**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Tecnologia de Alimentos para obtenção do
título de Mestre em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.*

Aluna: Marília Pinheiro Filiponi

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Teresa
Bertoldo Pacheco

Coorientadora: Dr.^a Izabela Dutra Alvim

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação defendida pelo aluno Marília Pinheiro Filiponi e orientada pelo Profa. Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco.

CAMPINAS

2018

Agência(s): Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

Nº do proc.: 2016/12660-3

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO ITAL

F483 Filiponi, Marília Pinheiro. Desenvolvimento e caracterização de micropartículas contendo complexos de ferro e peptídeos. Marília Pinheiro Filiponi / Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, SP: ITAL-Instituto De Tecnologia de alimentos, 2018.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Teresa Bertoldo Pacheco (orientador)
1.Spray drying. 2.Absorção de Fe 3.microencapsulação.4.MEV/EDX.
Instituto de Tecnologia de alimentos, CCQA – Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos. I. Instituto De Tecnologia de Alimentos – ITAL. II. Marília Pinheiro Filiponi. III. Título

Título em inglês: Development and characterization of iron and peptide containing microparticles

Key-words: spray drying, Fe absorption, microencapsulation, MEV/EDX

Titulação: Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Banca Examinadora: Dr^a Maria Teresa Bertoldo Pacheco (orientadora)

Dr^a Izabela Dutra Alvim (coorientadora)

Dr. Marcelo Antonio Morgano (titular)

Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso (titular)

Data da Defesa: 12 de março de 2018

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida por Marília Pinheiro Filiponi, aprovada pela Comissão Julgadora em 12 de março de 2018.

Profa. Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco
Instituto de Tecnologia de Alimentos - CCQA ITAL
(Presidente)

Profa. Dra. Izabela Dutra Alvim
Instituto de Tecnologia de Alimentos - CHOCOTEC ITAL
(Coorientadora)

Prof. Dr. Marcelo Antonio Morgano
Instituto de Tecnologia de Alimentos - CCQA ITAL (titular)

Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR (titular)

Dra. Fiorella Dantas
Instituto de Tecnologia de Alimentos - CETEA ITAL (suplente)

A ata de defesa de dissertação de mestrado com as respectivas assinaturas dos membros da banca encontra-se arquivada junto à documentação do aluno

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os meus familiares, principalmente aos meus pais Antonio e Cristina, minha irmã Thaís, aos meus avós Frederico e Elza, que participaram comigo dando coragem, apoio constante, paciência, compreensão, empenho, conselhos, ajuda, entusiasmo, entendimento e, principalmente a motivação de conseguir realizar este sonho, amparando-me nos momentos difíceis. E aos professores e amigos que, de alguma forma, deram o necessário apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me acompanhar, iluminar e pela existência e proteção de todos os dias.

A orientadora professora Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco, pela atenção, ensinamentos, confiança, apoio e orientação ao longo desses anos na realização deste trabalho.

A pesquisadora Dra. Izabela Dutra Alvim, pela coorientação, ajuda, paciência, me auxiliando e contribuindo para o desenvolvimento deste trabalho. Assim como, estimulando o meu interesse pelo tema de microencapsulação.

Aos meus queridos avós Frederico e Elza, aos meus pais Cristina e Antonio e a minha irmã Thaís, pelo amor, carinho, ajuda, incentivo, paciência, apoio. Ao meu namorado Junior pelos momentos de incentivo e compreensão. E a todos os familiares por existirem e preencherem a minha vida.

A todos os amigos pelos bons momentos passados juntos e que jamais serão esquecidos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto.

À Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio (FUNDEPAG), pela bolsa concedida.

À equipe de funcionários de apoio do CCQA/ITAL.

A todos que diretamente e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, ajudando a realizar esta conquista.

RESUMO

A microencapsulação é uma técnica utilizada para a proteção e liberação controlada de compostos bioativos, aromas e outros componentes. Além da proteção, essa técnica pode auxiliar a mascarar os sabores indesejáveis de componentes a serem adicionados a alimentos, bebidas e produtos farmacêuticos. Peptídeos de isolado proteico do soro de leite complexados ao ferro apresentam elevada bioacessibilidade do micronutriente e são fontes de ferro para fortificação de alimentos. Contudo, o complexo Fe-peptídeo (Fe-P) apresenta aroma e sabor desagradáveis ao consumidor. Sob esse contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver micropartículas utilizando polissacarídeos como material de parede, para veicular o ativo (Fe-P) na forma seca, com intenção de obter um ingrediente com potencial de ser aplicado na fortificação de ferro em produtos alimentícios. As micropartículas foram produzidas em um spray dryer de escala laboratorial, utilizando como materiais de parede uma mistura de biopolímeros (maltodextrina e polidextrose) e como ativo o complexo Fe-peptídeo adicionado de ácido ascórbico. A maltodextrina sem adição de ativo foi usada como controle. Foram determinados a eficiência de encapsulação e rendimento do processo. As amostras secas foram caracterizadas logo após a produção e ao longo de 180 dias quanto à umidade, atividade de água (A_w), cor (L^* , a^* , b^*), densidade aparente, diâmetro médio e distribuição de tamanho de partículas, morfologia eletrônica de varredura com dispersão de energia de raios X (EDX). As amostras apresentaram rendimentos de processo superiores a 83% e a eficiência de encapsulação do ativo de 84%, parâmetros satisfatórios para a escala do equipamento utilizado. Durante o armazenamento, as amostras apresentaram variações de umidade e A_w , que não impactaram na estabilidade física das amostras (morfologia e parâmetros de tamanho). Ocorreu alteração de cor nas amostras durante o armazenamento em relação a amostra controle. A análise de EDX mostrou que o ferro está presente na superfície das micropartículas, podendo ter contribuído para a alteração de cor observada. As amostras desenvolvidas evidenciaram elevado potencial como ingrediente inovador para veiculação do complexo Fe-P.

Palavras-chave: complexo ferro peptídeos; spray drying; isolado proteico de soro de leite; MEV/EDX; hidrolisados proteicos.

ABSTRACT

The microencapsulation is a technique used for the controlled protection and release of bioactive compounds, flavors and other components. In addition, this technique may assist in masking undesirable flavors of components added to foods, beverages and pharmaceuticals. Peptides from whey protein isolate complexed to iron have high bioaccessibility of this micronutrient and are sources of iron for food fortification. However, the Fe-peptide complex (Fe-P) has unpleasant aroma and taste to the consumer. In this context, the present study aimed to develop microparticles using polysaccharides as a wall material to transport active (Fe-P) in the dry form, with the intention of obtaining an ingredient with the potential to be applied in the fortification of iron in food products. The microparticles were produced in a spray dryer of laboratory scale, using as wall materials a mixture of biopolymers (maltodextrin and polydextrose) and as active the Fe-peptide complex added with ascorbic acid. Maltodextrin without addition of active was used as control. The efficiency of encapsulation and yield of the process were determined. The dry samples were characterized immediately after production and over 180 days for moisture, water activity, color (L, a, b), apparent density, mean diameter and particle size distribution, morphology scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray microanalysis (SEM/EDX). The samples presented process yields greater than 83% and the efficiency of the encapsulation of the active of 83.9%, which were parameters satisfactory for the scale of the equipment used. During storage, the samples showed significant variations of humidity and A_w , which did not affect the physical stability of the samples (morphology and size parameters), however, the increase in humidity may have caused changes in the color of samples containing Fe-P in relation to the sample control (without active). These results indicate a possible change in the iron form present on the surface of the particles that was evidenced by the EDX analysis, and the need to select a package with better barrier for water and oxygen entry. The developed samples showed potential as an ingredient for the Fe-P complex. However, it is necessary to improve the matrix profile and the selection of packaging material to ensure iron stability.

Key words: complex iron peptides; spray drying; whey protein isolate; SEM/EDX; protein hydrolysates.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
SUMÁRIO.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	ix
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	7
Objetivo principal.....	7
Objetivos específicos	7
CAPÍTULO 1.....	8
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
CAPÍTULO 2.....	34
1. Introdução.....	36
2. Materiais e métodos.....	37
3. Resultados e discussão	46
4. Conclusões	66
Referências	66
CONCLUSÕES GERAIS	71
ANEXO 1	72
ANEXO 2.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADF – Anemia por deficiência de ferro

AOAC – Official methods of analysis

Aw – Atividade de água

C - Chroma

Cl – Cloro

C-M – Controle de maltodextrina, micropartículas secas em spray dryer sem adição de Fe-peptídeo

DCCR – Delineamento composto central rotacional

DE – Dextrose equivalente

DF – Deficiência de ferro

ΔE – Delta E

DP – Grau de polimerização

D50 – Diâmetro médio

EDX – Microanálise de raios-x por dispersão de energia

EE – Eficiência de encapsulação

FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura

Fe - Ferro

Fe-P – Ferro-peptídeo

GH – Grau de hidrólise

HCl – Ácido clorídrico

ICP-OES - Espectrômetro de emissão com fonte de plasma com acoplamento indutivo

IDR – Ingestão diária recomendada

IPS - Isolado proteico de soro de leite

kDa - Quilodalton

MD – Maltodextrina

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

M-FeP – Micropartícula de maltodextrina contendo o complexo Fe-peptídeo processada no spray dryer

MP-FeP – Micropartícula de maltodextrina e povidone contendo o complexo Fe-peptídeo processada no spray dryer

Na – Sódio

NaOH – Hidróxido de sódio

OMS/WHO – Organização mundial da saúde/World Health Organization

PD - Polidextrose

PNSF – Programa de suplementação de ferro

RDC - Resolução da diretoria colegiada

RF – Rádio frequência

RP – Recuperação de proteínas

RS – Rendimento de secagem

INTRODUÇÃO

A modernização e a incorporação das novas tecnologias nas indústrias de alimentos, tem como objetivo otimizar processos, aumentar a vida útil e melhorar as características nutricionais e sensoriais dos seus produtos. Vale ressaltar que comparativamente às outras indústrias, como farmacêutica, agroquímica e cosmética, o desenvolvimento de produtos contendo ingredientes ativos é geralmente mais desafiador na indústria alimentícia (FAVARO-TRINDADE, PINHO, ROCHA, 2008). A inovação de produtos contendo compostos ativos e inovadores se justifica pelas tendências do mercado consumidor em buscar produtos que englobam sensorialidade e prazer; saudabilidade e bem-estar; conveniência e praticidade; confiabilidade e qualidade e finalmente sustentabilidade e ética (FIESP/ITAL, 2010).

Neste cenário de inovações tecnológicas, a microencapsulação apresenta um importante papel para o setor de alimentos com diversas funções, dentre as quais, de proteger o material encapsulado de fatores que possam vir a causar a sua deterioração, como oxigênio, luz ou umidade; mascarar ou preservar sabores e aromas; transformar ingredientes líquidos em sólidos para facilitar a manipulação, dentre outras (DESAI & PARK, 2005).

Um dos processos mais tradicionais na indústria alimentícia é a secagem por atomização (*spray drying*). Esse processo apresenta diversas vantagens por se tratar de um processo economicamente viável e produzir pós de boa qualidade. Na microencapsulação de compostos bioativos o processo de *spray drying* pode ser utilizado para conversão de ativos líquidos em pós (ampliando a utilização e facilitando o manuseio), sendo também um dos mais indicados para a encapsulação de compostos sensíveis ao calor, sem alterar significativamente suas funções nutricionais, pois o processo de secagem ocorre quase instantaneamente (DIAS, et al., 2017; FANG E BHANDARI, 2011; RÉ, 1998).

Desde a antiguidade diversas substâncias importantes para a saúde vêm sendo estudadas, onde o ferro se destaca pela importância do seu papel sobre o metabolismo humano (LIRA & FERREIRA, 2007). Esse mineral é um nutriente essencial para o desenvolvimento e crescimento celular nos sistemas imune e neural, assim como na regulação do metabolismo energético. Sua deficiência é globalmente

conhecida como o fator predominante para o aparecimento da anemia (WHO, 2012; BRASIL, 2013a).

A anemia é um problema de saúde pública que afeta tanto os países ricos como os pobres. Embora a ausência do ferro seja sua principal causa, frequentemente existem outros fatores relacionados tais como doenças (malária), infecções parasitárias, hemoglobinopatias e as deficiências nutricionais (WHO, 2008).

O combate da anemia é reconhecido como uma estratégia importante para manutenção da saúde de mulheres e crianças, sendo alvo de prioridade na nutrição global projetada para 2025, principalmente em países de baixa renda onde a prevalência de anemia ferropriva continua a ser elevada (WHO, 2015). Três estratégias podem ser citadas para a prevenção e combate da deficiência de ferro: fortificação, suplementação e diversificação de alimentos (HERTRAMPF, 2002; TURNER, 2002; WHO, 2008).

No Brasil uma das estratégias empregadas para suprir o ferro necessário para a população é a suplementação profilática desse nutriente através do Programa Nacional de Suplementação de Ferro (PNSF), em atividade desde de 2005, onde é utilizado o sulfato ferroso. Outra ação preventiva é a fortificação de farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico, conforme disposto na Resolução RDC nº 150 de 2017, da Anvisa (BRASIL, 2017).

A suplementação com sais de ferro em alimentos diversos e de elevado consumo é uma estratégia para assegurar e melhorar o acesso da população a esse micronutriente. Contudo, a inclusão de sais de ferro em formulações alimentícias constitui um desafio para a indústria devido as possíveis alterações que os íons metálicos podem ocasionar nas características sensoriais dos alimentos como no sabor, odor e cor (AUGUSTIN, SANGUANSRI, 2012).

Outro requerimento importante referente ao consumo de alimentos fortificados em ferro é a absorção desse nutriente de forma e quantidade adequadas pelo organismo. Em algumas de suas apresentações o ferro (ex. ferro não-heme) é geralmente insolúvel, com baixa biodisponibilidade, que por sua vez é influenciada por muitos componentes dietéticos (GULEC, ANDERSON, COLLINS, 2014).

A complexação do ferro com peptídeos (Fe-peptídeos, Fe-P) é considerada como uma alternativa para melhorar a absorção desse elemento no organismo, conforme verificado em estudos anteriores realizados pelo nosso grupo. Foram

encontrados resultados positivos em estudos de solubilidade e dialisabilidade do ferro a partir dos complexos Fe-P, com potencial de abrandar os problemas relacionados à fortificação com esse mineral, com melhoria da absorção (de LA HOZ et al., 2014a; de LA HOZ et al., 2014b; CAETANO-SILVA et al., 2015; CAETANO-SILVA et al., 2016; CAETANO-SILVA et al., 2017; CAETANO-SILVA et al., 2018).

Pelo exposto, esse trabalho teve como objetivo a obtenção de complexos de Fe-peptídeo microencapsulados em matrizes poliméricas, utilizando a técnica de spray drying, visando desenvolver um ingrediente em pó com potencial para aplicação em alimentos. O componente ativo utilizado na produção das micropartículas foi preparado a partir de proteínas hidrolisadas do soro de leite bovino, onde apenas a fração de baixo peso molecular (peptídeos < 5 kDa) foi complexada aos íons metálicos de ferro. Foram determinados a eficiência de encapsulação e rendimento do processo. As micropartículas produzidas com diferentes materiais de parede foram caracterizadas logo após a produção e ao longo de 180 dias quanto à umidade, atividade de água, cor (L^* , a^* , b^*), densidade aparente, diâmetro médio e distribuição de tamanho de partículas e microanálise de raios-X por dispersão de energia (MEV/EDX).

Organização do conteúdo da dissertação

Para facilitar a apresentação dos resultados obtidos nesta dissertação o conteúdo foi dividido em capítulos, descritos a seguir:

A dissertação inicia com uma introdução geral e objetivos geral e específicos.

O Capítulo 1 apresenta uma revisão bibliográfica que contempla os principais conceitos necessários para compreensão desse trabalho.

No Capítulo 2 a metodologia e os resultados do trabalho são apresentados na forma de um artigo a ser submetido a revista Food Trends International.

O Anexo 1 apresenta uma patente já depositada (outubro de 2017). O Anexo 2 traz a relação do título dos trabalhos apresentados em Congressos Nacionais e Internacionais.

Para finalizar são apresentadas as conclusões gerais deste trabalho.

Referências bibliográficas

AUGUSTIN, M. A.; SANGUANSRI, L. Challenges in developing delivery systems for food additives, nutraceuticals and dietary supplements. In: **Encapsulation technologies and delivery systems for food ingredients and nutraceuticals**. 1 ed. Elsevier Masson SAS, 2012. p. 19-48. Disponível em: <<https://doi.org/10.1533/9780857095909.1.19>>. Acesso em: 30 de jan. 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Ano IV, nº 09, junho de 2013a. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4ca38c0044ad8113b9bffb34353a0b82/saude_economia9_2.pdf?MOD=AJPERES> Acesso: 15 de mai. 2016.

BRASIL. Resolução – RDC nº 150, de 13 de abril de 2017. Dispõe sobre o enriquecimento das farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.sindustriago.com.br/recursos/files/RDC%20150.pdf>>. Acesso em: 16 de març. 2018.

CAETANO-SILVA, M. E.; BERTOLDO-PACHECO, M. T.; PAES-LEME, A.F.; NETTO, F. M. Iron-binding peptides from whey protein hydrolysates: Evaluation, isolation and sequencing by LC-MS/MS. **Food Research International Journal**, v.71, n.3, p.132-139, 2015.

CAETANO-SILVA, M. E., CILLA, A., BERTOLDO-PACHECO, M. T., NETTO, F. M., ALEGRÍA, A. Evaluation of in vitro iron bioavailability in free form and as whey peptide-iron complexes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 61, n.3, p. 1-27, 2017.

CAETANO-SILVA, M. E., ALVES, R. C., LUCENA, G. N., FREM, R. C. G., BERTOLDO-PACHECO, M. T., LIMA-PALLONE, J. A., & NETTO, F. M. Synthesis of whey peptide-iron complexes: Influence of using different iron precursor compounds. **Food Research International**, v. 101, n.6, p. 73-81, 2017.

CAETANO-SILVA, M. E., MARIUTTI, L. R. B., BRAGAGNOLO, N., PACHECO, M. T. B., NETTO, F. M. Whey peptide-iron complexes increase the oxidative stability of oil-in-water emulsions in comparison to iron salts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.66, n.11, p. 1981-1989, 2018.

DE LA HOZ, L., PONEZI, A. N., MILANI, R. F., DA SILVA, V. S. N., DE SOUZA, A. S., BERTOLDO-PACHECO, M. T. Iron-binding properties of sugar cane yeast peptides. **Food Chemistry**, v.142, n.1, p. 166–169, 2014a.

DE LA HOZ, L.; SILVA, V. S. N.; MORGANO, M. A.; PACHECO, M.T.B. Small peptides from enzymatic whey hydrolysates increase dialyzable iron. **International Dairy Journal**, v. 38, n. 2, p. 145-147, 2014b.

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

DIAS, D. R., BOTREL, D. A., FERNANDES, R.V.B., BORGES, S.V. Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Current Opinion in Food Science**, v.13, n.2, p.31-37, 2017.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p. 1139-1147, 2011.

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

FIESP/ITAL – Federação das Indústrias do Estado de São Paulo – Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Brasil Food Trend 2020**. São Paulo. FIESP/ITAL, 173p., 2010. Disponível em: http://www.brasilfoodtrends.com.br/Brasil_Food_Trends/. Acesso em: 15 de Jan. 2018.

GULEC, S.; ANDERSON, G. J., COLLINS, J. F. Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 307, n. 4, p. 397-409, 2014.

HERTRAMPF, E. Iron fortification in the Americas. **Nutrition review**, v.60, n. 7, p. S22- S25, 2002.

LIRA, P. I. C., FERREIRA, L. O. C. Epidemiologia da anemia ferropriva. In: KAC, G., SICHIERI, R., and GIGANTE, DP., orgs. Epidemiologia nutricional [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ/Atheneu, 2007, p. 297-323. Disponível em: <<http://books.scielo.org>>. Acesso em: 02 de fev. 2018.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, n.6, p.1195-1236, 1998.

TURNER, L. Monterrey workshop summary: evaluating the usefulness of elemental iron powders. **Nutrition Reviews**, v. 60, n.7 p. S16-S17, 2002.

WHO. **Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005: WHO global database on anaemia**. Edited by Bruno de Benoist, Erin McLean, Ines Egli and Mary Cogswell. Spain: World Health Organization, 2008. 40 p.

WHO. **Guideline: daily iron and folic acid supplementation in pregnant women**. World Health Organization, Geneva, 2012. 32 p.

WHO. **The global prevalence of anaemia in 2011**. Geneva: World Health Organization, 2015. 43 p.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

- Obter complexos de Fe-peptídeos encapsulados em matrizes poliméricas, utilizando a técnica de spray drying, visando desenvolver um ingrediente em pó com potencial para aplicação em alimentos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtenção do hidrolisado a partir das proteínas isoladas do soro de leite com a enzima Alcalase®;
- Fracionamento dos peptídeos menores de 5 kDa por ultrafiltração em membrana de fluxo tangencial;
- Síntese dos complexos Fe-peptídeos, utilizando o sal sulfato ferroso;
- Seleção e avaliação de diferentes formulações utilizando misturas de biopolímeros como parede para secagem;
- Microencapsulação do ativo por secagem em spray dryer, avaliação do rendimento do processo de secagem e recuperação do ativo microencapsulado;
- Caracterização físico-química e morfologia eletrônica de varredura com dispersão de energia de raios x das micropartículas;
- Acompanhamento de alguns parâmetros da estabilidade das amostras durante o armazenamento por 180 dias.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. O Ferro e sua importância

O ferro é um elemento inorgânico abundante na crosta terrestre e na maioria das formas de vida, incluindo os mamíferos, que o utilizam em muitos processos biológicos (GULEC, ANDERSON, COLLINS, 2014). O ferro participa do transporte do oxigênio aos tecidos, do controle do crescimento e diferenciação celular, assim como do metabolismo energético (COZZOLINO, 2009; CAMASCHELLA, 2017). A participação do ferro nos processos fisiológicos deriva especialmente da capacidade desse metal existir em dois estados de oxidação sendo eles o férrico (Fe^{3+}) e o ferroso (Fe^{2+}). Esta propriedade química do ferro possibilita sua participação nas reações de oxido-redução (transferência de elétrons), assim como, em potencial toxicidade se não for devidamente administrado por células e tecidos (GULEC, ANDERSON, COLLINS, 2014).

Como o ferro apresenta uma função essencial ao metabolismo vivo, sua deficiência ocasiona prejuízos ao desenvolvimento físico e mental, já nos primeiros estágios do desenvolvimento humano. Ao mesmo tempo, devido sua reatividade química pode gerar radicais livres, através da reação de Fenton, ocasionando oxidação de lipídeos, proteínas e até mesmo do DNA. O excesso de ferro pode causar danos nas células e tecidos e levar a consequências adversas, como, hemocromatose e anemia hemolítica (ZHANG, GHOSH, ROUAULT, 2014; CAETANO-SILVA et al., 2015).

O ferro utilizado pelo organismo é obtido de duas fontes principais, através da dieta e da reciclagem de hemácias senescentes. Aproximadamente 25 mg são reciclados diariamente, a partir dos eritrócitos senescentes, que são removidos da circulação pelos macrófagos e retornam à medula óssea transportados pelas transferrina. Uma dieta normalmente contém de 13 a 18 mg de ferro, dos quais somente 1 a 2 mg serão absorvidos (MACKENZIE, 2008; CANÇADO, LOBO, FRIEDRICH, 2010; GROTTTO 2008).

Nos alimentos, o ferro existe na forma heme e não heme. O ferro heme é derivado predominantemente de hemoglobina e mioglobina das carnes, sua absorção

é eficiente e em grande parte não influenciada por outros componentes da dieta (GROTTO, 2010; GULEC, ANDERSON, COLLINS, 2014). Por outro lado, o ferro não-heme é encontrado em alimentos de origem vegetal como por exemplo, hortaliças folhosas verde-escuras (brócolis, couve e espinafre) e leguminosas (feijão e lentilha), é geralmente insolúvel, e sua biodisponibilidade influenciada por muitos componentes dietéticos. O ácido gástrico do organismo e o ácido ascórbico ingerido na alimentação promovem a redução e solubilização do ferro ferroso dietético e assim melhoram a absorção (GULEC, ANDERSON, COLLINS, 2014; HURREL, 1997).

2. Anemia

Anemia é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a condição na qual o conteúdo de hemoglobina no sangue está abaixo do normal, resultado da ausência de um, ou mais nutrientes essenciais. A anemia ferropriva ou anemia por deficiência de Fe é a alteração hematológica mais comum, resultante de longo período de balanço negativo entre a quantidade de ferro biologicamente disponível e a necessidade orgânica desse micro mineral (WHO, 2012; BRASIL 2013a).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que a prevalência de anemia em crianças menores de cinco anos no Brasil, varia de 30 a 70%, sendo as maiores prevalências (>50%) observadas em crianças com idade abaixo de 24 meses. Na América Latina e no Caribe este índice é de 39,5% e a prevalência global em crianças menores de cinco anos é de 47% (BRASIL, 2008). Estudos regionais no Brasil mostram uma tendência de aumento na prevalência em crianças, de modo que a anemia hoje é considerada a carência nutricional nacional mais predominante, superando a desnutrição energético-proteica (VIEIRA & FERREIRA, 2010).

A deficiência de ferro pode levar a sintomas de anemia, os quais podem incluir fadiga, taquicardia e falta de resistência, além de picamalácia (DELOUGHERY, 2016).

Para mulheres em idade fértil, a deficiência de ferro pode representar risco de morte, tanto para elas, quanto para seus filhos durante o período pré-natal e comprometer o desenvolvimento físico e mental de crianças, prejudicando a capacidade de aprendizagem na infância refletindo no desempenho intelectual de adultos (SZARFAC, 2010). As gestantes têm maior risco de desenvolver deficiência de ferro (DF) e anemia por deficiência de ferro (ADF) pelas altas demandas fisiológicas

próprias e da unidade feto-placentária, difíceis de serem supridas apenas pela dieta, além da perda sanguínea que pode ocorrer durante o parto (BRASIL, 2014).

Embora seja fácil diagnosticar a DF e a ADF devido à diminuição da ingestão de ferro, outras circunstâncias podem ocasionar um aumento de sua demanda. Tais situações como a perda de sangue crônica ou diminuição da absorção intestinal, sendo extremamente mais complexo reconhecer a deficiência de ferro quando é mascarada por distúrbios inflamatórios crônicos (CAMASCHELLA, 2017).

O Ministério da Saúde resume como sendo os mais afetados pela deficiência de ferro, os indivíduos mais pobres, mais vulneráveis e menos educados. Por isso, eles são mais beneficiados com a reposição de ferro através da suplementação, oferecidas pelo governo nas Unidades Básicas de Saúde (BRASIL, 2014).

No Brasil foram adotadas duas grandes ações de combate à anemia por deficiência de ferro: a fortificação obrigatória de farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico, conforme consta na Resolução RDC nº 150 de 2017, da Anvisa (BRASIL, 2017) e a implementação do Programa Nacional de Suplementação de Ferro (PNSF) para crianças e gestantes (BRASIL, 2013b).

3. Estratégias para veiculação de nutrientes

Os nutrientes essenciais para a manutenção da saúde no ser humano são fornecidos em grande parte pela alimentação. As fontes podem ser naturais ou industrializadas. Dentre os alimentos processados pode-se diferenciar os produtos de acordo com a seguinte classificação:

- Alimento fortificado ou enriquecido de nutrientes todo alimento ao qual foi adicionado um ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo e/ou prevenir ou corrigir deficiências demonstradas em um ou mais nutrientes, na alimentação da população ou em grupos específicos, de acordo com a Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998a).
- Suplemento alimentar: *“Suplementos vitamínicos e/ou de minerais são alimentos que servem para contemplar com estes nutrientes a dieta diária*

de uma pessoa saudável, em casos onde sua ingestão a partir da alimentação, seja insuficiente ou quando a dieta requerer suplementação". Devem conter um mínimo de 25%, e no máximo até 100% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitaminas e ou minerais, na porção diária indicada pelo fabricante, não podendo substituir os alimentos, nem serem considerados como dieta exclusiva, de acordo com a Portaria n^o 32, de 13 de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 1998b).

3.1 Fortificação de alimentos com ferro

A fortificação de alimentos de amplo consumo, regular e frequentemente é uma estratégia adotada em muitos países, para melhorar os estoques de micronutrientes, como o Fe e assim reduzir o risco de múltiplas deficiências (FAO/WHO, 2007).

Vários produtos se apresentam fortificados com ferro, como por exemplo os cereais matinais, leite, bebidas à base de soja, condimentos e café. Contudo, a utilização deste mineral em matrizes alimentares apresenta alguns desafios, que precisam ser superados, tais como, variações na biodisponibilidade do ferro, alterações sensoriais e indesejáveis de cor, formação de sedimentos e seu efeito sobre a oxidação lipídica (SUGIARTO, YE & SINGH, 2009; ARCANJO, AMANCIO, BRAGA, 2009).

3.2 Suplementação de mineral

Os suplementos minerais são empregados para complementar a alimentação diária de uma pessoa saudável. Para pacientes em tratamento da anemia, a melhor via de reposição do Fe é oral, sendo que a dose terapêutica varia de acordo com a idade, massa corporal e com a condição fisiológica do indivíduo (BRASIL, 2005).

Os principais compostos com ferro para suplementação via oral são: o ferro carbonílico, citrato de amônio férrico, bisglicinato ferroso, fumarato ferroso, gluconato ferroso, sulfato ferroso, ferripolimaltose, poliptídeo de ferro heme e o complexo ferro-polissacarídeo (PHARMACIST'S LETTER, 2008; CANÇADO, LOBO, FRIEDRICH, 2010).

No Brasil, o sulfato ferroso é o sal de escolha utilizado na reposição de ferro, sendo desenvolvidas ações de suplementação profilática desde 2005, através do Programa Nacional de Suplementação de Ferro (PNSF). Conforme estabelecido a recomendação de suplementação de Fe para tratamento da anemia ferropriva em crianças menores de dois anos é de 3mg de ferro/Kg/dia, não devendo ultrapassar a 60 mg por dia e para adultos é de 120 mg de ferro elementar/dia por três meses (BRASIL, 2013b).

4. Secagem por atomização

4.1 Aspectos gerais

A secagem por atomização, nebulização ou “spray drying” foi desenvolvida na metade do século XVIII, quando foi patenteada a primeira operação de secagem de ovos. Já no século XX, na década de 20 iniciou-se a utilização desse processo em escala industrial, sendo os primeiros produtos o leite e o sabão em pó (GHARSALLAOUI et al., 2007; REINECCIUS, 2001).

A secagem por spray drying é um dos processos mais utilizados na indústria de alimentos. Consiste numa operação flexível, contínua, de produção em larga escala e principalmente econômica, onde um líquido é transformado em um produto seco, na forma de pó, num tempo de secagem relativamente curto. O processo produz partículas cujo tamanho pode variar, sendo observado produtos com faixas de diâmetro médio entre 5 a 150 μm dependendo das características do equipamento e do produto a ser seco (RÉ, 1998; NEDOVIC et al., 2011, FAVARO-TRINDADE, PINHO, ROCHA, 2008).

Oliveira e Petrovick (2010) citam como vantagens do processo de secagem por spray drying a formação de inúmeras gotículas que pode facilitar a troca térmica e a transferência de massa, aumentando o rendimento e a rapidez do processo. A técnica pode ser aplicada para produtos termos sensíveis, uma vez que o tempo de contato entre estes e o ar aquecido é muito rápido, permitindo que na maioria das vezes não sejam causados danos consideráveis no produto (CARMO, FERNANDES, BORGES, 2015).

Embora o uso da secagem por atomização esteja consolidado na indústria alimentícia, esta técnica apresenta algumas variáveis de processo que podem afetar a obtenção e características dos produtos obtidos. As principais variáveis são: (1) líquido a ser atomizado (concentração, viscosidade, temperatura, vazão mássica), (2) atomizador (tipo e mecanismo de funcionamento) e (3) ar de secagem (velocidade, temperatura de entrada e saída, pressão) (RÉ, 1998; NEDOVIC et al., 2011).

O processo de secagem consiste basicamente na pulverização do líquido em um compartimento que recebe um fluxo de ar quente, de modo que a rápida evaporação da água das gotículas formadas permite manter baixa a temperatura das partículas. Este processo consiste de 4 etapas fundamentais (RÉ, 1998; OLIVEIRA & PETROVICK, 2010):

- O fluído é disperso como gotículas, produzindo uma grande área superficial;
- Ocorre contato destas gotículas com uma corrente de ar aquecido, havendo transferência de calor;
- Acontece a evaporação do solvente e a formação da partícula sólida. Com a transferência de calor do ar aquecido às gotículas, o líquido da superfície evapora-se rapidamente e as partículas solidificadas geralmente apresentam, o mesmo tamanho e forma, da gotícula que as originou;
- Ocorre o transporte do produto de secagem por uma corrente de ar permitindo então, que este seja coletado posteriormente finalizando as etapas.

4.2 Microencapsulação

A microencapsulação é uma tecnologia de empacotamento, sendo definida por um processo onde pequenas partículas sólidas, gotas de líquidos ou compostos gasosos são envolvidas por uma cobertura resultando em micropartículas. É conhecida por proteger substâncias sensíveis contra condições adversas incompatíveis do ambiente externo, permitindo, adicionalmente, uma liberação controlada dessas substâncias quando necessário. O material encapsulado é chamado de recheio, ativo, núcleo ou fase interna, enquanto o material que forma o revestimento é chamado de material de parede, carreador, membrana ou agente encapsulante (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007; PAULO & SANTOS, 2017).

O processo de microencapsulação é aplicado por várias razões: (1) proteger o material do núcleo da degradação, reduzindo sua reatividade com o ambiente externo (por exemplo, calor, umidade, ar e luz) e aumentando sua estabilidade; (2) reduzir ou retardar a taxa de evaporação ou transferência do material do núcleo para o exterior; (3) modificar as características físicas do material original facilitando o manuseio; (4) liberar gradualmente o ativo encapsulado ao longo do tempo ou em um determinado local específico; (5) mascarar o sabor ou aroma do ativo encapsulado; (6) controlar a dosagem do material encapsulado, quando uma pequena quantidade é requerida possibilitando uma dispersão uniforme no material no sistema desejado, e finalmente (7) pode ser empregado para separar diferentes componentes dentro de um mistura, os quais na forma livre reagiriam entre si (CARMO, FERNANDES, BORGES 2015; RAY, RAYCHAUDHURI, CHAKRABORT, 2016).

Em relação à estrutura física, as micropartículas podem ser classificadas em dois grupos, as microcápsulas ou microesferas. A principal diferença entre elas consiste na localização e distribuição do ativo (AZEREDO, 2005; GHARSALLAOUI *et al.*, 2007; MOHAN *et al.*, 2015; WANDREY, BARTKOWIAK, HARDING, 2009). As microcápsulas consistem em estruturas, onde o ativo está situado na região central, envolvido por uma camada de filme polimérico. São tipicamente produzidas por coacervação complexa, secagem em leito fluidizado, co-extrusão e inclusão molecular. Já as microesferas ou micropartículas constituem um sistema matricial, no qual o polímero forma uma rede tridimensional onde o material a ser microencapsulado fica incorporado ou distribuído por toda a matriz. As microesferas

podem ser produzidas em processos físicos como por *spray drying* e *spray chilling* também em processos físico-químicos como gelificação iônica (que também é apto a produzir cápsulas). As micropartículas obtidas por *spray drying* podem conter uma região vazia no centro da estrutura resultante da expansão das partículas durante os estágios finais da secagem (RÉ, 1998; FANG & BHANDRI, 2010; RAY RAYCHAUDHURI, CHAKRABORT, 2016; PAULO, 2017; JAFARI et al., 2008). A Figura 1 ilustra os dois tipos de micropartículas.

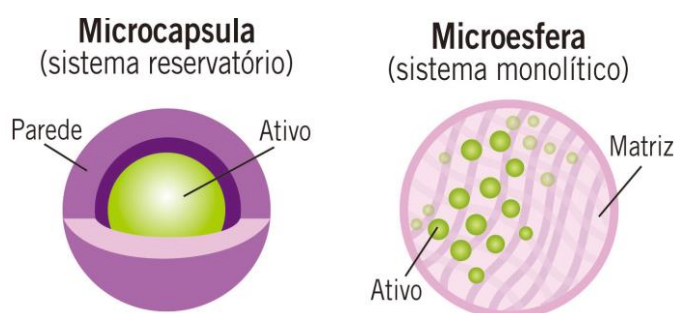


Figura 1. Estruturas das micropartículas (adaptado de ALVIM et al., 2013)

Os primeiros registros de aplicação da técnica de microencapsulação datam da década de 1930, sendo estudada e empregada em diversas áreas industriais. O primeiro produto comercial contendo material microencapsulado surgiu em 1954, desenvolvido por Green e Schleicher. A invenção consistiu na técnica de preparação de microcápsulas por coacervação complexa, contendo corantes especiais como ativo, as quais foram desenvolvidas para serem incorporadas em papel produzindo o sistema de papel cópia sem carbono, que revolucionou o segmento de máquinas registradoras (SUAVE, 2006; ALVIM et al., 2013; PAULO & SANTOS, 2017).

A microencapsulação pode ser aplicada em diversas áreas como agricultura, alimentos, farmácia, química, biotecnologia, indústria têxtil dentre outras. No que diz respeito à indústria alimentícia, os produtos encapsulados encontraram muitas aplicações para ativos como corantes, acidulantes, lipídeos, aromas, minerais, vitaminas e outros ingredientes alimentícios sensíveis, com intuito de aumentar sua estabilidade no produto durante a vida de prateleira. Nos últimos anos a microencapsulação também tem sido aplicada na proteção e veiculação de células vivas (micro-organismos, probióticos) e enzimas (RAY, RAYCHAUDHURI, CHAKRABORT, 2016; FANG & BHANDARI, 2010).

Na indústria alimentícia, a utilização da microencapsulação está se intensificando devido aos novos desafios que surgem no desenvolvimento de novas formulações, que procuram responder às necessidades e/ou desejo dos consumidores; muitas vezes, de extrema complexidade (UBBINK & KRUEGER, 2006). Dessa forma, a microencapsulação deixa de ser somente um método de agregar substâncias a uma formulação alimentar, para tornar-se numa fonte de ingredientes totalmente novos e com propriedades únicas (ANEKELLA & ORSAT, 2013).

Devido as demandas do mercado consumidor, a indústria alimentícia vem desenvolvendo produtos contendo cada vez mais ingredientes funcionais (MOHAN et al., 2015). Geralmente esses ingredientes são instáveis as condições do ambiente e do processamento, assim como podem sofrer degradação durante o processo digestivo (NEDOVIC et al., 2011). Neste contexto, a microencapsulação se apresenta como uma ferramenta tecnológica para superar os problemas mencionados, proporcionando uma proteção efetiva para essas substâncias sensíveis (NEDOVIC et al., 2011; PAULO, 2017).

Além da preservação da estabilidade durante o processamento e armazenamento, as substâncias funcionais também têm sido encapsuladas com o intuito de evitar interações indesejáveis destas com os outros ingredientes presentes nas matrizes alimentícias, que podem desencadear uma degradação mais rápida do produto e perda de algumas características (LESMESS; MCCLEMENTS, 2009). A degradação/alteração do ativo leva também a perda de sua bioatividade (DIAS et al., 2015).

Para o procedimento de microencapsulação a escolha do processo é fundamentada nas propriedades físicas e químicas da substância do ativo e do material de parede, nas aplicações ou finalidade das micropartículas. As técnicas de microencapsulação se dividem em 3 grandes grupos e são classificadas de acordo com o método de formação da parede: 1) métodos físicos: *spray drying*, *spray chilling*, liofilização, leite fluidizado; 2) métodos químicos: inclusão molecular, polimerização interfacial e 3) métodos físico-químicos: coacervação simples ou complexa, gelificação iônica (BANSODE et al., 2010; ZUIDAM, HENRICH, 2009; RAY, RAYCHAUDHURI, CHAKRABORT, 2016).

Apesar das muitas técnicas disponíveis para a encapsulação de componentes alimentícios, nenhuma foi considerada como sendo universalmente aplicável para todos os ativos disponíveis para utilização em alimentos. Este fato pode ser explicado, justamente porque, cada ativo tem sua própria característica de composição química, propriedades físicas e atividade (AUGUSTIN & HEMAR, 2009).

Os componentes bioativos diferem quanto ao peso molecular, polaridade, solubilidade, e outras características, as quais implicam em diferentes abordagens de encapsulamento, para encontrar o requerimento específico tanto físico químico como molecular (AUGUSTIN & HEMAR, 2009; KAILASAPATHY, 2002; RAY, RAYCHAUDHURI, CHAKRABORT, 2016).

O método de spray drying é uma das técnicas de microencapsulação mais utilizada na indústria de alimentos, permitindo a formação de estruturas para proteção, retenção e transporte de materiais ativos. Inicialmente, durante a atomização, são formadas microgotas de uma solução / emulsão / dispersão do material da parede+ativo, seguida de rápida evaporação do solvente e fixação da micropartícula seca, resultando no aprisionamento do composto de interesse. Essa técnica de encapsulação apresenta algumas vantagens e desvantagens (AUGUSTIN & HEMAR 2009; DESAI & PARK 2005, GHARSALLAOUI et al., 2007; GOUIN, 2004; GARCIA et al., 2016).

- Vantagens: viabilidade econômica, processo bem estabelecido, com disponibilidade de equipamentos para produzir processo em grande escala e com partículas de boa qualidade.
- Desvantagens: tamanho de partículas pequenas (reconstituição difícil, área de superfície alta em função do tamanho reduzido) e o número limitado de materiais de parede.

4.2.1 Microencapsulação de ferro

A microencapsulação do Fe é motivada por alguns fatores, por exemplo, (ZIMMERMANN, WINDHAB, 2010; DURAN,et al., 2017):

- Proteção do Fe de fatores ambientais adversos e reduzir as interações de Fe com componentes de alimentos que causam alterações de cor e menor biodisponibilidade de Fe, como taninos, polifenóis e fitatos;

- Mascarar o sabor metálico do Fe quando incorporado aos alimentos, uma vez que os materiais encapsulados atuam como barreira, impedindo o contato direto entre os receptores de ferro e gosto;
- Reduzir o efeito catalítico do ferro sobre a oxidação das gorduras;
- Diminuir os efeitos adversos gastrointestinais e outros efeitos secundários, como: escurecimento dos dentes, dor abdominal, azia, náusea, diarreia, constipação e fezes negras;
- Permite a possibilidade de mistura de minerais também compostos que promovam sua absorção, por exemplo o ácido ascórbico.

Gupta e colaboradores (2015) microencapsularam o ferro com uma técnica de evaporação de solvente modificada, utilizando como material de parede misturas de goma arábica, maltodextrina e amido modificado. As micropartículas contendo ferro foram adicionadas ao leite e tiveram suas características sensoriais e estabilidade oxidativa avaliadas. Os resultados adquiridos do trabalho permitiram que os pesquisadores concluíssem que os materiais de parede utilizados se destacaram como superiores e convenientes para microencapsulação de ferro.

Churio e colaboradores (2018) utilizaram a técnica de gelificação iônica para microencapsulação com sais de ferro não heme como sulfato ferroso, sulfato de amônio ferroso, citrato férrico, fumarato ferroso e quelato de bis-glicinato ferroso em diferentes concentrações como fonte de ferro e como material de parede o alginato foi escolhido. Os resultados mostraram elevada eficiência de encapsulamento e resistência a condição de incubação gástrica, sendo que a maioria dos teores de ferro foi liberado em condições de incubação intestinal, que é o local alvo para a absorção dos diferentes tipos de ferro utilizados no experimento.

4.3 Agentes encapsulantes

Os materiais de parede devem ser capazes de formar uma matriz ou filme cuja principal finalidade é a proteção do ativo. Esses compostos geralmente são substâncias hidrofílicas e/ou hidrofóbicas (TURCHIULI et al., 2005), cuja seleção depende do material ativo e as características desejadas das micropartículas, tais como, a natureza e a estabilidade do material a ser encapsulado; as características do polímero encapsulante (que deve ser capaz de formar um filme coesivo no entorno do material a ser encapsulado, ser quimicamente compatível, não reagir com o ativo e oferecer propriedades desejáveis de revestimento). Estas propriedades são resistência, flexibilidade, impermeabilidade e estabilidade (CARMO, FERNANDES, BORGES, 2015).

A escolha correta do material da parede é muito importante porque reflete tanto na eficiência de encapsulação, como na estabilidade da micropartícula na aplicação e armazenamento. Entre todos os materiais, os mais utilizados para a encapsulação em aplicações de alimentos por spray dryer são os polissacarídeos (NEDOVIC et al., 2011).

De acordo com Desai & Park (2005), o material de parede ideal deve ter as seguintes características: 1) boa propriedade reológica em alta concentração e fácil manuseio; 2) capacidade de dispersar ou emulsionar o material ativo e estabilizar a emulsão produzida; 3) ser isento de reatividade química com os materiais ativos durante o processamento; 4) capacidade de selar e manter o material ativo dentro de sua estrutura durante o processamento ou armazenamento; 5) capacidade de liberar completamente o solvente ou outros materiais utilizados durante o processo de encapsulação sob secagem; 6) capacidade de fornecer proteção adequada ao material ativo contra condições do meio ambiente como por exemplo, oxigênio, calor, luz, umidade; 7) solubilidade do solvente deve ser aceitável para a indústria alimentar (por exemplo, água, etanol).

Uma condição importante para a encapsulação de substâncias por spray dryer é o teor total de sólidos no material de partida, que por sua vez pode refletir em características do produto final como o tamanho de partícula e a densidade. Geralmente o aumento no conteúdo de sólidos, pode elevar a viscosidade, e uma possível consequência seria a produção de pós com maior densidade (OLIVEIRA &

PETROVICK, 2010). Além disso, para um menor conteúdo de sólidos em uma suspensão, pode ocorrer uma maior probabilidade de formação de um espaço vazio interno nas partículas (*ballooning*) e a estrutura da parede pode se tornar menos espessa. Outro fator importante a ser considerado, é a viscosidade da formulação, pois esta interfere na formação de gotas. Em geral, menos energia ou menor pressão são aplicadas quando a viscosidade da mistura a ser pulverizada é baixa. Por outro lado, a viscosidade elevada da formulação prejudica a formação adequada das gotas durante a aspersão podendo levar a um aumento no tamanho das partículas, devido à formação de gotículas maiores durante a etapa de aspersão (OLIVEIRA & PETROVICK, 2010; FOSTER & LEATHERMAN, 1995).

Na microencapsulação por spray drying podem ser utilizados materiais de parede variados, tais como: maltodextrinas, amidos modificados como o Hicap®, polissacarídeos diversos como polidextrose, alginatos, celuloses modificadas, goma arábica, guar, dentre outros (CARMO, FERNANDES, BORGES, 2015; FAVARO-TRINDADE, PINHO, ROCHA, 2008).

5. Materiais de parede

5.1 Maltodextrinas

Por definição, as maltodextrina (Figura 2) são obtidas por hidrólise do amido e constituídas de unidades de α -D-glicose unidas principalmente por ligações glicosídicas (1→4). Também ocorrem ramificações à estrutura linear por ligações α -1,6. Apresentam uma fórmula geral igual a $[(C_6H_{10}O_5)_nH_2O]$ com valor energético aproximadamente de 4 kcal/g, (KENNEDY, KNILL e TAYLOR et al., 1995).

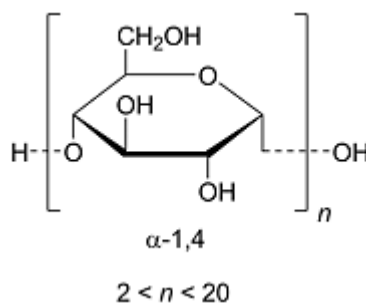


Figura 2. Fórmula estrutural da maltodextrina.
Fonte: Walter (1997).

Industrialmente as maltodextrinas são produzidas por hidrólise ácida, enzimática ou, ainda pela combinação de ambos, das moléculas de amido. Consiste em uma mistura de sacarídeos, principalmente D-glicose, maltose e de oligossacarídeos e polissacarídeos. Por apresentar ampla distribuição de massa molecular entre polissacarídeos e oligossacarídeos (com números médios de massas molares variando de 10^3 a 10^4 Da) encontra-se disponível comercialmente na forma de um pó branco ou de soluções concentradas (CHRONAKIS, 1998; TAKEITI, KIECKBUSCH, COLLARES-QUEIROZ, 2010; HOFMAN, VAN BULL, BROUNS, 2016).

Os hidrolisados de maltodextrina são classificados em relação ao valor de dextrose equivalente (DE), que é uma medida do total do número de unidades de α -D-glicose anidro, e está ligada ao seu grau de polimerização (DP), ou seja, ao número de unidades monoméricas em uma molécula de polímero, de forma que $DE=100/DP$ (KENNEDY, KNILL e TAYLOR, 1995; TAKEITI, KIECKBUSCH, COLLARES-QUEIROZ, 2010; HOFMAN, VAN BULL, BROUNS, 2016).

Para ser classificado como maltodextrina, o produto deve apresentar um valor de dextrose equivalente (DE) menor que 20. Se o DE é maior que 20, são chamados de xarope de amido (SHAHIDI; HAN, 1993). Os diferentes valores de DE apresentam diferentes propriedades físico-químicas, incluindo solubilidade, temperatura de congelamento e viscosidade (KLINKERSORN et al., 2004). As maltodextrinas (DE < 20) são produtos pouco higroscópicos, não apresentam doçura e são amplamente usadas como agentes de corpo de produtos alimentícios. Enquanto que os hidrolisados com DE maiores de 20, os xaropes de milho, apresentam uma leve doçura e maior capacidade de absorver umidade (BE MILLER, WHISTLER, 1996).

Na microencapsulação a maltodextrina destaca-se como material de parede devido às suas características físicas, tais como solubilidade elevada e baixa viscosidade, mesmo quando se encontra em elevadas concentrações de sólidos e principalmente por apresentar um baixo custo quando comparado com outros hidrocolóides comestíveis (REINECCIUS, 2001; CANO-CHAUCA et. al., 2005). A maltodextrina forma uma estrutura de parede com boas propriedades de proteção contra a oxidação de lipídeos dependendo do DE (REINECCIUS 1989; GHARSALLAOUI et al, 2007).

5.2 Polidextrose

A polidextrose (Figura 3) é um polímero hidrossolúvel, de alta massa molar variando de 162 a 20.000 Da, formada por polímeros de glicose, unidas por ligações α (1 \rightarrow 6), contendo como grupo terminal o sorbitol e/ou ligações monoésteres de ácido cítrico (GOMES et al., 2007; JIE et al., 2000; CRAIG et al., 1998).

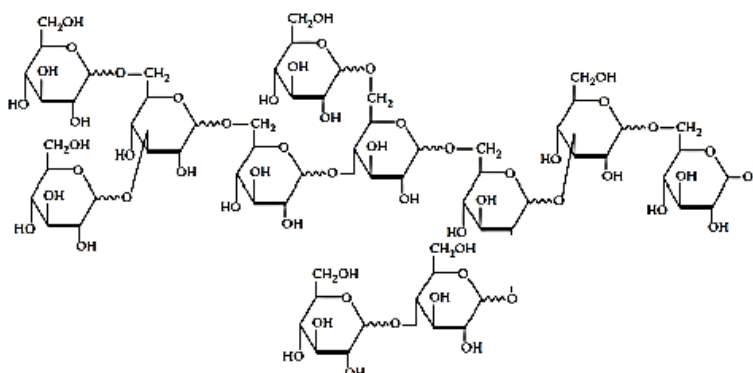


Figura 3. Fórmula estrutural da polidextrose.
Fonte: Stowell (2009).

A polidextrose é considerada uma fibra dietética fermentável, estável, de baixa viscosidade e apresenta um reduzido valor energético (aproximadamente 1 kcal/g), é resistente à ação das enzimas digestivas e à degradação microbiana (SETSER & RACETTE, 1992; FLOOD et al., 2004; HARA, SUZUKI, AOYAMA; 2000).

A polidextrose é reconhecida como um ingrediente prebiótico, ou seja, auxilia no desenvolvimento de uma flora intestinal saudável e equilibrada, pois estimula o crescimento de lactobacilos e bifidobactérias no trato intestinal. Seu mecanismo de ação é semelhante ao de outras fibras solúveis como pectinas, β -glicanas da aveia e a inulina, podendo contribuir para diminuição dos níveis de colesterol e glicose no sangue (PAUCAR-MENACHO et al., 2008; MONTENEGRO et al., 2008).

A polidextrose é estável a temperatura, condições de processo e estocagem, assim, estas características conferem propriedades tecnológicas favoráveis à aplicação desse polímero em alimentos, como por exemplo: a) auxiliando como agente de volume; b) melhoria de textura; c) substituição de açúcar; d) não apresenta sabor residual (MONTENEGRO et al., 2008, FLOOD et al., 2004).

Kuck e Noreña (2016) classificou a povidona com elevado potencial para ser utilizado como material de parede na microencapsulação e afirmaram que são vistos poucos estudos utilizando esse polímero na proteção de compostos. O grupo de pesquisa utilizou a povidona como material de parede em associação com goma arábica e goma guar parcialmente hidrolisada na encapsulação de extrato de uva utilizando o processo de spray drying. Os resultados do trabalho permitiram aos pesquisadores concluir que o tratamento utilizando a goma guar parcialmente hidrolisada mais povidona formaram as melhores partículas quanto à retenção de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante.

6. Referências Bibliográficas

ALVIM, I. D.; SOUZA, F. S.; KOURY, I. P.; JURT, T.; DANTAS, F. B. H. Use of the spray chilling method to deliver hydrophobic components: physical characterization of microparticles. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2013.

ANEKELLA, K.; ORSAT, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n.1, p.17- 24, 2013.

ARCANJO, F. P. N.; AMANCIO, O. M. S.; BRAGA, J. A. P. Fortificação alimentar com ferro. **O mundo da saúde**, São Paulo, v. 33, n.3, p. 279-285, 2009.

AUGUSTIN, M.A; HEMAR, Y. Nano-and micro structured assemblies for encapsulation of food ingredients. **Chemical Society Reviews**, v.38, n.4, p.902-912, 2009.

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

BANSODE, S.S.; BANARJEE, S.K., GAIKWAD, D.D., JADHAV, S. L. Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research**, v.1, n.2, p.38-43, 2010.

BE MILLER, J.N.; WHISTLER, R.L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 3ed., p.157-224,1996.

BRASIL. Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998a. Aprova o “**Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimentos adicionados de nutrientes essenciais**”. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 05 de maio de 2017.

BRASIL. Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998b. Aprova o “**Regulamento Técnico para Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais**”. Órgão emissor: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Programa Nacional de Suplementação de Ferro: manual de condutas gerais. Brasília: Ministério da Saúde, 2013. Disponível em:<
http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_suplementacao_ferro_condutas_gerais.pdf>. Acesso em: 15 de març.2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução nº 269, de 22 de setembro de 2005. Adota valores como níveis de IDR para as vitaminas, minerais e proteínas. Disponível em: <
http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1884970047457811857dd53fbc4c6735/RDC_269_2005.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 15 de mai. 2016.

BRASIL. Ministério da saúde. Informe de atenção básica, n. 46, 2008. Disponível em: <
<http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/periodicos/psfinfo46.pdf>>. Acesso em: 30 agost. 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Ano IV, nº 09, junho de 2013a. Disponível em: <
http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4ca38c0044ad8113b9bffb34353a0b82/saude_economia9_2.pdf?MOD=AJPERES> Acesso: 15 de mai. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Programa Nacional de Suplementação de Ferro: manual de condutas gerais. Brasília: Ministério da Saúde, 2013b.

Disponível em: <
http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_suplementacao_ferro_condutas_gerais.pdf>. Acesso em: 16 de jan. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Anemia por deficiência de ferro. Portaria SAS/MS nº 1.247, de 10 de novembro de 2014.

BRASIL. Resolução – RDC nº 150, de 13 de abril de 2017. Dispõe sobre o enriquecimento das farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <
<http://www.sindustriago.com.br/recursos/files/RDC%20150.pdf>>. Acesso em: 16 de Març. 2018.

CAETANO-SILVA, M. E.; BERTOLDO-PACHECO, M. T.; PAES-LEME, A.F.; NETTO, F. M. Iron-binding peptides from whey protein hydrolysates: Evaluation, isolation and sequencing by LC-MS/MS. **Food Research International**, v.71, n.3, p.132-139, 2015.

CAMASCHELLA, C. New insights into iron deficiency and iron deficiency anemia. **Blood Reviews**, v.31, n.4, p. 225-233, 2017.

CANÇADO, R. D; LOBO, C.; FRIEDRICH, J. R. Tratamento da anemia ferropriva com ferro por via oral. **Revista Brasileira Hematologia Hemoterapia**; v.32, n. 32, p.114-120, 2010.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. Innovative. **Food Science and Emerging Technologies**, v.5, n.4, p.420-428, 2005.

CARMO, E.L.; FERNANDES, R.V.B.; BORGES, S. V. Microencapsulação por spray drying, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**, v. 1, n.2, p.030-044, 2015.

CHRONAKIS, I.S. On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrinas: a review. **Critical Reviews in Food Science**, v.38, n.7, p.599-637,1998.

CHURIO, O., PIZARRO, F., VALENZUELA, C. Preparation and characterization of iron-alginate beads with some types of iron used in supplementation and fortification strategies. **Food Hydrocolloids**, v.74, n. 1, p.1–10, 2018.

Comparison of oral iron supplements. **Pharmacists Letter**. 2008; 28: Detail-Document#: 240811. Disponível em: <www.pharmacistsletter.com>. Acesso em: 13 de dez. de 2017.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3ed. Barueri, SP: Manole, 2009. 878 p.

CRAIG SAS, HOLDEN JF, TROUP JP, AUERBACH MH, FRIER HI. Polydextrose as soluble fiber: physiological and analytical aspects. **Cereal Chemistry**, v. 43, n. 5, p.84-88, 1998.

DELOUGHERY, T.G. Iron Deficiency Anemia. **Medical Clinics of North America**, v.101, n. 2, p. 319-332, 2016.

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

DIAS, M. I., BARROS, L., FERNANDES, I. P., RUPHUY, G., OLIVEIRA, M. P. P., SANTOS-BUELGA, C., BARREIRO, M. F., FERREIRA, I. C.F.R. A bioactive formulation based on *Fragaria vesca* L. vegetative parts: chemical characterization and

application in k-carrageenan gelatin. **Journal of Functional Foods**, v.16, n. 6, p. 243-255, 2015.

DURÁN, E.; VILLALOBOS, C.; CHURIO, O.; PIZARRO, F.; VALENZUELA, C. Encapsulación de hierro: Otra estrategia para la prevención o tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro. **Revista Chilena Nutricion**, vol. 44, n.3, p. 234-243, 2017.

FANG, Z., BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols - a review. Trends in **Food Science & Technology**, v.21, n. 10, p.510-523, 2010.

FAO/WHO. Assessing the Iron Status of Population. Geneva, Switzerland: Food and Agriculture Organization/ World Health Organization, p. 481-501, 2007.

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

FLOOD, M. T.; AUERBACH, M. H.; CRAIG, S. A. S. A review of the clinical toleration studies of polydextrose in food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 9, p. 1531-1542, 2004.

FOSTER, T. P.; LEATHERMAN, M. W. Powder characteristics of proteins spray-dried from different spray-dryers. **Drug Development Industrial Pharmacy**. v.21, n. 15, p.1705-1723, 1995.

GARCIA, M. P. M., GÓMEZ-GUILLÉN, M. C., LÓPEZ-CABALLERO, M. E., BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. (Eds.). **Edible Films and Coatings: Fundamentals and Applications**. CRC Press, 2016. 598 p.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v.40, n.9, p.1107-1121, 2007.

GOMES, C. R.; VISSOTTO, F. Z.; FADINI, A. L.; DE FARIA, E. V.; LUIZ, A. M. Influence of different bulk agents in the rheological and sensory characteristics of diet and light chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 614-623, 2007.

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

GROTTO, H. Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Revista Brasileira Hematologia Hemoterapia**, v. 30, n. 5, p. 390-397, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842008000500012&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 5 mar. 2017.

GROTTO, H. Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira Hematologia Hemoterapia**, v. 32, n. 2, p.08-17, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v32s2/aop50010.pdf>>. Acesso em 5 mar. 2017.

GULEC, S.; ANDERSON, G. J., COLLINS, J. F. Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 307, n. 4, p. 397-409, 2014.

GUPTA, C., CHAWLA, P., ARORA, S., TOMAR, S. K., SINGH, A. K. Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method - Milk fortification. **Food Hydrocolloids**, v. 43, n. 1, p. 622–628, 2015.

HARA H, SUZUKI T, AOYAMA Y. The intake of soluble dietary fiber, polydextrose, increases calcium absorption and bone mineralization in normal rats and gastrectomized. **British Journal Nutrition**, v.84, n.5, p.655-661, 2000.

HOFMAN, DL, VAN BULL, V.J. &, BROUNS, F.J.P.H. Nutrition, Health, and Regulatory Aspects of Digestible Maltodextrins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.56, n.12, p.2091–2100, 2016.

HURREL, R., Preventing iron deficiency through food fortification, **Nutrition Reviews**, v. 55, n. 6, p.210-222, 1997.

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. **Drying Technology**, v. 26, n.7, p. 816-835, 2008.

JIE Z, BANG-YAO L, MING-JIE X, HAI-WEI L. ZU-KANG Z, TING-SONG W, CRAIG SA. Study on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in Chinese. **American Journal Clinical Nutrition**, v.72, n. 6, p.1503-1509, 2000.

KAILASAPATHY, K. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v.3, n. 2, p.39–48, 2002.

KENNEDY, J.F.; KNILL, C.J.; TAYLOR, D.W. Maltodextrins. In: KEARSLEY, M.W.; DZIEDZIC, S.Z. (Eds.). **Handbook of Starch Hydrolysis Products and their Derivatives**. London, Blackie Academic & Professional, p.65-82, 1995.

KLINKERSORN et al., 2004. Stability and rheology of corn oil-in-water emulsions containing maltodextrin. **Food Research International**, v.37, n.9, p.851-859, 2004.

KUCK, L. S., NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. **Food Chemistry**, v. 194, n. 1, p.569–576, 2016.

LESMESS, U., & MCCLEMENTS D. J. Structure-function relationships to guide rational design and fabrication of particulate food delivery systems. **Trends in Food Science Technology**, v.20, n.10, p.448-457, 2009.

MACKENZIE, E. L., IWASAKI, K., TSUJI, Y. Intracellular Iron Transport and Storage: From Molecular Mechanisms to Health Implications. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.10, n.6, p. 997–1030, 2008.

MOHAN, A.; RAJENDRAN, S.R.C.K.; HE, Q.S.; BAZINET, L.; UDENIGWE, C. C. Encapsulation of food protein hydrolysates and peptides: a review. **Royal Society Chemistry Advances**, v.5, n. 97, p.79270-79278, 2015.

MONTENEGRO, F. M.; GOMES-RUFFI, C. R.; VICENTE, C. A.; COLLARES-QUEIROZ, F. P.; STEEL, C. J. Biscoitos de polvilho azedo enriquecidos com fibras solúveis e insolúveis. **Food Science and Technology**, v. 28, n.1, p. 184-191, 2008.

NEDOVIC, V., KALUSEVIC, A., MANOJLOVIC, V., LEVIC, S., BUGARSKI, B. An overview of encapsulation technologies for food application. **Food Science**, v.1, n.1, p.1806-181, 2011.

OLIVEIRA, O.W.; PETROVICK, P.R. Secagem por aspersão (spray drying) de extrato vegetais: bases e aplicações. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.20, n.4, p.641-650, 2010.

PAUCAR-MENACHO, L. M.; SILVA, L. H. D.; BARRETTO, P. A. D. A.; MAZAL, G.; FAKHOURI, F. M.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Desenvolvimento de massa alimentícia fresca funcional com a adição de isolado proteico de soja e povidexose utilizando páprica como corante. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 4, p. 767-778, 2008.

PAULO, F., SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, n.0, p.1327-1340, 2017.

RAY, S., RAYCHAUDHURI, U., CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v.13, n. 1, p.76-83, 2016.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, n.6, p.1195-1236, 1998.

REINECCIUS, G. A. Flavor encapsulation. **Food Review International**, v. 5, n. 2, p. 146-176, 1989.

REINECCIUS, G.A. Multiple-core encapsulation: the spray drying of food ingredients. In: VILSTRUP, P. **Microencapsulation of food ingredients**. Surrey: Leatherhead Publishing, p.151-185, 2001.

SETSER, C.S., RACETTE, W.L. Macromolecule replacers in food products. **Critical Reviews in Food Science**, v. 32, n. 3, p. 275, 1992.

SHAHIDI, F., HAN, X.D. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.33, n.6, p.501-547, 1993.

STOWELL, J. D. Polydextrose. In: Cho, S.S.; Samuel, P. (Eds.), **Fiber Ingredients: Food Applications and Health Benefits**. Boca Raton: CRC Press, v.6, p. 79-120, 2009.

SUAVE, J. DALL'ANGOL E. C., PEZZIN, A. P. T., SILVA, D. A. K., MEIER, M. M., SOLDI V. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v.7, n.2, p.12-20, 2006.

SUGIARTO, M.; YE, A., SINGH, H. Characterization of binding of iron to sodium caseinate and whey protein isolate. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 1007-1013, 2009.

SZARFARC, S. C. Políticas públicas para o controle da anemia ferropriva. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n.2, p. 2-7, 2010.

TAKEITI, C. Y., KIECKBUSCH, T. G., COLLARES-QUEIROZ, F. P. Morphological and physicochemical characterization of commercial maltodextrins with different degrees of dextrose-equivalent. **International Journal of Food Properties**, v. 13, n. 2, p. 411–425, 2010.

TURCHIULI, C.; FUCHS, M.; BOHIN, M.; CUVELIER, M.E.; ORDONNAUD, C.; PEYRAT-MAILLARD, M.N.; DUMOULIN, E. Oil encapsulation by spray drying and

fluidised bed agglomeration. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, n.1, p. 29-35, 2005.

UBBINK, J.; KRÜGER, J. Physical approaches for the delivery of active ingredients in foods. **Trends in Food Science and Technology**, 17, n.5, p.244-254, 2006.

VIEIRA, R. C. S.; FERREIRA, H. S. Prevalência de anemia em crianças brasileiras, segundo diferentes cenários epidemiológicos. **Revista Nutrição**, v. 23, n. 3, p. 433-444, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141552732010000300011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 30 agos. 2016.

WALTER, R. H. **Polysaccharide Dispersions: Chemistry and Technology in Food**. San Diego: Academic Press, 1997. 236 p.

WANDREY C., BARTKOWIAK A. & HARDING S. E. Materials for Encapsulation In: Zuidam N.J., Nedovic, V.A. (Eds.). **Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing**, New York: Springer, p. 31- 100, 2009.

WHO. **Guideline: daily iron and folic acid supplementation in pregnant women**. World Health Organization, Geneva, 2012. 32 p.

ZANG, D.L.; GHOSH, M. C.; ROUAULT, T.A. The physiological functions of iron regulatory proteins in iron hmeostasis-an update. **Frontiers in Pharmacology**, v.5, n.124, 2014.

ZIMMERMANN, M. B., WINDHAB, E. J. Encapsulation of iron and other micronutrients for food fortification. In N. J. Zuidam & V. A. Nedovic´ (Eds.), **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. New York: Springer, p. 187–209, 2010.

ZUIDAM N. J. & HEINRICH J. Encapsulation of aroma. In: Zuidam, N.J., Nedovic, V.A., (Eds.). **Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing**; New York: Springer; p. 127-60, 2009.

CAPÍTULO 2

Microencapsulação de complexos de ferro e peptídeos por spray drying: obtenção e caracterização das micropartículas

O artigo será submetido à revista Food Research International

RESUMO

A suplementação de ferro (Fe) na alimentação envolve desafios, dentre eles, a reduzida biodisponibilidade desse nutriente que pode ser aumentada pela complexação do Fe com peptídeos (Fe-P). A microencapsulação pode ajudar a mascarar aromas e sabores desagradáveis desses complexos e com isso produzir um ingrediente interessante para aplicação em alimentos. Esse trabalho visou a obtenção e caracterização de complexos de Fe-P microencapsulados, selecionando como materiais de parede os polímeros maltodextrina (MD) e polidextrose (PD). Os peptídeos (< 5kD) obtidos por hidrólise enzimática do isolado proteico de soro de leite com Alcalase[®] foram fracionados em tamanho menores que 5 kDa e complexados ao ferro, provenientes do sulfato ferroso na presença de ácido ascórbico (1:1,6). A microencapsulação do ativo Fe-P foi obtida por spray drying, e avaliadas quanto a recuperação do ativo e rendimento do processo. As amostras foram caracterizadas quanto as suas propriedades físico-químicas, distribuição de tamanho, microestrutura e morfologia por MEV/EDX, sendo sua estabilidade monitorada por 180 dias. A microencapsulação do Fe-P mostrou retenção de aproximadamente 84 % do ativo. As micropartículas contendo Fe-P apresentaram maior tamanho, maior umidade e maior higroscopicidade que o controle (partículas MD sem Fe-P). Independente do material de parede, as micropartículas contendo ativo apresentaram alteração de cor de branco para acinzentado ao longo do tempo (diminuição do parâmetro de cor L* e alteração do ΔE^*). A análise do EDX revelou a presença do Fe na superfície das micropartículas, o que pode ter contribuído para a alteração da cor. As fotomicrografias mostraram estabilidade da forma, tamanho e polidispersidade ao longo do tempo. As estratégias utilizadas para o desenvolvimento das amostras mostraram-se apropriadas na obtenção de um ingrediente com potencial para veiculação do complexo Fe-P.

Palavras-chaves: microestrutura, morfologia, proteólise enzimática, maltodextrina, polidextrose, MEV/EDX.

1. Introdução

As tendências que norteiam o consumo mundial de alimentos pela população demonstram que os mesmos são vistos não somente como fonte de nutrientes, mas principalmente como fonte de sensorialidade / prazer, saudabilidade / bem-estar, conveniência/ praticidade, dentre outras. (Fiesp/Ital, 2010). A relação entre genoma, alimentação e saúde está sendo estabelecida de forma cada vez mais relevante, sendo os alimentos considerados gatilhos da expressão genica (Sgarbieri & Pacheco, 2017a; Sgarbieri & Pacheco, 2017b). Aliado a crescente procura de um estilo mais saudável, na prevenção de enfermidades degenerativas e manutenções das formas física e mental, tem se verificado uma maior demanda de produtos alimentícios formulados contendo ativos funcionais, obtidos com novas tecnologias que propiciem facilidade de preparo e consumo (Fiesp/Ital, 2010).

A população anêmica definida como um público com necessidades dietéticas especiais, requer alimentos que forneçam suplementação de ferro de elevada absorção orgânica. Nichos como este, estimulam o desenvolvimento de ingredientes e produtos inovadores, com propriedades funcionais específicas.

A anemia é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a condição na qual o conteúdo de hemoglobina no sangue está abaixo dos níveis padronizados, resultado da ausência de um ou mais nutrientes essenciais. A anemia ferropriva ou anemia por deficiência de Fe é a alteração hematológica de maior prevalência resultante de longo período de balanço negativo, entre a quantidade de ferro biologicamente disponível e a necessidade orgânica desse micro mineral (Who, 2012).

No organismo, o ferro participa do transporte do oxigênio aos tecidos, do controle do crescimento e diferenciação celular, assim como do metabolismo energético, além da participação nas reações bioquímicas de oxido-redução (transferência de elétrons).

O ferro pode sofrer alterações quando adicionado na forma livre em alimentos industrializados, o que pode reduzir a sua biodisponibilidade em alimentos. Além disso a presença desse mineral no alimento pode provocar alterações de sabor (residual metálico), aroma (oxidação de lipídeos) e cor no produto (Gupta et. al., 2015; Augustin, Hemar, 2009; Prichapan, McClements, Klinkesorn, 2018).

Uma das estratégias exploradas para melhorar a absorção do Fe pelo organismo é a formação de complexos desse mineral com peptídeo de baixo peso molecular (< 5 kDa). Estudos anteriores demonstram que estes complexos apresentaram maior solubilidade e conseqüentemente melhor digestibilidade e biodisponibilidade em modelos *in vitro* (de La Hoz et al., 2014a; de La Hoz et al., 2014b; Caetano-Silva et al., 2016; Caetano-Silva et al., 2017; Caetano-Silva et al., 2018). Contudo, o complexo Fe-Peptídeo possui aroma e sabor desagradável, apresentando-se como um grande desafio para aplicação direta em alimentos.

A técnica de microencapsulação por spray drying destes componentes pode ser utilizada estrategicamente para o desenvolvimento de ingredientes especiais, destinados para vários nichos do mercado alimentício, principalmente aqueles destinados a públicos específicos, como crianças, idosos, mulheres e atletas. Esta técnica é muito utilizada para encapsulação de compostos funcionais promovendo a redução na percepção de sabores e aromas desagradáveis, preservando os compostos de interesse, resultando em melhoria da manuseabilidade de substâncias pela mudança de forma física (ITAL, 2014). Desta forma, o processo de microencapsulação por spray drying pode ser considerado econômico e eficiente (Gharsallaoui et al., 2007; Dias, et.al. 2017).

Este trabalho teve como objetivo a obtenção de micropartículas estáveis, contendo como ativo o complexo Fe-peptídeos (Fe-P) através do spray drying, utilizando como materiais de parede a maltodextrina (MD) e a polidextrose (PD). A estabilidade das micropartículas contendo o Fe-P e controle foram acompanhadas por 180 dias.

2. Materiais e métodos

2.1. Materiais

O isolado proteico de soro de leite (IPS) foi procedente da Fonterra Cooperative Group Limited (São Paulo, Brasil). A enzima Alcalase® (*Bacillus licheniformis*, atividade 2,4 μg^{-1} proteína) da Novozymes (Araucária, PR, Brasil). Os polímeros: maltodextrina (MOR-REX 1920® - 20DE) foi cedida pela empresa Ingredion Brasil Ingredientes Industriais LTDA (Mogi Guaçu, Brasil) e polidextrose (Polidextrose tipo

3) pela Nutramax Ind. e Com. Ing. Alim. Farm. LTDA (Catanduva, Brasil). O ácido ascórbico (L-ascorbic acid/ A92902) e sulfato ferroso (FeSO_4 / n.12353) da Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, USA).

2.2. *Métodos*

O fluxograma da Figura 1 apresenta as etapas experimentais desenvolvidas nesse trabalho e as análises realizadas.

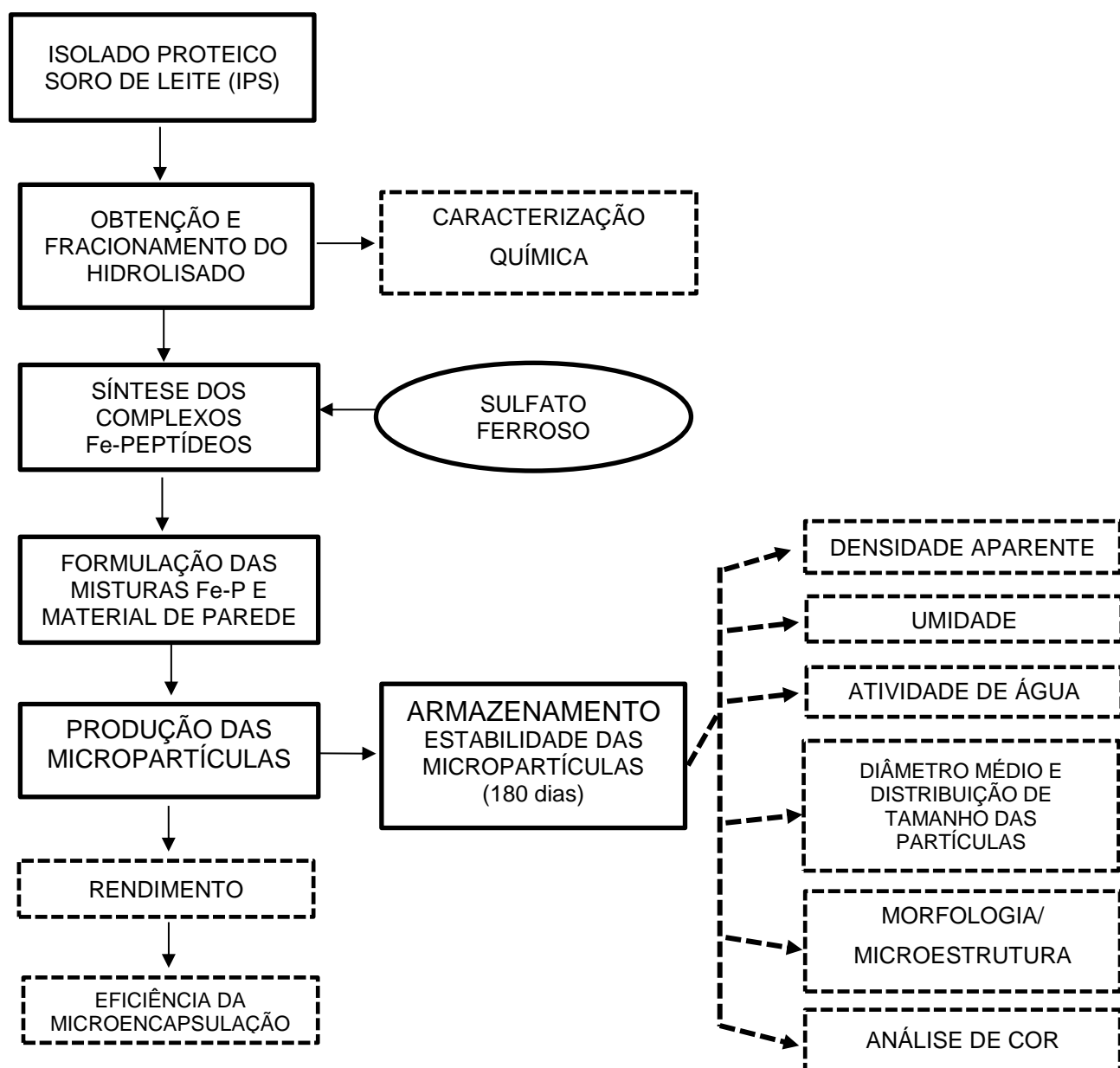


Fig. 1. Etapas experimentais desenvolvidas nesse trabalho e análises realizadas

2.2.1. Obtenção do hidrolisado proteico - Hidrólise enzimática do IPS

A hidrólise do IPS com a enzima Alcalase® foi realizada no equipamento pH Stat (Titulador Automático modelo DL 21 Grafix /Mettler-Toledo, Schwerzenbach, Suíça), com sistema de agitação e aquecimento. A melhor condição de hidrólise do IPS foi selecionada a partir de um delineamento composto central rotacional (DCCR) 2², com 3 pontos centrais (nível 0) e 4 pontos axiais (níveis ±α), totalizando 11 ensaios.

As variáveis independentes foram pH (faixa de 7,5 a 8,5) e relação enzima:substrato (de 0,5 a 1,5). A temperatura foi mantida constante (60 °C) assim como a agitação em todos os tratamentos. As variáveis dependentes foram porcentagem de grau de hidrólise (GH) e a recuperação de proteína (RP, %), as quais foram utilizadas como parâmetros para a seleção das condições de hidrólise.

O rendimento de recuperação de proteína foi calculado segundo a fórmula (Eq. (1)) (Firestone, 2006):

$$\% \text{ Rendimento} = \frac{\% \text{ PTN Final}}{\% \text{ PTN Inicial}} \times 100 \quad (1)$$

O teor de proteína solúvel foi determinado por micro-Kjeldahl, segundo a AOAC (Latimer, 2012), utilizando o fator de conversão do nitrogênio de 6,38.

2.2.2. Ultrafiltração

Após selecionada a melhor condição para hidrólise do IPS com Alcalase, o hidrolisado foi centrifugado a 17.000 x g/15 min (RC5C/ Sorvall Instruments Dupont, Wilmington, EUA), filtrado em membrana de celulose regenerada (0,45 µm; Schleicher & Schüll, Dassel, Alemanha) e o sobrenadante foi fracionado em sistema de ultrafiltração Pellicon® (Millipore, Bedford, MA, EUA), com membrana de corte molecular de 5 kDa. Desta maneira foi obtida uma fração de peptídeos de pequeno tamanho, utilizada para obtenção do ativo Fe-peptídeo (de La Hoz et al, 2014a; de La Hoz et al, 2014b).

2.2.3 *Obtenção do complexo Fe-peptídeos*

Para obtenção dos complexos Fe-peptídeos o agente doador de ferro foi sal de sulfato ferroso. A reação foi realizada a partir de uma solução contendo peptídeos menores que 5 kDa com pH ajustado para 5,5, na proporção 10:1 (peptídeo/ferro) e ácido ascórbico na proporção 1,6: 1,0 (ácido ascórbico/ferro) como coadjuvante de absorção. A mistura foi incubada a 40 °C por 30 min, em banho-maria com agitação banho-maria Dubnoff TE-053 (marca Tecnal).

2.2.4 *Determinação do ferro total*

O teor de ferro total presente nas amostras foi determinado segundo as condições descritas por Morgano et al. (1999), usando um espectrômetro de emissão com fonte de plasma com acoplamento indutivo (ICP-OES) da marca Agilent, modelo 5100 VDV ICP OES (Agilente Technologies, Tóquio, Japão), equipado com fonte de radio-frequência (RF) de estado sólido de 27 MHz, um detector óptico sequencial, uma bomba peristáltica, uma câmara de nebulização ciclônica de duplo passo e um nebulizador “seaspray”, usando argônio como plasma.

2.2.5 *Produção das micropartículas*

Para a produção das micropartículas é necessário um material de parede para revestir o ativo (mistura Fe-peptídeo). Após vários ensaios preliminares foram selecionadas três formulações, sendo elas, controle maltodextrina (C-M), sem a presença de ativo; maltodextrina com ativo (M-FeP) e mistura de maltodextrina/polidextrose com ativo (MP-FeP).

Os materiais de parede foram dispersos na solução aquosa contendo ferro-peptídeo (Fe-P) com o auxílio de um agitador mecânico (Lab Egg/ IKA, Staufen, Alemanha) até total dispersão. As misturas foram preparadas com sólidos totais de 40 g / 100 g, compreendendo a soma do material de parede (77 g/ 100 g) e ativo (23 g / 100 g) e para fins práticos 1 ml de solução contendo o complexo Fe-peptídeo foi considerado igual a 1 g.

Em seguida as formulações foram secas em spray dryer (B290, Büchi, Flawil, Suíça) com bico atomizador de 0,7 mm de diâmetro. A temperatura de entrada foi de

150 ± 1°C e a vazão ajustada para obter uma temperatura de saída 80 ± 1°C. As demais condições de operação do equipamento foram mantidas constantes como: pressão de ar de 50 mbar e potência de aspiração de 100%. A umidade relativa da sala durante o processamento foi controlada para valores próximos a 40% e a temperatura ambiente mantida a 23 ± 3 °C.

Ao final do processo as amostras secas foram recolhidas do coletor e acondicionadas em sachê (6 g), cuja embalagem era composta de polietileno tereftalato/ folha de alumínio/ polietileno (PET/AL/PE). Foram mantidas a temperatura controlada (20 °C ± 5) por 180 dias, com avaliações mensais.

2.2.6 Caracterização das micropartículas

Eficiência de encapsulação e rendimento de processo

A eficiência de encapsulação (EE%) foi definida pela porcentagem de ativo presente na micropartícula após o processamento. O cálculo da % EE utilizando a seguinte equação (Eq. (2)).

$$EE (\%) = \frac{\text{Ativo determinado nas partículas após o processamento}}{\text{Ativo presente em solução antes do processamento}} \times 100 \quad (2)$$

O rendimento de processo foi determinado como sendo a razão entre a quantidade de sólidos recolhidos ao final do processamento e a quantidade de sólidos presentes na mistura antes de entrar no secador. O cálculo foi feito através da seguinte (Eq. (3)).

$$RS (\%) = \frac{\text{Peso coletor cheio} - \text{Peso coletor vazio}}{\text{Sólidos Totais}} \times 100 \quad (3)$$

Onde, RS é o rendimento de secagem.

2.2.7 Avaliação da estabilidade das micropartículas

Foram preparados 20 sachês (6 g) para cada tipo de tratamento das amostras microencapsulada. Os sachês foram mantidos em ambiente abrigado da luz, em temperatura controlada (23 ± 2 °C). Logo após o processamento (tempo zero) e a cada 30 dias foram retirados 2 sachês de cada tratamento e as amostras foram caracterizadas quanto a umidade, atividade de água, tamanho e distribuição das partículas, cor, morfologia e microestrutura, conforme descrições a seguir.

Densidade aparente (compactada)

Para determinação da densidade aparente 1 g de amostra em pó foi pesado numa proveta de 10 mL sendo verificado o volume ocupado, após bater gentilmente por 30 vezes na bancada para compactação das partículas (adaptado do método de Goula e Adamopoulos, 2004). O valor da densidade aparente foi calculado empregando a equação abaixo: (Eq. (4)).

$$d = \frac{m}{v} \quad (4)$$

Onde, d= densidade, m= massa da amostra, v= volume ocupado.

Umidade e atividade de água

A umidade foi determinada para as amostras por secagem em estufa, segundo AOAC (Latimer, 2012).

A atividade de água (A_w) das amostras foi determinada em triplicata, diretamente no equipamento AquaLab modelo CX-2T (Decagon Devices Inc., Pullman, USA) mantido a $25 \pm 0,3$ °C.

Diâmetro médio e distribuição de tamanho das micropartículas

O diâmetro médio e as distribuições de tamanho das micropartículas secas foram determinados por difração a laser em um Analisador de Tamanho de Partícula

LV950-V2 (Horiba, Kyoto, Japão). Para essa análise, uma pequena quantidade do produto em pó foi dispersa em etanol absoluto, sendo adicionadas à câmara de amostras do equipamento, contendo o mesmo meio de dispersão, até atingir os índices de transmitância adequados para a realização de leitura (n=6).

O tamanho médio de partícula foi expresso com o diâmetro médio (D50) e a polidispersidade foi obtida pelo índice span calculado (Eq. (5)).

$$Span = \frac{(D90-D10)}{D50} \quad (5)$$

Onde, D10, D50 e D90 correspondem aos diâmetros referentes a 10, 50 e 90% da distribuição acumulada.

Análise de cor

As determinações colorimétricas foram realizadas usando um colorímetro CR-410 da marca Konica-Minolta Sensing Inc. (MO CH 086 / MA CH 1313, Osaka, Japão). Utilizou-se a escala do sistema “Cielab L* a* e b*”, onde L* define a luminosidade (L* = 0 preto e L* = 100 brancos) e a* e b* são responsáveis pela cromaticidade (+a* vermelho e -a* verde, +b* amarelo e -b* azul). Os resultados representam a média de 10 leituras, sendo que o equipamento foi calibrado com a placa de calibração branca.

A partir dos parâmetros L* a* e b*, foram calculadas as coordenadas cilíndricas C* e ΔE* (Eq. (6) e (7)), onde C* define o croma e ΔE* diferença de cores entre os tempos. Quanto menor a diferença de variação de cada componente de cor (L*, a* e b*) ao longo do armazenamento da amostra significa que houve menor alteração em relação ao tempo inicial (T=0).

$$Chroma = C^* = \sqrt{(a^*{}^2 + b^*{}^2)} \quad (6)$$

$$\Delta E = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta a^*)^2)^{1/2} \quad (7)$$

Morfologia e microestrutura

As morfologias e microestruturas das amostras foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microanálise de raios-X por dispersão de energia (EDX).

Para o MEV as amostras de micropartículas previamente recobertas com ouro (metalizador marca Balzers, modelo SCD 050) foram observadas para avaliação da topografia (equipamento ZEISS, modelo DSM 940A).

Além disso, as amostras preparadas para o MEV foram submetidas à microanálise de raios-X por dispersão de energia (EDX) para verificação dos elementos presentes na superfície das partículas (equipamento Oxford, modelo Link Isis).

As microfotografias realizadas em sistema MEV/EDX foram obtidas utilizando-se detector de elétrons secundários (contraste de relevo, topografia da imagem, SE) e detector de elétrons retro espalhados (contraste de peso atômico, identificação de similaridade pela tonalidade, BSE). Todas as microanálises foram obtidas com os mesmos parâmetros de aquisição de dados de raios-X (distância de trabalho de 25 mm e voltagem de 20 kV). No EDX foi utilizada a janela de berílio para microanálise do material, a qual permite a identificação dos elementos com número atômico (Z) igual ou superior a 11.

2.3 *Análise Estatística*

A avaliação do planejamento experimental e elaboração das superfícies de resposta foram feitas utilizando o software Statistica: “Basic Statistics and Tables” (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Os resultados de caracterização das micropartículas e da estabilidade foram submetidos a análise estatística utilizando-se o software XLSTAT (Addinsoft, Paris, França) por análise de variância ANOVA e teste de Tukey, para um nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$).

3. Resultados e discussão

3.1 Seleção do hidrolisado

Os resultados do grau de hidrólise (GH, %) e da recuperação da proteína (RP, %) nas condições dos ensaios encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1

Delineamento composto central rotacional (DCCR) 2² utilizado para definição das condições de obtenção dos hidrolisados.

Ensaio	Codificado		Real		GH (%)*	RP (%)
	E/S	pH	E/S	pH		
1	-1	-1	0,65%	7,7	14,44 ± 0,52	77,82 ± 0,07
2	+1	-1	1,35%	7,7	12,13 ± 0,36	73,92 ± 0,10
3	-1	+1	0,65%	8,3	11,28 ± 0,13	69,16 ± 0,20
4	+1	+1	1,35%	8,3	11,59 ± 0,38	71,26 ± 0,07
5 (PC)	0	0	1,0%	8,0	21,35 ± 0,18	85,50 ± 0,05
6 (PC)	0	0	1,0%	8,0	21,60 ± 0,12	85,65 ± 0,01
7 (PC)	0	0	1,0%	8,0	21,15 ± 0,20	84,7 ± 0,04
8	- α	0	0,5%	8,0	14,94 ± 0,53	80,39 ± 0,00
9	+ α	0	1,5%	8,0	15,43 ± 0,37	82,00 ± 0,01
10	0	-α	1,0%	7,5	13,81 ± 0,12	77,66 ± 0,00
11	0	+ α	1,0%	8,5	14,27 ± 0,43	79,64 ± 0,04

*E/S – relação extrato / substrato; GH - grau de hidrólise e RP - Recuperação de proteína

As superfícies de resposta geradas pelo modelo (Figura 2a e b) permitiu a seleção das condições de pH e relação E/S que resultam em maior valor de grau de hidrólise e rendimento da recuperação da proteína. As melhores condições para ambos resultados foram o pH de 7,8 a 8,2 e relação E/S entre 0,8% e 1,2%.

Assim foi obtido o modelo de 2^a ordem (Eq. (7)), com as variáveis codificadas, que apresenta o grau de hidrólise em função da relação enzima:substrato e do pH na faixa estudada, apresentado abaixo:

$$\text{GH (\%)} = 21,38 - 3,67 \cdot x \text{ E/S}^2 - 0,38 \cdot \text{pH} - 4,21 \cdot \text{pH}^2 + 0,66 \cdot \text{E/S} \times \text{pH} \quad (7)$$

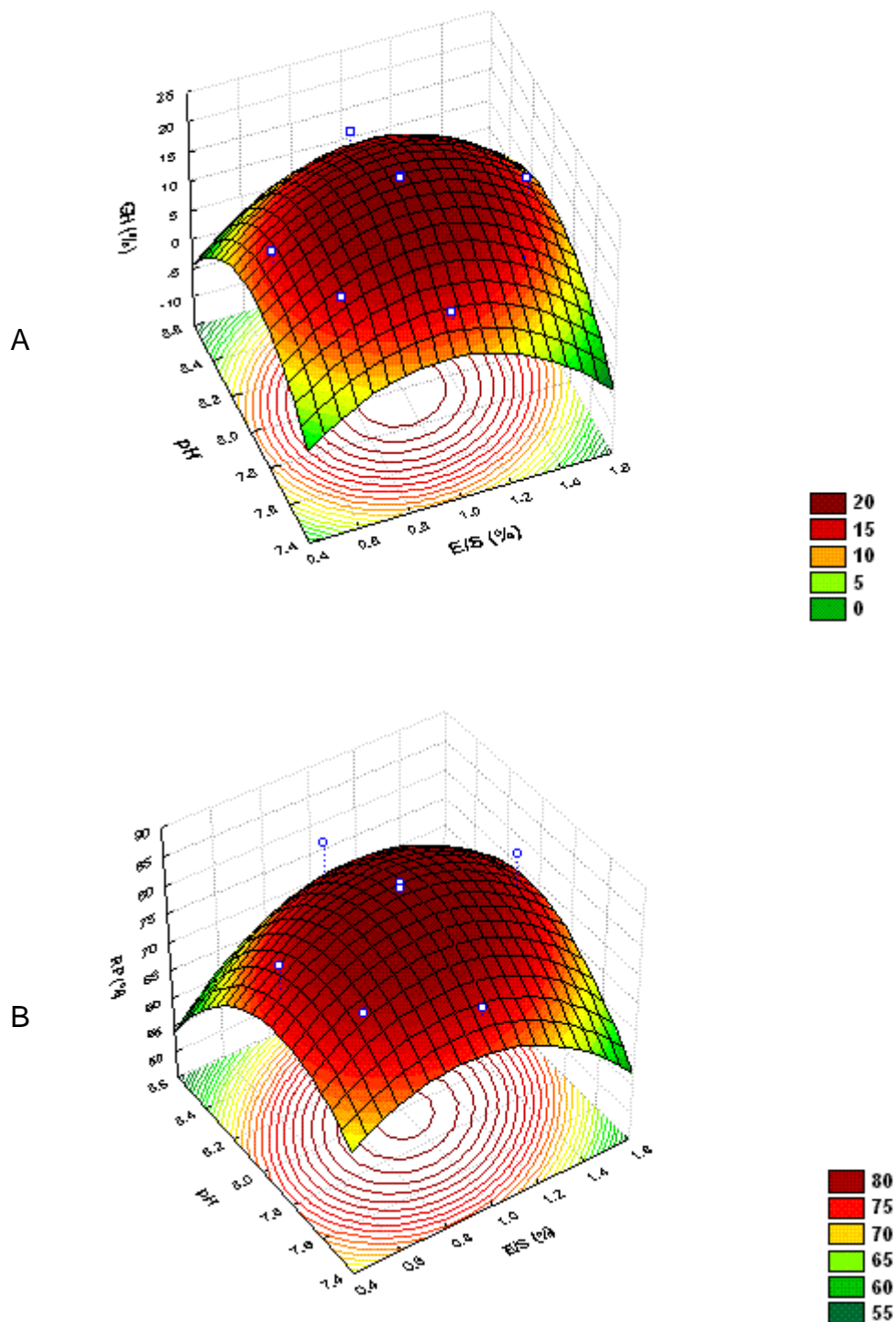


Fig. 2. Superfície de resposta para o (A) grau de hidrólise (GH, %) e (B) rendimento da recuperação de proteína (RP, %) utilizando a enzima Alcalase® em função das variáveis: relação enzima / substrato e valor de pH.

Tanto o grau de hidrólise como a recuperação das proteínas apresentaram melhores resultados no ponto central do estudo do delineamento experimental (DCCR). Este conhecimento é importante do ponto de vista tecnológico, pois indica

as condições para melhor aproveitamento das proteínas de soro de leite hidrolisadas. O GH elevado reflete maior quebra da cadeia proteica, aumentando a variabilidade e disponibilidade dos grupos funcionais disponíveis para se ligar ao ferro. De acordo com Mohan et.al., (2015) somente peptídeos de pequeno tamanho formam quelatos verdadeiros. Como desvantagem a quebra intensa resulta na exposição de resíduos de aminoácidos hidrofóbicos que geram sabor amargo, captados pelos receptores de gosto da língua.

3.2 Produção dos complexos de ferro e peptídeo (Fe-P)

Os hidrolisados produzidos segundo as condições do ponto central, discutidas no item anterior, foram ultrafiltrados e a fração de menor peso molecular submetida a reação de complexação com os íons de Fe. Foi utilizado como adjuvante de processo o ácido ascórbico, que auxilia posteriormente na absorção do complexo pelo organismo (Cançado, Chiattonne, 2010). Portanto, como ativo a ser microencapsulado foi considerada a combinação das massas de sulfato ferroso (fonte do ferro) + peptídeos + ácido ascórbico, perfazendo 23% dos sólidos totais preparados para a secagem.

3.3 Microencapsulação dos complexos de ferro e peptídeo (Fe-P)

As micropartículas foram obtidas pelo processo de spray drying sem que fosse observada nenhuma intercorrência (entupimentos, atomização irregular, aglomeração, etc), nas condições adotadas. A adição da maltodextrina e da povidexrose à solução de Fe-P (de cor laranja claro) não alterou o aspecto da mesma, indicando que esses materiais de parede não interagiram diretamente com os complexos Fe-P. Ser inerte ao ativo é uma característica desejada ao material utilizado com estruturante na microencapsulação (Desai & Park, 2005).

Após o processamento das amostras líquidas a quantidade de micropartículas produzidas foi determinada e o teor de ferro quantificado para determinação do rendimento de processos e eficiência de encapsulação. Os resultados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2

Teor de ferro, eficiência de microencapsulação, rendimento do processo e densidade aparente das micropartículas com e sem ativo.

Resultados	MATERIAIS ENCAPSULANTES		
	C-M	M-FeP	MP-FeP
Teor de ferro (mg/g)	Nd*	13,78 ± 0,02 ^A	13,76 ± 0,06 ^A
Eficiência de encapsulação (%)	Nd*	83,9 ± 3,2 ^A	83,9 ± 3,1 ^A
Rendimento de processo (%)	83,0 ^C	90,0 ± 2,8 ^B	92,5 ± 3,5 ^A
Densidade aparente (g/ cm ³)	0,55 ± 0,01 ^A	0,32 ± 0,01 ^B	0,33 ± 0,00 ^B

C-M = Controle de maltodextrina sem ativo; M-FeP = ativo + maltodextrina e MP-FeP = ativo + maltodextrina/polidextrose. * Valores referentes à média de três determinações ± desvio padrão, *Nd = não detectado

O rendimento de processo foi superior a 83% para todas as amostras (Tabela 2), indicando uma boa recuperação do material seco e considerados elevados para equipamentos de escala laboratorial, como o utilizado nesse trabalho. O rendimento é extremamente dependente do tipo e combinação de biopolímeros, sendo necessário estudos preliminares para estabelecimento dos materiais mais apropriados. Di Battista, et al., (2017) avaliaram a encapsulação de fitosteróis por spray drying e obtiveram rendimentos entre 25,20% e 86,72%. Sanchez-Reinoso, Osorio, Herrera (2017) observaram rendimentos de processo entre 32,65 e 58,77% usando um spray dryer igual ao desse trabalho na encapsulação de aroma de coco. Fadini et al., (2018) observaram rendimentos de processo na faixa de 45% para obtenção de micropartículas contendo óleo de peixe obtidas em um equipamento semelhante ao utilizado. Os autores ressaltaram que os equipamentos industriais são equipados com acessórios que auxiliam na recuperação do produto seco melhorando significativamente o rendimento de processo. Os equipamentos laboratoriais na sua maioria não possuem esses acessórios. Neste trabalho o uso de um ativo hidrofílico pode ter contribuído para uma boa recuperação das amostras.

Pela análise de ICP o ferro não foi detectado para a amostra controle C-M, como era esperado. Para as amostras de Fe-P microencapsulado foram observados valores de 13,78 ± 0,02 mg/g para M-FeP e 13,76 ± 0,06 mg/g para MP-FeP que refletiram em valores similares de eficiência de encapsulação de 83,9%. Valores de encapsulação na faixa de 60 a 90% são considerados adequados na microencapsulação e essa adequação tem como fatores de avaliação o tipo de ativo utilizado, o processo de encapsulação e o material de parede (Vishnu et al., 2017).

Alvim et al. (2016) observaram uma eficiência de encapsulação de 100% para o ácido ascórbico encapsulado em goma arábica por spray drying. Tonon et al. (2011) obtiveram valores de 51,5 a 92,0% de eficiência de encapsulação para encapsulação de óleo de linhaça pela mesma técnica.

A densidade aparente é uma característica importante em produtos em pó que está associada ao empacotamento, a reconstituição, manuseabilidade e estabilidade (Sanchez-Reinoso, Osorio, Herrera, 2017; Shamaei et al., 2017). Os resultados da densidade aparente (Tabela 2) foram similares (0,32 e 0,33 g / cm³) para as amostras contendo ativo ($p > 0,05$). Somente a amostra de micropartículas controle, sem o ativo (C-M), apresentou valor maior, estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), para densidade aparente (Tabela 2). Os valores obtidos são similares aos observados por Ferrari et al., (2012) que citam uma densidade aparente na faixa de 0,409 a 0,443 para amostras de polpa de amora rica em antocianinas, contendo maltodextrina e/ou goma arábica como agentes carreadores, secas por spray drying. Sanchez-Reinoso, Osorio, Herrera (2017) obtiveram valores de densidade de 0,514 a 0,694 g/cm³ para micropartículas obtidas por spray drying contendo aroma de coco. Em um estudo sobre a influência de materiais de parede e condições de processo na encapsulação de óleo de peixe por spray drying, Aghbashlo et al. (2012) relatam valores entre 0,248 e 0,374 g/cm³ para densidade aparente.

Os resultados de umidade e atividade de água para as amostras, no tempo inicial e durante os 180 dias de armazenamento, são apresentados na Tabela 3.

Os valores de umidade variaram de 3 a 4% logo após a produção das amostras sendo que C-M apresentou valor menor em relação as demais amostras, a adição do ativo e o uso da polidextrose levou a valores de umidade progressivamente crescentes ($p < 0,05$). É sabido que hidrolisados proteicos e a polidextrose são materiais com características higroscópicas (Pacheco et al., 2005; Gomes et al., 2007) e sua presença na formulação podem ter contribuído para retenção de um residual de umidade maior nas amostras secas ao final do processamento. Os valores de umidade observados nesse trabalho foram similares aos reportados por outros autores que também microencapsularam ativos em materiais poliméricos por spray drying, tais como Fadini et al., (2018) de 1,10 a 7,92%; Shamaei et al., (2017) de 0,98 a 3,51% e Ferrari et al., 2012 de 1,74 a 3,32%.

Tabela 3

Umidade e atividade de água das diferentes micropartículas durante o armazenamento (180 dias).

Tempo (dias)	Materiais encapsulantes	Umidade (%)	Atividade de água
0	C-M	3,00±0,21 ^{Dc}	0,34±0,01 ^{Eb}
	M-FeP	3,57±0,16 ^{ABb}	0,29±0,01 ^{Ec}
	MP-FeP	3,99±0,11 ^{BCa}	0,38±0,01 ^{Da}
30	C-M	3,64±0,27 ^{Ec}	0,35±0,01 ^{Da}
	M-FeP	3,81±0,09 ^{Bb}	0,29±0,00 ^{Eb}
	MP-FeP	4,35±0,12 ^{Ea}	0,37±0,01 ^{Da}
60	C-M	3,68±0,22 ^{BCa}	0,40±0,01 ^{Ca}
	M-FeP	3,80±0,14 ^{ABa}	0,31±0,01 ^{Eb}
	MP-FeP	3,65±0,10 ^{Da}	0,38±0,01 ^{Da}
90	C-M	3,36±0,12 ^{Db}	0,44±0,00 ^{Bb}
	M-FeP	4,69±0,03 ^{Aa}	0,49±0,01 ^{Ca}
	MP-FeP	3,65±0,22 ^{Db}	0,47±0,01 ^{Ca}
120	C-M	3,38±0,03 ^{CDa}	0,61±0,00 ^{Aa}
	M-FeP	4,74±1,02 ^{Aa}	0,44±0,00 ^{Db}
	MP-FeP	3,92±0,05 ^{CDa}	0,38±0,00 ^{Da}
150	C-M	3,97±0,07 ^{ABb}	0,61±0,00 ^{Aa}
	M-FeP	4,49±0,13 ^{Aa}	0,59±0,00 ^{Bb}
	MP-FeP	4,24±0,16 ^{Ba}	0,57±0,00 ^{Bc}
180	C-M	4,06±0,06 ^{Ac}	0,61±0,00 ^{Aa}
	M-FeP	4,58±0,06 ^{Ab}	0,62±0,00 ^{Aa}
	MP-FeP	5,14±0,06 ^{Aa}	0,60±0,00 ^{Ab}

C-M = Controle de maltodextrina sem ativo; M-FeP = ativo + maltodextrina e MP-FeP = ativo + maltodextrina/polidextrose. * Valores referentes à média de três determinações ± desvio padrão

** Letras maiúsculas (A, B ou C) nas colunas se referem aos mesmos tratamentos em diferentes tempos de armazenamento. *** Letras minúsculas (a b ou c) nas colunas se referem as diferentes amostras no mesmo tempo. Letras maiúsculas e minúsculas iguais não diferem entre si, ao nível de 95% de confiança (p<0,05).

Durante o armazenamento foi possível observar um aumento gradual da umidade para todas as amostras. A oscilação dos valores também ocorreu entre as unidades amostrais (sachês), que eram selecionados a cada tempo para análise (30 dias). Foi detectado posteriormente a ocorrência de pequenas falhas de selagem nas embalagens, as quais provavelmente permitiram a troca de umidade, justificando a diferença encontrada entre as unidades do mesmo tratamento. Embalagens constituídas por material plástico podem apresentar permeabilidade variada a gases e vapor de água. A adição de camadas adicionais, constituídas de outros materiais plásticos e metálicos podem aumentar a proteção da embalagem plástica flexível as agressões do meio ambiente (Fabris, 2006). A princípio, as embalagens do tipo

PET/AL/PE foram selecionadas por serem recomendadas para produtos que necessitam de barreira ao vapor de água. Contudo, a espessura das camadas apresenta grande influência neste parâmetro (Barão, 2011).

Ao final do armazenamento as amostras apresentaram umidades entre 4 e 5 %, sendo a C-M com menor valor, seguida da M-FeP e MP-FeP ($p < 0,05$). O ganho geral de umidade para as amostras foi de aproximadamente 1% em 180 dias e os valores atingidos não se mostraram críticos para o aspecto dos produtos que continuaram com as características de pó soltos, sem formação de “*caking*” (aglomerados).

Os valores de atividade de água (A_w , Tabela 3) para as amostras logo após o processamento (tempo zero – T_0) variaram entre 0,29 e 0,38 ($p < 0,05$). Como ocorreu com a umidade, os valores da A_w durante o armazenamento também aumentaram gradativamente para todas as amostras ao longo do tempo. Houve uma oscilação entre os valores de uma mesma amostra e tempo, assim como discutido para a umidade, essa variação pode ter decorrido de uma discreta absorção de água ao longo do tempo. Ao final do armazenamento a A_w das amostras ficaram ao redor de 0,6 (Tabela 3 - T_{180}), indicando que a partir deste valor o produto corre algum risco de sofrer alterações pelo desenvolvimento de alguns tipos de fungos e leveduras (Robertson, 1992).

A Tabela 4 apresenta os resultados de diâmetro médio (D50) e polidispersidade (variação de tamanho entre as partículas) das amostras.

Logo após a produção das partículas (tempo zero, T_0) o D50 observado foi menor para a amostra controle C-M, sem ativo, seguida da amostra M-FeP e por último, com maior diâmetro médio, ficou a amostra MP-FeP ($p < 0,05$). A povidona apresenta um peso molecular superior a maltodextrina, que provavelmente contribui para um ligeiro aumento da viscosidade da dispersão e conseqüentemente diâmetro das micropartículas após a secagem. Os diâmetros inferiores (D10) e superiores (D90) também seguiram a mesma ordem observada para D50. Provavelmente o aumento no tamanho pode ter sido decorrência da presença do ativo nas formulações M-FeP e MP-FeP.

A polidispersidade, evidenciada pelo valor do índice de span da amostra controle foi menor que das amostras contendo Fe-P, no tempo zero (Tabela 4). As amostras contendo ativo não apresentaram diferença estatística no span ($p > 0,05$).

Portanto, os valores de diâmetro médio (D50) e span observados para as amostras logo após a produção das mesmas foram típicos de produtos obtidos por atomização e estão dentro da faixa de tamanho observada na literatura científica para micropartículas produzidas por spray drying. Aghbashlo et al. (2012) relataram diâmetro médio variando de 1,37 a 4,59 μm para micropartículas produzidas por spray drying contendo óleo de peixe. Koç e coautores (2015) reportaram índices de polidispersidade (span) na faixa de 1,927 a 10,870 para micropartículas contendo óleo de oliva extra virgem encapsulado por spray drying. Tonon et al (2011) apresentaram valores de diâmetro médio entre 7,95 e 17,88 μm e span variando de 2,16 a 2,65.

De acordo com Goula e Adamopoulos (2004), esses valores refletem a viscosidade da solução inicial, pois são formadas gotículas maiores na atomização quanto maior a viscosidade da solução de alimentação, o que resulta na formação de partículas maiores. As amostras utilizando a maltodextrina como material de parede e com ativo (M-FeP) e mistura de maltodextrina/polidextrose com ativo (MP-FeP) podem ter apresentado uma viscosidade ligeiramente maior que a controle que continha apenas maltodextrina (característica não determinada) o que pode ter ocasionado no diâmetro maior das referidas amostras.

Nas medições de tamanho ao longo do tempo, para cada amostra, foi observada uma pequena oscilação entre os valores, provavelmente decorrente das variações entre unidades amostrais (sachês) selecionadas aleatoriamente em cada tempo para execução das análises.

Todos os parâmetros de tamanho das amostras apresentaram aumento com o decorrer do tempo de armazenamento (180 dias – Tabela 4). Apesar das diferenças numéricas entre os parâmetros de tamanho, ao longo do tempo, serem diferentes estatisticamente ($p > 0,05$), o incremento nos diâmetros e no span foram muito pequenos e considerando a polidispersidade das amostras, pode-se afirmar que as mesmas não apresentaram formação de grumos e aglomerados (caking), mantendo-se estável fisicamente durante o armazenamento.

Tabela 4

Diâmetro médio e distribuição do tamanho das micropartículas com diferentes agentes encapsulantes do ativo.

Tempo (dias)	Amostras	Diâmetro(µm)			Span
		D10	D50	D90	
0	C-M	2,51±0,10 ^{Ac}	4,38±0,24 ^{Ac}	6,98±0,52 ^{Cb}	1,02±0,04 ^{Eb}
	M-FeP	2,75±0,05 ^{Cb}	6,45±0,08 ^{Db}	12,74±0,54 ^{Ca}	1,55±0,07 ^{Ca}
	MP-FeP	2,92±0,08 ^{ABa}	6,85±0,06 ^{BCa}	13,37±0,41 ^{Ba}	1,52±0,06 ^{Ba}
30	C-M	2,46±0,08 ^{Bb}	4,74±0,11 ^{Ac}	8,44±0,19 ^{ABb}	1,26±0,05 ^{BCb}
	M-FeP	2,85±0,06 ^{Ba}	7,47±0,06 ^{ABa}	16,07±0,41 ^{Aa}	1,72±0,04 ^{ABa}
	MP-FeP	2,82±0,06 ^{Ca}	6,74±0,13 ^{ABb}	13,46±0,59 ^{Aa}	1,93±0,29 ^{Aa}
60	C-M	2,35±0,05 ^{BCc}	4,46±0,12 ^{Ab}	7,82±0,33 ^{ABb}	1,21±0,04 ^{Cb}
	M-FeP	2,83±0,10 ^{Bb}	7,06±0,15 ^{Ca}	14,31±1,02 ^{Ba}	1,52±0,12 ^{BCa}
	MP-FeP	2,94±0,08 ^{Aa}	7,16±0,28 ^{Aa}	14,36±0,69 ^{Aba}	1,61±0,04 ^{Ba}
90	C-M	2,45±0,14 ^{ABb}	4,53±0,24 ^{AAc}	7,71±0,43 ^{BCc}	1,17±0,02 ^{Dc}
	M-FeP	2,76±0,02 ^{Ca}	7,37±0,11 ^{ABa}	15,68±0,95 ^{Aa}	1,85±0,1 ^{Aa}
	MP-FeP	2,78±0,05 ^{Ca}	6,74±0,03 ^{Cb}	13,55±0,31 ^{Bb}	1,56±0,05 ^{Bb}
120	C-M	2,38±0,11 ^{ABb}	4,61±0,17 ^{Ac}	8,34±0,31 ^{Ac}	1,33±0,06 ^{ABc}
	M-FeP	2,95±0,05 ^{Aa}	7,44±0,27 ^{Aa}	15,05±1,22 ^{Aa}	1,66±0,1 ^{Aa}
	MP-FeP	2,98±0,05 ^{Aa}	7,00±0,08 ^{ABb}	14,22±0,18 ^{ABb}	1,64±0,03 ^{Bb}
150	C-M	2,39±0,07 ^{ABb}	4,49±0,22 ^{Ac}	7,81±0,55 ^{Bc}	1,25±0,05 ^{CDc}
	M-FeP	2,85±0,05 ^{Ba}	7,49±0,04 ^{Aa}	15,55±0,41 ^{Aa}	1,69±0,05 ^{ABCa}
	MP-FeP	2,85±0,05 ^{BCa}	6,98±0,03 ^{Bb}	14,13±0,03 ^{Bb}	1,61±0,03 ^{Bb}
180	C-M	2,21±0,06 ^{Cc}	4,34±0,11 ^{Ac}	7,99±0,27 ^{ABc}	1,33±0,05 ^{Ab}
	M-FeP	2,73±0,03 ^{Ca}	7,22±0,02 ^{BCa}	15,25±0,12 ^{ABa}	1,73±0,02 ^{ABa}
	MP-FeP	2,64±0,04 ^{Db}	6,73±0,06 ^{Cb}	14,11±0,54 ^{Bb}	1,70±0,07 ^{ABa}

C-M = Controle de maltodextrina sem ativo; M-FeP = ativo + maltodextrina e MP-FeP = ativo + maltodextrina/polidextrose. * Valores referentes à média de seis determinações ± desvio padrão. ** Letras maiúsculas (A, B ou C) nas colunas se referem aos mesmos tratamentos em diferentes tempos de armazenamento. *** Letras minúsculas (a, b ou c) nas colunas se referem as diferentes amostras no mesmo tempo. Letras maiúsculas e minúsculas iguais não diferem entre si, ao nível de 95% de confiança (p<0,05).

A Tabela 5 apresenta os resultados da análise de cor das amostras microencapsuladas. Inicialmente (T0) todas as amostras apresentaram coloração clara (branca), sendo, no entanto, observado diferenças para todos os parâmetros de cor entre as amostras ($p < 0,05$).

Tabela 5

Parâmetros de cor das amostras microencapsuladas obtida no *spray drying* em diferentes tempos de armazenagem.

Tempo (dias)	Amostra	L*	a*	b*	C*	ΔE
0	C-M	97,50±0,02 ^{Ea}	0,02±0,01 ^{Ac}	2,54±0,01 ^{Ac}	2,54±0,01 ^{Ac}	0
	M-FeP	91,72±0,01 ^{Ac}	0,33 ±0,01 ^{Aa}	5,38±0 ^{Da}	5,39±0 ^{Da}	0
	MP-FeP	91,92±0 ^{Ab}	0,29± 0,01 ^{Bb}	4,56±0 ^{Fb}	4,57±0 ^{Fb}	0
30	C-M	100,20±0,15 ^{Aa}	-0,30±0,01 ^{Cc}	1,75±0,21 ^{Dc}	1,77±0,21 ^{Dc}	2,83
	M-FeP	87,55±0,07 ^{Bc}	0,12±0,01 ^{Bb}	5,56±0,01 ^{Da}	5,56±0,01 ^{Da}	4,18
	MP-FeP	87,99±0,13 ^{Bb}	0,39±0,01 ^{Aa}	5,24±0,04 ^{Eb}	5,25±0,04 ^{Eb}	3,99
60	C-M	99,46±0,18 ^{Ca}	-0,35±0,03 ^{Dc}	2,59±0,01 ^{A c}	2,61±0,01 ^{Ac}	2,00
	M-FeP	84,24±0,25 ^{Cc}	0,14±0,05 ^{Ba}	6,97±0,01 ^{Ca}	6,97±0,01 ^{Ca}	7,65
	MP-FeP	86,59±0,23 ^{Cb}	0,25±0,03 ^{Ba}	6,02±0,17 ^{Db}	6,03±0,17 ^{Db}	5,53
90	C-M	100,21±0,19 ^{Aa}	-0,25±0,04 ^{Bc}	1,65±0,08 ^{D c}	1,67±0,09 ^{Ec}	2,87
	M-FeP	82,02±1,93 ^{Ec}	0,42±0,10 ^{Aa}	6,85±0,26 ^{Ca}	6,86±0,26 ^{Ca}	9,81
	MP-FeP	85,49±0,85 ^{Db}	0,23±0,09 ^{Bb}	6,25±0,09 ^{Cb}	6,26±0,10 ^{Cb}	6,65
120	C-M	99,54±0,29 ^{Ca}	-0,33±0,02 ^{Db}	2,14±0,14 ^{C c}	2,17±0,14 ^{Cc}	2,11
	M-FeP	83,21±0,93 ^{Dc}	0,19±0,22 ^{Ba}	7,28±0,26 ^{Ba}	7,28±0,25 ^{Ba}	8,72
	MP-FeP	85,21±0,08 ^{Db}	0,12±0,06 ^{Ca}	6,73±0,16 ^{Bb}	6,73±0,15 ^{Bb}	7,05
150	C-M	99,75±0,04 ^{Ba}	-0,34±0,02 ^{Dc}	2,32±0,01 ^{Bc}	2,34±0,01 ^{Bc}	2,29
	M-FeP	82,65±0,55 ^{DEc}	0,19±0,01 ^{Ba}	7,59±0,03 ^{Aa}	7,59±0,03 ^{Aa}	9,34
	MP-FeP	83,75±0,28 ^{Eb}	0,03±0,02 ^{Db}	7,45±0,10 ^{Ab}	7,45±0,10 ^{Ab}	8,67
180	C-M	99,25±0,00 ^{Da}	-0,35±0,01 ^{Dc}	2,27±0,01 ^{BCc}	1,15±0,01 ^{BCa}	1,81
	M-FeP	84,61±0,01 ^{Cb}	-0,05±0,01 ^{Cb}	7,23±0,01 ^{Bb}	3,61±0,01 ^{Bb}	7,36
	MP-FeP	83,18±0,00 ^{Fc}	0,07±0,01 ^{Da}	7,39±0,01 ^{Aa}	3,69±0,01 ^{Ac}	9,19

C-M = Controle de maltodextrina sem ativo; M-FeP = ativo + maltodextrina e MP+FeP = ativo + maltodextrina/polidextrose. * Valores referentes à média de dez determinações ± desvio padrão. ** Letras maiúsculas (A, B ou C) nas colunas se referem aos mesmos tratamentos em diferentes tempos de armazenamento. *** Letras minúsculas (a, b ou c) nas colunas se referem as diferentes amostras no mesmo tempo. Letras maiúsculas e minúsculas iguais não diferem entre si, ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$). ΔE = Diferença entre duas cores, utilizando o espaço L*, a* e b*, onde o T0 foi o valor inicial.

O parâmetro de cor L^* representa a luminosidade da amostra. Os valores de L^* podem variar em uma escala de 0 (preto) a 100 (branco) e quanto mais próximo de 100 mais clara é a amostra. O parâmetro a^* varia de vermelho (+) a verde (-) e o parâmetro b^* varia de amarelo (+) a azul (-) (Moritz, 2011).

A amostra que apresentou maior valor de L foi a controle C-M ($p < 0,05$). A luminosidade das amostras (L^*) provavelmente teve influência da presença de ativo nas formulações, sendo que a solução de Fe-P com a presença do ácido ascórbico apresenta uma coloração amarelo escurecida. A amostra C-M foi aquela contendo apenas maltodextrina (material branco) e sem a presença de ativo, e isso pode ter resultado no seu maior valor de luminosidade (L^*) em relação às amostras com ativo.

A presença do ativo também influenciou os outros parâmetros de cor das amostras de forma significativa ($p < 0,05$), já no tempo inicial, logo após o processamento. A amostra controle M-C apresentou menor valor de vermelho (a^* ligeiramente positivo) e de amarelo (b^* ligeiramente positivo), quando comparada com as amostras contendo FE-P. Na preparação das amostras para o processo de spray drying a solução Fe-P apresentava coloração alaranjada (mistura de vermelho e amarelo), atribuída a coloração do ativo e isso refletiu a diferença de cor entre o controle e as amostras.

A avaliação de cor das amostras durante o armazenamento (Tabela 5) mostrou que ocorreram variações em todos os parâmetros e para todas as amostras, ao longo do tempo.

A amostra controle mostrou-se ligeiramente mais clara durante o armazenamento e entre os tempos 30 e 180 dias a variação de L^* foi muito pequena indicando que no geral a amostra não teve alteração de cor. Já as amostras contendo Fe-P sofreram um escurecimento ao longo do tempo evidenciado pela redução dos valores de L^* (Tabela 5) sendo essa variação mais acentuada nos primeiros 30 dias. Esse escurecimento progressivo tem como hipótese a oxidação do ácido ascórbico usado para preservação do Fe livre (não complexado) na forma de Fe(II), passando para ácido L – dehidroascórbico, de coloração mais amarelada.

O ácido ascórbico (ou ascorbato) foi adicionado ao meio reacional como antioxidante para proteger o ferro e manter o estado ferroso (Fe^{2+}). O ácido ascórbico é reversivelmente oxidado com a perda de 1 elétron para formar o radical livre, ácido semi-deidroascorbato, o qual por sua vez é oxidado a ácido L – dehidroascórbico

(JUNG e Wells, 1998). No trabalho de Gonçalves (2005), que explorou a liberação do ferro a partir de complexos orgânicos minerais a base de quitosana, o ácido ascórbico mostrou habilidade para agir como redutor mantendo o ferro no estado de oxidação +2.

O parâmetro a^* mostrou uma redução do valor positivo para as amostras contendo Fe-P ao longo do tempo, sendo mais acentuada para amostra M-FeP que para a amostra MP-FeP, indicando uma redução da cor vermelha nas amostras. Para o parâmetro b^* as amostras contendo ativo tiveram um aumento no valor positivo, indicando um aumento na intensidade da cor amarela. Sendo mais evidenciada para M-FeP.

Como os valores de a^* e b^* foram relativamente baixos, as amostras sempre foram observadas no equipamento como brancas com ligeira alteração de cor ao longo do tempo (cinza claro). No geral ocorreu uma alteração de cor mais acentuada para a amostra M-FeP, constituída apenas de maltodextrina como material de parede.

A maltodextrina utilizada para este trabalho possui dextrose equivalente (DE) igual a 20, sendo conhecido que o aumento do DE melhora as propriedades de barreira ao oxigênio e, portanto, a estabilidade oxidativa (Anandaraman; Reineccius, 1986). A correlação entre o valor de dextrose equivalente de um amido hidrolisado e a estabilidade oxidativa conferida ao ativo foi relatada por Wagner e Warthesen (1995). Foi constatada maior eficiência da cápsula em proteger caroteno contra oxidação, quanto maior o grau de hidrólise do amido e conseqüentemente ED mais elevado (Qi; Xu, 1999). O grau de dextrinização da maltodextrina (ED) também foi associado a eficiência de proteção contra a oxidação de lipídeos e valores superiores a 35 são citados mais eficientes. Além disso, a mistura de polissacarídeos com faixas variadas de pesos moleculares pode compor uma melhor barreira ao oxigênio (Reineccius 1989; Gharsallaoui et al., 2007).

As amostras, controle (C-M) e contendo o ativo Fe-P (M-FeP e MP-FeP), foram observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliação de sua aparência e possíveis alterações ao longo do tempo. As fotomicrografias dos tempos zero e de 180 dias são ilustrados na Fig. 3, 4 e 5 (imagens de A e B).

As micropartículas produzidas no tempo zero, em todas as amostras, apresentaram formato esférico, característico de pós produzidos por atomização (Fig. 3, 4 e 5 – A). Ainda é possível observar nas imagens de A e B a variação de tamanho

das partículas que corrobora a discussão sobre a polidispersidade apresentada anteriormente.

As imagens do MEV (Fig.3, 4 e 5) mostram a aparência de superfície das partículas, com alta polidispersidade e aparência muito similar a outras amostras de micropartículas obtidas por spray drying apresentadas em trabalhos científicos (Koç et al., 2015; Alvim et al., 2016; Aghbashlo et al., 2012; Sanchez-Reinoso, Osorio, Herrera, 2017; Tonon et al., 2011; Fadini et al., 2018).

A comparação das imagens dos tempos zero (Fig. 3, 4 e 5 – A) e 180 dias (Fig. 3, 4 e 5 – B) permitiram afirmar que não houve uma alteração significativa na aparência das mesmas durante o armazenamento, indicando estabilidade estrutural das micropartículas apesar do discreto aumento da umidade e atividade de água.

Concomitante a análise de microscopia eletrônica de varredura foi realizada a microanálise de raios-X por dispersão de energia (EDX) para detecção do ferro na superfície das amostras. Os Espectros da microanálise de raios-X por dispersão de energia ((EDX) dos tempos zero e 180 dias são ilustrados na Fig. 6,7 e 8, (imagens de A e B).

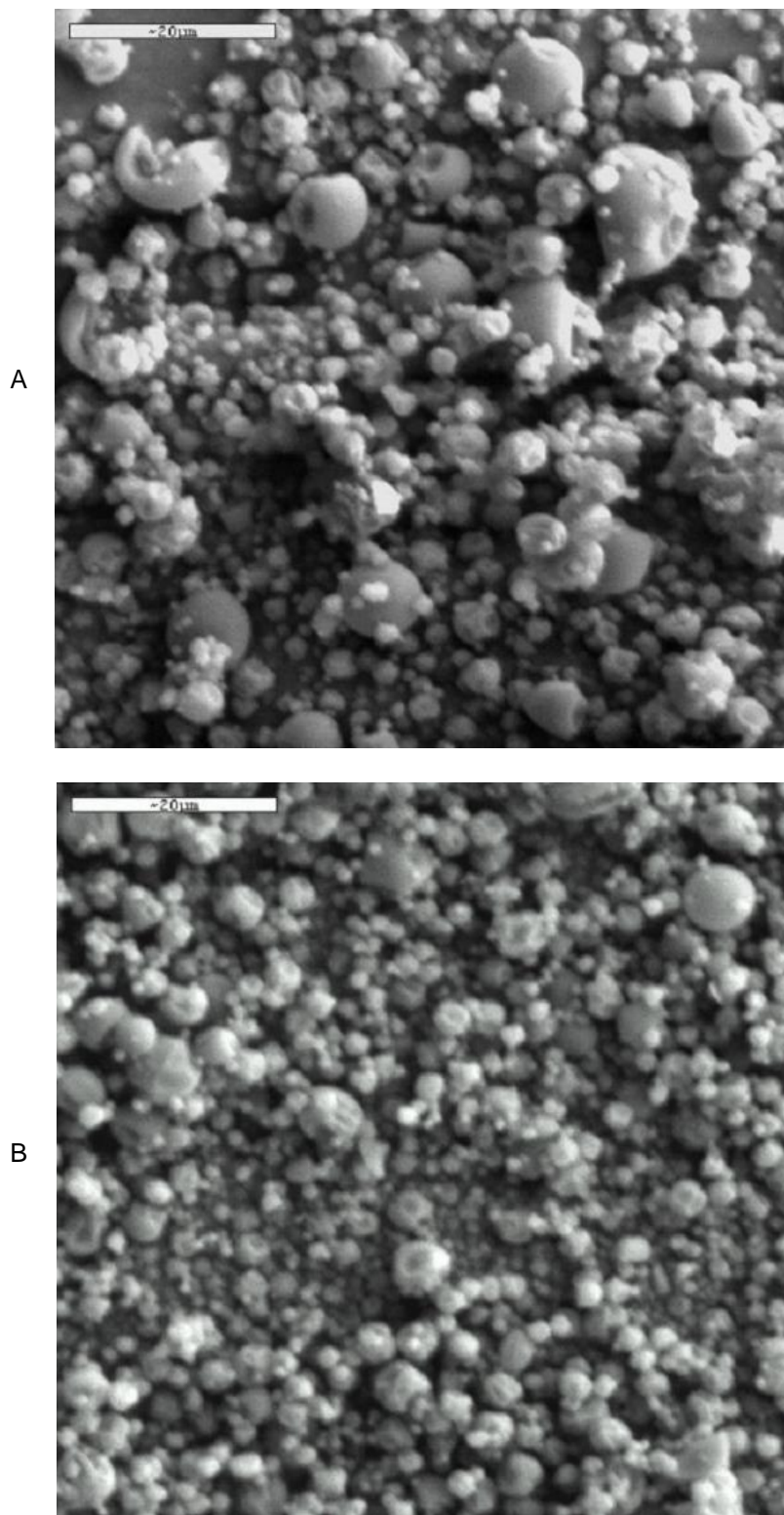


Fig. 3. Fotomicrografias da amostra controle de maltodextrina (C-M) obtidas em diferentes tempos: A) recém produzidas (tempo 0) e B) após 180 dias de armazenamento, através de microscopia eletrônica de varredura. Aumento: MEV: 1000X.

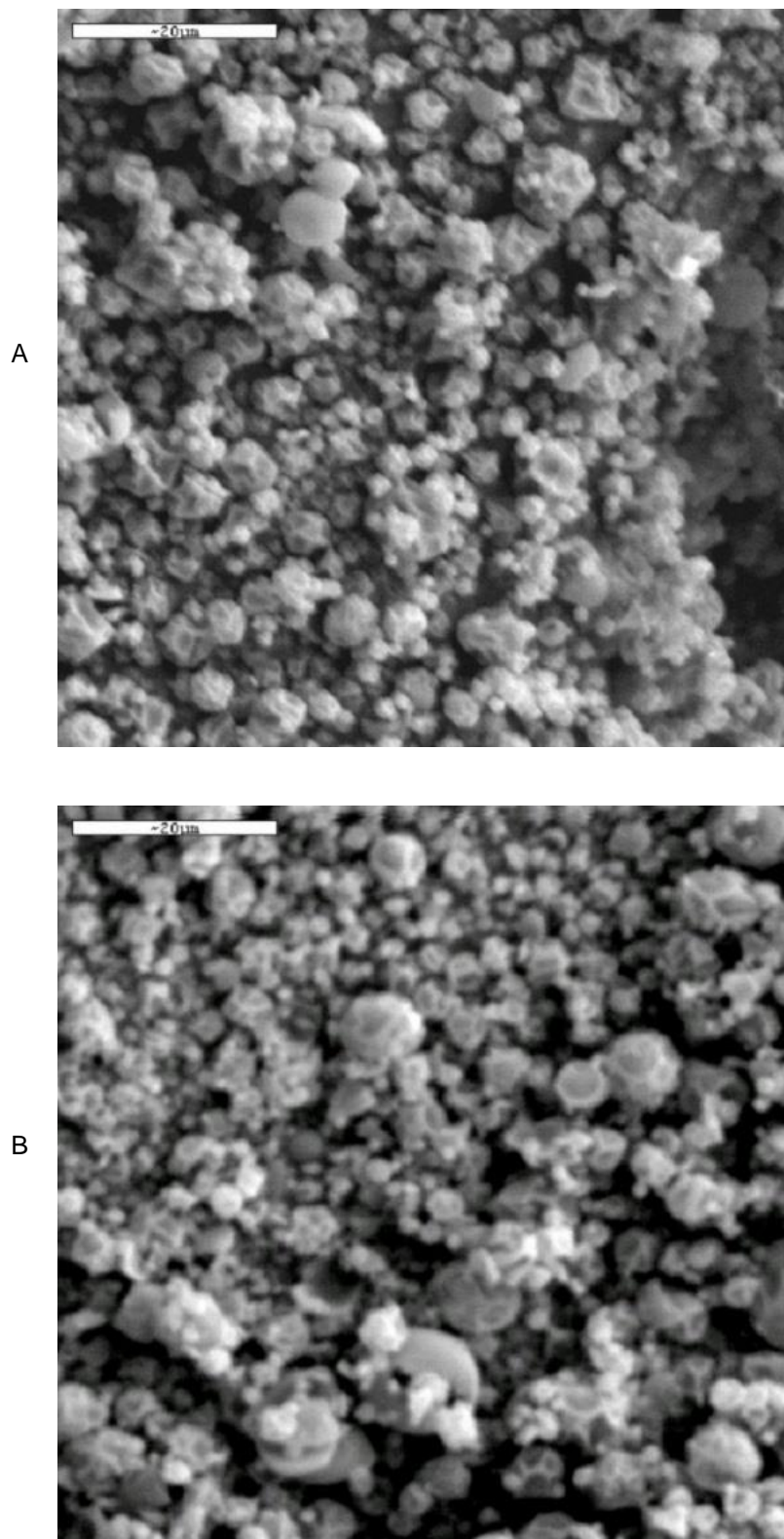


Fig. 4. Fotomicrografias da amostra maltodextrina com complexo ferro peptídeo (M-FeP) obtidas em diferentes tempos: A) recém produzidas (tempo 0) e B) após 180 dias de armazenamento, através de microscopia eletrônica de varredura. Aumento: MEV: 1000X.

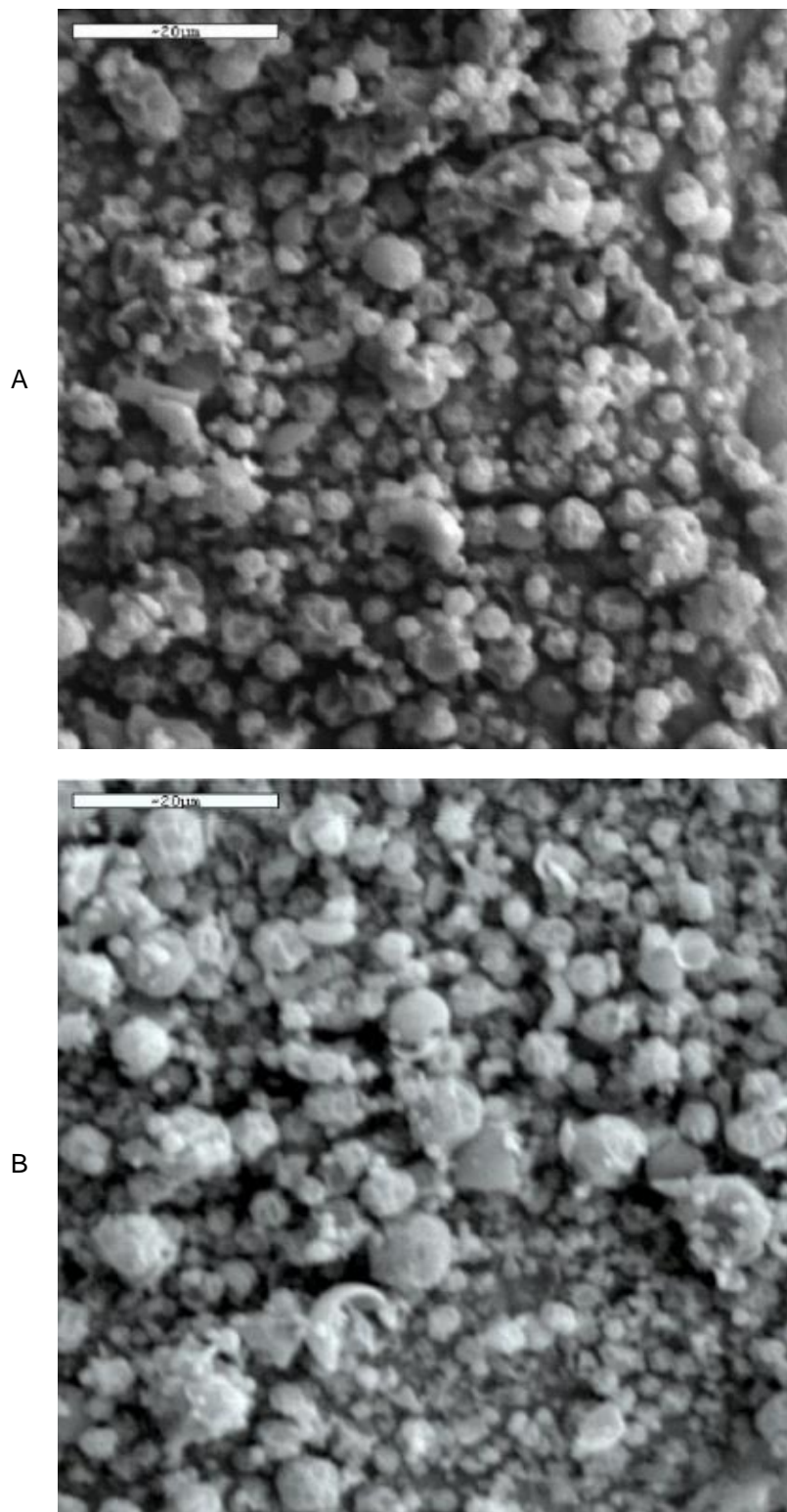


Fig. 5. Fotomicrografias da amostra maltodextrina mais polidextrose com complexo ferro peptídeo (MP-FeP) obtidas em diferentes tempos: A) recém produzidas (tempo 0) e B) após 180 dias de armazenamento, através de microscopia eletrônica de varredura. Aumento: MEV: 1000X.

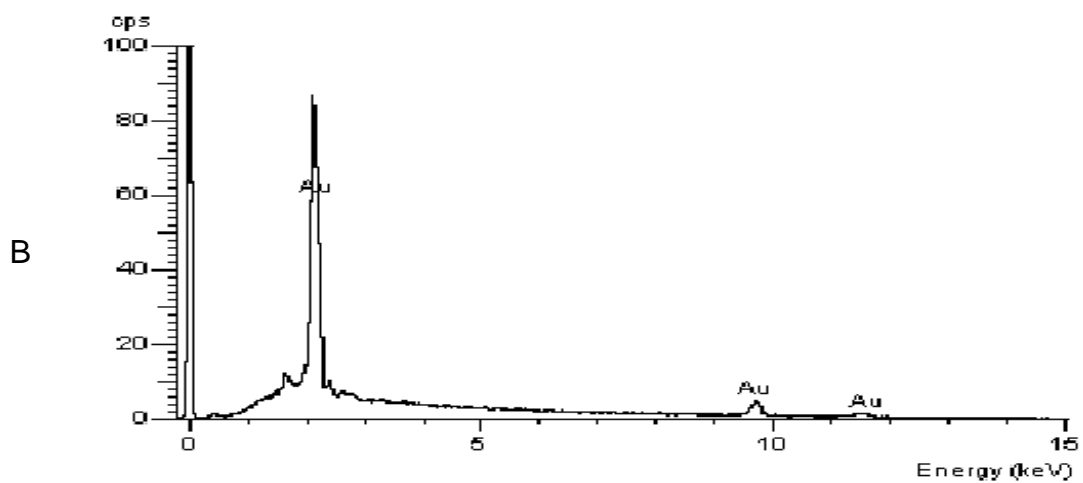
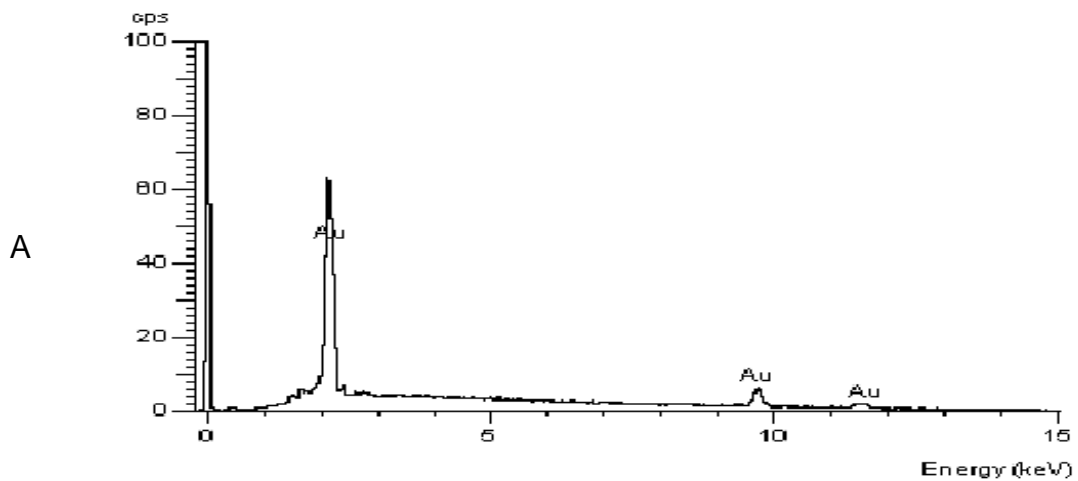


Fig. 6. Espectros da microanálise de raios-X por dispersão de energia ((EDX) da amostra controle de maltodextrina (C-M) obtidas em diferentes tempos: A) recém produzidas (tempo 0) e B) após 180 dias de armazenamento.

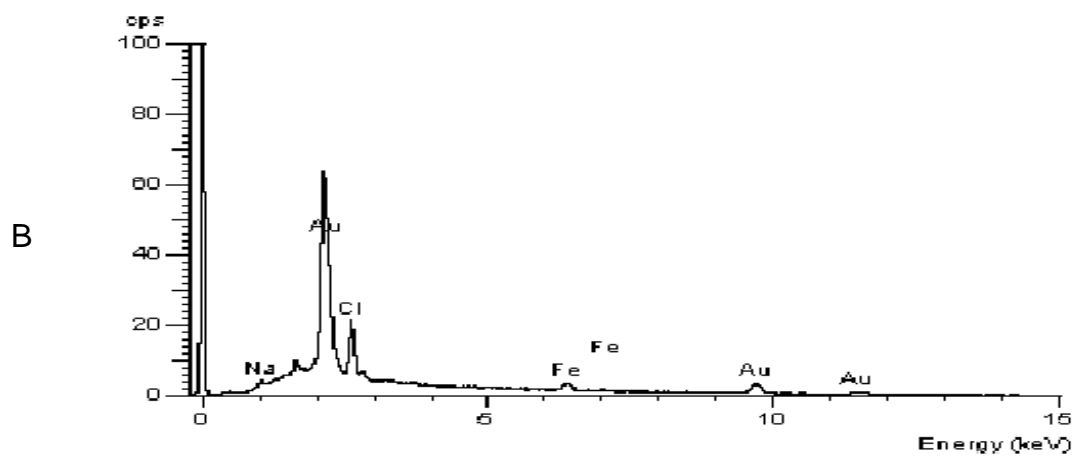
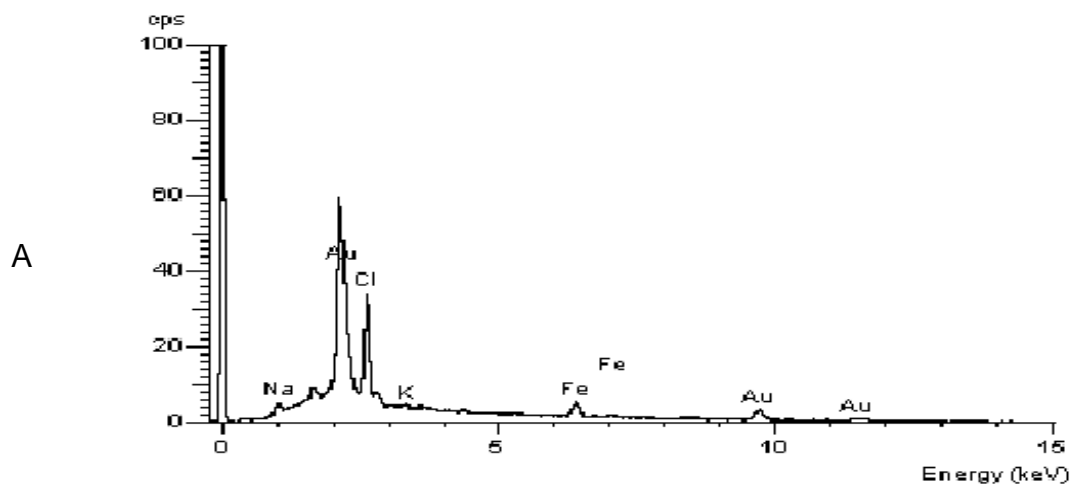


Fig. 7. Espectros da microanálise de raios-X por dispersão de energia ((EDX) da amostra maltodextrina com complexo ferro peptídeo (M-FeP) obtidas em diferentes tempos: A) recém produzidas (tempo 0) e B) após 180 dias de armazenamento.

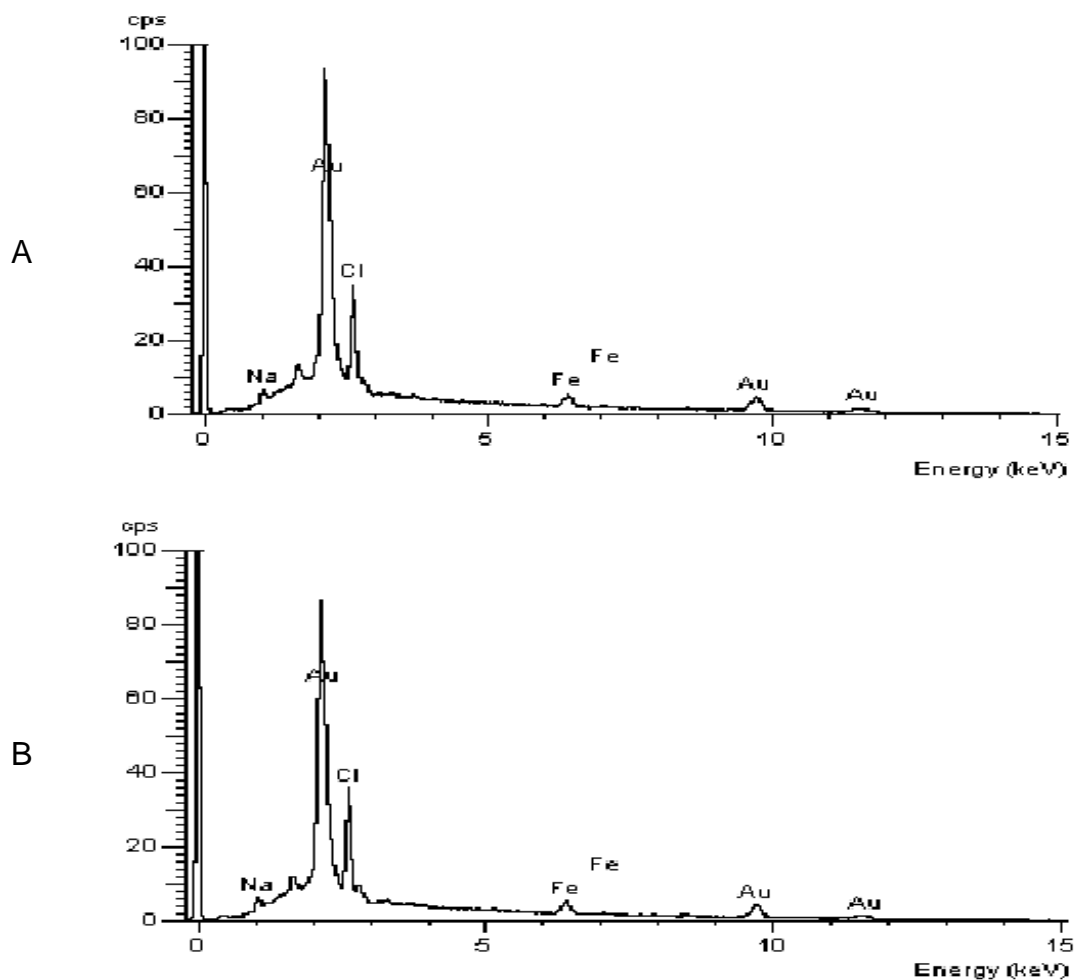


Fig. 8. Espectros da microanálise de raios-X por dispersão de energia ((EDX) da amostra maltodextrina mais polidextrose com complexo ferro peptídeo (MP-FeP) obtidas em diferentes tempos: A) recém produzidas (tempo 0) e B) após 180 dias de armazenamento.

O sistema de microanálise de raios-X por dispersão de energia, acoplado ao equipamento de MEV, permite a obtenção de informações sobre a composição elementar do material (para o equipamento utilizado o método é semi-quantitativo). Neste trabalho foi utilizada a janela de berílio para microanálise do material, a qual permite a identificação dos elementos com número atômico (Z) igual ou superior a 11. Nos espectros obtidos para a amostra controle C-M (Fig.6 – A e B) contendo apenas maltodextrina, observa-se apenas o pico do material de recobrimento, o ouro (número atômico 79). Os constituintes da maltodextrina e polidextrose, carbono, oxigênio e hidrogênio, que possuem números atômicos de 6, 8 e 1 respectivamente, não foram detectáveis pelo tipo de janela utilizada. Para as amostras contendo o ativo Fe-peptídeo foi possível a identificação do ferro (número atômico 26) nos espectros de

EDX (Fig. 7 e 8 – A e B). A análise da superfície das estruturas mostra que algum conteúdo de ferro está localizado na região externa superficial da partícula. Sendo assim, uma quantidade de ferro, na forma complexada ou livre apresenta maior exposição do que aquele localizado na região interna da estrutura. Deste modo a adição de ácido ascórbico mostrou acertada para estabilizar o ferro no estado ferroso.

Nos espectros de EDX (Fig. 7 e 8 – A e B) foram também detectados os elementos sódio (Na - número atômico 11) e cloro (Cl - número atômico 17), provavelmente residuais da reação de complexação do ferro com os peptídeos, na qual o ajuste do pH é feito com soluções de ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH). O nitrogênio dos peptídeos não foi detectado devido ao seu baixo número atômico (7).

A análise de EDX foi realizada com a intenção de identificar o ferro na superfície das partículas e não teve caráter quantitativo. Portanto a variação observada na altura dos picos entre os espectros de tempos diferentes não é conclusiva para a quantidade de ferro no sistema. A análise também não diferencia o ferro na forma II (ferroso) ou III (férico). Contudo, esta análise se mostrou uma ferramenta muito apropriada para avaliar a exposição do ativo através da sua presença na superfície das micropartículas.

4. Conclusões

O processo utilizado para o desenvolvimento das amostras foi efetivo na obtenção de um ingrediente com potencial para veiculação do complexo Fe-P. A técnica de EDX foi uma ferramenta relevante para visualizar o ferro exposto na superfície das micropartículas.

Agradecimentos

Este trabalho foi apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP N^o. 2016/12660-3

Referências

- Aghbashlo, M., Mobli, H., Rafiee, S., & Madadlou, A. (2012). Optimization of emulsification procedure for mutual maximizing the encapsulation and exergy efficiencies of fish oil microencapsulation. *Powder Technology*, 225, 107–117.
- Alvim, I. D., Stein, M. A., Koury, I. P., Dantas, F. B. H., & Cruz, C. L. de C. V. (2016). Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 689–694.
- Anandaraman, S.; Reineccius, G.A. (1986). Stability of encapsulated orange peel oil. *Food Technology*, 40, 88–93.
- Augustin, M. A., & Hemar, Y. (2009). Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38(4), 902–912.
- Barão, M. Z. (2011). Dossiê Técnico: Embalagens para produtos alimentícios. *Instituto de Tecnologia Do Paraná*, 1–31.
- Caetano-Silva, M. E., Cilla, A., Bertoldo-Pacheco, M. T., Netto, F. M., & Alegría, A. (2016). Evaluation of in vitro iron bioavailability in free form and as whey peptide-iron complexes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 61, 1-27.
- Caetano-Silva, M. E., Alves, R. C., Lucena, G. N., Frem, R. C. G., Bertoldo-Pacheco, M. T., Lima-Pallone, J. A., & Netto, F. M. (2017). Synthesis of whey peptide-iron complexes: Influence of using different iron precursor compounds. *Food Research International*, 101, 73–81.
- Caetano-Silva, M. E., Mariutti, L. R. B., Bragagnolo, N., Pacheco, M. T. B., & Netto, F. M. (2018). Whey peptide-iron complexes increase the oxidative stability of oil-

- in-water emulsions in comparison to iron salts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 1981-1989.
- Cançado, R. D., & Chiattoni, C. S. (2010). Anemia ferropênica no adulto: causas, diagnóstico e tratamento. *Revista Brasileira de Hematologia E Hemoterapia*, 32(3), 240–246.
- De La Hoz, L., Ponezi, A. N., Milani, R. F., Da Silva, V. S. N., De Souza, A. S., & Bertoldo-Pacheco, M. T. (2014a). Iron-binding properties of sugar cane yeast peptides. *Food Chemistry*, 142, 114–120.
- De La Hoz, L., Silva, V.S.N., Morgano, M. A.; Bertoldo Pacheco, M.T. (2014b). Small peptides from enzymatic whey hydrolysates increase dialyzable iron. *International Dairy Journal*, 145, 145-147.
- Desai, K. G. H., & Jin Park, H. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying technology*, 23(7), 1361-1394.
- Dias, D. R., Botrel, D. A., Fernandes, R. V. D. B., & Borges, S. V. (2017). Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. *Current Opinion in Food Science*, 13, 31–37.
- Di Battista, C. A., Constenla, D., Ramírez Rigo, M. V., & Piña, J. (2017). Process analysis and global optimization for the microencapsulation of phytosterols by spray drying. *Powder Technology*, 321, 55–65.
- Fabris, S., Freire, M. T. D. a, & Reyes, F. G. R. (2006). Nação De Alimentos E Aspectos De Legislação. *Revista Brasileira de Toxicologia*, 2(19), 59–70.
- Fadini, A. L., Alvim, I. D., Ribeiro, I. P., Ruzene, L. G., da Silva, L. B., Queiroz, M. B., Rodrigues, R. A. F. (2018). Innovative strategy based on combined microencapsulation technologies for food application and the influence of wall material composition, *LWT – Food Science and Technology*, 91, 345-352.
- Ferrari, C. C., Germer, S. P. M., Alvim, I. D., Vissotto, F. Z., & de Aguirre, J. M. (2012). Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(6), 1237–1245.
- Fiesp/Ital – Federação das Indústrias do Estado de São Paulo – Instituto de Tecnologia de Alimentos. Brasil Food Trend 2020. (2010). São Paulo. FIESP/ITAL, 173. Disponível em: http://www.brazilfoodtrends.com.br/Brasil_Food_Trends/. Acesso em: 15 de Jan. 2018.
- Firestone, D. Official method and recommended practices of the American Oil Chemist's Society. AOCS, 5th Edition, 2nd Printing. Official Method Ba 11-65 Reapproved 1997, Champaign, Illinois, 2005-2006.

- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107–1121.
- Gomes, C.R.; Vissotto, F. Z.; Fadini, A. L.; De Faria, E. V.; Luiz, A. M. (2007). Influence of different bulk agents in the rheological and sensory characteristics of diet and light chocolate. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27 (3), 614-623, 2007.
- Gonçalves, V.L. (2005). Desenvolvimento de Sistemas de Liberação de Ferro a partir de Complexos Orgânicos – Minerais a base de Quitosanas a serem aplicados no tratamento de Anemia Ferropriva. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, 132p.
- Goula, A.M.; Adamopoulos, K.G. (2004). Spray drying of tomato pulp: Effect of feed concentration. *Drying Technology*, 22, 2309-2330.
- Gupta, C., Chawla, P., Arora, S., Tomar, S. K., & Singh, A. K. (2015). Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method - Milk fortification. *Food Hydrocolloids*, 43 (1), 622–628.
- ITAL. (2014). *Brasil Ingredients Trends 2020. Brasil Ingredients Trends 2020*. Retrieved from <http://www.brasilingredientstrends.com.br/files/assets/basic-html/page-303.html#>
- Jung, C.H; Weels, W.W. (1998). Spontaneous Conversion of L-Dehydroascorbic Acid to LAscorbic Acid and L- Erythroascorbic Acid. *Archives Biochemistry Biophysics*, 355, 9-14.
- Koç, M., Güngör, Ö., Zungur, A., Yalçın, B., Selek, İ., Ertekin, F. K., & Ötles, S. (2015). Microencapsulation of Extra Virgin Olive Oil by Spray Drying: Effect of Wall Materials Composition, Process Conditions, and Emulsification Method. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 301–318.
- Latimer, G. W. JR. (2012). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland: AOAC,19.
- Mohan, A., Rajendran, S. R. C. K., He, Q. S., Bazinet, L., & Udenigwe, C. C. (2015). Encapsulation of food protein hydrolysates and peptides: a review. *RSC Adv.*, 5(97), 79270–79278.
- Morgano, M. A.; Queiroz, S. C. N. Ferreira, M. M. C. (1999). Determinação dos teores de minerais em sucos de frutas por espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). *Ciência de Tecnologia de Alimentos*, 19, 344-348.
- Moritz, A. R. (2011). Existe cor em nossas vidas. A colorimetria aplicada em nossos dias. 1ª edição. BrasEq, 176p.

- Nijdam, J. J., & Langrish, T. A. G. (2006). The effect of surface composition on the functional properties of milk powders. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 919-925.
- Pacheco, M. T. B., Dias, N. F. G., Baldini, V. L. S., Tanikawa, C., & Sgarbieri, V. C. (2005). Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados protéicos de soro de leite 1, 25(2), 333–338.
- Prichapan, N., McClements, D. J., & Klinkesorn, U. (2018). Iron Encapsulation in Water-in-Oil Emulsions: Effect of Ferrous Sulfate Concentration and Fat Crystal Formation on Oxidative Stability. *Journal of Food Science* 0(0).
- Qi, Z.H. Xu, A. (1999). Starch-based ingredients for flavor encapsulation. *Cereal Foods World*, 44, 460-465.
- Reineccius, G. A. (1989). Flavor encapsulation. *Food Review International*, 5 (2), 146-176.
- Robertson, G. L. (1992). Food Packaging: principles and practice. New York: Marcel Decker, Inc., 676.
- Sanchez-Reinoso, Z., Osorio, C., & Herrera, A. (2017). Effect of microencapsulation by spray drying on cocoa aroma compounds and physicochemical characterisation of microencapsulates. *Powder Technology*, 318, 110–119.
- Sgarbieri, V. C., & Pacheco, M. T. B. (2017a). Human development: from conception to maturity. *Brazilian Journal of Food Technology*, 20, e2016161.
- Sgarbieri, V. C., & Pacheco, M. T. B. (2017b). Healthy human aging: intrinsic and environmental factors. *Brazilian Journal of Food Technology*, 20, e2017007.
- Shamaei, S., Seiedlou, S. S., Aghbashlo, M., Tsotsas, E., & Kharaghani, A. (2017). Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 101–112.
- Tonon, R. V., Grosso, C. R. F., & Hubinger, M. D. (2011). Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Research International*, 44(1), 282–289.
- Vishnu, K. V., Chatterjee, N.S., Ajeeshkumar, K.K., Lekshmi, R.G.K., Tejpal, C.S., Mathew, S. & Ravishankar, C.N. (2017). Microencapsulation of sardine oil: Application of vanillic acid grafted chitosan as a bio-functional wall material. *Carbohydrate Polymers*, 174, 540–548.
- Wagner, L. A., & Warthesen, J. J. (1995). Stability of Spray-Dried Encapsulated Carrot Carotenes. *Journal of Food Science*, 60(5), 1048–1053.

WHO. Guideline: daily iron and folic acid supplementation in pregnant women. World Health Organization, Geneva, 2012.

CONCLUSÕES GERAIS

Os peptídeos de pequeno tamanho obtido pela técnica proposta promoveram a complexação do ferro. A secagem do ativo na presença de polissacarídeos hidrossolúveis resultou na formação de micropartículas para veicular e conservar o Fe-peptídeos.

As micropartículas Fe-P foram obtidas com sucesso mostrando elevado rendimento de processos e eficiência de encapsulação, satisfatório para a escala do equipamento utilizada.

As amostras apresentaram variações significativas nos valores de umidade e A_w durante o armazenamento, onde os peptídeos junto com a povidona apresentaram os maiores valores.

Todas as amostras apresentaram formato esférico e polidispersibilidade característico de pós produzidos pela técnica de spray drying. Foi observado reduzido incremento nos diâmetros e no span ao longo do armazenamento, indicando que as amostras não tiveram alteração de tamanho relevante.

A variação de cor das amostras contendo o ativo Fe-P provavelmente foi devido a presença do ácido ascórbico. A técnica de EDX permitiu a identificação do ferro na superfície das partículas, indicando um potencial inovador desta técnica na caracterização de compostos microencapsulados.

As amostras apresentaram potencial para aplicação em alimentos como carreadores de Fe e incorporados a alimentos secos ou preparados sólidos para refrescos e bebidas.

ANEXO 1

Processo obtenção de uma micropartícula contendo Fe-peptídeo de elevada biodisponibilidade, micropartícula e usos da micropartícula

Autores: Marília Pinheiro Filiponi, Bruna Gaigher, Maria Elisa Caetano Silva de Abreu, Izabela Dutra Alvim, Maria Teresa Bertoldo Pacheco

Patente

Número do Processo: BR 10 2017 022719 7

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2017 022719 7

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 46384400002605

Nacionalidade: Brasileira

Endereço: AVENIDA BRASIL, 2880

Cidade: Campinas

Estado: SP

CEP: 13070178

País: Brasil

Telefone: (19)37431800

Fax:

Email: nit@ital.sp.gov.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO OBTENÇÃO DE UMA MICROPARTÍCULA CONTENDO PEPTÍDEO DE ELEVADA BIODISPONIBILIDADE, MICROPARTÍCULA E USOS DA MICROPARTÍCULA

Resumo: A presente invenção descreve um ingrediente microencapsulado para ser utilizado como fonte de ferro de elevada biodisponibilidade. O componente ativo é preparado a partir de proteínas hidrolisadas do soro de leite bovino, onde apenas a fração de baixo peso molecular é quelada e/ou complexada aos íons metálicos de ferro. O ingrediente na forma de microcápsulas tem como aplicação a produção de um suplemento mineral de ferro hidrossolúvel com elevada biodisponibilidade do ferro. O processo é eficiente, por unir um composto orgânico de pequeno tamanho (peptídeo) a um mineral (ferro), resultando num produto de maior estabilidade, solubilidade e consequentemente maior absorção pelo trato gastrointestinal. A presente invenção se situa no campo de Alimentos, mais precisamente na Química de Alimentos.

Figura a publicar: 1

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 20/10/2017 às 18:53. Petição 870170080487.

Resumo**PROCESSO OBTENÇÃO DE UMA MICROPARTÍCULA CONTENDO FE-
PEPTÍDEO DE ELEVADA BIODISPONIBILIDADE, MICROPARTÍCULA E USOS DA
MICROPARTÍCULA**

A presente invenção descreve um ingrediente microencapsulado para ser utilizado como fonte de ferro de elevada biodisponibilidade. O componente ativo é preparado a partir de proteínas hidrolisadas do soro de leite bovino, onde apenas a fração de baixo peso molecular é quelada e/ou complexada aos íons metálicos de ferro. O ingrediente na forma de microcápsulas tem como aplicação a produção de um suplemento mineral de ferro hidrossolúvel com elevada biodisponibilidade do ferro. O processo é eficiente, por unir um composto orgânico de pequeno tamanho (peptídeo) a um mineral (ferro), resultando num produto de maior estabilidade, solubilidade e consequentemente maior absorção pelo trato gastrointestinal. A presente invenção se situa no campo de Alimentos, mais precisamente na Química de Alimentos.

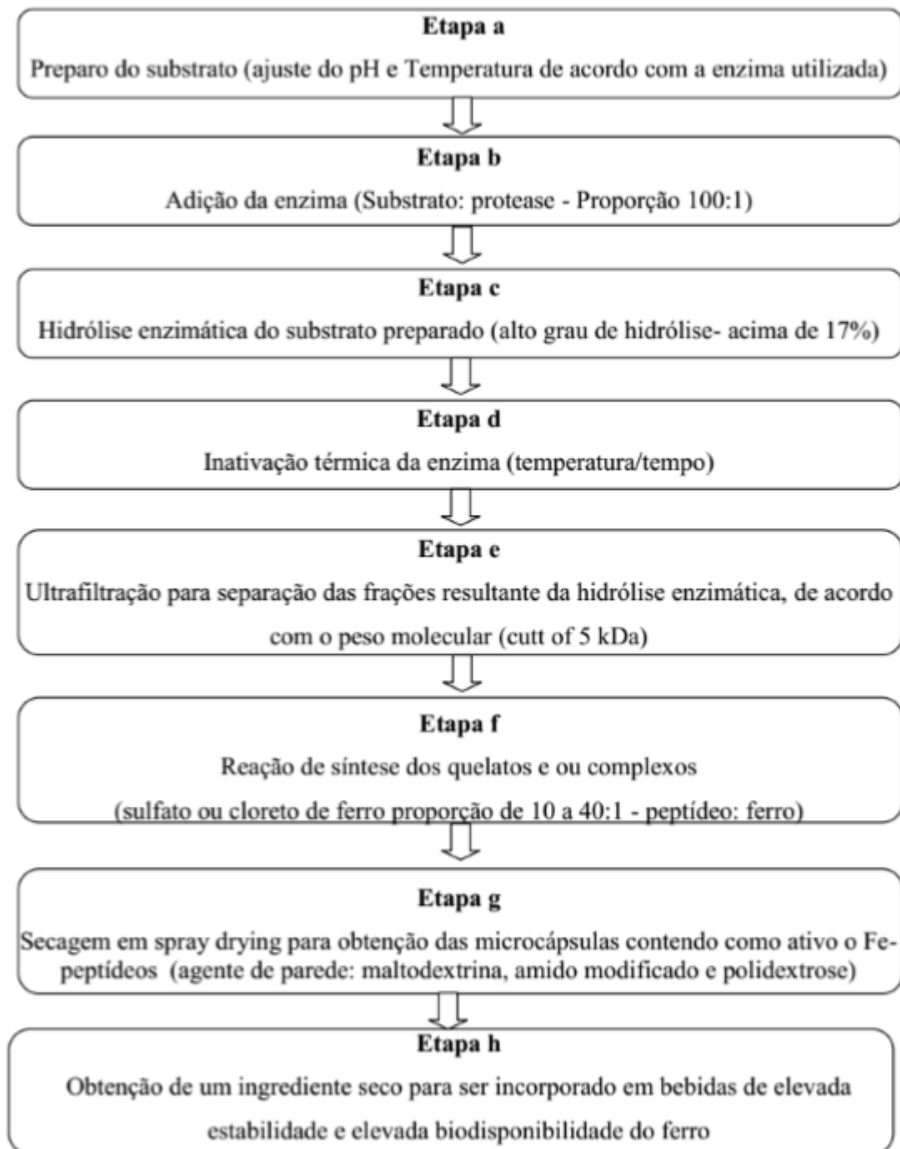


Figura 2

ANEXO 2

Trabalhos apresentados em congressos nacionais

O trabalho intitulado “*BEBIDAS CONTENDO Fe-PEPTÍDEOS QUELADOS: AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DO FERRO*” foi apresentado no XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, realizado no período de 24 a 27 de outubro de 2016 na cidade de Gramado/RS.

Trabalhos apresentados em congressos internacionais

O trabalho intitulado “*FORMULATION DESIGN SYSTEM TO DELIVERY FE-PEPTIDE COMPLEX IN BEVERAGES*” foi apresentado no 4th international meeting on Material/ Bioproduct Interaction, realizado no período de 26 a 28 de abril de 2017, na cidade de Porto /Portugal.