

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA  
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**Dissertação**

**Microencapsulação do óleo de Sacha Inchi por  
coacervação complexa empregando biopolímeros.**

**Barbara da Silva Soares**

**2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO SACHA INCHI POR  
COACERVAÇÃO COMPLEXA EMPREGANDO BIOPOLÍMEROS**

**BARBARA DA SILVA SOARES**

*Sob a Orientação do Professor*

**Dr. Edwin Elard Garcia Rojas**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2018

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S 676m Soares, Barbara da Silva, 1990-  
Microencapsulação do óleo de sacha inchi por  
coacervação complexa empregando biopolímeros. / Barbara  
da Silva Soares. - 2018.  
90 f.: il.

Orientador: Edwin Elard Garcia Rojas.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Programa de ciência e tecnologia  
de alimentos, 2018.

1. biopolímeros. 2. ovalbumina. 3. alginato de  
sódio. 4. pectina. 5. compostos fenólicos. I. Elard  
Garcia Rojas, Edwin, 1972-, orient. II Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de ciência  
e tecnologia de alimentos III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**BARBARA DA SILVA SOARES**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Ciência de Alimentos.

Aprovada no dia 15/02/2018

---

Edwin Elard Garcia Rojas (Dr). EEIMVR/UFF  
(Orientador)

---

Maria Ivone Martins Jacintho Barbosa (Dr) UFRRJ

---

Clitor Junior Fernandes de Souza (Dr) USP

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela graça de ter conseguido chegar até aqui.

A minha família, em especial aos meus irmãos (Lília e Tiago) os quais dedico mais essa conquista, as minhas sobrinhas lindas (Ana Carolina e Yasmin), ao meu noivo Fábio por todo seu afeto, amor e companheirismo.

Ao Professor Dr. Edwin Elard Garcia Rojas por me orientar com toda sua paciência, respeito e sabedoria ao longo desses meses.

Agradecer a todos os professores e do programa de ciência e tecnologia de alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Aos professores que colaboraram na realização das minhas análises, professor Dr. Mário Geraldo (Departamento de química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Rural), Professor Carlos Piler (EMBRAPA), professor Dr. Rodrigo Siqueira (UFF).

A todos os amigos que tive a imensa alegria e oportunidade de conhecer no decorrer do mestrado, aos amigos do Laboratório de Tecnologia e engenharia de agroindustrial (LETA/UFF), em especial a Lívia que sempre esteve presente com seu conhecimento e bondade, sempre solícita em ajudar. Eliana, Letícia, Mariane, Mayara e Monique que sempre disponibilizaram seu tempo para ensinar com carinho e paciência. Juarez por todo ensino, paciência e colaboração no desenvolvimento do meu projeto.

A todos que participaram diretamente ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho, muito obrigada pelo apoio, acolhimento e carinho!

## RESUMO

SOARES S., Barbara. **Microencapsulação do óleo sacha inchi por coacervação complexa empregando biopolímeros.** 2018, 91p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

O ácido linolênico (ômega-3) é um composto bioativo de relevância na indústria de alimentos devido às suas propriedades benéficas à saúde. Entretanto, esse composto é sensível a fatores extrínsecos (altas temperaturas, presença de oxigênio, exposição à luz e a presença de metais) provocando sua oxidação. A microencapsulação torna-se uma alternativa promissora de proteção a esses compostos bioativos. Dentre os métodos de microencapsulação, a coacervação complexa apresenta vantagens como: melhores condições de preparo, variedade de biopolímeros como possíveis materiais de parede e alta eficiência de encapsulamento. O objetivo deste trabalho foi estudar o emprego da técnica de coacervação complexa para microencapsular o óleo de sacha inchi, utilizando como material de parede os biopolímeros ovalbumina, pectina, ácido tânico e alginato de sódio nas razões (1:1, 1:2, 1:4, 2:1 e 4:1). O sistema ovalbumina, pectina e ácido tânico mostrou-se eficiente como materiais de parede, apresentaram alta eficiência de encapsulação do óleo sacha inchi de (78,1%) e as microcápsulas apresentaram alta resistência térmica quando comparada a ovalbumina isolada. O sistema ovalbumina e alginato de sódio mostrou-se eficiente como materiais de parede, apresentaram alta eficiência de encapsulação do óleo sacha inchi de (94,1%), as microcápsulas foram reticuladas com  $\text{CaCl}_2$  e apresentaram uma estrutura reforçada. Além disso, apresentaram alta eficiência de encapsulação do ômega-3 presente no óleo sacha inchi e não foram observadas alterações do óleo após o processo de encapsulação e simulação gástrica. Estes estudos sugeriram que os materiais de parede utilizados para microencapsulação foram eficientes e podem ser utilizados para microencapsulação de compostos bioativos.

**Palavras chave:** biopolímeros, ovalbumina, alginato de sódio, pectina, compostos fenólicos.

## ABSTRACT

SOARES S., Barbara. **Microencapsulation of saccharin oil by complex coacervation using biopolymers.** 2018, 91p. Dissertation (Master in Science and Technology of Food). Institute of Technology. Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

Linolenic acid (omega-3) is a bioactive compound of relevance in the food industry because of its beneficial health properties. However, this compound is sensitive to extrinsic factors (high temperatures, presence of oxygen, exposure to light and the presence of metals) causing oxidation. Microencapsulation becomes a promising alternative for protection of these bioactive compounds. Among the methods of microencapsulation, complex coacervation has advantages such as: best preparation conditions, biopolymers as possible wall materials and high encapsulation efficiency. The objective of this work was to study the use of the complex coacervation technique to microencapsulate the sachá inchi oil using the biopolymers ovalbumin, pectin, tannic acid and alginate in the ratios (1: 1, 1: 2, 1: 4, 2: 1 and 4: 1). The ovalbumin, pectin and tannic acid system showed to be efficient as wall materials, showed high sachá inchi oil encapsulation efficiency (78.1%) and as microcapsules presented high thermal resistance when compared to ovalbumin alone. The ovalbumin and sodium alginate system proved to be efficient as wall materials, exhibited high sachá inchi oil encapsulation efficiency (94.1%), as microcapsules were cross-linked with  $\text{CaCl}_2$  and presented a reinforced structure. In addition, they showed high efficiency of encapsulation of the omega-3 present in sachá inchi oil and were not observed for the gastric encapsulation and simulation process. These studies have suggested that wall materials used for microencapsulation of efficient and can be used for microencapsulation of bioactive compounds.

**Key words:** biopolymers, ovalbumin, sodium alginate, pectin, phenolic compounds.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPITULO I – REVISÃO DE LITERATURA

<b>Figura 1.</b> Modelos de microcápsulas. i) microcápsula simples (ii) matriz (microesferas), (iii) microcápsula simples irregular, (iv) vários núcleos, (v) microcápsula de parede múltipla e (vi) Agrupamento de microcápsulas (BAKRY A. M. et al., 2016).....	18
<b>Figura 2.</b> Representação esquemática do comportamento de dispersões aquosa de misturas de polissacarídeos e proteínas (adaptado de TOLSTOGUZOV, 1991).....	21
<b>Figura 3.</b> Características estruturais do S-ovalbumina - cadeia principal global da estrutura da S-ovalbumina (YAMASAKI et al., 2003).....	25
<b>Figura 4.</b> Estrutura da pectina (adaptado de PEREZ S.; RODRIGUEZ-CARVAJAL M. & DOCO T., 2003).....	27
<b>Figura 5.</b> Estrutura química do alginato de sódio. a) ácido $\beta$ -D-manurônico; b) $\alpha$ -L-gulurônico e c) alginato (GAVA, 2008).....	28
<b>Figura 6.</b> Estruturas químicas dos principais ácidos graxos do ômega-3 (COMUNIAN T. A. et al., 2016) .....	31
<b>Figura 7.</b> Frutos de Sacha Inchi ( <i>Plukenetia volubilis</i> L.) Fonte: <a href="http://www.bergólio.ch">www.bergólio.ch</a> .....	32
<b>CAPITULO II - Microencapsulação do óleo sachá inchi empregando ovalbumina, pectina e ácido tânico por coacervação complexa.</b>	
<b>Figura 1.</b> Fluxograma do processamento de microcápsulas de óleo sachá inchi obtidas por coacervação complexa utilizando os biopolímeros ovalbumina e pectina como material de parede.....	47
<b>Figura 2.</b> Potencial zeta em função das diferentes proporções de OVA:PEC 1:4, 1:2, 1:1, 2:1 e 4:1 no pH 3,5.....	50
<b>Figura 3.</b> Potencial zeta em função do pH (2,0 a 7,0) dos biopolímeros isolados ovalbumina (OVA) e pectina (PEC) e do complexo OVA/PEC na proporção 4:1 .....	51
<b>Figura 4.</b> Variação da turbidez em função do pH (2,0 a 7,0) do sistema ovalbumina(OVA) e pectina (PEC) OVA:PEC na razão 4:1 e os pontos distintos de transição da turbidez ( $pH_c$ , $pH_{\phi_1}$ e $pH_{\phi_2}$ ).....	52
<b>Figura 5.</b> Curva de variação da turbidez em função das razões (1:1, 1:2, 1:4, 2:1 e 4:1) de ovalbumina (OVA) e ácido tânico (AT), no pH $5,5 \pm 0,6$ .....	53
<b>Figura 6.</b> Tamanho de partícula (d.nm) em pH 6,5 da Ova (a) e complexo OVA/AT (b) na razão 1:2 .....	54



<b>Figura 7.</b> Espectro obtido por FTIR dos biopolímeros Ovalbumina (OVA), Pectina (PEC) e ácido tânico (AT).....	58
<b>Figura 8.</b> Espectro obtido por FTIR do Óleo Sacha Inchi (OSI) e microcápsula carregada com óleo.....	59
<b>Figura 9.</b> Termograma gerado pela análise de DSC das amostras de ovalbumina (OVA), pectina (PEC), ácido tânico (AT) e microcápsula (OVA-PEC-AT-OSI).....	60
<b>Figura 10.</b> MEV dos biopolímeros (A) OVA, (B) PEC e (C) microcápsula (OVA-PEC-AT-OSI).....	61
<b>Figura 11.</b> Espectro de RMN 1H do óleo sachá inchi extraído da microcápsula de ovalbumina, ácido tânico e pectina.....	62
<b>CAPITULO III - Microencapsulação do óleo sachá usando complexo coacervado de ovalbumina-alginato: Formação, caracterização estrutural e digestibilidade <i>in vitro</i>.</b>	
<b>Figura 1.</b> Esquema do processo de microencapsulação do OSI obtidas por coacervação complexa através dos biopolímeros OVA e AL (Adaptado de Comunian e Favaro-Trindade, 2016).....	74
<b>Figura 2.</b> Turbidez (100 - %T) em função do pH do sistema contendo OVA:AL em diferentes razões e as variações do p <sub>Hc</sub> , p <sub>H<math>\phi</math>1</sub> e p <sub>H<math>\phi</math>2</sub> .....	78
<b>Figura 3.</b> Potencial zeta em função das diferentes proporções de Ova:AL (1:4, 1:2, 1:1, 2:1 e 4:1) no pH 3,8.....	79
<b>Figura 4.</b> Espectro do RMN 1H do óleo sachá inchi extraído da microcápsula OVA/AL (A) e óleo sachá inchi obtido comercialmente (B).....	82
<b>Figura 5.</b> Espectro obtido por FTIR dos biopolímeros ovalbumina (OVA), alginato (AL), óleo sachá inchi (OSI) e microcápsula carregada com óleo.....	83
<b>Figura 6.</b> Termograma gerado pela análise de DSC das amostras de ovalbumina (OVA), alginato de sódio (AL) e microcápsula (OVA-AL-OSI).....	84
<b>Figura 7.</b> MEV dos biopolímeros (A) OVA, (B) AL e (C) microcápsula (OVA-AL-OSI).....	85
<b>Figura 8.</b> Liberação de unidades de acil do ômega-3 durante a simulação gástrica <i>in vitro</i> nos tempos 0, 15, 30, 60, 90 a 120 min .....	86

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO I – REVISÃO DE LITERATURA

**Tabela 1.** Biopolímeros aplicados como material de parede através da técnica de coacervação complexa, pH, ingredientes encapsulados e análises realizadas.....23

### CAPITULO II - Microencapsulação do óleo sacha inchi empregando ovalbumina, pectina e ácido tânico por coacervação complexa.

**Tabela 1.** Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental da microencapsulação do óleo sacha inchi utilizando os biopolímeros ovalbumina, pectina e ácido tânico.....57

**Tabela 2.** Porcentagem da intensidade do sinal de compostos presentes no óleo sacha inchi obtidos por RMN de  $^1\text{H}$ , extraído da microcápsula de ovalbumina ácido tânico e pectina.....62

### CAPITULO III - Microencapsulação do óleo sacha usando complexo coacervado de ovalbumina-alginato: Formação, caracterização estrutural e digestibilidade *in vitro*.

**Tabela 1.** Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental da microencapsulação do óleo sacha inchi.....81

## NOMECLATURA / ABREVIACÕES

Ova - Ovalbumina

Pec- Pectina

AT – Ácido tânico

AL – Alginato de sódio

OSI – Óleo sacha inchi

kDa - Kilodaltons

pI - Ponto isoelétrico

pH - Potencial de hidrogênio

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada

DSC - Calorimetria diferencial de varredura

ITC - Calorimetria de titulação isotérmica

Td - Temperatura de desnaturação

T - Transmitância

$\tau$ - Turbidez

Pdi - Índice de polidispersividade

KBr - Brometo de Potássio

NaCl - Cloreto de Sódio

CaCl<sub>2</sub> - Cloreto cálcio

pH<sub>C</sub> - Região de ligeiro aumento de turbidez

pH<sub>φ1</sub>1 - Região de aumento abrupto de turbidez

pH<sub>φ1</sub>2 - Região de dissociação do complexo

pH<sub>max</sub> - Região de turbidez máxima

FTIR- Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier

MEV - Microscópio eletrônico de varredura

RMN<sup>1</sup> H – Ressonância magnética nuclear

ITC - calorimetria de titulação isotérmica

CG – Cromatografia gasosa

TGA - termogravimétrica

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	15
OBJETIVO GERAL.....	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....	17
CAPITULO I – REVISÃO DE LITERATURA .....	18
1.1 Microencapsulação .....	19
1.1.1 Conceitos .....	19
1.1.2 Técnicas de microencapsulamento .....	20
1.1.3. Coacervação Complexa .....	21
1.2. Materiais utilizados para a encapsulação.....	23
1.2.1. Ovalbumina .....	27
1.2.2. Pectina .....	28
1.2.3. Alginato .....	29
1.3. Compostos bioativos.....	30
1.3.1. Lipídeos bioativos.....	31
1.3.2. Óleo de Sacha Inchi.....	32
1.3.3. Ácido tânico.....	34
1.4. Referências Bibliográficas.....	35
CAPITULO II - Microencapsulação do óleo sachá inchi empregando ovalbumina, pectina e ácido tânico por coacervação complexa .....	43
RESUMO.....	44
2.1. INTRODUÇÃO.....	45
2.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
2.2.1. Materiais .....	46
2.3. METODOLOGIA.....	46
2.3.1. Formação dos complexos coacervados entre Ovalbumina, pectina e ácido tânico .....	46
2.3.1.1. Preparo das amostras .....	46
2.3.1.2. Potencial $\zeta$ .....	47
2.3.1.3. Titulação Turbidimétrica .....	47
2.3.1.4. Estudo da interação entre OVA/AT através da titulação turbidimétrica e tamanho de partícula.....	47

2.3.2. Microencapsulação do óleo sacha inchi .....	48
2.3.2.1 Preparo das microcápsulas.....	48
2.3.3. Caracterização da microcápsula e do óleo encapsulado .....	50
2.3.3.1. Eficiência de encapsulação do óleo sacha inchi. ....	50
2.3.3.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) .....	50
2.3.3.3. Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	50
2.3.3.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	51
2.3.3.5. RMN de <sup>1</sup> H do óleo sacha inchi extraído da microcápsula .....	51
2.3.3.6. Análise estatístico .....	51
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
2.4.1. Efeito do pHe razão do complexo OVA:PEC. ....	52
2.4.2. Titulação turbidimétrica e Tamanho de partícula do sistema OVA/AT.....	55
2.4.3. Caracterização da microcápsula .....	56
2.4.3.1. Eficiência de encapsulação do óleo sacha inchi .....	56
2.4.3.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) .....	59
2.4.3.3. Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	60
2.4.3.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	61
2.4.3.5. RMN de <sup>1</sup> H do óleo sacha inchi .....	62
2.5. CONCLUSÃO.....	64
2.6. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	64
CAPITULO III - Microencapsulação do óleo sacha usando complexo coacervado de ovalbumina-alginato: Formação, caracterização estrutural e digestibilidade <i>in vitro</i> ....	
RESUMO.....	70
3.1. INTRODUÇÃO.....	71
3.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	72
3.2.1. Materiais .....	72
3.3. METODOLOGIA.....	72
3.3.1 Formação dos complexos coacervados entre Ovalbumina/Alginato.....	72
3.3.1.1 Preparo das amostras .....	72
3.3.1.2. Titulação Turbidimétrica .....	73
3.3.1.3. Potencial ζ.....	73
3.3.2. Microencapsulação do óleo sacha inchi .....	73

3.3.2.1 Preparo das microcápsulas.....	73
3.3.3. Caracterização do óleo sachá Inchi encapsulado e da microcápsula OVA/AL .....	75
3.3.3.1 Eficiência de encapsulação do óleo sachá inchi. ....	75
3.3.3.2. Rendimento do ômega 3 após encapsulação .....	75
3.3.3.3. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do OSI extraído e microencapsulado.....	76
3.3.3.4. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) .....	76
3.3.3.5. Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	76
3.3.3.6. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	77
3.3.4. Liberação gástrica <i>in vitro</i> do Ômega -3 .....	77
3.3.4.1 Preparo do suco gástrico.....	77
3.3.4.2. Simulação gástrica <i>in vitro</i> da microcápsula de OVA/AL/OSI.....	77
3.3.5. Análise estatístico .....	78
3.4. RESULTADOS .....	78
3.4.1. Efeito do pH e razão do complexo OVA:AL .....	78
3.4.2. Caracterização da microcápsula do óleo sachá inchi.....	80
3.4.2.1. Eficiência de encapsulação do óleo sachá inchi. ....	80
3.4.2.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). .....	83
3.4.2.3. Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	84
3.4.2.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	86
3.4.3. Liberação do ômega-3 durante a simulação gástrica <i>in vitro</i> .....	86
3.5. CONCLUSÃO.....	88
3.6 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	88
CONCLUSÃO GERAL .....	92

## INTRODUÇÃO GERAL

Os sistemas capazes de proteger compostos bioativos, como o ácido linolênico, comercialmente conhecido como ômega-3 têm sido frequentemente desenvolvidos e incorporados nos alimentos. No entanto, alguns fatores como condições de armazenamento e condições ambientais podem prejudicar a qualidade nutricional desse óleo, propiciando parcialmente sua instabilidade oxidativa, polimerização e hidrólise (CHEN; McCLEMENTS; DECKER, 2013; KAUSHIK et al, 2014). A microencapsulação torna-se uma alternativa viável para proteger esses ingredientes bioativos contra os efeitos indesejáveis e melhor aplicá-los na área de alimentos, pois constrói uma barreira entre o encapsulado e o meio ambiente protegendo o composto contra a exposição a fatores extrínsecos e proporcionando maior estabilidade e qualidade ao produto alimentício (GANJE et al., 2016; GULÃO et al., 2016; MACHADO, PELEGATI e OLIVEIRA, 2016).

Neste estudo o material encapsulado foi o óleo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis L.*) que devido as suas características funcionais como a elevada percentagem de ácidos graxos insaturados essenciais, cerca de 42-48% de ácido linolênico ( $\omega$ -3), 32-37% de ácido linoleico ( $\omega$ -6) e 9-12% de ácido oleico ( $\omega$ -9), e com 41-54% de óleo comestível, tem despertado interesse em diversos estudos nos últimos tempos. As sementes e o óleo do sacha inchi são utilizados de diferentes maneiras pela população amazônica, o óleo é utilizado na preparação de várias refeições, as sementes são consumidas torradas e as folhas também são preparadas e aproveitadas, além de ser utilizado habitualmente como um remédio, no tratamento de problemas reumáticos e dores musculares (FANALI et al., 2011; CHIRINOS et al., 2013).

A coacervação complexa que acontece principalmente por meio de interações eletrostáticas em que os polímeros apresentam íons de cargas opostas (SOUZA et al., 2013). O emprego da técnica de coacervação complexa assegura vantagens como, por exemplo, condições brandas de preparo, reduzida perda dos compostos microencapsulados, integridade elevada do material de parede formado, ótima encapsulação, liberação controlada dos compostos bioativos e funcionais. A microencapsulação por coacervação complexa pode proteger compostos bioativos como o ômega-3 presente no óleo sacha inchi que são sensíveis a altas temperaturas, contra fatores extrínsecos inadequadas, sendo por tanto de interesse para indústria de alimentos (GOUIN, 2004; JIN et al, 2007; BEINDORFF & ZUIDAM, 2010;

KRALOVEC et al, 2012; TANEJA & SINGH, 2012; ZHANG et al., 2012). Para que haja ideal encapsulação o tipo de material escolhido deve apresentar características funcionais e capacidade de formar uma barreira entre a fase interna e seus arredores, além de apresentar capacidade biodegradável, baixo custo, segurança do material de parede e acessibilidade nos métodos empregados (FAVARO-TRINDADE et al., 2008). A maioria dos materiais usados para encapsulamento são biomoléculas, sendo comum a associação de polissacarídeos e proteínas como biopolímeros, uma vez que melhoram as suas características funcionais e tecnológicas (NEDOVIC et al., 2011).

Assim, esta dissertação foi distribuída em capítulos onde no capítulo I trata de uma revisão de literatura na qual foram abordados temas estudados nos capítulos seguintes. Uma revisão sobre microencapsulação, coacervação complexa, matérias de parede e lipídeos bioativos (óleo sacha inchi) rico em ômega-3.

No capítulo II foi estudado o processo de formação dos complexos coacervados entre ovalbumina e pectina em função da razão de proteína e polissacarídeo em diferentes pHs, microencapsulação do óleo sacha inchi pela técnica de coacervação complexa e empregando composto fenólico ácido tânico, e ainda caracterização morfológica e térmica da microcápsula.

No capítulo III foi estudado o processo de formação dos complexos coacervados entre ovalbumina e alginato em função da razão de proteína e polissacarídeo em diferentes pHs, microencapsulação do óleo sacha inchi pela técnica de coacervação complexa, empregando como reticulante o cloreto de cálcio, caracterização térmica e morfológica da microcápsula, assim como condições químicas do óleo após a microencapsulação e simulação gástrica *in vitro*.



## **OBJETIVO GERAL**

Estudar o emprego da técnica de coacervação complexa para microencapsular o óleo de Sacha Inchi, utilizando como material de parede os biopolímeros ovalbumina, pectina e alginato de sódio.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

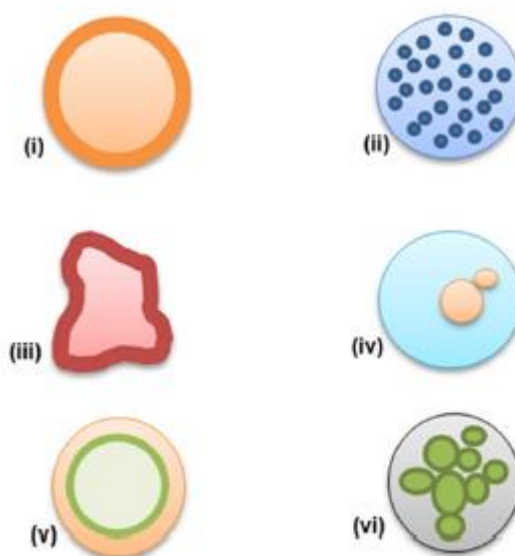
- Realizar levantamento bibliográfico sobre microencapsulação, técnicas de microencapsulação, coacervação complexa, biopolímeros utilizados como matérias de parede e lipídeos bioativos como óleo sachá inchi.
- Estudar a influencia dos biopolímeros na formação do complexo coacervado entre ovalbumina e pectina, microencapsular o óleo sachá inchi por coacervação complexa empregando os biopolímeros ovalbumina, pectina e ácido tânico como matérias de parede e caracterizar (estruturalmente e termicamente) as cápsulas.
- Estudar a influencia dos biopolímeros na formação do complexo coacervado entre ovalbumina e alginato de sódio, microencapsular o óleo sachá inchi por coacervação complexa empregando os biopolímeros ovalbumina e alginato de sódio como matérias de parede, caracterizar estruturalmente e termicamente as cápsulas obtida, e por fim analisar o perfil de liberação do ômega-3 em condições gástricas.

## **CAPITULO I – REVISÃO DE LITERATURA**

## 1.1 Microencapsulação

### 1.1.1 Conceitos

A microencapsulação é o processo de aprisionamento de qualquer ingrediente ativo que normalmente é referido como núcleo (material encapsulado) que preenche a fase interna da microcápsula (BAKRY A. M. et al., 2016). O material à volta do núcleo é chamado de cápsula, encapsulante, material de parede, de membrana, transportador, casca, ou matriz de encapsulamento (GIBBS et al., 1999). A Figura 1 ilustra as diferentes configurações estruturais de sistemas de microencapsulação e apresenta como o ingrediente ativo é distribuído na matriz do polímero.



**Figura 1.** Modelos de microcápsulas. i) microcápsula simples (ii) matriz (microesferas), (iii) microcápsula simples irregular, (iv) vários núcleos, (v) microcápsula de parede múltipla e (vi) Agrupamento de microcápsulas (BAKRY A. M. et al., 2016).

A técnica de microencapsulação apresenta diversos benefícios como: proteção do material ativo que quando armazenados e processados em condições inadequadas levam a perdas na qualidade nutricional, devido a sua sensibilidade e instabilidade oxidativa, resultantes da exposição a fatores extrínsecos como: umidade, oxigênio, calor e luz. Sendo assim a microencapsulação contribui para o aumento da vida útil e estabilização do composto encapsulado, melhorando o emprego desses compostos em produtos alimentares. Além disso, a microencapsulação poderá ser usada para converter um ingrediente alimentar líquido em um sólido aumentando sua aplicabilidade tecnológica

(SOBEL R., VERSIC R. & GAONKAR A.G., 2014; KAUSHIK et al., 2014; VICENTE et al., 2016).

A microencapsulação é aplicada em diversos setores, como, indústrias alimentícias, de cosméticos e farmacêuticas. Na indústria de alimentos é de extrema relevância, pois nos últimos anos, com a necessidade de consumo dos alimentos funcionais, as indústrias passaram a acrescentar em seus produtos compostos funcionais que trazem benefícios a saúde (NEDOVIC et al., 2011) e os principais objetivos da microencapsulação são: obter melhor aproveitamento da substância microencapsulada, reduzir a sua interação com fatores ambientais, impedir perdas sensoriais e nutricionais, mascarar substâncias com sabores indesejáveis, prolongar a vida útil da substância encapsulada e incorporá-las em novos produtos ou em produtos já existente, proteger a substância encapsulada dos ácidos e secreções gastrointestinais (McCLEMENTS., 2014; ALVIM et al., 2016; KUCK; NOREÑA., 2016).

Sendo assim, diferentes estudos utilizaram esse o método de coacervação complexa para preservação de seus componentes e obtiveram excelentes resultados como COMUNIAN et al., 2016 que microencapsulou e avaliou a proteção dos componentes do óleo de echium, e observaram que o encapsulamento do óleo por coacervação complexa melhora a sua estabilidade química e que adição do ácido sinápico oferece quase quatro vezes mais estabilidade para o óleo. SALDAÑA et al., 2016 microencapsularam o componente sulforafano obtido do extrato de sementes de brócolis e observaram que os biopolímeros de qualidade alimentar, como gelatina, goma árabica e pectina, são materiais seguros e adequados podendo ser empregados como materiais de parede pela método de coacervação complexa e TIMILSENA et al., 2016 que microencapsularam óleo de semente de chia (CSO) por coacervação complexa e observaram que a vida útil do óleo de semente de chia foi significativamente prolongada pelo os três materiais de parede utilizados, além disso foi possível observar uma eficiência de encapsulamento de 93,9% e uma estabilidade do óleo encapsulado de 12,8 horas.

### **1.1.2 Técnicas de microencapsulamento**

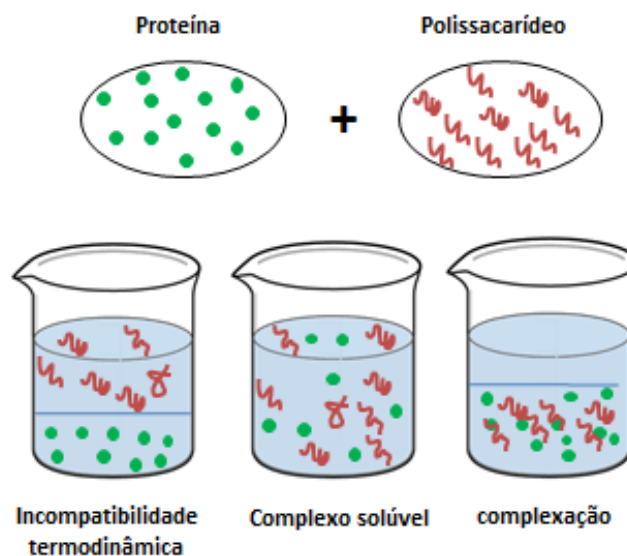
Diferentes métodos são utilizados para microencapsular um material ativo, a escolha do método depende da aplicação, do tipo de material, do mecanismo de liberação desejado, do tamanho da partícula (micro ou nano), das propriedades físicas e

químicas do núcleo e da parede, da escala de produção e do custo (MUNIN; EDWARDS-LEVY; 2011; ALVIM et al., 2016; MACHADO; PELEGATI; OLIVEIRA., 2016). A diferença entre os métodos de microencapsulação é o tipo de “aprisionamento” do material ativo pelo agente encapsulante, podendo esse ser de natureza física, química ou físico-química (JOYE; McCLEMENTS; 2014). Os seguintes autores destacaram alguns desses métodos: físicos como *spray-drying* (SARKAR et al., 2013; BALASUBRAMANI et al., 2015), *spray chilling* (ALVIM et al., 2013; PELISSARI et al., 2016; ORIANI et al., 2016), extrusão (DOLÇA et al., 2015; RUTTARATTANAMONGKOL; AFIZAH; RIZVI, 2015), co-cristalização e liofilização (JAFARI et al., 2016; TURASAN et al., 2015). Métodos químicos: coacervação simples (CHITPRASERT et al., 2014; SUTAPHANIT et al., 2014) e coacervação complexa (OZYILDIZ et al. 2012; SOUZA, C. J.F.; ROJAS, E. E. G.; MELO, N. R. G., LINS, J.F.C., 2013; PENG et al., 2014; SANTOS M. B., COSTA A. R. & GARCIA-ROJAS E. E., 2017; SOUZA C.J.F. & ROJAS E.E. G, 2017), envolvimento por lipossomas e separação em fase orgânica (ZHAO et al., 2015; WANG; PILENI; LANGMUIR., 2016). Métodos físico-químicos: emulsificação (DIMA et al., 2014; MAJEED et al., 2016), inclusão molecular e polimerização interfacial (JOYE; McCLEMENTS; 2014; MUNIN; EDWARDS-LEVY; 2011). As técnicas mais utilizadas são atomização, extrusão, liofilização, leito fluidizado, inclusão de lipossomas, coacervação complexa e encapsulação pela formação de emulsões (REBELLO, 2009).

### **1.1.3. Coacervação Complexa**

A União Internacional de Química Pura e aplicada (IUPAC) define coacervação como sendo a separação de um sistema coloidal (rica em polímeros) em duas fases líquidas em que uma fase líquida rica em colóide separa-se de uma solução macromolecular, em consequência de uma redução da solubilidade através de meios químicos e/ou físicos (IUPAC, 1997). São essas propriedades físico-químicas do meio que tem relação direta com a deposição do polímero formando uma capsula em volta do agente ativo, essas propriedades são a temperatura, força iônica, pH, polaridade, entre outros (KRUIF & TUNIER, 2001; VERSIC, 2004; SOUZA et al., 2013). Esse processo é separado em duas categorias: coacervação simples ou complexa, variando de acordo com número de polímeros relacionados (SCHMITT & TURGEON, 2011).

A coacervação complexa acontecerá principalmente por meio de interações eletrostáticas em que os polímeros (dois ou mais colóides hidrofílicos) apresentem íons de cargas opostas, resultando em duas fases líquidas imiscíveis: uma é a fase contínua pobre de biopolímero (sobrenadante) e a fase mais concentrada rica em biopolímero (fase de coacervado) (SCHMITT & TURGEON, 2011; ZHANG et al, 2013; SOUZA et al, 2013), como ilustrado na Figura 2. Utilizado para encapsular uma variedade de ingredientes ativos, essa nova fase formará uma nova fase, ionicamente neutra. Existe ainda a coacervação simples em que a interação acontece de um único tipo de biopolímero, sendo este tipo menos utilizado na indústria alimentar (ZHANG et al., 2013).



**Figura 2.** Representação esquemática do comportamento de dispersões aquosas de misturas de polissacarídeos e proteínas (adaptado de TOLSTOGUZOV, 1991).

O processo de coacervação complexa é composto basicamente de três estágios: emulsificação (fase líquida) em que a solução está com o material a ser encapsulado e o encapsulante, coacervação (formação do núcleo) e por fim formação da casca e/ou endurecimento da parede formando compostos microencapsulados do tipo reservatório (AZEREDO, 2005; ZHANG et al., 2012). O método de secagem por atomização é uma técnica de encapsulamento muito utilizada na indústria alimentícia, devido à simplicidade do processo e baixo custo (THIES, 2007; TANEJA & SINGH, 2012). Ainda assim o emprego da coacervação complexa assegura vantagens em comparação à secagem por atomização que são relevantes como, por exemplo, alta proteção aos

ingredientes funcionais termo lábeis (sensíveis a altas temperaturas), visto que o processo oferece condições suaves de preparo, reduzida perda dos compostos microencapsulados, integridade elevada do material de parede formado, variedade de biopolímeros como possíveis materiais de parede, ótima encapsulação e uma ideal liberação controlada dos compostos bioativos e funcionais (GOUIN, 2004; JIN et al, 2007; BEINDORFF & ZUIDAM, 2010; KRALOVEC et al, 2012; TANEJA & SINGH, 2012; ZHANG et al., 2012). Como foi citado a cima, alguns fatores como origem do material encapsulado e compostos do núcleo (peso molecular, a conformação, e densidade de carga), afetam diretamente o processo de coacervação (SCHMITT E TURGEON, 2011; SOUZA et al, 2013). É importante para que se estenda o tempo de armazenamento que as micropartículas coacervadas passassem pelo processo de secagem, evitando que elas se deteriore mais rápido e assim tenha vida útil prolongada. Na Tabela 1 serão apresentados alguns estudos realizados com o objetivo de encapsular óleos, óleoresinas e alimentos termicamente sensíveis por coacervação complexa.

## **1.2. Materiais utilizados para a encapsulação**

O material de parede das microcápsulas tem como objetivo proteger substância do núcleo contra os fatores extrínsecos (oxigênio, luz, umidade, calor, interações com outros compostos e etc.), e reduzir as perdas dos compostos bioativos, melhorando assim a sua estabilidade, condições de manipulação e aceitabilidade em geral. Além disso, os materiais de parede contribuem preservando os compostos ativos dentro da cápsula durante o processamento ou o armazenamento em várias condições, evitando que o material de parede reaja com o material encapsulado formando uma barreira entre a fase interna e externa (GARG et al., 2006; WANDREY C., BARTKOWIAK A. & HARDING S.E., 2009; SANGUANSRI & AUGUSTIN, 2011; TIMILSENA et al., 2017). Também deve ser considerado na seleção do material de parede o custo e segurança do material, método, o tamanho de partícula pretendido, os mecanismos de liberação controlada do encapsulado em condições pré-estabelecidas, deve ser de qualidade alimentar biodegradável, as propriedades físico-químicas do material usado como o agente de encapsulação e do material encapsulado (FAVARO-TRINDADE et al., 2008).

O material de parede é também responsável por colaborar para aumento do prazo de validade dos produtos, por melhorar a funcionalidade de aditivos expandindo a área de aplicação, apresentar baixa higroscopicidade melhorando o processamento e a textura dos ingredientes, aumento da capacidade de dispersão em diferentes tipos de materiais além do desenvolvimento de produtos com valor agregado (NEDOVIC, KALUSEVIC, MANOJLOVIC, LEVIC E BUGARSKI, 2011; COMUNIAN & FAVARO-TRINDADE , 2016). Muitas substâncias ou materiais podem ser usados para revestir ou encapsular líquidos, sólidos ou gases de diferentes tipos e propriedades, como os compostos bioativos. Conforme apresentado na Tabela 1.



**Tabela 2.** Biopolímeros aplicados como material de parede através da técnica de coacervação complexa, pH, ingredientes encapsulados e análises realizadas.

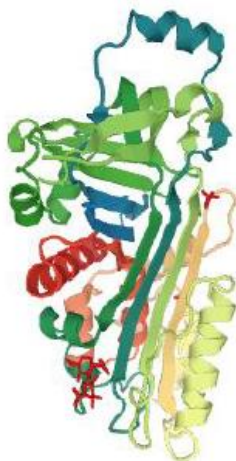
COMBINAÇÃO DE POLÍMEROS	MATERIAL ENCAPSULADO	pH	ANÁLISES REALIZADAS	FONTES
Proteína isolada de soja e quitosana	Óleo de algas	6,0	Determinação do potencial $\zeta$ , calorimetria de titulação isotérmica (ITC); microscopia óptica; medidas de hexanal e hidroperóxido lipídico; análise estatística.	YANG-YUAN et al. (2017)
Quitosana-xantana(Q/X) e quitosana-pectina(Q/P)	Óleo de palma	5,6	Perfil de liberação de carotenóides, Calorimetria de varrimento diferencial (DSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise estatística.	RUTZ et al., 2017.
Goma arábica e gelatina	Óleo essencial <i>Lippia Turbinata</i>	4,9	Eficiência de encapsulação por cromatografia gasosa (CG), efeito da liberação do óleo, análise estatística.	GIRARDI et al., 2017
Alginato de sódio e quitosana	Óleo essencial Tomilho	3,0	Análise do tamanho da partícula, Espectroscopia de infravermelho (FTIR), Calorimetria de varrimento diferencial (DSC), análise estatística.	SHEN et al., 2016
$\beta$ -ciclodextrina e goma arábica	Óleo essencial Açafrão	-	Calorimetria de varrimento diferencial (DSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV); análise estatística.	ATEFI et al., 2016.
Gelatina/ Alginato de sódio	Óleo essencial Gengibre	3,5	Espectroscopia de infravermelho (FTIR); análise termogravimétrica (TGA), microscopia eletrônica de varredura (MEV).	WANG et al., 2016
Gelatina/ Alginato de sódio	Óleo resina de Astaxantina	4,0	Análise do tamanho da partícula, microscopia eletrônica de varredura (MEV), estudo <i>in vitro</i> da liberação do óleo, estabilidade de armazenamento, análise estatística.	LI et al., 2016
Proteína isolada de canola e quitosana	Alimentos termicamente sensíveis e ingredientes farmacêuticos	5,8 – 6,2	Análise centesimal da proteína isolada da canola; Determinação do potencial $\zeta$ ; densidade óptica (turvação); espectroscopia de infravermelho (FTIR); calorimetria de varrimento diferencial (DSC); análise termogravimétrica (TGA); análise estatística.	CHANG, GUPTA, TIMILSENA & ADNIKARI (2016)

Proteína isolada de semente de chia e goma de semente de Chia	Óleo de semente de Chia	2,0 – 12	Análise centesimal da proteína extraída; Determinação do potencial $\zeta$ ; densidade óptica; medição da cristalinidade; espectroscopia de infravermelho (FTIR); calorimetria de varrimento diferencial (DSC); análise termogravimétrica (TGA); análise estatística.	TIMILSENA et al. (2016)
Proteína isolada de linhaça e goma de linhaça	Óleo de linhaça	3,1	Análise Rancimat; espectroscopia de infravermelho (FTIR); análise estatística.	KAUSHIK et al. (2016)
Alginato de sódio e quitosana	-	5,5 – 7,4	Análise do tamanho da partícula; potencial $\zeta$ ; Microscopia de força atômica; simulação gástrica; análise estatística.	LIU et al. (2016)
Gelatina/goma Arábica – gelatina/pectina	Sulforafano (fitoquímico)	$\pm 4,0$	Espectroscopia de infravermelho (FTIR); análise estatística.	GARCIA-SALDAÑA et al. (2016)
Gelatina e hexametáfosfato de sódio	Óleo de atum fortificada com (vitamina A, D3, E, K2, curcumina e coenzima Q10)	-	Reflexão total atenuada; espectroscopia de infravermelho (FTIR); análise estatística.	WANG et al. (2015)
Gelatina de peixe e goma arábica	Óleo de girassol	2,7 – 4,5	Microscopia confocal; análise do tamanho de partícula.	PIACENTINI et al. (2013)
Gelatina e goma arábica	Óleo de microalgas	5,0 a 7,0	Análise do tamanho de partícula; microscopia eletrônica de varredura (MEV); medições de liberação; Cinética de liberação de óleo.	ZHANG et al. (2012)

A escolha de um sistema de encapsulamento é sempre crítico, já que deve ser eficiente e facilmente incorporado aos alimentos, sem interferir na sua textura e sabor (WANDREY C., BARTKOWIAK A. & HARDING S.E., 2009; NEDOVIC et al., 2011).

### 1.2.1. Ovalbumina

A Ovalbumina (OVA) é uma proteína globular que possui carboidrato e fosfato ligado à fração protéica, por tanto é denominada de fosfoglicoproteína, apresenta predominância na fração protéica da clara de ovo, com mais de 50%. A OVA apresenta em sua composição 385 resíduos de aminoácidos, dos quais metade são hidrofóbicos, seu peso molecular é de (~ 45 kDa) e valor de ponto isoelétrico é (~ 4,9) (SGARBIERI, 1996; CROGUENNEC T. et al., 2007; GIOSAFATTO C.V.L. et al., 2012; NIU F. et al., 2014). Sua estrutura tridimensional é formada por 41% da  $\alpha$ -hélice, 34%  $\beta$ -folha, 12%  $\beta$ -giros e 13% de novelos aleatórios (NGARIZE, 2004) Figura 3.



**Figura 3.** Características estruturais do ovalbumina cadeia principal global da estrutura da ovalbumina (YAMASAKI et al., 2003).

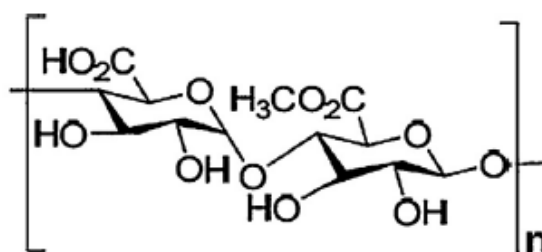
A Ovalbumina é um relevante ingrediente alimentar com características funcionais de grande interesse para indústria de alimentos devido a sua extensa aplicação, como por exemplo, formação de gel, propriedades emulsificantes, estabilidade da espuma, utilizados na fabricação de tortas, produtos cárneos, fabricação de biscoitos, produtos de panificação, além de propriedades nutricionais (ORDÓÑEZ et al., 2005; CHOI et al, 2005; NYEMB K. et al., 2014). São encontradas em três formas e proporção A1 (85), A2 (12), A3 (3) e são distinguidas pela quantidade de fósforo ligado à proteína, 2, 1 ou 0 átomos de fósforo por mol de OVA, nesta ordem. Possui uma

ligação dissulfeto e quatro grupos sulfídricos livres no núcleo da proteína que após a desnaturação da proteína reagem entre si. Possui uma glicina acetilada no terminal N, uma prolina no terminal carboxílico e uma única cadeia lateral de carboidrato formada de D-manose (2 %) e N-acetilglicosamina (1,2 %) (SGARBIERI, 2004).

A OVA como todas as proteínas é solúvel por natureza, essa solubilidade pode variar de acordo com as maneiras e condições em que estas interações ocorrem, relações entre proteína-proteína ou proteína-solvente (ZAYAS, 1997). Contudo, demonstram que possui característica desejáveis para um material de parede sendo, portanto as proteínas um material imensamente importante e muito utilizada para a microencapsulação de alimentos e fármacos (JAFARI et al., 2008).

### 1.2.2. Pectina

As pectinas são classificadas como heteropolissacarídeos (duas ou mais unidades monoméricas) que apresentam em sua estrutura 65% de ácido galacturônico representado na figura 4. Principal polissacarídeo que compõe a parede celular das plantas, produzida durante os primeiros estágios do crescimento da parede celular primária (KERTESZ, Z. I., 1951; JARVIS M.C., FORSYTH W. & DUNCAN H.J., 1988; NORTHCOTE D.H., 1972; VORAGEN A. G. J. et al., 2009; SOUTO-MAIOR J.F.A., et 2010). Obtida a partir da solubilização da protopectina do bagaço de maçã e casca de frutos cítricos como limão e laranja, em condições ácidas (pH 1,5 a 3,0) e sob aquecimento (60 a 100°C) (CANTERI, M. H. G. et al. 2012). Outras fontes de pectina são as batatas, polpa de beterraba, tomate e a cenoura (AXELOS M.A.V. et al., 1989; WILLATS W.G. et al., 2001; SHARMA R.K., et al., 2001; WILLATS W.G. et al., 2006; LIU Y., SHI J. & LANGRISH T.A.G. et al., 2006).



**Figura 4.** Estrutura da pectina (adaptado de PEREZ S.; RODRIGUEZ-CARVAJAL M. & DOCO T., 2003).

Na indústria de alimentos é amplamente utilizado como gelificante e estabilizante, possui ótima biodegradabilidade, biocompatibilidade e não toxicidade,

além de ser utilizada em outros setores como farmacêuticas, tecnológicas aplicadas em embalagens e no setor de cosméticos na produção de cremes e loções (NAGGAR, V.F., EL-KHAWAS M., ISMAIL F.A. & BORAIE N.A., 1992; SUNGTHONGJEEN S. et al., 1999). Com material encapsulante é considerado ideal, pois possui fácil degradação, facilitando a liberação de ingredientes ativos de forma controlada, comumente utilizada como encapsulantes principalmente pela técnica de coacervação complexa (FATHI, MARTIN E McCLEMENTS, 2014; RIBEIRO & SERAVALLI, 2004).

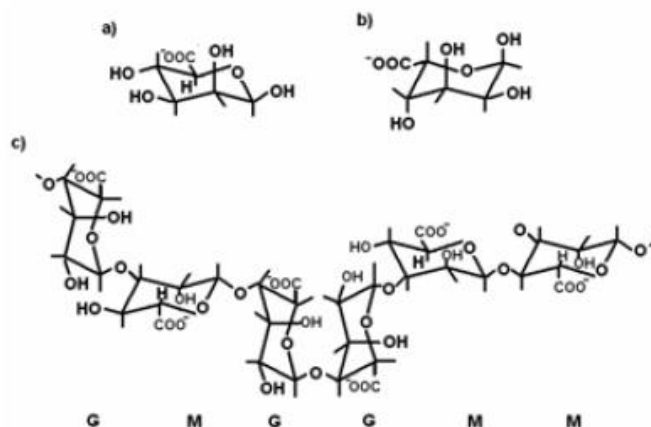
Através do grau de metoxilação (GM) é possível classificar a pectina, na qual a quantidade de grupos carboxílicos sob a forma de éster irão influenciar na classificação, quando superior a 42,9% são consideradas pectinas de alto teor de metoxilação (ATM) utilizados em conserva e para gelificação, e quando inferior a 42,9% são denominadas de baixo teor de metoxilação (BTM), empregado na indústria alimentícia na produção de geleias com baixo teor de açúcares, uma vez que não requer grande quantidade de açúcar para gelificação e possui menor sensibilidade a acidez (OAKENFULL D. & SCOTT A., 1984). Portanto o grau de metoxilação demonstra extrema importância no mecanismo de gelificação e processamento, interferindo nas propriedades funcionais da pectina (THAKUR B.R., SINGH R.K. & HANDA A.K., 1997; MOHNEN D., 2008; VORAGEN A. G. J. et al., 2009; SRIAMORNSAK P., 2011).

### **1.2.3. Alginato de sódio**

O alginato de sódio (AL) é um polissacarídeo aniônico, hidrofílico e de origem natural obtido de plantas marinhas (extraído de algas), com peso molecular de ~143 kDa, empregada na indústria farmacêutica e alimentícia, utilizado nos processos de microencapsulação e construção de membranas com permeabilidade controlada, devido sua capacidade de reter água (PAMIES et al, 2010; MATALANIS et al., 2011). O alginato possui várias propriedades funcionais como, por exemplo, existe em grande quantidade na natureza (fonte renovável), biodegradável, biocompatível, bioativo, baixa toxicidade e de baixo valor econômico (ZIA, ZIA, ZUBER; REHMAN & AHMAD, 2015). Além de tudo possui capacidade gelificante, aumento de viscosidade e propriedades estabilizadoras (MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011). É composto por ácido carboxílico e por ser aniônico, este biopolímero tem sido aplicado como material de parede para o encapsulamento através da técnica de complexo coacervado (COMUNIAN et al., 2016). O alginato se destaca de outros polímeros por basear-se em

$\alpha$ -L-gulurônico (G) e ácido  $\beta$ -D-manurônico (M), e em relação ao seu nível de polimerização Figura 5.

O alginato de sódio assim como outros polissacarídeos aniônicos configura-se como uma alternativa para ser aplicado como material de parede pela técnica de coacervação complexa e tem características similares à pectina, podendo ser aplicado como visto acima, na forma de gelificação iônica (COMUNIAN et al., 2016).



**Figura 5.** Estrutura química do alginato de sódio. a) ácido  $\beta$ -D-manurônico; b)  $\alpha$ -L-gulurônico e c) alginato (GAVA, 2008).

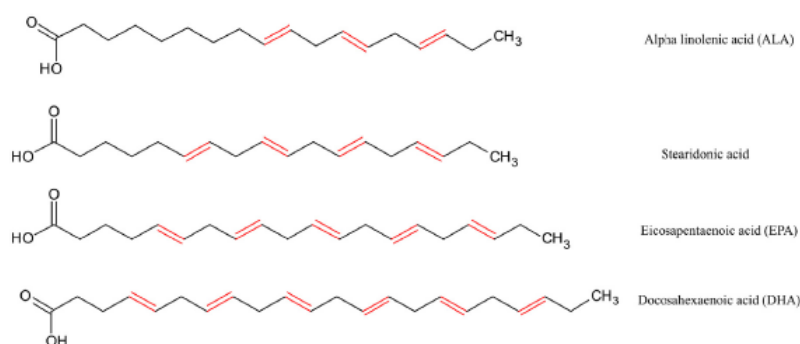
### 1.3. Compostos bioativos

Os compostos bioativos que apresentam efeitos benéficos para a saúde estão presentes em uma grande variedade de ingredientes ativos utilizados pela indústria de alimentos, estes podem ser isolados e purificados a partir de fontes naturais ou sintetizado quimicamente (apresentando a mesma estrutura encontrada na natureza). São considerados ingredientes ativos os flavorizantes, corantes, minerais, nutracêuticos, vitaminas, antimicrobianos, antioxidantes e conservantes (CHEN et al., 2006, SHEFER E SHEFER, 2003, UBBINK, 2002; UBBINK E KRUGER 2006). Os óleos essenciais, oleoresinas e óleos vegetais destacam-se por possuir propriedades antimicrobianas e antioxidantes (ETTOUMI; ZOUAMBIA; MOSTEFA, 2016; NIU et al., 2016; TIMILSENA et al., 2016; BASAK & GUHA., 2017), podendo ser utilizados como conservantes naturais na área de alimentos, fazem parte da categoria dos lipídeos bioativos devido à associação desses compostos a benefícios a saúde.

### 1.3.1. Lipídeos bioativos

Os lipídios apresentam diversos compostos que são solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água (AKOH & MIN, 2008; McCLEMENTS & DECKER 2008, Mc CLEMENTS et al., 2015). Na categoria dos lipídios estão incluídos os monoacilgliceróis, diacilgliceróis, triacilgliceróis, ácidos graxos livres, fosfolípidos, carotenóides, fitoesteróis e vitaminas solúveis em óleo. Esses compostos lipofílicos estão associados a diversos benefícios para a saúde como, prevenção de doenças coronárias, diabetes, hipertensão, entre outras (McCLEMENTS et al., 2009; WARAHO et al., 2011; McCLEMENTS et al., 2015).

Os ácidos graxos (AG) são os principais constituintes dos lipídeos, apresentam ácidos carboxílicos com cadeias longas e não ramificadas, formadas por numerosos pares de átomos de carbono, unidos por ligações simples (saturadas) ou duplas (insaturadas). De acordo com Bobbio & Bobbio (2003), os principais ácidos graxos saturados são o láurico, palmítico e o esteárico, e os insaturados são o oleico, linoleico e linolênico. Os lipídios são compostos indispensáveis para funções bioquímicas, estruturais e regulatórias, tem participação na composição da membrana celular e são capazes de modificar a resposta imune e inflamatória, é uma rica fonte de energia (CASTRO-GONZALEZ, 2002). Os AG são encontrados sob a forma de triglicerídeos (uma molécula de glicerol unindo três moléculas de AG). Os Ácidos graxos contém ligação dupla no terceiro carbono contadas a partir do terminal metil, o ácido linolênico ( $\omega$ -3) é um ácido graxo poli-insaturado essencial (BOBBIO & BOBBIO, 2003) Figura 6.



**Figura 6.** Estruturas químicas dos principais ácidos graxos do ômega-3 (COMUNIAN T. A. et al., 2016).

Estudos comprovam que o ácido linolênico, quando consumido frequentemente, atenua e previne o risco de uma série de doenças como, por exemplo, doenças

cardiovasculares, câncer de cólon e doenças imunológicas, diabetes, alergias, doença de Alzheimer, além de promoverem o bem-estar físico e mental (KRALOVEC, ZHANG, ZHANG E BARROW, 2012; LAVIE et al., 2009; CASTRO-GONZALEZ, 2002). Isso gera, conseqüentemente, a procura por alimentos funcionais que contenham compostos bioativos, dado que o consumo diário dessas gorduras saudáveis está associado a uma vida sadia. O ácido linolênico ( $\omega$ -3) é encontrado em uma maior quantidade nos peixes, crustáceos, algas marinhas e moluscos, tratando-se de sua principal fonte. Os ácidos graxos da família do ácido linolênico de origem animal mais importante são os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) (KRALOVEC, ZHANG, ZHANG, & BARROW, 2012; COMUNIAN T. A. & FAVARO-TRINDADE, 2016). No entanto fontes vegetais como o óleo de linhaça, de gergelim, sementes de cânhamo, de chia e o de sacha inchi, têm sido estudadas e apresentam-se como fontes de ômega 3 em concentrações tão altas quanto as de origem animal (FANALI et al., 2011; CASTRO-GONZALEZ, 2002; GUILLÉN et al., 2003; MAURER et al., 2012; TIMILSENA et al., 2016).

### **1.3.2. Óleo de Sacha Inchi**

Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis L.*) é uma oleaginosa, natural da região amazônica do Perú, é uma planta da família *Euphorbiaceae*, igualmente conhecida como amendoim Inca, amendoim silvestre, Inca Inchi, ou de amendoim montanha e, que cresce na floresta amazônica, em climas quentes e em altitudes acima do nível do mar de até 1500 m Figura 7. Por muitos anos foi cultivada pela população indígena (GUILLÉN et al., 2003; KRIVANKOVA et al., 2007; GUTIERREZ, ROSADA & JIMENEZ, 2011).

O norte da Tailândia e outros países da sub região do Grande Mekong também cultivam o sacha inchi, vista por eles como sendo um fruto com uma safra de grande qualidade e com um futuro promissor (RAWDKUEN et al., 2016). As sementes e o óleo de sacha inchi (OSI) são utilizados de diferentes maneiras pela população amazônica e o óleo é utilizado na preparação de várias refeições, as sementes são consumidas torradas e as folhas também são preparadas e aproveitadas nas refeições (FANALI et al., 2011). Em alguns casos na região Amazônica as sementes de SI são também utilizadas habitualmente como um remédio, no tratamento de problemas reumáticos e dores musculares (CHIRINOS et al., 2013). Em um estudo realizado por Garmendia et al. (2011), em que se analisou o efeito do OSI sobre o perfil lipídico em pacientes com



elevados valores de colesterol e triglicerídeos, após quatro meses se observou uma elevada taxa de HDL (lipoproteína de alta densidade) no sangue que atingiu 30% do valor inicial, que é proporcionalmente maior do que o alcançado por ingestão de remédios (RAWDKUEN et al., 2016).



**Figura 7.** Frutos de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

**Fonte:** [www.bergolio.ch](http://www.bergolio.ch)

O interesse pela semente de sachá inchi é devido ela possuir uma elevada quantidade de óleo comestível, que varia de acordo com a literatura entre 35-60%, proteína 27-30% rica em aminoácidos não essenciais como cisteína e tirosina e aminoácidos essenciais a treonina e o triptofano, possui uma grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) que compõem cerca de 93% dos ácidos graxos totais presentes na semente (CABRAL et al., 2009). Especificamente, cerca de 45-50% de ácido  $\alpha$ -linolênico ( $\omega$ -3), 32-37% de ácido linoleico ( $\omega$ -6) e 9-12% de ácido oleico ( $\omega$ -9), possui gosto amargo e contém substâncias termolábeis (GUILLÉN et al., 2003; FOLLEGATTI-ROMERO et al., 2009; WANG et al. 2012; CHIRINOS et al., 2013; NIU, LI, CHEN & XU, 2014). Em relação à outras sementes alimentares, a proporção do óleo em sementes de sachá inchi é elevado apresentando valores acima de 40% em relação à soja que apresentou 16,5-17,5%, a Chia 26,7-35% e de cártamo 27,5%, as sementes de linhaça 33,6-44,8%, pistache 50,4-58% e inferior a da macadâmia 63-71,8% (ARENA et al., 2007; BOZAN & TENELLI, 2008; WALL, 2010; IXTAINA et al., 2011; CIFTCI, et al., 2012; YOSHIDA et al., 2003; CHIRINOS et al., 2013).

Os óleos vegetais fornece uma fonte de baixo custo, sendo considerada uma característica desejável, em relação aos óleos marinhos (MAURER et al., 2012). Os consumidores tem demonstrado um aumento no interesse e procura desses produtos a

base de óleo vegetal, além da indústria alimentar, farmacêutica e cosmética. Os óleos vegetais são provenientes de frutas, nozes e variadas sementes, entre os óleos vegetais mais usuais na preparação de alimentos estão, principalmente de soja, amendoim, ervilha, colza (couve-nabiça), semente de girassol, milho, caroço de algodão e sementes de cártamo (SATHE et al., 2012; HAMM et al., 2013). Sacha inchi também apresentou valores maiores na quantidade de óleo, quando comparado à soja e algodão, porém possui valores comparáveis a de girassol e amendoim. É de baixo custo e de maior facilidade extrair óleo vegetal como sacha inchi, linhaça, chia entre outros (HUANG, PEREIRA e LEONARD, 2004). Com isso aumenta a procura por produtos ricos em ácido linolênico, e por isso a necessidade de se explorar produtos que sejam à base desses ácidos como o sacha inchi que é um dos poucos vegetais que possui uma elevada porcentagem de ácidos graxos (CASTRO-GONZALEZ, 2002; GUILLÉN et al., 2003).

### **1.3.3. Ácido tânico**

O ácido tânico (AT) é um produto pertencente à família de taninos e de a um subconjunto de metabolitos secundários conhecidos como polifenóis encontrados no reino vegetal. Este composto desenvolve atividades biológicas como: anticancerígenas, antioxidantes, antimicrobianos e antivirais (CHEN et al., 2003; SAHINER, N., SAGBAS S. e AKTAS N., et al., 2015; ANDRADE R. G. et al., 2006; BUZZINI P. et al., 2008). O AT apresenta em sua estrutura um grande número de grupos fenólicos e hidroxilos, são hidrolisáveis e de alto peso molecular (500 a 3000 Da), encontrados abundantemente em plantas, casca, raízes e castanha (DESPHANDE et al., 1986; SANTOS et al., 2016; AGUILERA et al., 2016). Os compostos fenólicos são utilizados como corantes e aromas na indústria de alimentos e contribuem para estabilidade oxidativa em diversos alimentos por possuírem capacidade antioxidante (RUTZ et al 2013; JOHN e SHARIDI, 2010). Além disso, os polifenóis tem sido empregados como reticulantes naturais devido a sua interação com proteínas e outras macromoléculas, contribuindo para o processamento de certos produtos alimentícios, modificando características funcionais das proteínas, como por exemplo, sua capacidade emulsionante e gelificante (KROLL, RAWEL, & ROHN, 2003; CAO et al., 2007; AEWSIRI, BENJAKUL, VISESSANGUAN, WIERENGA, & GRUPPEN, 2010; BALANGE & BENJAKUL, 2010).

#### 1.4. Referências Bibliográficas

- ALVIM, I. D.; STEIN, M. A.; KOURY, I. P.; DANTAS, F. B. H.; CRUZ, C. L. D. C. V. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. **Food Science and Technology**, v.65, p. 689-694, 2016.
- ANDRADE R. G.; GINANI J. S.; LOPES G. K. B.; DUTRA F.; ALONSO A.; HERMES-LIMA M. **Biochimie**. 88, 1287–1296, 2006.
- ARENA, E., CAMPISI, S., FALLICO, B., & MACCARONE, E. Distribution of fatty acids and phytosterols as a criterion to discriminate geographic origin of pistacho seeds. **Food chemistry**. 104, 403-408, 2007.
- ATEFI, M.; NAYEBZADEH, K.; MOHAMMADI, A.; MORTAZAVIAN, A. M. Using  $\beta$ -cyclodextrin and Arabic gum as wall materials for encapsulation of Saffron essential oil. Iranian journal of pharmaceutical research: **IJPR**. 16, 93. 2017,
- AXELOS, M. A. V., THIBAUT, J., e LEFEBVRE, J. Structure of citrus pectins and viscometric study of their solution properties. **International journal of biological macromolecules**, 11(3), 186-191, 1989.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16(1), p. 89-97, 2005.
- BALASUBRAMANI, P.; PALANISWAMY, P. T.; VISVANATHAN, R.; THIRUPATHI, V.; SUBBARAYAN, A.; MARAN, J. P. Microencapsulation of garlic oleoresin using maltodextrin as wall material by spray drying technology. **International journal of biological macromolecules**, v.72, p.210-217, 2015.
- BAKRY A.M., ABBAS S., ALI B., MAJEED H., ABOUELWafa M.Y., MOUSA A., AND LI LIANG. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Review sin Food Science and Food Safety**, Vol.15, 2016.
- BASAK, S.; GUHA, P. Betel leaf (Piper betle L.) essential oil microemulsion: Characterization and antifungal activity on growth, and apparent lag time of *Aspergillus flavus* in tomato paste. **LWT-Food Science and Technology**. 75, 616-623, 2017.
- BEINDORFF, C.M., ZUIDAM, N.J., Microencapsulation of fish oil. In: Zuidam, N.J., NEDOVIC, V.A. (Eds.), Encapsulation Technologies for Active. **Food Ingredients and Food Processing**. Springer, New York, p. 161-185, 2010.
- BERGOLIO. **Sacha Inchi**. Disponível em: < <http://www.sacha-inchi.org/?lang=en> > acesso em: 4 de agosto de 2016.
- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 3ª Ed. São Paulo: Varela, p. 238, 2003.
- BOZAN, B., & TENELLI, F. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seeds and seed oils. **Bioresource Technology**, 99, 6354-6359, 2008.
- BUZZINI P., ARAPITSAS P., GORETTI M., BRANDA E., TURCHETTI B., PINELLI P., IERI F.; ROMANI A. **Mini-Rev. Med. Chem**. 8, 1179–1187, 2008.
- CABRAL FA, FOLLEGATTI-ROMERO LA, PIANTINO CR, GRIMALDI R. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. **J Supercrit Fluid**, 49(3):323–329, 2009.
- CASTRO-GONZÁLEZ, M.I. Ácidos Grasos Omega 3: Benefícios Y Fuentes. **Interciência** v.27 n.3 Caracas mar. 2002.
- CANTERI, M. H., MORENO, L., WOSIACKI, G., e SCHEER, A. D. P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 22(2), 2012.

CIFTCI, O. N., PRZYBYLSKI, R., e RUDZIN´SKA, M. Lipids components of flax, perilla and chia seeds. **European Journal of Lipid Science and Technology**. <http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201100207>, 2012.

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

CHEN, B. C.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Design of foods with bioactive lipids for improved health. In: DOYLE, M. P.; KLAENHAMMER, T. R. (Ed.). **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 4, p. 35-56, 2013.

CHEN X., BEUTLER J. A., MCCLOUD T. G., LOEHFELM A., YANG L., DONG H.F., CHERTOV O. Y., SALCEDO R., OPPENHEIM J. J.; HOWARD O. M. Z. **Clin. Cancer Res.** 9, 3115–3123. 2003.

CHIRINOS R., ZULOETA G., PEDRESCHI R., MIGNOLET E., LARONDELLE Y., CAMPOS D. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidante capacity. **Food Chemistry** 141, 1732-1739, 2013.

CHITPRASERT, P; SUTAPHANIT, P. Holy Basil (*Ocimum sanctum* Linn.) Essential Oil Delivery to Swine Gastrointestinal Tract Using Gelatin Microcapsules Coated with Aluminum Carboxymethyl Cellulose and Beeswax. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.62, n.52, p.12641-12648, 2014.

CHOI, S.; KIM, H.; PARK, K.; MOON, T. Molecular characteristics of ovalbumin dextran conjugates formed through the Maillard reaction. **Food Chemistry**, 92(1), p. 93- 99, 2005.

COMUNIAN T. A., FAVARO-TRINDADE C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**.61, 442-457, 2016.

CROGUENNEC T., RENAULT A., BEAUFILS S., DUBOIS J. & PEZENNEC S. Interfacial properties of heat-treated ovalbumin. **Journal of Colloid and Interface Science**, 315, 627–636 (2007).

DIMA, C; PĂTRAȘCU, L; CANTARAGIU, A; ALEXE, P; DIMA, Ș. The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrumsativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. **Food chemistry**, v.195, p.39-48, 2016.

DOLÇA, C; FERRÁNDIZ, M; CAPABLANCA, L; FRANCO, E; MIRA, E; LÓPEZ, F; GARCÍA, D. Microencapsulation of Rosemary Essential Oil by Co-Extrusion/Gelling Using Alginate as a Wall Material. **Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences**, v.5, n.3, p.121, 2015.

FANALI, C.; DUGO, L.; CACCIOLA, F.; BECCARIA, M.; GRASSO, S.; DACHÀ, M.; DUGO, P.; MONDELLO, L. Chemical Characterization of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil. Disponível em: <[dx.doi.org/10.1021/jf203184y](http://dx.doi.org/10.1021/jf203184y)>. **J. Agric. Food Chem.** 59, 13043-13049, 2011.

FATHI, M., MARTÍN, Á., e MCCLEMENTS, D. J. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. **Trends in food science & technology**, 39(1), 18-39, 2014.

FAVARO-TRINDADE, C. S., PINHO, S. C., & ROCHA, G. A. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, 11(2), 103-112, 2008.

FOLLEGATTI-ROMERO L.A., PIANTINOC.R., GRIMALDI R. & CABRAL F.A. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of omega-3 rich oil from Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. **The Journal of Supercritical Fluids** 49, p.323-329, 2009.

GANJE, M; JAFARI, S. M; DUSTI, A; DEHNAD, D; AMANJANI, M; GHANBARI, V. Modeling quality changes in tomato paste containing microencapsulated olive leaf extract by accelerated shelf life testing. **Food and Bioproducts Processing**, v.97, p.12-19, 2016.

GARCÍA-SALDAÑA J. S., CAMPAS-BAYPOLI O. N., LÓPEZ-CERVANTES J., SÁNCHEZ-MACHADO D. I., CANTÚ-SOTO E. U., RODRÍGUEZ-RAMÍREZ R. Microencapsulation of sulforaphane from broccoli seed extracts by gelatin/gum arabic and gelatin/pectin complexes. **Food Chemistry** 201 (2016) 94–100.

GARG, M. L., WOOD, L. G., SINGH, H., & MOUGHAN, P. J. Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets. **Journal of Food Science**, 71(5), R66–R71, 2006.

GARMENDIA F., PANDO R. & RONCEROS G. Efecto del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volúbilis* L) sobre el perfil lipídico en pacientes con hiperlipoproteinemia. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**. 28( 4):628-32, 2011.

GIBBS, B.F., KERMASHA, S., ALLI, I., MULLIGAN, C.N. Encapsulation in the food industry: A review. **Int. J. Food Sci. Nutr.** 50, 213-224, 1999.

GIRARDI, N. S.; GARCÍA, D.; PASSONE, M. A.; NESCI, A.; ETCHEVERRY, M. Microencapsulation of Lippia turbinata essential oil and its impact on peanut seed quality preservation. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 116, 227-233, 2017.

GIOSAFATTO C.V.L., RIGBY N.M., WELLNER N., RIDOUT M., HUSBAND F. & MACKIE A.R. Microbial transglutaminase-mediated modification of ovalbumin. **Food Hydrocolloids**, 393 26, 261-267, 2012.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in food science & technology**, v. 15, n. 7, p. 330-347, 2004.

GUILLÉN, M. D., RUIZ, A., CABO, N., CHIRINOS, R., & PASCUAL, G. Characterization of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR spectroscopy and RMN<sup>1</sup>H. Comparison with linseed oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 80(8), 755-762, 2003.

GULÃO, E. D. S., DE SOUZA, C. J., ANDRADE, C. T., e GARCIA-ROJAS, E. E. Complex coacervates obtained from peptide leucine and gum arabic: Formation and characterization. **Food chemistry**, v 194, p 680-686, 2016.

GUTIÉRREZ, L.-F., ROSADA, L.-M., & JIMÉNEZ, A. Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volúbilis* L.) seeds and characterisation of their lipid fraction. **Grasas y aceites**. 62, 76-83, 2011.

HUANG, Y. S., PEREIRA, S. L., & LEONARD, A. E. Enzymes for transgenic biosynthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids. **Biochimie**, 86, 793-798, 2004.

IUPAC. Compendium of Chemical Technology, North Carolina, USA, 1997.

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

JAFARI, S. M; MAHDAVI-KHAZAEI, K; HEMMATI-KAKHKI, A. Microencapsulation of saffron petal anthocyanins with cress seed gum compared with Arabic gum through freeze drying. **Carbohydrate polymers**, v.140, p.20-25, 2016.

JARVIS, M. C., FORSYTH, W., & DUNCAN, H. J. A survey of the pectic content of nonlignified monocot cell walls. **Plant physiology**, 88(2), 309-314, 1988.

JIN, Y., PERRIE, C., ZHANG, W., DIEPEN, C.V., CURTIS, J., BARROW, C.J. Microencapsulation of marine lipids as a vehicle for functional food delivery. In: Barrow, C.J., Shahidi, F. (Eds.), **Marine Nutraceuticals and Functional Foods**. CRC Press, London, p.115-155, 2007.

JOYE, I. J; DAVIDOV-PARDO, G; MCCLEMENTS, D. J. Nanotechnology for increased micronutrient bioavailability. **Trends in Food Science & Technology**, v. 40, n.2, p.168-182, 2014.

KAUSHIK, P., DOWLING, K., BARROW, C. J., & ADHIKARI, B. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, p. 868-881, 2014.

KERTESZ, Z. I. The Pectic Substances, New York, Interscience Publishers Inc, 1951.

KRALOVEC, J. A., ZHANG, S., ZHANG, W., BARROW, C. J. A review of the progress in enzymatic concentration and microencapsulation of omega-3 rich oil from fish and microbial sources. **Food Chemistry**, 131, 639-644, 2012.

KRUIF, C.G.; TUINIER, R. Polysaccharide protein interactions. **Food Hydrocolloid**. Oxford, v 15, n 4-6, p.555-563, 2001.

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, p. 569-576, 2016.

LI, R.; CHEN, R.; LIU, W.; QIN, C.; HAN, J. Preparation of enteric-coated microcapsules of astaxanthin oleoresin by complex coacervation. **Pharmaceutical development and technology**. 1-8, 2016.

LIU, C. G., DESAI, K. G. H., CHEN, X. G., & PARK, H. J. Linolenic acid-modified chitosan for formation of self-assembled nanoparticles. **Journal of agricultural and food chemistry**, 53(2), 437-441, 2005.

LIU, Y., SHI, J., & LANGRISH, T. A. G. Water-based extraction of pectin from flavedo and albedo of orange peels. **Chemical Engineering Journal**, 120(3), 203-209, 2006.

LIU W., WEI LIU, YE A., PENG S., WEI F., LIU C., HAN J. Environmental stress stability of microencapsules based on liposomes decorated with chitosan and sodium alginate. **Food Chemistry**, 196, 396-404, 2016.

MACHADO, L. C; PELEGATI, V. B; OLIVEIRA, A. L. Study of simple microparticles formation of limonene in modified starch using PGSS—Particles from gas-saturated suspensions. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 260-269, 2016.

McCLEMENTS, D. J. Food emulsions: principles, practices, and techniques. CRC press, 2015.

McCLEMENTS, D. J.; DECKER E. A. Lipids. In Food Chemistry, 4th Edition, S. 2008.

MAJEED, H; ANTONIOU, J; HATEGEKIMANA, J; SHARIF, H. R; HAIDER, J; LIU, F; ZHONG, F. Influence of carrier oil type, particle size on in vitro lipid digestion and eugenol release in emulsion and nanoemulsions. **Food Hydrocolloids**, v.52, p.415-422, 2016

MATALANIS A., JONES O. G & McCLEMENTS D. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. **Food Hydrocolloids**. v. 25 p. 1865-1880, 2011.

MAURER, N. E., HATTA-SAKODA, B., PASCUAL-CHAGMAN, G., & RODRIGUEZ-SAONA, L. E. Characterization and authentication of a novel vegetable source of omega-3 fatty acids, sachainchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. **Food Chemistry**, 134, p.1173-1180, 2012.

MOHNEN, D. Pectin structure and biosynthesis. **Current opinion in plant biology**, 11(3), 266-277, 2008.

MÜLLER, J. M.; SANTOS, R. L.; BRIGIDO, R. V. Produção de alginato por microrganismos. **Polímeros**, v. 21(4), p. 305-310, 2011.

MUNIN, A; EDWARDS-LÉVY, F. Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. **Pharmaceutics**, v. 3, n. 4, p. 793-829, 2011.

NAGGAR, V. F., EL-KHAWAS, M., ISMAIL, F. A. e BORAIE, N. A. Pectin, a possible matrix for oral sustained-release preparations of water-soluble drugs. **STP pharma sciences**, 2(3), 227-234, 1992.

NEDOVIC V., KALUSEVIC A., MANOJLOVIC V., LEVIC S., BUGARSKIB. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Food Science**, p.1806-1815, 2011.

NGARIZE, S. Comparison of Changes in the Secondary Structure of Unheated, Heated, and High-Pressure-Treated  $\beta$ -Lactoglobulin and Ovalbumin Proteins Using Fourier Transform Raman Spectroscopy and Self-Deconvolution. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, no. 21, p. 6470–6477, 2004.

NORTHCOTE, D. H. Chemistry of the plant cell wall. **Annual review of plant physiology**, v. 23, n. 1, p. 113-132, 1972.

NIU, F.; PAN, W.; SU, Y.; YANG, Y. Physical and antimicrobial properties of thyme oil emulsions stabilized by ovalbumin and gum arabic. *Food chemistry*. 212, 138-145, **2016**.

NIU F., SU Y., LIU Y., WANG G., ZHANG Y., YANG Y., Ovalbumin-gum arabic interactions: effect of pH, temperature, salt, biopolymers ratio and total concentration, **Colloids Surf. B Biointerfaces** 113, 477–482, 2014.

NIU, L., LI, J., CHEN, M. S., & XU, Z. F. Determination of oil contents in Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) seeds at different developmental stages by two methods: soxhlet extraction and time-domain nuclear magnetic resonance. **Industrial Crops and Products**, 56, p. 187-190, 2014.

NYEMB K., GUÉRIN-DUBIARD C., DUPONT D., JARDIN J., RUTHERFURD S. M. & NAU F. The extent of ovalbumin in vitro digestion and the nature of generated peptides are modulated by the morphology of protein aggregates. **Food Chemistry**, 157, 429–438, 2014.

ORDÓÑEZ, J.A.; RODRIGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.G; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALEZ, L.H.; CORTECERCO, M.D.S. **Tecnología de Alimentos: Alimentos de origen animal**. Porto Alegre: Artmed, v.2, p.269-279, 2005

ORIANI, V. B.; ALVIM, I. D.; CONSOLI, L.; MOLINA, G.; PASTORE, G. M.; HUBINGER, M. D. Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention. **Food Research International**. 80, 41-49, **2016**.

OAKENFULL, D., & SCOTT, A. Hydrophobic interaction in the gelation of high methoxyl pectins. **Journal of Food Science**, 49(4), 1093-1098, 1984.

OZYILDIZ, F; KARAGONLU, S; BASAL, UZEL, G.A; BAYRAKTAR, O. Micro-encapsulation of ozonated red pepper seed oil with antimicrobial activity and application to nonwoven fabric. **Letters in Applied Microbiology**, v.56, p.168-179, 2012.

PAMIES R., SCHMIDT R. R., MARTÍNEZ M. D. C. L., TORRE J. G. D L. The influence of mono and divalent cations on dilute and non-dilute aqueous solutions of sodium alginates. **Carbohydrate Polymers** 80, 248–253, 2010.

PELISSARI, J. R; SOUZA, V. B; PIGOSO, A. A; TULINI, F. L; THOMAZINI, M; RODRIGUES, C. E; FAVARO-TRINDADE, C. S. Production of solid lipid microparticles loaded with lycopene by spray chilling: Structural characteristics of particles and lycopene stability. **Food and Bioproducts Processing**, v.98, p.86-94, 2016.



PENG, C., ZHAO, S.-Q., ZHANG, J., HUANG, G.-Y., CHEN, L.-Y., & ZHAO, F.-Y. Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed essential oil by complex coacervation. **Food Chemistry**, 165, p. 560-568, 2014.

PÉREZ, S., RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A., & DOCO, T. A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. *Biochimie*, 85(1), 109-121, 2003.

PIACENTINI E., GIORNO L., DRAGOSAVAC M. M., VLADISAVLJEVIĆ G. T., HOLDICH R. G. Microencapsulation of oil droplets using cold water fish gelatine/gum arabic complex coacervation by membrane emulsification. **Food Research International**. 53, 362-372, 2013.

RAWDKUEN S., MURDAYANTI D., SUNANTHA K., PHONGTHAI S. Chemical properties and nutritional factors of pressed-cake from tea and Sacha Inchi seeds. **Food Bioscience**. V. 15, p. 64-71, 2016.

REBELLO, F.F.P. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Revista agrogeoambiental**, Dez 2009. p.134-144, 2009.

RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R. C.; CRIZEL-CARDOZO, M. M.; KUCK, L. S.; NOREÑA, C. P. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. **Food chemistry**. 220, 59-66, 2017.

RUTTARATTANAMONGKOL, K; AFIZAH, M. N; RIZVI, S. S. Stability and rheological properties of corn oil and butter oil emulsions stabilized with texturized whey proteins by supercritical fluid extrusion. **Journal of Food Engineering**, 166, 139-147. 2015.

SARKAR, S; GUPTA, S; VARIYAR, P. S; SHARMA, A; SINGHAL, R. S. Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolyzate and gum arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. **Carbohydrate polymers**, v.95, n.1, p.177-182, 2013.

SANGUANSRI, L., & AUGUSTIN, M. A. Microencapsulation in functional food product development. In J. Smith, & E. Charter (Eds.), **Functional food product development** (pp. 1e23). USA: John Wiley & Sons, 2011.

SAHINER N.; SAGBAS S.; AKTAS N. **Mater. Sci. Eng., C**. 49, 824–834, 2015.

SANTOS M. B., COSTA A. R., GARCIA-ROJAS E. E. Heteroprotein complex coacervates of ovalbumin and lysozyme: Formation and thermodynamic characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**. 2017.

SCHMITT, C.; TURGEON, S. L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 167, p. 63-70, 2011.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos**. São Paulo: Varela, p. 57-172, 1996.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.

SATHE, S. K., KSHIRSAGAR, H. H., & SHARMA, G. M. Solubilization, fractionation, and electrophoretic characterization of Inca peanut (*Plukenetia volubilis* L.) proteins. **Plant Foods for Human Nutrition**, 67, p. 247-255, 2012.

SHARMA, R. K., WOOTEN, J. B., BALIGA, V. L., & HAJALIGOL, M. R. Characterization of chars from biomass-derived materials: pectin chars. *Fuel*, 80(12), 1825-1836, 2001.

SHEN, L.; CHEN, J.; BAI, Y.; MA, Z.; HUANG, J.; FENG, W. Physical Properties and Stabilization of Microcapsules Containing Thyme Oil by Complex Coacervation. *Journal of food science*. 2016, 81, 9. TANEJA, A., & SINGH, H. Challenges for the delivery of long-chain n-3 fatty acids in functional foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, 3, p.105-123, 2012.



SOBEL, R., VERSIC, R., & GAONKAR, A. G. Introduction to microencapsulation and controlled delivery in foods. In *Microencapsulation in the food industry* (p. 3-12). 2014.

SOUTO-MAIOR, J. F. A., REIS, A. V., PEDREIRO, L. N., & CAVALCANTI, O. A. Phosphated crosslinked pectin as a potential excipient for specific drug delivery: preparation and physicochemical characterization. **Polymer International**, 59(1), 127-135. 2010.

SOUZA C.J.F., GARCIA-ROJAS E.E., Interpolymeric complexing between egg whiteproteins and xanthan gum: effect of salt and protein/polysaccharide ratio,**Food Hydrocoll.** 268–275, 66, 2017.

SOUZA, C. J.F.; ROJAS, E. E. G.; MELO, N. R. G., LINS, J.F.C. Complex coacervates obtained from interaction egg yolk lipoprotein and polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 375-381, 2013.

SRIAMORNSAK, P. Application of pectin in oral drug delivery. Expert opinion on drug delivery, 8(8), 1009-1023. 2011.

SUNGTHONGJEEN, S., PITAKSUTEEPONG, T., SOMSIRI, A., & SRIAMORNSAK, P. Studies on pectins as potential hydrogel matrices for controlled-release drug delivery. **Drug development and industrial pharmacy**, 25(12), 1271-1276, 1999.

SUTAPHANIT, P; CHITPRASERT, P. Optimisation of microencapsulation of *holy basil* essential oil in gelatin by response surface methodology.**Food chemistry**, v.150, p.313-320, 2014.

THIES, C. Microencapsulation of Flavors by Complex Coacervation. In: (Ed.). **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**: Blackwell Publishing, p.149-170, 2007.

TIMILSENA, Y. P., ADHIKARI, R., BARROW, C. J.,& ADHIKARI, B. Digestion behaviour of chia seed oil encapsulated in chia seed protein-gum complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, 66, 71-81, 2017.

TIMILSENA Y. P., WANG B., ADHIKARI R., ADHIKARI B. Preparation and characterization of chia seed protein isolate chiaseed gum complex coacervates. **Food Hydrocolloids**. 52, p. 554-563, 2016.

TURASAN, H; SAHIN, S; SUMNU, G. Encapsulation of rosemary essential oil.**LWT-Food Science and Technology**, v.64, n.1, p.112-119, 2015.

VICENTE, J.; SOUZA CEZARINO, T.; PEREIRA, L. J. B.; DA ROCHA, E. P.; SÁ, G. R.; GAMALLO, O. D.; GARCIA-ROJAS, E. E. Microencapsulation of sacha inchi oil using emulsion-based delivery systems.**Food Research International**.99, 612-622, 2017.

VORAGEN, A. G., COENEN, G. J., VERHOEF, R. P., & SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, 20(2), 263, 2009.

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*, Springer: Dordrecht, The Netherlands; 2009, p. 31-100.

WARAHO, T.; MCCLEMENTS D. J.; DECKER E. A. Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions. *Trends in Food Science and Technology*. 2011, 22, 3–13.

WANG, L.; YANG, S.; CAO, J.; ZHAO, S.; WANG, W. Microencapsulation of Ginger Volatile Oil Based on Gelatin/Sodium Alginate Polyelectrolyte Complex. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**.64, 21-26,2016.

WANG B., VONGSVIVUT J., ADHIKARI B., BARROW C. J. Microencapsulation of tuna oil fortified with the multiple lipophilic ingredients vitamins A, D3, E, K2, curcumin and coenzyme Q10. **Journal of Functional Foods**, 19, p. 893-901, 2015.

WILLATS, W. G., KNOX, J. P., & MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, 17(3), 97-104, 2006.

WILLATS W.G., MCCARTNEY L., MACKIE W., KNOX J.P. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis, in: Plant Cell Walls, **Springer**, Netherlands, 2001, pp. 9–27.

YAMASAKI, M.; TAKAHASHI, N. Crystal Structure of S-ovalbumin as a Non-loop-inserted Thermostabilized Serpin Form. **Journal of Biology Chemistry**, v. 278, n. 37, p. 35524–35530, 2003.

YUAN, Y., KONG, Z. Y., SUN, Y. E., ZENG, Q. Z., & YANG, X. Q. Complex coacervation of soy protein with chitosan: Constructing antioxidant microcapsule for algal oil delivery. **LWT-Food Science and Technology**, 75, 171-179, 2017.

ZAYAS, J.F. **Functionality of proteins in foods**. New York: Springer, p.337, 1997.

ZHANG, L. Y.; ZHANG, X. H.; ABBAS, S.; KARANGWA, E. The study of pH dependent complexation between gelatin and gum arabic by morphology evolution and conformational transition. **Food Hydrocolloids**, v.30, p.323-332, 2013.

ZHANG, K.; ZHANG, H.; HU, X.; BAO, S.; HUANG, H. Synthesis and release studies of microalgal oil-containing microcapsules prepared by complex coacervation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.89, p.61-66, 2012.

ZHAO, J; WEI, T; WEI, Z; YUAN, F; GAO, Y. Influence of soybean soluble polysaccharides and beet pectin on the physicochemical properties of lactoferrin-coated orange oil emulsion. **Food Hydrocolloids**, v.44, p.443-452, 2015.

ZIA K. M., ZIA F., ZUBER M., REHMAN S., AHMAD M. N. Alginate based polyurethanes: A review of recent advances and perspective. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.79, p.377-387, 2015.

**CAPITULO II - Microencapsulação do óleo sacha inchi empregando ovalbumina, pectina e ácido tânico por coacervação complexa.**

## RESUMO

Diferentes matrizes poliméricas tem sido estudadas para microencapsulação de lipídeos bioativos como óleo sacha inchi rico em ômega-3, com interesse de agregar valor nutricional a novos produtos alimentícios. A formação do complexo coacervado de ovalbumina, pectina e ácido tânico foram estudados com o objetivo de ser um possível sistema para microencapsular o óleo de sacha inchi através da técnica de coacervação complexa. Foram avaliados a influência do pH (2,0 a 7,0) e as proporções de ovalbumina-pectina (1:1, 1:2, 1:4, 2:1 e 4:1), a melhor razão do núcleo/material de parede (1:1, 1:2 e 2:1) e as concentrações dos polímeros totais (1%, 2% e 3%). Foi determinada a eficiência de encapsulação e realizado análise calorimétrica a fim de caracterizar termicamente as microcápsulas. Na formação dos coacervados o pH 3,5 e a razão 4:1 se mostrou com maior turbidez e confirmou a melhor interação entre os biopolímeros, a ovalbumina quando combinada com ácido tânico apresentou um tamanho muito maior quando comparada a ovalbumina isolada, confirmando a interação entre os biopolímeros. A eficiência de encapsulação foi de 70 a 80%, sendo a melhor proporção de núcleo/paredes 2:1 e a melhor concentração de polímeros totais de 2% e as microcápsulas apresentaram estabilidade térmica, sem alterações na composição química do óleo sacha inchi. Os resultados demonstram que é possível a microencapsulação do óleo sacha inchi empregando os biopolímeros ovalbumina, pectina e ácido tânico como agentes encapsulantes através da técnica de coacervação complexa.

**Palavras chave:** lipídeos bioativos, ômega-3, ácido tânico, eficiência de encapsulação e biopolímeros.

## 2.1. INTRODUÇÃO

O sacha inchi (*Plukenetia volubilis L*) é uma oleaginosa originada da região amazônica do Perú, norte da Tailândia e outros países, comumente cultivada pela população indígena (GUILLÉN et al., 2003; FOLLEGATTI-ROMERO et al., 2009; CHIRINOS et al., 2013; NIU, LI, CHEN & XU, 2014; RAWDKUEN et al., 2016). A semente de sacha inchi possui uma elevada quantidade de óleo comestível, é rico em ácidos graxos insaturados essenciais, cerca de 42-48% de ácido linolênico ( $\omega$ -3), 32-37% de ácido linoleico ( $\omega$ -6) e 9-12% de ácido oleico ( $\omega$ -9) (GUILLÉN et al., 2003; FOLLEGATTI-ROMERO et al., 2009; CHIRINOS et al., 2013; NIU, LI, CHEN e XU, 2014). O consumo de ácidos graxos essenciais como ácido linolênico ( $\omega$ -3) está associado a diversos benefícios a saúde, como na prevenção de doenças cardiovasculares (GUILLÉN et al., 2003; POOLE, C. D. et al., 2013). No entanto esses compostos são facilmente degradados quando expostos a condições ambientais (oxigênio, luz, umidade, calor e interações com outros compostos) comprometendo sua estabilidade e dificultando a sua aplicação em produtos alimentícios (GARG et al., 2006; WANDREY C., BARTKOWIAK A. & HARDING S.E., 2009; SANGUANSRI & AUGUSTIN, 2011; TIMILSENA et al., 2017).

A microencapsulação é o processo de aprisionamento de qualquer ingrediente ativo (núcleo) dentro de um material de parede, protegendo o ingrediente de condições ambientais adversas, aumentando sua estabilidade e vida útil (NEDOVIC et al., 2011; BAKRY A. M. et al., 2016). Existem diversas técnicas de microencapsulação entre elas podemos citar a coacervação complexa que ocorre principalmente por meio de interações eletrostáticas em que os polímeros apresentem íons de cargas opostas, comumente utilizada devido à simplicidade do processo e baixo custo (THIES, 2007; TANEJA & SINGH, 2012). No processo de microencapsulamento através da técnica de coacervação complexa são utilizados uma grande variedade de biopolímeros como materiais de parede entre eles podemos destacar: polissacarídeos (amido, maltodextrina, quitosana, etc.), gomas (alginato, arábica, carragena, pectina, xantana, etc.), proteínas (caseína, caseinato, gelatina, isolado protéico do soro do leite-WPI, isolado concentrado protéico do soro do leite-WPC, ovalbumina, etc.) (GAONKAR et al., 2014; COMUNIAN., 2016) e os polímeros fenólicos como o ácido tânico que é um galotanino misturado com polifenóis hidrolisáveis de alto peso molecular (500-3000 Da), pertencente à família de taninos que são encontrados abundantemente em plantas, casca, raízes e castanha (DESPHANDE et al., 1986; SANTOS et al., 2016; AGUILERA et al., 2016). Os compostos fenólicos são utilizados como corantes, aroma e contribuem para

estabilidade oxidativa em diversos alimentos por possuírem capacidade antioxidante (RUTZ et al 2013; JOHN e SHARIDI, 2010). Os grupos hidroxilos e carboxílicos presentes nos tanino são responsáveis por formar fortes interações com proteínas e outras macromoléculas, contribuindo para o processamento de certos produtos alimentícios, modificando características funcionais das proteínas, como por exemplo, sua capacidade emulsificante e gelificante (KROLL, RAWEL, & ROHN, 2003; CAO et al., 2007; AEWSIRI, BENJAKUL, VISESSANGUAN, WIERENGA, & GRUPPEN, 2010; BALANGE & BENJAKUL, 2010).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influencia dos polissacarídeos na formação do complexo coacervado entre ovalbumina e pectina, avaliar a interação entre ovalbumina e ácido tânico, microencapsular o óleo sacha inchi por coacervação complexa empregando osbiopolímeros ovalbumina, pectina e ácido tânico como matérias de parede, avaliar a influencia desses materiais de parede na eficiência de encapsulação e caracterizar estruturalmente e termicamente as microcápsulas formadas.

## **2.2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.2.1. Materiais**

Óleo Sacha Inchi (OSI) (*Plukenetia volubilis L.*) foi comprado no mercado local em Lima, Perú. Ovalbumina (OVA; pureza 66 a 88%), Pectina (PEC; GM > 69%) e ácido tânico (AT) foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich<sup>®</sup> (St. Louis – USA), os reagentes utilizados foram de grau P.A obtidos da VETEC<sup>®</sup> Ltda (Rio de janeiro, Brasil). Para realização dos experimentos e preparo das soluções foi utilizada água ultrapura com condutividade de 0,05 µS/cm (Gehaka, Master-P&D, Brasil).

## **2.3. METODOLOGIA**

### **2.3.1. Formação dos complexos coacervados entre Ovalbumina, pectina e ácido tânico**

#### **2.3.1.1. Preparo das amostras**

As concentrações de OVA:PEC foram fixadas em 0,1% m/m, ambas soluções foram agitadas com auxilio de um agitador magnético (Novatecnica, modelo NT101, Brasil) por 30 minutos e 24 horas respectivamente. Foram estudadas cinco razões da solução OVA:PEC (1:1; 1:2; 1:4; 2:1 e 4:1) no potencial zeta e determinado o pH ideal na titulação turbidimétrica (Adaptado de SOUZA e ROJAS, 2015 e DIARRASSOUBA et al., 2015).

### **2.3.1.2. Potencial $\zeta$**

Através do equipamento Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, UK), foram analisados o potencial  $\zeta$  da ovalbumina, pectina e das razões estudadas. As amostras (10 mL) a 0,1% (m/m) foram colocadas no titulador (Malvern Instruments, MPT-2, Reino Unido). O pH das soluções foi ajustado com o auxílio de 0,5 mol/L de HCl, 0,25 mol/L de NaOH e 0,025 mol/L de NaOH e as análises foram conduzidas variando o pH (2,0-7,0), no intervalo de  $0,5 \pm 0,1$ . O Potencial-  $\zeta$  foi calculado com base no modelo matemático de Smoluschwsky com uma precisão de  $\pm 2$  mV e cada amostra lida em triplicata a 25 °C (Adaptado de SANTOS et al., 2017).

### **2.3.1.3. Titulação Turbidimétrica**

A solução contendo a razão de OVA/PEC 4:1, teve seu pH ajustado de (2 a 7) com HCl e NaOH, com auxílio de um agitador magnético (NT101, Novatecnica, Brasil). O pH das soluções foi monitorado com o auxílio de um pHmetro de bancada (mPA-210, TecnoPON, Brasil). E uma alíquota de 2 mL foi retirada para aferição do valor de turbidez em uma cubeta de quartzo, com um auxílio de espectrofotômetro (Libra S12, Biochrom, Inglaterra) em um comprimento de onda de 400 nm, calibrado com água ultrapura para 100% de transmitância (T) e a turbidez ( $\tau$ ) definida como ( $\tau$ )=100-%T. Todas as titulações foram realizadas a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) com três replicatas, sendo o intervalo entre as aferições de aproximadamente 1 minuto ( Adaptado de SOUZA e ROJAS, 2015)

### **2.3.1.4. Estudo da interação entre OVA/AT através da titulação turbidimétrica e tamanho de partícula**

Foi medida a turbidez em função da razão 1:1, 1:2, 1:4, 2:1 e 4:1 do sistema OVA/AT (0,1% m/m) em um comprimento de onda de 400 nm utilizando um espectrofotômetro (Biochrom mod. LIBRA S12, Inglaterra) calibrado com água ultrapura para 100% de transmitância (T) e a turbidez ( $\tau$ ) definida como ( $\tau$ )=100-%T. Realizado três replicatas, sendo o intervalo entre as aferições de aproximadamente 1 minuto (Adaptado de SOUZA e ROJAS, 2015).

A distribuição de tamanho da partícula de ovalbumina e dos complexos obtidos de ovalbumina e ácido tânico em solução foram determinadas a pH 3,5 pela técnica de DLS (Dynamic Light Scattering) utilizando o Zetasizer (Malvern Instruments, Nano-ZS, Reino Unido) equipado com laser He-Ne a um comprimento de onda de 632,8 nm e

ângulo de detecção fixo em 90 °C. As amostras foram colocadas em cubetas de vidro e lidas em triplicata a 25 °C.

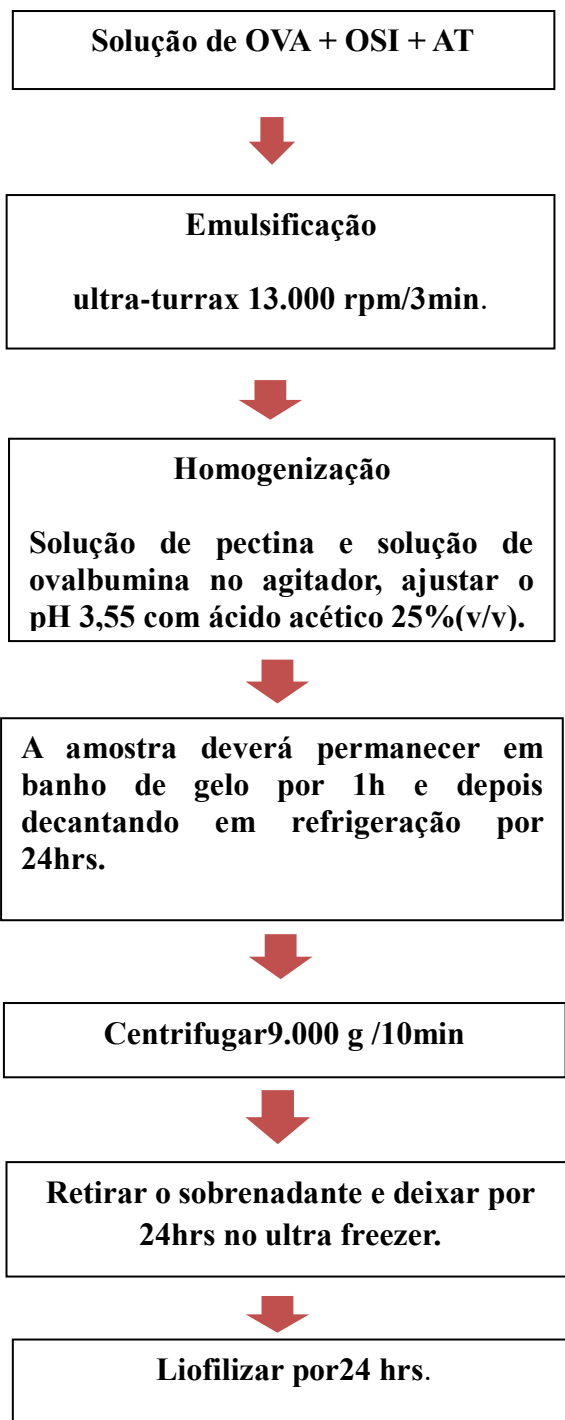
## **2.3.2. Microencapsulação do óleo sacha inchi**

### **2.3.2.1 Preparo das microcápsulas**

Foram avaliadas três concentrações de biopolímeros totais OVA e PEC a 1%, 2% e 3% (m/m) as soluções de OVA nas respectivas concentrações foram agitadas por 30 min, a solução de AT foi agitada por 10 min e a solução de PEC foi agitada por 24 horas com ajuda de um agitador magnético (Novatecnica, modelo NT101, Brasil). A quantidade do ácido tânico foi fixada a uma razão OVA:AT de 1:2. A quantidade de OSI variou de 0,25 g a 3,0 g e foi emulsionado na solução de OVA e AT a 13.000 rpm por 3 min no ultra-turrax (IKA, T25D Ultra-Turrax, Germany), em seguida a solução foi homogeneizada com solução de PEC. As razões entre o material de parede/núcleo analisadas foram 2:1, 1:1 e 1:2 e a proporção entre os polímeros (OVA/PEC) foi fixada em 4:1. Para promover a coacervação complexa, o pH da emulsão foi ajustado com o uso do ácido acético (25% v/v) para 3,5 com auxílio de um pHmetro de bancada (mPA-210, Tecnoyon, Brasil.). O sistema foi imerso em um banho de gelo por 1 hora para que ocorresse um resfriamento lento e resfriado a 10°C por 24 horas para completa precipitação das microcápsulas formadas. Após 24 horas as amostras foram centrifugadas (Digicen 21R, Reo Term, Espanha) a 9.000g/10min e o sobrenadante removido, congeladas no ultra-freezer (Terroni, COLD 120, Brasil) a - 40 °C por 24 horas. A secagem foi realizada por liofilização (Terroni, Enterprise I, Brasil) durante 24 horas. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em dessecador para realização das demais análises (Adaptada de MARFIL et al., 2016).



A metodologia utilizada para a obtenção das micropartículas por coacervação complexa está esquematizada no fluxograma da Figura 1.



**Figura 1.** Fluxograma do processamento de microcápsulas de óleo sacha inchi (OSI) obtidas por coacervação complexa utilizando os biopolímeros ovalbumina (OVA) e pectina (PEC) como material de parede.

### 2.3.3. Caracterização da microcápsula e do óleo encapsulado

#### 2.3.3.1. Eficiência de encapsulação do óleo sacha inchi.

A eficiência de encapsulação (EE%) foi medida em relação ao conteúdo de óleo de sacha inchi contido na microcápsula formada de acordo com a metodologia adaptada de Karaca, Nickerson e Low (2013) e Vicente et al., (2017) na qual foram pesadas 300 mg de microcápsula em um tubo falcon (15mL) e adicionadas 2 mL de água ultrapura, 2 mL de Hexano e 5 mL de isopropanol. As microcápsulas foram homogeneizadas na solução com auxílio de vortex e centrifugadas a 8.000 g por 15 min, logo após foi removido o sobrenadante (fase oleosa) e esse processo é repetido por mais duas vezes com a adição de 2 mL de hexano em cada repetição, assegurando completa extração do óleo. Posteriormente colocada na placa de petri para secagem e evaporação do hexano. A massa foi medida gravimetricamente e o valor de óleo teórico (OT%) foi dado pela equação (1).

$$OT(\%) = \frac{M_{oil}}{M_c} \times 100 \quad (1)$$

onde  $M_{oil}$  é a massa de óleo após centrifugação e  $M_c$  é a massa da cápsula utilizada nesta análise.

A eficiência da encapsulação (EE%) é a porcentagem de teor de óleo carregado dividido pela porcentagem de teor de óleo teórico, dada pela equação (2).

$$EE(\%) = \frac{\% \text{ óleo carregado}}{\% \text{ óleo teórico}} \times 100 \quad (2)$$

#### 2.3.3.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros de infravermelho foram obtidos das amostras de ovalbumina, pectina, ácido tânico, óleo sacha inchi e microcápsulas liofilizadas. As análises foram realizadas em temperatura ambiente no espectrômetro Bruker FTIR (vértice 70, Alemanha) usando KBr (brometo de potássio) e lido na faixa de 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  (Adaptada de Santos et al., 2017).

#### 2.3.3.3. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi realizada utilizando um calorímetro diferencial de varredura Q200 (TA Instruments, New Castle, EUA). Padrão de índio (In) foi utilizado para calibrar energia e temperatura do equipamento e nitrogênio foi utilizado como gás de arraste. As amostras liofilizadas (~5 mg), nas quais foram determinadas o teor de umidade, foram pesadas em cadinhos de alumínio do tipo hermético com o auxílio de uma balança de precisão Mx5, (Mettler Toledo, Columbus, EUA). As amostras foram

analisadas durante um intervalo de temperatura de 20 a 200 ° C na taxa de 5 °C/min e um cadinho vazio e selado foi utilizado conforme realizado por Fareez et al., (2015). A determinação da temperatura de transição no pico máximo, bem como a variação de entalpia foram analisados pelo *software* Universal V4.5A<sup>®</sup> (TA Instruments, New Castle, EUA). A temperatura de desnaturação ( $T_d$ ) será definida como o valor máximo do pico.

#### **2.3.3.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

As microcápsulas liofilizadas foram colocadas sobre uma fita dupla face de carbono e depois revestidas com uma fina camada de ouro. Características morfológicas das microcápsulas foram então observadas (Zeiss, EVO MA10, Inglaterra) e operado em modo de elétrons secundários com a voltagem 15kV e um aumento de 500 a 2000 KX (BAGHERI et al., 2014).

#### **2.3.3.5. RMN de <sup>1</sup>H do óleo sacha inchi extraído da microcápsula**

Os espectros de RMN foram registados num espectrômetro Bruker Advance III (Billerica, MA, EUA) que opera a 500 MHz para <sup>1</sup>H. Os parâmetros de aquisição de experiências de RMN 1D empregadas foram: TD (dados do domínio do tempo) = 65536, AQ (tempo de aquisição) = 3,17 s, NS (número de varreduras) = 16, SW (largura espectral) = 7500 Hz, D1 (atraso de relaxamento entre varreduras/transientes sucessivos) = 1,0 s, LB (ampliação exponencial da linha antes da transformação de Fourier) = 0,3 Hz. O óleo sacha inchi foi analisado após ter sido extraído da microcápsula, para quantificar o conteúdo de ômega-3 e observar possíveis compostos formados após processo de microencapsulação do óleo. As amostras foram solubilizadas em CDCl<sub>3</sub> com tetrametilsilano como referência. A mistura foi introduzida em um tubo com um diâmetro de 5 mm e os experimentos foram realizados a 25°C. Os espectros foram processados usando o Programa Bruker TopSpin-NMR (versão 3.5) (Adaptado de VICENTE et al., 2015).

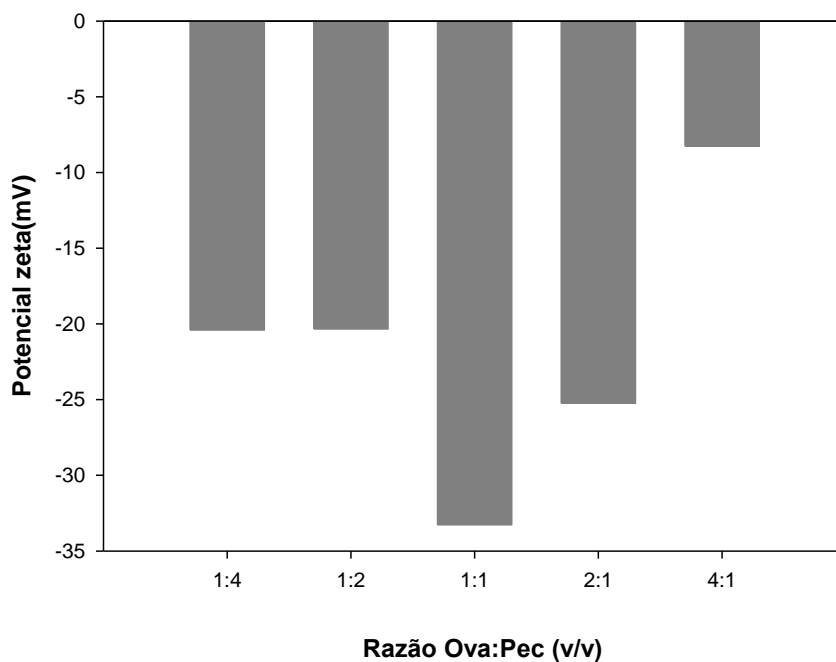
#### **2.3.3.6. Análise estatístico**

Análise de dados foi feita pelo teste de Tukey e por análise de variância (ANOVA) com  $p < 0,05$  % de significância, através do programa estatístico SAS<sup>®</sup> versão 8.0. Todos os dados serão realizados em três repetições.

## 2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

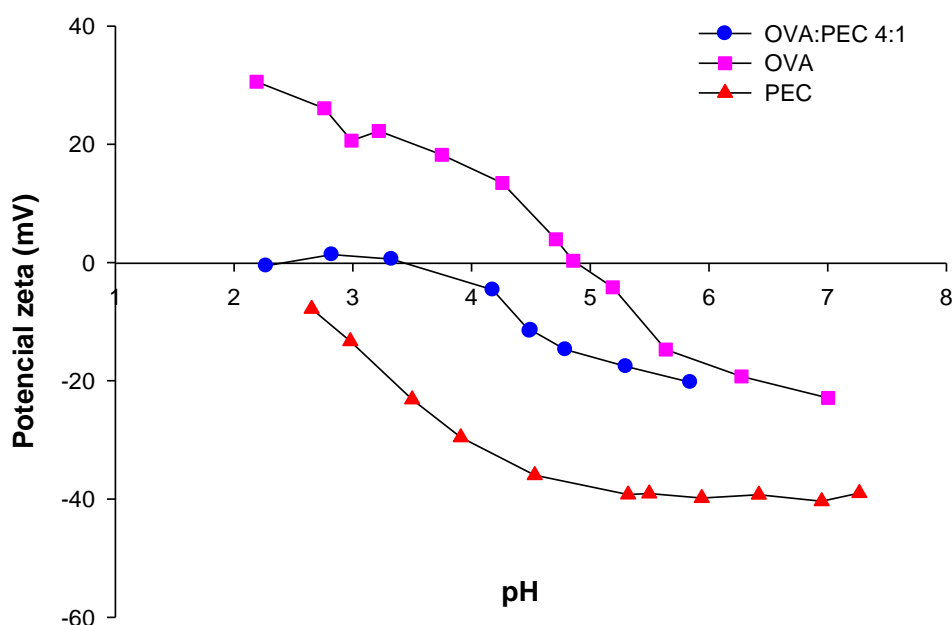
### 2.4.1. Efeito do pH e razão do complexo OVA:PEC.

Os dados apresentados na Figura 2 ilustram a variação do potencial zeta nas razões (1:1; 1:2; 1:4; 2:1 e 4:1) em pH fixo de 3,5. Foi possível observar que a razão 4:1 demonstrou-se mais próxima de zero (-8,3 mV) quando comparada as outras razões de 1:4, 1:2, 1:1 e 2:1 que apresentaram potencial zeta na faixa de -20 mV nas razões 1:4 e 1:2 e -33 mV na razão 1:1. Em todas as razões estudadas o potencial zeta foi negativo, a quantidade de proteína não foi suficiente para manter as cargas positivas. Observações semelhantes foram feitas por Kaushik et al., (2015) que avaliou a formação do complexo entre isolados de proteína de linhaça e goma de linhaça em diferentes proporções variando de 1:1 a 15:1 e encontrou melhor complexação na proporção 3:1 e Devi et al., 2012 que obteve melhores resultados entre os biopolímeros gelatina e alginato na proporção 3,5:1. Este resultado demonstra que no processo de coacervação complexa a relação proteína-polissacarídeo é um fator de extrema importância, pois diferentes proporções de mistura influenciam no equilíbrio de cargas entre os biopolímeros, que quando não adequadas podem afetar todo sistema de complexação e interação entre as moléculas (LIU, CAO, et al., 2009; LIU, LOW, 2009a, 2009b).



**Figura 2.** Potencial zeta em função das diferentes proporções de OVA:PEC (1:4, 1:2, 1:1, 2:1 e 4:1) no pH 3,5.

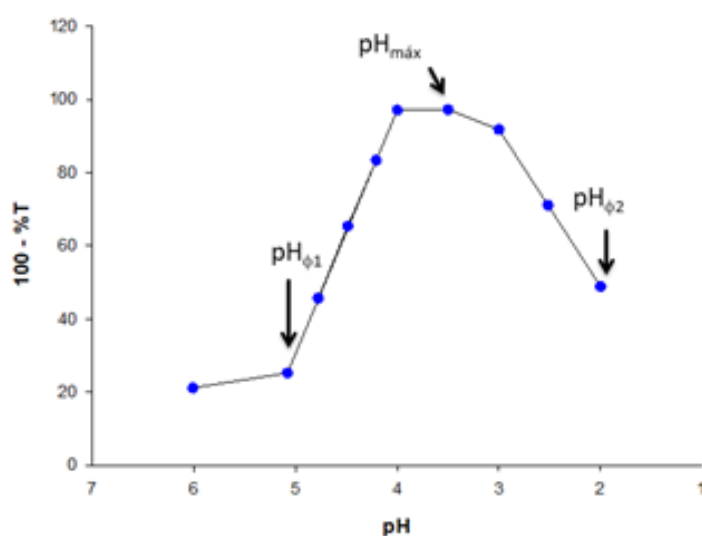
A variação do potencial zeta em função do pH (2 a 7) dos biopolímeros individualmente e do complexo formado na razão 4:1, são apresentadas na Figura 3. A OVA apresentou carga positiva de 30,6 a 13,4 mV do pH 2 até o pH 4,8, com aumento do pH o potencial zeta diminuiu para  $0,3 \pm 0,6$  mV no pH 4,8 próximo do ponto isoelétrico (pI) da proteína (~ 4,9), do pH 5 até 7 as cargas da proteína passaram a ser negativas de - 4,1 a - 22,9 mV. O oposto foi observado com a PEC que apresentou somente cargas negativas -7,8 a -39 mV do pH 2 até pH 7. O complexo ovalbumina e pectina na razão 4:1 apresentaram equilíbrio de cargas elétricas entre os biopolímeros no pH 3,5, indicando ser o pH ideal para formação do complexo. Souza et al. (2015) também observaram isso quando avaliaram os potenciais zeta de OVA e PEC do pH 1 a 9. Santos et al., (2017) encontram resultados similares onde a variação de cargas da OVA se deu na faixa de 25 a -30 mV, do pH 3,0 a 7,5 respectivamente, e o pI em torno de 5,1.



**Figura 3.** Potencial zeta em função do pH (2,0 a 7,0) dos biopolímeros isolados ovalbumina (OVA) e pectina (PEC) e do complexo OVA/PEC na proporção 4:1.

OpH é considerada em vários estudos como primordial na formação de complexos coacervados entre proteína e polissacarídeos (TURGEON, BEAULIEU, SCHMITT, & SANCHEZ, 2003; DE KRUIF, WEINBRECK, & DE VRIES, 2004). A turbidez do sistema é alterada de acordo com a mudança de pH da solução podendo diminuir ou aumentar, quando a solução de proteína e polissacarídeo estiver abaixo do pI da proteína ela apresentará cargas positivas podendo formar complexos solúveis e podem formar coacervados quando

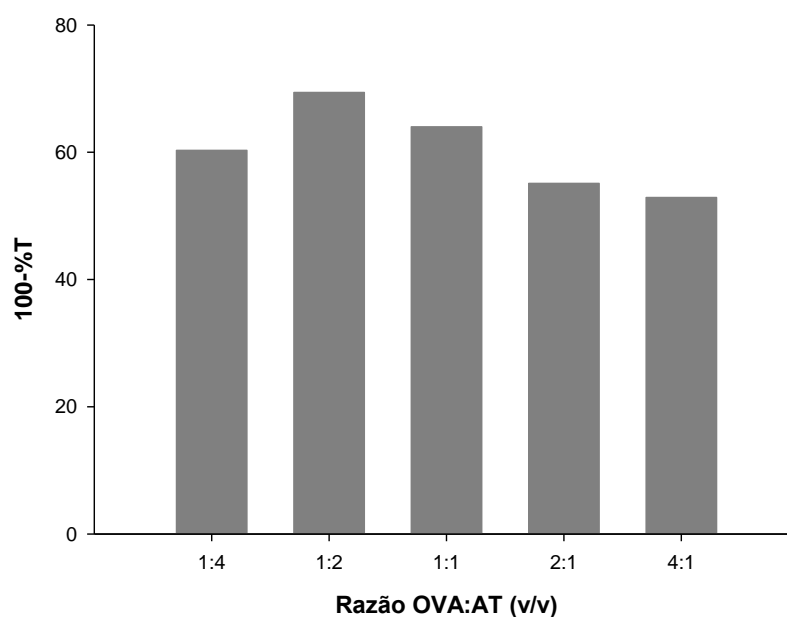
interagirem com polissacarídeos carregados negativamente, essas mudanças ocasionam uma turbidez do sistema (TURGEON, BEAULIEU, SCHMITT, & SANCHEZ, 2003; DE KRUIF, WEINBRECK, & DE VRIES, 2004). Desta maneira, a turbidez permite acompanhar e determinar de forma direta a formação de complexos coacervados (LIU et al., 2017). Portanto na curva obtida pela titulação turbidimétrica são observado três pontos distintos de transição da turbidez ( $\text{pH}_{\phi_1}$ ,  $\text{pH}_{\text{máx}}$  e  $\text{pH}_{\phi_2}$ ) e o efeito do pH (2,0 a 7,0) sobre a variação da turbidez na razão 4:1 Figura 4. Durante a acidificação, a turbidez do sistema OVA/PEC apresentou um pequeno aumento no pH 5.08 ( $\text{pH}_{\phi_1}$ ), iniciando a formação dos complexos solúveis devido a repulsão eletrostática. Ocorreu um aumento considerável da turbidez no pH 3,5 ( $\text{pH}_{\text{máx}}$ ), indicando que as forças eletrostáticas promoveram a formação de complexos insolúveis (coacervados) entre a proteína e o polissacarídeo. Com uma redução considerável do pH para 2,0 ( $\text{pH}_{\phi_2}$ ) a turbidez do sistema começa a diminuir demonstrando dessociação entre os complexos, tornando-se mais insolúveis, este fenômeno pode ser atribuído a adição de ácido a solução que contribui para protonação dos grupos carboxílicos ( $-\text{CO}_2^- \rightarrow -\text{CO}_2\text{H}$ ) enfraquecendo a interação eletrostática (McCLEMENTS., 2015; XIONG et al., 2017). Resultados similares foram igualmente observados em sistemas onde OVA interagiu com outros polissacarídeos aniônicos como carboximetilcelulose (CMC) e goma arábica (TRABELSI et al., 2014; NIU, et al., 2015; SOUZA E GARCIA-ROJAS, 2015; XIONG et al., 2017).



**Figura 4.** Variação da turbidez em função do pH (2,0 a 7,0) do sistema OVA:PEC na razão 4:1 e os pontos distintos de transição da turbidez ( $\text{pH}_{\phi_1}$ ,  $\text{pH}_{\text{máx}}$  e  $\text{pH}_{\phi_2}$ ).

#### 2.4.2. Titulação turbidimétrica e Tamanho de partícula do sistema OVA/AT.

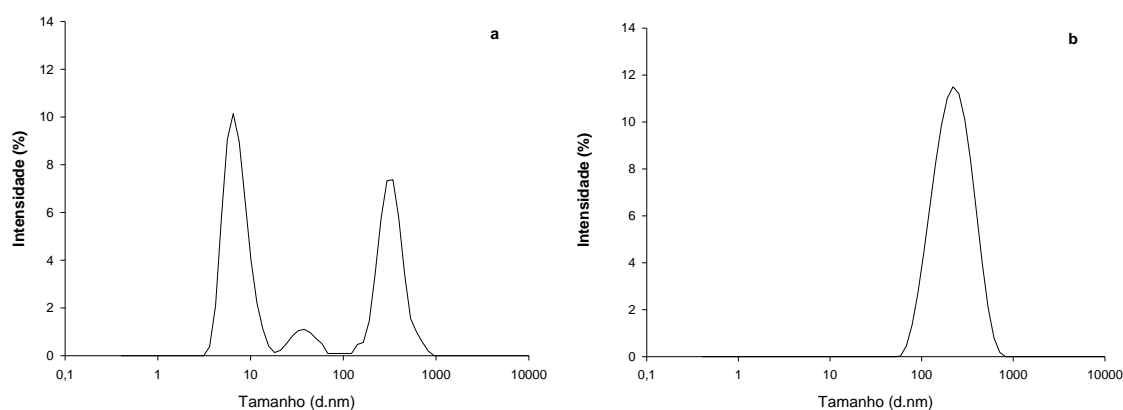
A fim de confirmar a interação proteína e composto fenólico, foi realizada uma curva de variação da turbidez em função das razões (1:1, 1:2, 1:4, 2:1 e 4:1) através da titulação turbidimétrica estudadas no pH  $5,5 \pm 0,6$ . A razão de 1:2 destacou-se por apresentar maior turbidez, quando comparadas às outras razões Figura 5. Para que haja número suficientes de ligação que assegure a estabilidade da combinação é necessário o dobro de ácido tânico comparado à proteína. De acordo com ANVARI, M. & CHUNG D., 2016 a ligação da proteína e ácido tânico está relacionada ao maior grau de ligação do hidrogênio com grupos amino ou hidroxilo das moléculas, justificando a interação entre os biopolímeros.



**Figura 5.** Curva de variação da turbidez em função das razões (1:1, 1:2, 1:4, 2:1 e 4:1) de ovalbumina (OVA) e ácido tânico (AT), no pH  $5,5 \pm 0,6$ .

A distribuição de tamanho de partícula de Ovalbumina e ácido tânico foram observados por DLS (Espaçamento dinâmico de luz) para explicar as interações entre os biopolímeros ovalbumina e ácido tânico como mostrado na Figura 6. O tanino apresenta em sua estrutura grupos hidroxilos e carboxílicos, responsáveis por formar fortes interações com proteínas e outras macromoléculas (KROLL, RAWEL & ROHN, 2003). Os perfis de intensidade em função do tamanho (d.nm) das soluções de Ova e AT (0,1%, m / m) bem como a solução do complexo (0,1% m/m) na proporção 1:2 no pH 6,5 foram estudadas. Na Figura 6 (a) é possível observar que a Ova apresentou três tamanhos distintos, um de maior

intensidade ( $50\% \pm 2,1$ ) com tamanho de  $7,2 \pm 0,6$  d.nm, o segundo com uma intensidade média ( $38,5\% \pm$ ) e com tamanho de  $340 \pm 45$  d.nm e um terceiro com baixa intensidade ( $8,7\% \pm 2,3$ ) e de menor tamanho com  $55 \pm 32$  d.nm, observou-se que os valores de PDI foram relativamente baixos aproximadamente 0,4. O segundo e o terceiro pico demonstraram uma auto agregação da proteína neste pH ou ainda possíveis impurezas contidas na solução, já no primeiro pico observa-se o tamanho médio da partícula de  $7,2 \pm 0,6$  d.nm correspondente ao tamanho de ovalbumina nativa não agregada (ERICKSON, 2009; SPONTON, PEREZ, CARRARA, & SANTIAGO, 2015). Na Figura 6 (b) quando a ovalbumina foi combinada com ácido tânico obteve-se um tamanho médio de  $190,33 \pm 10,59$  d.nm, valor muito maior do que o encontrado no tamanho de partícula da ovalbumina isolada, como baixos valores de PDI aproximadamente 0,2. A interação entre os biopolímeros nas condições estudadas foi confirmada e contribuiu para que a proteína pudesse desempenhar um novo papel na formação dos complexos e o composto fenólico ligasse ao interior ou superfície da proteína agregando valor ao complexo estudado (LIU et al., 2017).



**Figura 6.** Tamanho de partícula (d.nm) em pH 6,5 da Ova (a) e complexo OVA/AT (b) na razão 1:2.

### 2.4.3. Caracterização da microcápsula

#### 2.4.3.1. Eficiência de encapsulação do óleo sachá inchi

Foram realizados nove tratamentos durante a elaboração das microcápsulas por coacervação complexa, na qual foram avaliadas diferentes concentrações 1%, 2% e 3% e razões 2:1, 1:1 e 1:2, para escolha de um sistema com maior eficiência de encapsulação (EE%). O teor de óleo encapsulado (%), teor de óleo teórico (%) e eficiência de encapsulação (%) foram demonstrados na Tabela 1.



Verifica-se que houve uma diferença significativa entre os tratamentos, o que indica que diferentes concentrações e proporções de material de parede e núcleo, interferiram no rendimento do óleo encapsulado. Os valores de eficiência obtidos são considerados altos em torno de 71 a 78 % indicando que a metodologia escolhida está adequada para o objetivo proposto, outros estudos encontraram resultados similares como Comunian et al., (2016) que microencapsulou óleo de echium por coacervação complexa e encontrou valores de rendimento em torno de 79 a 99 %, Kaushik et al., (2016) que microencapsulou óleo de linhaça por coacervação complexa e submeteu as microcápsulas a secagem por freeze dried e spray dried, encontrando um rendimento em torno de 58 a 67 % e 73 a 87 % respectivamente. Os maiores valores de EE (%) foram obtidos na proporção núcleo/parede de 2:1 (76,7 a 78,1%) e 1:1 (71,1 a 76,1%) significativamente iguais e concentração de biopolímeros de 1% até 3% significativamente diferentes. Os resultados demonstram que maior quantidade de óleo em relação ao material de parede não melhora a eficiência de encapsulação e não apresenta diferença significativa ( $p < 5\%$ ), indicando que diferentes concentrações de polímeros totais e proporção núcleo/material de parede não interferem na eficiência do óleo encapsulado. Sendo assim, os resultados encontrados por Rutz et al., (2016 e 2017) que microencapsularam óleo de palma empregando os biopolímeros quitosana/tripolifosfato de sódio e quitosana/carboximetilcelulose e quitosana/xantana e quitosana/pectina respectivamente, encontraram a melhor proporção núcleo/parede de 1:1, confirmando o resultado encontrado neste estudo. Resultados equivalentes, como Yang et al., (2014) que microencapsularam óleo de baunilha com quitosana/goma arábica por coacervação complexa e obtiveram uma maior eficiência de encapsulamento na razão núcleo/parede 2:1 com 94,2% enquanto na razão 4:1 obteve 62,4%, sugerindo que o aumento do óleo em relação ao material de parede não aumenta a eficiência de encapsulação, como o observado neste trabalho.

Sendo assim, o tratamento escolhido para realizar as demais análises foi o experimento E4 representado na (Tabela 1) com maior eficiência de encapsulação  $78,1\% \pm 7,4$  na razão 2:1.

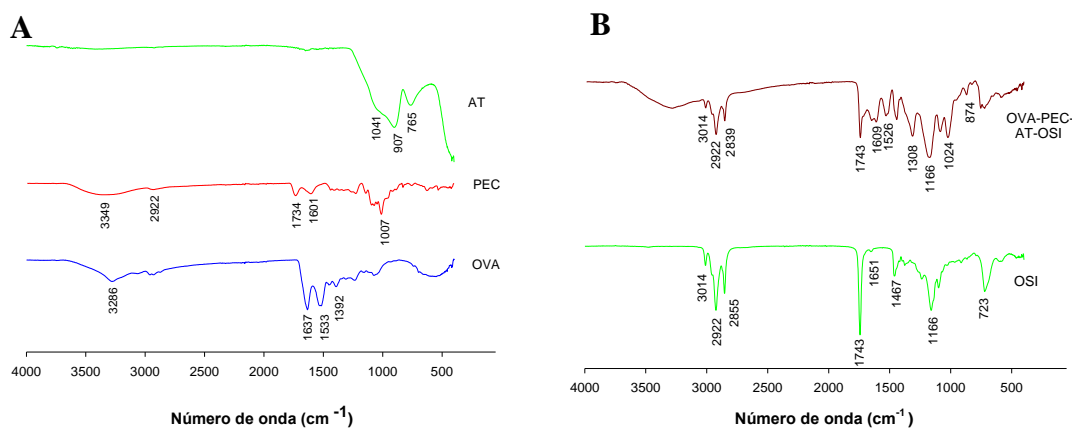
**Tabela 1.** Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental da microencapsulação do óleo sacha inchi utilizando os biopolímeros ovalbumina (OVA), pectina (PEC) e ácido tânico (AT). A razão ovalbumina e ácido tânico foi fixada em 1:2.

Experimentos	Peso do material da parede (g)			Razão núcleo/Parede	Ácido Tânico (g)	Teor de óleo encapsulado(%)	Teor de óleo teórico (%)	EE(%)	
	Material do núcleo (g)	OVA(g)	PEC (g)						Total (g)
E1	1	0,4	0,1	0,5	2:1	0,8	31,6 ± 1,5 <sup>a</sup>	43,3	72,9 ± 3,6 <sup>ab</sup>
E2	0,5	0,4	0,1	0,5	1:1	0,8	19,7 ± 0,5 <sup>b</sup>	27,7	71,1 ± 1,8 <sup>ab</sup>
E3	0,25	0,4	0,1	0,5	1:2	0,8	10,1 ± 0,9 <sup>c</sup>	16,1	62,7 ± 6,2 <sup>b</sup>
E4	2	0,8	0,2	1	2:1	1,6	33,9 ± 3,2 <sup>a</sup>	43,4	78,1 ± 7,4 <sup>a</sup>
E5	1	0,8	0,2	1	1:1	1,6	21,1 ± 2,8 <sup>b</sup>	27,7	76,1 ± 10,1 <sup>ab</sup>
E6	0,5	0,8	0,2	1	1:2	1,6	3,5 ± 0,5 <sup>d</sup>	16,1	21,7 ± 3,4 <sup>d</sup>
E7	3	1,2	0,3	1,5	2:1	2,4	33,3 ± 2,1 <sup>a</sup>	43,4	76,7 ± 5,0 <sup>ab</sup>
E8	1,5	1,2	0,3	1,5	1:1	2,4	20,2 ± 1,0 <sup>b</sup>	27,7	72,9 ± 3,6 <sup>ab</sup>
E9	0,75	1,2	0,3	1,5	1:2	2,4	7,0 ± 0,5 <sup>cd</sup>	16,0	43,7 ± 3,4 <sup>c</sup>

As análises foram realizadas com três repetições. As letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey com uma probabilidade de 5%.

### 2.4.3.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros de FTIR da OVA, PEC, AT, OSI e da microcápsula (proporção material de parede/núcleo 2:1), na região de comprimento de onda selecionada (4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ ) são apresentados na Figura 7 e 8. As bandas de amida I (1637  $\text{cm}^{-1}$ ), amida II (1533  $\text{cm}^{-1}$ ) e amida III (1392  $\text{cm}^{-1}$ ), características de proteínas, foram identificadas no espectro da ovalbumina, o mesmo foi observado por Milleret et al., 2013. O espectro da OVA revelou a presença dos grupos funcionais de O-H e N-H característico, e um estiramento do grupo amino próximo à faixa de 3286  $\text{cm}^{-1}$ . No espectro da pectina, as principais bandas estão relacionadas ao estiramento OH na região entre 3400 e 2500  $\text{cm}^{-1}$ , à deformação axial CH por volta de 2922  $\text{cm}^{-1}$  e à carbonila esterificada (C=O) em 1734  $\text{cm}^{-1}$ . Também é observada uma banda em 1601 relacionada ao íon de carboxilato (COO<sup>-</sup>) (CHANG et al., 2017). No caso dos fenóis as absorções mais características são as associadas aos estiramentos das ligações O-H e C-O. A banda de absorção característica ao estiramento da ligação C-O de fenóis na faixa de 1250-1000  $\text{cm}^{-1}$ , mostrou-se presente na região 1041  $\text{cm}^{-1}$  como encontrado na literatura de BARBOSA et al., 2007 e SANTOS et al., et al 2016. As bandas 900 a 650  $\text{cm}^{-1}$  (C-H) características do sistema aromático foram identificadas no espectro do AT Figura



**Figura 7.** Espectro obtido por FTIR dos biopolímeros Ovalbumina (OVA), Pectina (PEC) e ácido tânico (AT) na figura (A) e do óleo sacha inchi (OSI) e da microcápsula carregada com o óleo na figura (B).

A interação entre o grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) da OVA e o grupo carboxílico ( $\text{COO}^-$ ) da PEC foi confirmada pela banda na região entre 1600-1500  $\text{cm}^{-1}$  e na região 1024  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente, presente no espectro da microcápsula. Além disso, a microcápsula carregada com OSI apresentou as bandas características do óleo em 3014  $\text{cm}^{-1}$  resultante

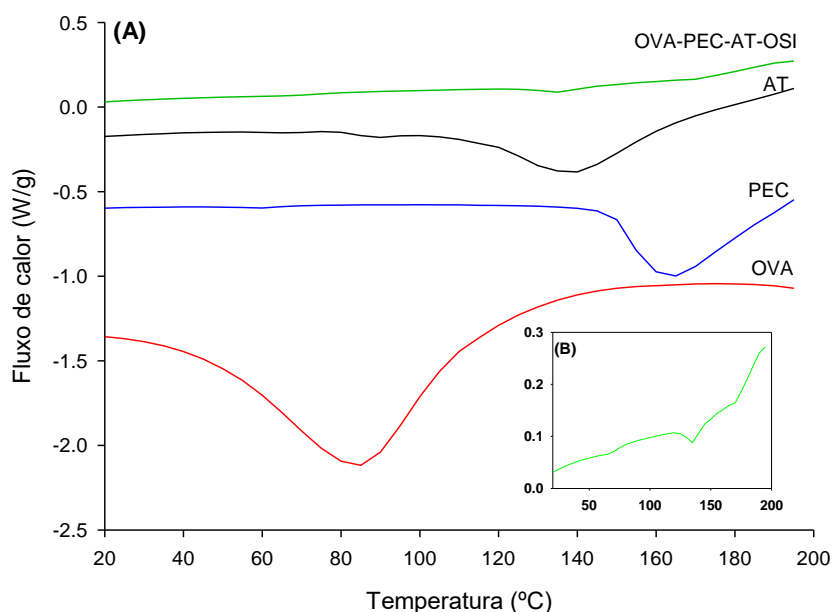
da vibração de estiramento das ligações duplas de C-H, indicando a sua riqueza de grupos acil poli-insaturados (GUILLÉN, M.D., & N. CABO, 1997). As duas bandas resultantes das vibrações de estiramento assimétricas e simétricas de metileno aparecem em 2922 e 2839  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. A banda referente aos valores típicos de ondas de absorção do éster aparece em 1743  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), característico dos óleos com alto grau de insaturação e a banda associada à vibração de estiramento dos grupos éster C-O aparecem em 1166  $\text{cm}^{-1}$  (C-O), confirmando a presença do óleo e formação da microcápsula Figura 7. Valores similares foram encontrados por Guillén et al., (2003) e Vicente et al., (2017).

#### **2.4.3.3. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)**

A Figura 8 (A) apresenta os termogramas da ovalbumina, pectina, ácido tânico isolados e da microcápsula carregadas com o óleo sacha inchi e a Figura 8 (B) a microcápsula do óleo sacha inchi.

Na ovalbumina foi observado um pico a 80,5°C, este representa a temperatura de desnaturação ( $T_d$ ), o mesmo foi reportado por Matsudomi et al., 2001. Na pectina o pico foi observado a 164,73°C, representando sua  $T_d$ , assim como foi reportado por Ionashiro, 2005. O pico endotérmico da pectina em 164,73°C é um evento característico da desidratação (Ionashiro, 2005). Não foram observados picos exotérmicos em nenhuma amostra analisada, correspondentes a reações de degradação, oxidação e formação de estrutura cristalina (Rampino et al., 2016 e Rutz et al., 2016). No termograma do ácido tânico foi observado um pico a 138,84°C.

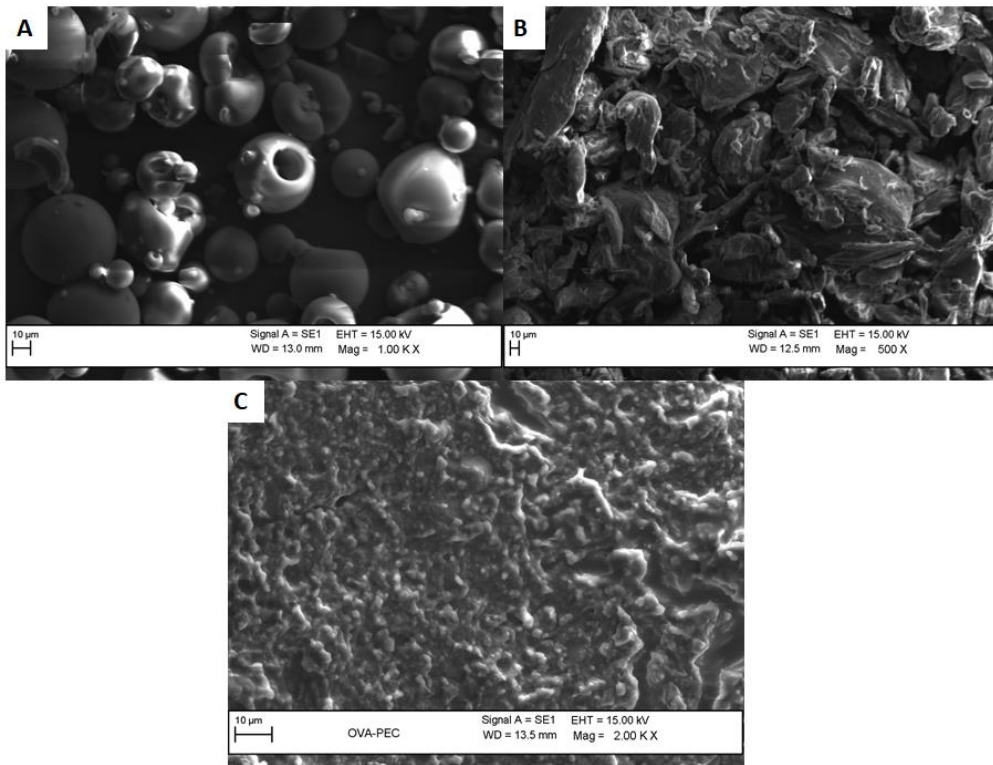
O termograma da microcápsula composta por ovalbumina-pectina-ácido tânico (material de parede) e óleo sacha inchi (núcleo) demonstraram um pico endotérmico em 135,03°C, mais alto do que o pico encontrado na ovalbumina sozinha, sugerindo a proteção do material do núcleo pelo material de parede a uma temperatura relativamente mais alta. Coronel-Aguilera e San Martín-González, 2015 sugere que o encapsulamento adequado protege compostos sensíveis contra a degradação térmica.



**Figura 8.** Termograma gerado pela análise de DSC das amostras de ovalbumina (OVA), pectina (PEC), ácido tânico (AT) e microcápsula (OVA-PEC-AT-OSI) na figura (A) e microcápsula carregada com óleo sacha inchi isoladas na figura (B).

#### 2.4.3.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

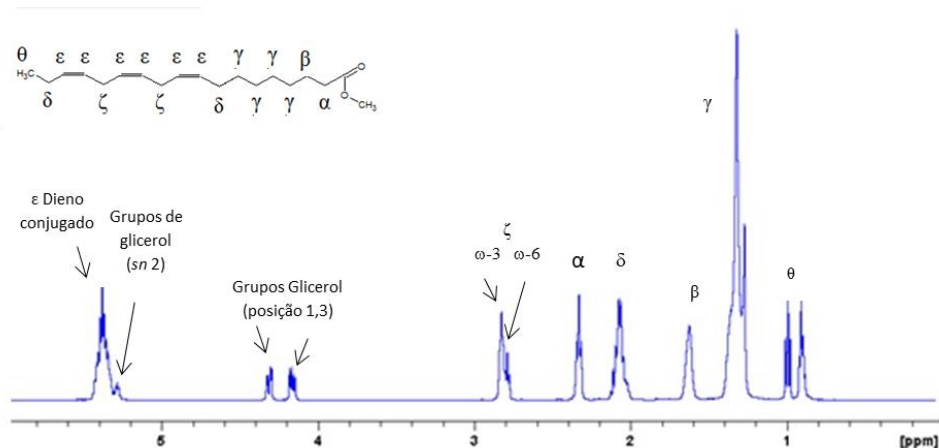
Foram obtidas imagens dos biopolímeros desidratados individuais e da microcápsula composta por Ova-Pec-AT-OSI proporção material de parede/núcleo 4:1 e pH 3,5 Figura 9. São observadas na figura a natureza globular da ovalbumina (A) e grupamentos desiguais, plano e compacto da pectina (B), a microcápsula (C) apresenta uma agregação uniforme e forma aglomerada em função da natureza dos polímeros utilizados (SANTOS et al., 2016).



**Figura 9.** MEV dos biopolímeros (A) OVA, (B) PEC e (C) microcápsula (OVA-PEC-AT-OSI).

#### 2.4.3.5. RMN de $^1\text{H}$ do óleo sacha inchi

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  representado na Figura 10 demonstrou que a microencapsulação não afetou o perfil do óleo encapsulado. No espectro foi possível identificar sinais típicos dos óleos vegetais de acordo com a faixa de deslocamento químico dos prótons, o ( $\theta$ ) correspondente ao terminal do grupo metil, ( $\gamma$ ) correspondente ao próton de metileno, presente em todos os óleos vegetais comestíveis, ( $\beta$  e  $\alpha$ ) posição do carbonilo, ( $\delta$ ) prótons alílicos, ( $\zeta$ ) prótons duplamente alílicos do ômega-3 e ômega-6, os prótons metílicos da unidade de glicerol e ( $\epsilon$ ) dieno conjugadosprótons de dupla ligação, todos esses compostos foram igualmente identificados por Vicente et al., 2017.



**Figura 10.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do óleo sachá inchi extraído da microcápsula de ovalbumina, ácido tânico e pectina.

Na Tabela 2 foram detalhados os compostos insaturados do óleo sachá inchi através da técnica de RMN de  $^1\text{H}$ . Após o processo de microencapsulação o óleo sachá inchi não apresentou produtos derivados de degradação oxidativa. Este resultado baseia-se no estudo realizado por Vicente et al., (2017) que identificou compostos oxidados do óleo sachá inchi, tais como hidroperóxidos e aldeídos, compostos tóxicos responsáveis por afetar as características sensoriais do óleo (MICI et al., 2015).

**Tabela 2.** Porcentagem da intensidade do sinal de compostos presentes no óleo sachá inchi obtidos por RMN de  $^1\text{H}$ , extraído da microcápsula de ovalbumina ácido tânico e pectina.

Grupo funcional	Deslocamento químico (ppm)	% Compostos
$\epsilon$ Dieno conjugado (prótons de dupla ligação)	5,32–5,36	20,2
Grupos de glicerol ( <i>sn2</i> )	5,240	0,7
Grupos de glicerol (posição 1,3)	4,10–4,28	9,1
Hidrogênio duplamente alílico $\omega$ -3	2,74	4,7
Hidrogênio duplamente alílico $\omega$ -6	2,70	2,9
Posição $\alpha$	2,23–2,34	10,9
Prótons alílicos (duplas ligações)	1,97–2,17	14,8
Posição $\beta$	1,580	3,0
Prótons de metileno	1,13–1,31	14,5
$\text{CH}_3$ (grupo acil)	0,81 – 0,93	19,2

Entre os compostos insaturados encontrados no óleo o ( $\epsilon$ ) dieno conjugado (prótons de dupla ligação) foi o que apresentou maior sinal de intensidade no espectro cerca de 20, 2% da altura total (deslocamento químico a  $\delta_H$  5,32-5,36 ppm) e os grupos de glicerol em menor porcentagem com 0,7% ( $\delta_H$  5,240 ppm), o ômega-3 e 6 com 4,7% ( $\delta_H$  2,74 ppm) e 2,9% ( $\delta_H$  2,70 ppm) respectivamente.

## 2.5. CONCLUSÃO

O óleo de Sacha Inchi pode ser encapsulado usando os biopolímeros OVA/PEC/AT como materiais de parede através da técnica de coacervação complexa, com uma alta eficiência de encapsulação de 78,1% e as análises de FTIR e MEV puderam confirmar essa interação. Aovalbumina quando combinada com o ácido tânico apresentou um tamanho maior do que a proteína isolada, confirmando uma interação entre os biopolímeros, sugerindo que o ácido tânico contribuiu para que proteína pudesse desempenhar um novo papel na formação dos complexos, no entanto no processo de encapsulação são necessários maiores estudos, melhorando sua aplicação. O DSC sugeriu que o material de parede protegeu o material encapsulado, uma vez que não houve degradação térmica. De acordo com a análise no RMN coacervação complexa e secagem por liofilização não afetam a composição do óleo de Sacha Inchi, após encapsulação. Esse estudo contribuiu para futuras aplicações dos complexos coacervados de OVA/PEC/AT como material encapsulante de compostos bioativos, com grande potencial na indústria de alimentos.

## 2.6. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- AEWSIRI, T., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., WIERENGA, P. A., & GRUPPEN, H. Antioxidative activity and emulsifying properties of cuttlefish skin gelatin-tannic acid complex as influenced by types of interaction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11 p.712 e 720, 2010.
- Aguilera, J. R., Venegas, V., Oliva, J. M., Sayagués, M. J., de Miguel, M., Sánchez-Alcázar, J. A. e Zaderenko, A. P. Targeted multifunctional tannic acid nanoparticles. *RSC Advances*, 6(9), 7279-7287, 2016.
- ANVARI, M. & CHUNG D. Dynamic rheological and structural characterization of fish gelatin eGum arabic coacervate gels cross-linked by tannic acid. *Food Hydrocolloids* 60, 516-524. 2016.
- BAGHERI, Leila et al. Spray-dried alginate microparticles carrying caffeine-loaded and potentially bioactive nanoparticles. *Food research international*, v. 62, p. 1113-1119, 2014.
- BALANGE, A. K. & BENJAKUL, S. Cross-linking activity of oxidised tannic acid towards mackerel muscle proteins as affected by protein types and setting temperatures. **Food chemistry**, v. 120, n. 1, p. 268-277, 2010.



BARBOSA, L. C. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. – Viçosa: Ed. UFV, 2007.

BAKRY A.M., ABBAS S., ALI B., MAJEED H., ABOUELWABA M.Y., MOUSA A., AND LI LIANG. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 143-182, 2016.

CAO, N., FU, Y., & HE, J. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. **Food Hydrocolloids**, 21, 575 e 584, 2007.

CHANG, Chao et al. Zein/caseinate/pectin complex nanoparticles: Formation and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017.

MICIĆ, Darko M. et al. Kinetics of blackberry and raspberry seed oils oxidation by DSC. *Thermochimica Acta*, v. 601, p. 39-44, 2015.

CHIRINOS R., ZULOETA G., PEDRESCHI R., MIGNOLET E., LARONDELLE Y., CAMPOS D. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidante capacity. **Food Chemistry**, v.141, p.1732-1739, 2013.

COMUNIAN T.A. , BOILLON M.R.G., THOMAZINI M., NOGUEIRA M. S., CASTRO I. A., FAVARO-TRINDADE C. S. Protection of echium oil by microencapsulation with phenolic compounds. **Food Research International**. 2016

COMUNIAN T. A., FAVARO-TRINDADE C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**.61, 442-457, 2016.

CORONEL-AGUILERA, C. P. & SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, M. F. Encapsulation of spray dried  $\beta$ -carotene emulsion by fluidized bed coating technology. **LWT-Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 187-193, 2015.

DE KRUIF, C. G., WEINBRECK, F., & DE VRIES, R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current opinion in colloid & interface science**, 9(5), 340-349, 2004.

DESPHANDE, S.S. CHERYAN, M.SALUNKHE, D.K. Tannin analysis of foods products. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.24. p. 401-449, 1986.

DEVI, N., HAZARIKA, D., DEKA, C., & KAKATI, D. K. Study of complex coacervation of gelatin A and sodium alginate for microencapsulation of olive oil. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 49(11), 936-945, 2012.

DIARRASSOUBA, F. G. R. et al. Self-assembly of  $\beta$ -lactoglobulin and egg white lysozyme as a potential carrier for nutraceuticals. **Food Chemistry**, v. 173, p. 203–209, 2015.

ERICKSON H.P. Size and shape of protein molecules at the nanometer level determined by sedimentation, gel filtration, and electron microscopy. *Biological procedures online*, 2009.

FAREEZ, I. M., LIM, S. M., MISHRA, R. K., & RAMASAMY, K. Chitosan coated alginate–xanthan gum bead enhanced pH and thermotolerance of *Lactobacillus plantarum* LAB12. **International journal of biological macromolecules**, 72, 1419-1428.2015.

FOLLEGATTI-ROMERO, L. A., PIANTINO, C. R., GRIMALDI, R., & CABRAL, F. A. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. *Journal of Supercritical Fluids*, 49(3), 323–329, 2009.

GAONKAR, A. G., VASISHT, N., KHARE, A. R., & SOBEL, R. (Eds.). *Microencapsulation in the food industry: a practical implementation guide*. Elsevier. 2014.

GARG, M. L., WOOD, L. G., SINGH, H., & MOUGHAN, P. J. Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets. **Journal of Food Science**, 71(5), R66–R71, 2006.

GUILLÉN, M.D. & N. CABO. Characterization of edible oils and lard by Fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands in the fingerprint region. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, n. 10, p. 1281-1286, 1997.

GUILLÉN, M. D., RUIZ, A., CABO, N., CHIRINOS, R., & PASCUAL, G. Characterization of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR spectroscopy and <sup>1</sup>H NMR. Comparison with linseed oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 80(8), 755–762, 2003

IONASHIRO, M. *Giolito: Fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*. São Paulo: Editora Giz Editorial, 2005.

JOHN, J. A., & SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, 2, 196-209, 2010.

KARACA, A. C., NICKERSON, M. & LOW, N. H. Microcapsule production employing chickpea or lentil protein isolates and maltodextrin: Physicochemical properties and oxidative protection of encapsulated flaxseed oil. *Food Chemistry*, 139, 448–457, 2013.

KAUSHIK, P., DOWLING, K., MCKNIGHT, S., BARROW, C. J., & ADHIKARI, B. Microencapsulation of flaxseed oil in flaxseed protein and flaxseed gum complex coacervates. **Food research international**, 86, 1-8, 2016.

KAUSHIK, P., DOWLING, K., BARROW, C. J., & ADHIKARI, B. Complex coacervation between flaxseed protein isolate and flaxseed gum. **Food Research International**, 72, 91-97, 2015.

KROLL, J., RAWEL, H. M., & ROHN, S. Reactions of plant phenolics with food proteins and enzymes under special consideration of covalent bonds. **Food Science and Technology Research**, v. 9, p. 205 e 218, 2003.

LIU Y., YING D., CAI Y., LE X. Improved antioxidant activity and physicochemical properties of curcumin by adding ovalbumin and its structural characterization. *Food Hydrocolloids* 72, 304 e 311, 2017.

LIU, S., CAO, Y.L., GHOSH, S., ROUSSEAU, D., LOW, N.H., & NICKERSON, M.T. Intermolecular interactions during complex coacervation of pea protein isolate and gum Arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58(1), 552–556, 2009.

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

LIU, S., LOW, N.H., & NICKERSON, M.T. Effect of pH, salt, and biopolymer ratio on the formation of pea protein isolate – gum Arabic complexes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57(4), 1521–1526, 2009B.

McCLEMENTS, D. J. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press, 2015.

McCLEMENTS, D. J. *Nanoparticle- and microparticle-based delivery systems: Encapsulation, protection and release of active compounds*. CRC Press, 2014.

MARFIL, P. H., VASCONCELOS, F. H., PONTIERI, M. H., & TELIS, V. Development and validation of analytical method for palm oil determination in microcapsules produced by complex coacervation. **Química Nova**, 39(1), 94-99, 2016.

MATSUDOMI, N; TAKAHASHI, H & MIYATA, T. Some structural properties of ovalbumin heated at 80 C in the dry state. **Food Research International**, v. 34, n. 2, p. 229-235, 2001.

MILLER, L. M.; BOURASSA, M. W.; SMITH, R. J. FTIR spectroscopic imaging of protein aggregation in living cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1828, n. 10, p. 2339-2346, 2013

NEDOVIC V., KALUSEVIC A., MANOJLOVIC V., LEVIC S., BUGARSKI B. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Food Science**.p.1806-1815, 2011.

NIU, L., LI, J., CHEN, M. S., & XU, Z. F. Determination of oil contents in Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) seeds at different developmental stages by two methods: soxhlet extraction and time-domain nuclear magnetic resonance. **Industrial Crops and Products**, 56,p. 187-190, 2014.

POOLE, C. D., HALCOX, J. P., JENKINS-JONES, S., CARR, E. S.M., SCHIFFLERS, M. G., RAY, K. K., & CURRIE, C. J. Omega-3 fatty acids and mortality outcome in patients with and without type 2 diabetes after myocardial infarction: A retrospective, matched-cohort study. **Clinical Therapeutics**, 35(1), 40–51, 2013.

RAWDKUEN S., MURDAYANTI D., SUNANTHA K., PHONGTHAI S. Chemical properties and nutritional factors of pressed-cake from tea and Sacha Inchi seeds. **Food Bioscience**. V. 15, p. 64-71, 2016.

RAMPINO, A., BORGOGNA, M., BELLICH, B., BLASI, P., VIRGILIO, F., & CESÀRO, A. Chitosan-pectin hybrid nanoparticles prepared by coating and blending techniques. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 84, p. 37-45, 2016.

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

RUTZ, J. K., BORGES, C. D., ZAMBIAZI, R. C., CRIZEL-CARDOZO, M. M., KUCK, L. S., & NOREÑA, C. P. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. **Food chemistry**, 220, 59-66, 2017.

RUTZ, J. K., ZAMBIAZI, R. C., BORGES, C. D., KRUMREICH, F. D., DA LUZ, S. R., HARTWIG, N., & DA ROSA, C. G. Microencapsulation of purple Brazilian cherry juice in xanthan, tara gums and xanthan-tara hydrogel matrixes. **Carbohydrate polymers**, 98(2), 1256-1265, 2013.

SANGUANSRI, L., & AUGUSTIN, M. A. Microencapsulation in functional food product development. In J. Smith, & E. Charter (Eds.), **Functional food product development** (pp. 1e23). USA: John Wiley & Sons. (2011).

SANTOS, A. F., MACEDO, L. J., CHAVES, M. H., ESPINOZA-CASTAÑEDA, M., MERKOÇI, A., LIMA, F. D. C. A., & CANTANHÊDE, W. Hybrid Self-Assembled Materials Constituted by Ferromagnetic Nanoparticles and Tannic Acid: a Theoretical and Experimental Investigation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 27(4), 727-734, 2016.

SANTOS M. B., COSTA A. R., GARCIA-ROJAS E. E. Heteroprotein complex coacervates of ovalbumin and lysozyme: Formation and thermodynamic characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2017.

SOUZA, C. J. F., & GARCIA-ROJAS, E. E. Effect of salt and protein concentration on the association and dissociation of ovalbumin-pectin complexes. **Food Hydrocolloids**, 47, 124-129, 2015.

SPONTON O.E., PEREZ A.A., CARRARA C.R., SANTIAGO L.G., Linoleic acid binding properties of ovalbumin nanoparticles, **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**.<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.01.037>.2015.

TANEJA, A., & SINGH, H. Challenges for the delivery of long-chain n-3 fatty acids in functional foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, 3, p.105-123, 2012.

THIES, C. Microencapsulation of Flavors by Complex Coacervation. In: (Ed.). **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**: Blackwell Publishing, p.149-170, 2007.

TIMILSENA, Y. P., ADHIKARI, R., BARROW, C. J., & ADHIKARI, B. Digestion behaviour of chia seed oil encapsulated in chia seed protein-gum complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, 66, 71-81, 2017.

TRABELSI S., ASCHI A., OTHMAN T., GHARBI A. Complex formation between ovalbumin and strong polyanion PSSNa: Study of structure and properties. **Materials Science and Engineering C** 42, 295–302, 2014.

TURGEON, S. L., BEAULIEU, M., SCHMITT, C., & SANCHEZ, C. Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 8, p. 401-414, 2003.

VICENTE J.CAPPATO L. P., CALADO V. M. A., CARVALHO M G., GARCIA-ROJAS E. E. Thermal and oxidative stability of Sacha Inchi oil and capsules formed with biopolymers analyzed by DSC and <sup>1</sup>H NMR. **J Therm Anal Calorim**. 2017.

VICENTE, J., CARVALHO, M. G., & GARCIA-ROJAS, E. E. Fatty acids profile of Sacha Inchi oil and blends by <sup>1</sup>H NMR and GC–FID. **Food Chemistry**, 181, 215-221, 2015.

VICENTE, J., DE SOUZA CEZARINO, T., PEREIRA, L. J. B., DA ROCHA, E. P., SÁ, G. R., GAMALLO, O. D., & GARCIA-ROJAS, E. E. Microencapsulation of sachal inchi oil using emulsion-based delivery systems. **Food Research International**, 99, 612-622, 2017.

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**, Springer: Dordrecht, The Netherlands. p. 31-100. 2009.

XIONG W., REN C., TIAN M, YANG X., LI J., LI B. Complex coacervation of ovalbumin-carboxymethylcellulose assessed by isothermal titration calorimeter and rheology : Effect of ionic strength and charge density of polysaccharide. **Food Hydrocolloids**. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.06.031. 2017.

YANG, Ziming et al. Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. **Food chemistry**, v. 145, p. 272-277, 2014.

**CAPITULO III - Microencapsulação do óleo sacha usando complexo  
coacervado de ovalbumina-alginato: Formação, caracterização  
estrutural e digestibilidade *in vitro*.**

## RESUMO

O óleo sacha inchi possui uma porcentagem elevada de ácidos graxos insaturados essenciais, associados a diversos benefícios a saúde. No entanto é suscetível a oxidação o que pode resultar na perda dos compostos bioativos presente no óleo. O objetivo deste trabalho foi estudar a interação eletrostática do complexo ovalbumina-alginato de sódio, encapsular o óleo de sacha inchi através da técnica de coacervação complexa e avaliar o perfil de liberação do ômega durante a simulação gástrica em microcápsulas reticuladas com  $\text{CaCl}_2$ . Foram avaliados a influência do pH (2,0 a 7,0) e as proporções de ovalbumina-alginato (1:1, 1:2, 1:4, 2:1 e 4:1), na concentração fixa de biopolímeros totais (0,1% m/m), e a melhor razão núcleo/parede (1:1, 1:2 e 2:1) e as concentrações dos polímeros totais (1%, 2% e 3%). A simulação gástrica durou 120 min e o conteúdo de ômega-3 foi analisado através da ressonância magnética nuclear. Foi determinada a eficiência de encapsulação e as microcápsulas foram caracterizadas estruturalmente e termicamente. A interação entre ovalbumina e alginato de sódio foi confirmada em pH 3,8 e melhor razão entre os biopolímeros foi 4:1. A melhor eficiência de encapsulação foi de 94,1% e a melhor proporção de núcleo/parede e a concentração de polímeros totais foi de 1:1 e 3% respectivamente. As microcápsulas demonstraram resistência quando submetidas a altas temperaturas 189,86 °C e o conteúdo de ômega-3 apresentou-se estável durante toda simulação gástrica, com liberação de apenas 14,6% do ômega-3 no estômago. Esses resultados forneceram informações relevantes sobre a utilização de novos biopolímeros como agentes encapsulantes pela técnica de coacervação complexa.

**Palavras chave:** lipídeos bioativos, ômega-3, biopolímeros, eficiência de encapsulação e simulação gástrica.

### 3.1. INTRODUÇÃO

Uma grande variedade de ingredientes ativos são empregados pela indústria de alimentos, entre eles os flavorizantes, corantes, minerais, nutracêuticos, vitaminas, antimicrobianos, antioxidantes e conservantes (CHEN et al., 2006, UBBINK E KRUGER 2006). Estão incluídos na categoria de ingredientes bioativos os compostos lipofílicos como ômega-3 que apresentam propriedades nutraceuticas (McCLEMENTS et al., 2015) e estão associados a diversos benefícios para a saúde como, prevenção de doenças coronárias, diabetes, hipertensão, entre outras (POOLE et al., 2013; LAVIE et al., 2009). O óleo sacha inchi se inclui na categoria dos compostos bioativos pois apresenta em sua estrutura os ácidos graxos insaturados essenciais, principalmente o ácido linolênico ( $\omega$ -3), associado a benefícios para saúde (CHIRINOS et al., 2013; NIU, LI, CHEN & XU, 2014).

A microencapsulação se tornou uma alternativa para diminuir as limitações como fatores extrínsecos que comprometem a estabilidade desses compostos. Entre as técnicas de encapsulação está a técnica de coacervação complexa que acontece por meio de interações eletrostáticas em que os polímeros apresentam íons de cargas opostas, frequentemente utilizada devido à simplicidade do processo e baixo custo (THIES, 2007; TANEJA & SINGH, 2012). Na microencapsulação a associação da proteína e polissacarídeo é diversamente empregada como matérias de parede e tem-se obtido ótimos resultados na eficiência de encapsulação, neste estudo os biopolímeros empregados foram a ovalbumina e o alginato. A ovalbumina é uma fosfoglicoproteína e apresenta predominância na fração protéica da clara de ovo, sendo esta a responsável pelas propriedades funcionais como capacidade emulsificante e espumante (SGARBIERI, 1996) recentes estudos empregaram a ovalbumina na formação de complexos coacervados (SOUZA e ROJAS, 2015; SANTOS M. B., COSTA A. R., GARCIA-ROJAS E. E., 2017) e como matérias de parede na produção de nano partículas (SPONTON, et al., 2015; SPONTON et al., 2017). Na tecnologia de alimentos tem sido muito empregada, pois apresenta propriedades emulsificantes e estabilizadoras de espuma (SIM e NAKAI, 1994).

O alginato é um polissacarídeo aniônico composto por  $\alpha$ -L-gulurônico (G) e ácido  $\beta$ -D-manurônico (M), é hidrofílico obtido de plantas marinhas amplamente empregadas na indústria farmacêutica e alimentícia, apresenta propriedades gelificantes e biocompatibilidade (MÖBUS, SIEPMANN, e BODMEIER, 2012; PAMIES et al, 2010; MATALANIS et al., 2011). Recentemente estudos utilizaram o alginato de sódio

na formação do complexo coacervado (RAZZAK, M. A., KIM, M., e CHUNG, D., 2016), como material de parede para microencapsular óleo essencial (WANG et al., 2016) e como revestimento de lipossomas com base na interação eletrostática entre polissacarídeos carregados em um determinado pH (LIU et al., 2016). Além disso, micropartículas a base de alginato sódio apresentam capacidade transportadora de compostos bioativos e na presença de  $\text{CaCl}_2$  as micropartículas apresentaram uma estrutura ainda mais fortalecida e resistente a condições gástricas (BAGHERI et al., 2014).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influenciados polissacarídeos na formação do complexo coacervado entre ovalbumina e alginato de sódio, microencapsular o óleo sacha inchi por coacervação complexa empregando os biopolímeros ovalbumina e alginato de sódio como matérias de parede. Além de caracterizar estruturalmente e termicamente as cápsulas obtidas e analisar o perfil de liberação do ômega-3 em condições gástricas.

## **3.2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.2.1. Materiais**

Óleo Sacha Inchi (OSI) (*Plukenetia volubilis L.*) foi comprado no mercado local em Lima, Perú. Ovalbumina (OVA; pureza 66 a 88%), alginato de sódio (15-25 cP 1% em  $\text{H}_2\text{O}$ ) e cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich<sup>®</sup> (St. Louis – USA). A pepsina (1:1000 atividade proteolítica) foi obtida da empresa Proquimios (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Foi utilizado clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ , 99%) como solvente para análise de RMN. O HCl e os reagentes utilizados foram de grau P.A obtidos da VETEC<sup>®</sup> Ltda (Rio de Janeiro, Brasil). Para realização dos experimentos e preparo das soluções foi utilizada água ultrapura com condutividade de 0,05  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Gehaka, Master-P&D, Brasil).

## **3.3. METODOLOGIA**

### **3.3.1 Formação dos complexos coacervados entre Ovalbumina/Alginato**

#### **3.3.1.1 Preparo das amostras**

As concentrações de OVA e AL foram fixadas em 0,1% m/m, ambas soluções foram agitadas com auxílio de um agitador magnético (Novatecnica, modelo NT101,



Brasil) por 30 minutos e 24 horas respectivamente. Foram estudadas cinco razões da solução OVA/AL (1:1; 1:2; 1:4; 2:1 e 4:1), a fim de avaliar a influência das razões na formação dos complexos através da turbidez e do pHe posteriormente medir o potencial zeta (Adaptada de SOUZA e ROJAS et. al., 2015 e DIARRASSOUBA et al., 2015).

### **3.3.1.2. Titulação Turbidimétrica**

A solução contendo a definida razão de OVA:AL, terá seu pH ajustado de (2 a 7) com HCl e NaOH, com auxílio de um agitador magnético (NT101, Novatecnica, Brasil). O pH das soluções foi monitorado com o auxílio de um pHmetro de bancada (mPA-210, Tecnopon, Brasil). E uma alíquota de 2 mL foi retirada para aferição do valor de turbidez em uma cubeta de quartzo, com um auxílio de espectrofotômetro (Libra S12, Biochrom, Inglaterra) em um comprimento de onda de 400 nm, calibrado com água ultrapura para 100% de transmitância (T) e a turbidez ( $\tau$ ) definida como  $\tau=100\%T$ . Todas as titulações foram realizadas a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) com três replicatas, sendo o intervalo entre as aferições de aproximadamente 1 minuto (Adaptado de SOUZA e ROJAS, 2015).

### **3.3.1.3. Potencial $\zeta$**

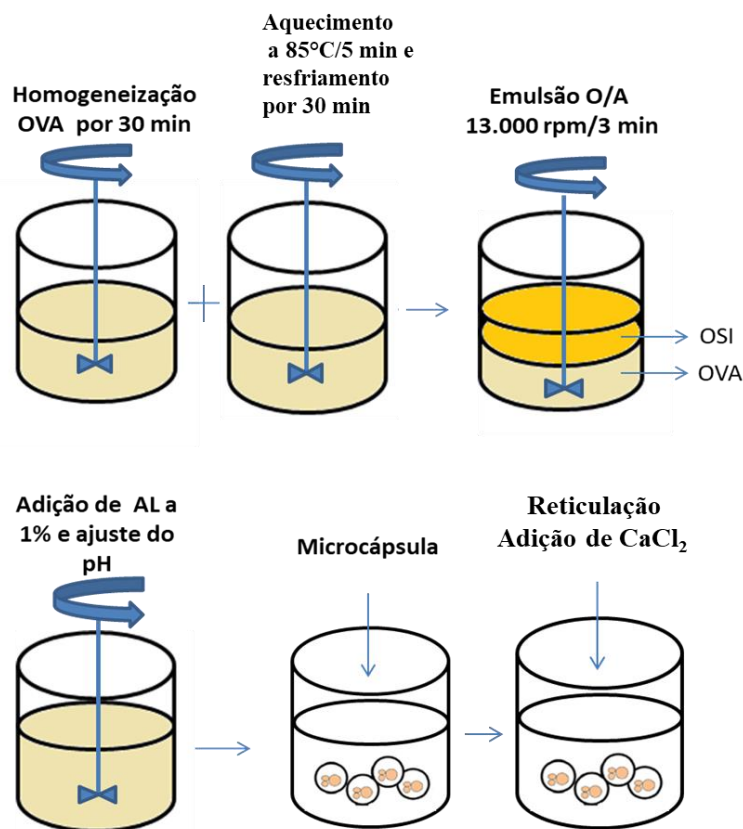
Através do equipamento Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, UK), foram analisados o potencial  $\zeta$  da ovalbumina, alginato e das razões estudadas. As amostras (10 mL) a 0,1% (m/m) foram colocadas no titulador (Malvern Instruments, MPT-2, Reino Unido). O pH das soluções foi ajustado com o auxílio de 0,5 mol/L de HCl, 0,25 mol/L de NaOH e 0,025 mol/L de NaOH e as análises foram conduzidas em função do pH (2,0-7,0), no intervalo de  $0,5 \pm 0,1$ . O Potencial-  $\zeta$  foi calculado com base no modelo matemático de Smoluschwsky com uma precisão de  $\pm 2$  mV e cada amostra foi lida em triplicata a 25 °C (SANTOS et al., 2017).

## **3.3.2. Microencapsulação do óleo sacha inchi**

### **3.3.2.1 Preparo das microcápsulas**

A metodologia utilizada para a obtenção das micropartículas por coacervação complexa está esquematizada na Figura 1. Foram avaliadas três concentrações de biopolímeros totais OVA e AL a 1%, 2% e 3% (m/m) as soluções de OVA nas respectivas concentrações foram agitadas por 30 min com ajuda de um agitador magnético (Novatecnica, modelo NT101, Brasil), em seguida foi tratada em banho de

água aquecida a 85°C por 5 min e posteriormente resfriada em banho de gelo por 30 min. A quantidade de OSI variou de 0,25 g a 3,0 g e foi emulsionado junto com a solução de OVA a 13.000 rpm/3min no ultra-turrax (IKA, T25D Ultra-Turrax, Germany), em seguida a solução foi homogeneizada com solução de AL. As razões entre o material de parede/núcleo analisadas foram 2:1, 1:1 e 1:2 e a proporção entre os polímeros (OVA/AL) foi fixada em 4:1. Para promover a coacervação complexa, o pH da emulsão foi ajustado com o uso do ácido acético (25%) para 3,8 com auxílio de um pHmetro de bancada (mPA-210, Tecnopon, Brasil.). O sistema foi imerso em um banho de gelo por 1 hora para que ocorresse um resfriamento lento e resfriado a 10°C por 24 horas para completa precipitação das microcápsulas formadas.



**Figura 1.** Esquema do processo de microencapsulação do OSI obtidas por coacervação complexa através dos biopolímeros OVA e AL (Adaptado de Comunian e Favaro-Trindade, 2016).

Após as 24 horas, as amostras foram centrifugadas a 7.000g por 15 min, o sobrenadante foi retirado e adicionado 25 mL de CaCl<sub>2</sub> de uma solução com (30 mg/mL) e agitado (70 rpm) no shaker (Tecnal, modelo TE-424, Brasil) a 25 ° C durante 15 min, em seguida centrifugado (Digicen 21R, Reo Term, Espanha) a 1000g por 5 min e o

sobrenadante novamente removido, as amostras com os precipitados foram congeladas no ultra-freezer (Terroni, COLD 120, Brasil) a - 40 °C por 24 horas. A secagem foi realizada por liofilização (Terroni, Enterprise I, Brasil) durante 24 horas (Adaptado de MARFIL et al., 2016 e SPONTON et al., 2016; MOEBUS, K., SIEPMANN, J., e BODMEIER, R., 2012). Posteriormente, as amostras foram armazenadas em dessecador para realização das demais análises.

### **3.3.3. Caracterização do óleo sacha Inchi encapsulado e da microcápsula OVA/AL**

#### **3.3.3.1 Eficiência de encapsulação do óleo sacha inchi.**

A eficiência de encapsulação (EE%) foi medida em relação ao conteúdo de óleo de sacha inchi contido na microcápsula formada de acordo com Karaca, Nickerson e Low (2013) e Vicente et al., (2017), na qual foram pesadas 300 mg de microcápsula em um tubo falcon (15mL) e adicionadas 2 mL de água ultrapura, 2 mL de Hexano e 5 mL de isopropanol. As microcápsulas foram homogeneizadas na solução com auxílio de vortex e centrifugadas a 8.000 g por 15 min, em seguida foi removido a fase que contem o óleo (esse processo é repetido por mais duas vezes com a adição de 2 mL de hexano em cada repetição, assegurando completa extração do óleo) e posteriormente colocada na placa de petri para secagem e evaporação do hexano. A massa foi medida gravimetricamente e o valor de óleo teórico (OT%) foi dado pela equação (1).

$$OT(\%) = \frac{M_{oil}}{M_c} \times 100 \quad (1)$$

onde  $M_{oil}$  é a massa de óleo após centrifugação e  $M_c$  é a massa da cápsula utilizada nesta análise.

A eficiência da encapsulação (EE%) é a porcentagem de teor de óleo carregado dividido pela porcentagem de teor de óleo teórico, dada pela equação (2).

$$EE(\%) = \frac{\% \text{ óleo carregado}}{\% \text{ óleo teórico}} \times 100 \quad (2)$$

#### **3.3.3.2. Rendimento do ômega 3 após encapsulação**

O rendimento foi determinado pela diferença na porcentagem inicial de ômega-3 (% inicial  $\omega$ -3) presente no óleo sacha inchi conforme obtido comercialmente e a porcentagem (% final de ômega-3) contida no óleo sacha inchi após o processamento de

encapsulação, foi calculada pela Eq.(3). Para se obter estes valores encontrados, as amostras foram analisadas através do RMN de  $^1\text{H}$  (Adaptado de VICENTE et al., 2015).

$$EE(\%) = \frac{\% \text{ Inicial de } \omega-3 - \% \text{ Final de } \omega-3}{\% \text{ Inicial de } \omega-3} \times 100 \quad (3)$$

### 3.3.3.3. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do OSI extraído e microencapsulado.

Os espectros de RMN foram registrados num espectrômetro Bruker Advance III (Billerica, MA, EUA) que opera a 500 MHz para  $^1\text{H}$ . Os parâmetros de aquisição de experiências de RMN 1D empregadas foram: TD (dados do domínio do tempo) = 65536, AQ (tempo de aquisição) = 3,17 s, NS (número de varreduras) = 16, SW (largura espectral) = 7500 Hz, D1 (atraso de relaxamento entre varreduras/transientes sucessivos) = 1,0 s, LB (ampliação exponencial da linha antes da transformação de Fourier) = 0,3 Hz. Foram analisadas por RMN de  $^1\text{H}$  os conteúdos de ômega-3 assim como os possíveis compostos formados após a simulação gástrica do OSI e da microcápsula OVA-AL individualmente. As amostras foram solubilizadas em  $\text{CDCl}_3$  com tetrametilsilano como referência. A mistura foi introduzida em um tubo com um diâmetro de 5 mm e os experimentos foram realizados a 25°C. (Adaptado de VICENTE et al., 2015). Os espectros foram processados usando o Programa Bruker TopSpin-NMR (versão 3.5).

### 3.3.3.4. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros de infravermelho foram obtidos das amostras de ovalbumina, alginato, óleo sacha inchi e microcápsulas liofilizadas. As análises foram realizadas em temperatura ambiente no espectrômetro Bruker FTIR (vértice 70, Alemanha) usando KBr (brometo de potássio) e lido na faixa de 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  (Adaptado de SANTOS et al., 2017).

### 3.3.3.5. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi realizada utilizando um calorímetro diferencial de varredura Q200 (TA Instruments, New Castle, EUA). Padrão de índio (In) foi utilizado para calibrar energia e temperatura do equipamento e nitrogênio foi utilizado como gás de arraste. As amostras liofilizadas (~5 mg), nas quais foram determinadas o teor de umidade, foram pesadas em cadinhos de alumínio do tipo hermético com o auxílio de uma balança de precisão Mx5, (Mettler Toledo, Columbus, EUA). As amostras foram analisadas durante um intervalo de temperatura de 20 a 200 °

C na taxa de 5 °C/min e um cadinho vazio e selado foi utilizado conforme realizado por Fareez, et al., (2015). A determinação da temperatura de transição no pico máximo, bem como a variação de entalpia foram analisados pelo *software* Universal V 4.5 A<sup>®</sup> (TA Instruments, New Castle, EUA). A temperatura de desnaturação (T<sub>d</sub>) será definida como o valor máximo do pico.

### **3.3.3.6. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

As microcápsulas liofilizadas foram colocadas sobre uma fita dupla face de carbono e depois revestidas com uma fina camada de ouro. Características morfológicas das microcápsulas foram então observadas (Zeiss, EVO MA10, Inglaterra) e operado em modo de elétrons secundários com a voltagem 15 kV (BAGHERI et al., 2014).

### **3.3.4. Liberação gástrica *in vitro* do Ômega -3**

#### **3.3.4.1 Preparo do suco gástrico**

O Suco gástrico (SG) foi equivalentemente preparado adicionando na mistura NaCl(1g) e HCl (4mL a 32%) dissolvidos em um balão volumétrico de 400 ml com água ultrapura. Então, foi adicionada na mistura a pepsina (1,6g) e agitado até sua total dissolução. Com a adição de HCl 1,0 M ou NaOH 1,0 M o pH foi ajustado para 2,0 e o volume final foi corrigido para 500 mL (TIMILSENA et al., 2017).

#### **3.3.4.2. Simulação gástrica *in vitro* da microcápsula de OVA/AL/OSI**

Para análise experimental o sistema foi composto por um balão volumétrico com cinco bocas de 500 mL em um banho de água aquecido, o pH monitorado de  $2,0 \pm 1$  (pHmetro mPA-210, Tecnopon, Brasil), um termômetro controlando a temperatura a 37° e a solução em agitação (Novatecnica, modelo NT101, Brasil) constante a 300 rpm, o balão foi mantido dentro do banho de água por todo o processo. Foi adicionado no balão 200 mL de suco gástrico simulado e aproximadamente 500 mg de OSI (~ 250 mg de ômega-3) e quantidades proporcional de microcápsulas (500 mg). A simulação ocorreu por 2 horas, sendo retirada uma alíquota de 10 mL do suco gástrico às 15, 30, 60, 90 e 120 min e a cada retirada foi adicionado mais 10 mL do suco gástrico para continuar o processo digestivo. Realizou-se a extração da fase oleosa com hexano e seca sob N<sub>2</sub> e posteriormente analisado no RMN <sup>1</sup>H como descrito na metodologia citada no item 3.3.3.3 (Adaptado de AUGUSTIN et al., 2014; TIMILSENA et al., 2017).

### 3.3.5. Análise estatístico

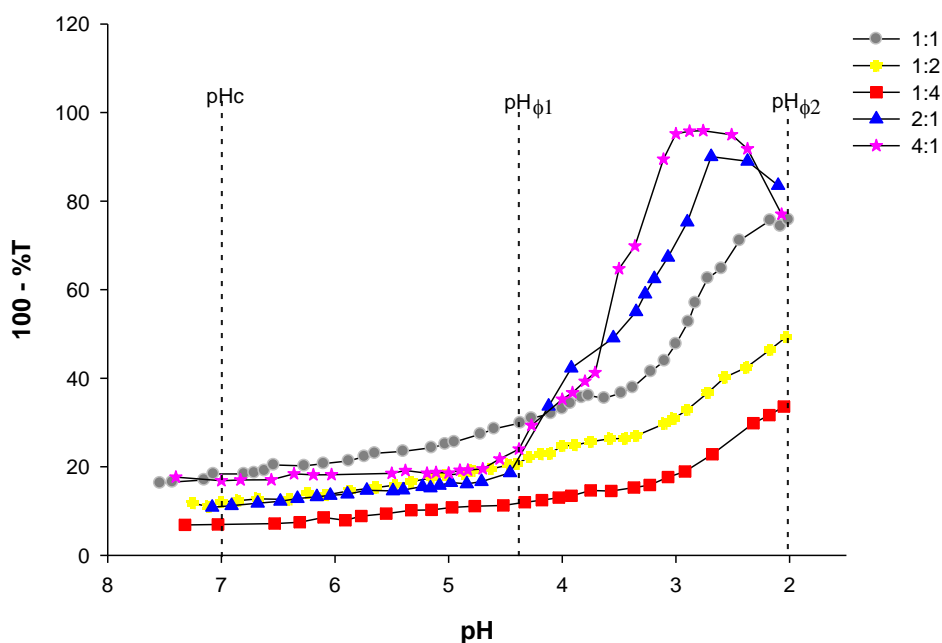
Análise de dados foi feita pelo teste de Tukey e por análise de variância (ANOVA) com  $p < 0,05$  % de significância, através do programa estatístico SAS® versão 8.0. Todos os dados serão realizados com três repetições.

## 3.4. RESULTADOS

### 3.4.1. Efeito do pH e razão do complexo OVA:AL

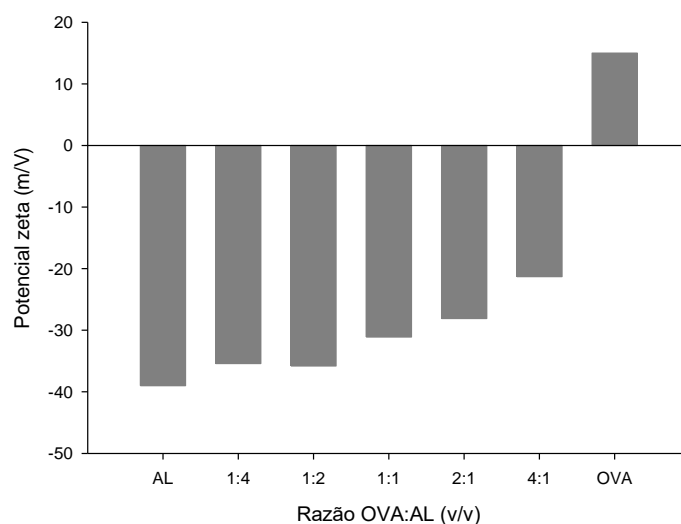
O efeito do pH (2,0-7,0) na variação da turbidez das soluções contendo a mistura entre OVA:AL em diferentes razões (1:1; 1:2; 1:4; 2:1 e 4:1) foram apresentados na Figura 2. A formação do complexo foi investigada através das razões de OVA e AL a uma concentração fixa de biopolímeros total (0,1%,m/m) por análise turbidimétrica durante a titulação ácida. Conforme observado na Figura 2 a titulação iniciou-se em pH próximo de 7 ( $pH_c$ ) na qual foi observado uma baixa turbidez em todas as razões estudadas, devido a presença de complexos solúveis. No segundo ponto ( $pH_{\phi 1}$ ) observou-se um ligeiro aumento da turbidez nas razões 2:1 e 4:1, na qual se intensificou na faixa do pH 4 a 2 onde ocorre maior interação entre os biopolímeros devido à formação de complexos insolúveis, principalmente na razão 4:1. O terceiro ponto observado foi ( $pH_{\phi 2}$ ) em que às razões 1:1, 1:2 e 1:4 apresentaram maior turbidez no pH 2, sendo a razão 1:4 a que apresentou menor turbidez quando comparada as demais razões. Não foi possível observar uma completa dissolução dos complexos a pH 2 no presente estudo devido a estabilidade do alginato de sódio em pHs ácidos impedindo de alcançar a linha de base, como sugerido por Klemmer et., (2012).

Na Figura 2, observou-se que houve maior turbidez no pH (2,5 a 3,0), no entanto o alginato de sódio apresenta  $pK_a$  em pH na faixa de (3,4 - 3,7), indicando que a turbidez observada no pH abaixo do  $pK_a$  do alginato pode ser atribuída a protonação e possível agregação dos grupos carboxílicos ( $-\text{CO}_2^- \rightarrow -\text{CO}_2\text{H}$ ) como justificado por Bokkim et al., (2015). Para evitar a auto agregação dos grupos carboxílicos o pH escolhido para formação do complexo foi 3,8 acima do  $pK_a$  do alginato, estando de acordo com outros estudos como o observado por Devi et al., (2012) que microencapsularam óleo de oliva por coacervação complexa utilizando gelatina/alginato de sódio como material de parede fixando um pH de 3,75.



**Figura 2.** Turbidez (100 - %T) em função do pH do sistema contendo OVA:AL em diferentes razões e as variações do  $pH_c$ ,  $pH_{\phi 1}$  e  $pH_{\phi 2}$ .

Na Figura 3 foi possível observar a variação do potencial zeta nas razões (1:1; 1:2; 1:4; 2:1 e 4:1) em pH fixo de 3,8, na qual a razão 4:1 demonstrou-se mais próximo de zero com (-21 mV) quando comparada as outras razões que apresentaram potencial zeta na faixa de -37,9 a -27,2 mV. O potencial zeta do complexo OVA e AL mantiveram-se com cargas negativas em todas as razões estudadas, este resultado sugere que a carga líquida na mistura do sistema, é fortemente determinada pelo polissacarídeo. Sponton et al., (2017) encontrou resultados equivalentes estudando a interação dos complexos Ovalbumina/goma arábica e Ovalbumina/pectina.



**Figura 3.** Potencial zeta em função das diferentes proporções de Ova:AL (1:4, 1:2, 1:1, 2:1 e 4:1) no pH 3,8.

### 3.4.2. Caracterização da microcápsula do óleo sacha inchi

#### 3.4.2.1. Eficiência de encapsulação do óleo sacha inchi.

Foram realizados nove tratamentos durante a elaboração das microcápsulas por coacervação complexa, as diferentes concentrações 1%, 2% e 3% (m/m) e razões 2:1, 1:1 e 1:2 foram testadas para escolha de um sistema com maior eficiência de encapsulação (EE%) o teor de óleo encapsulado (%), teor de óleo teórico (%) e eficiência de encapsulação (%) foram apresentados na Tabela 1.

Pode-se observar na Tabela 1 que os tratamentos E1, E2, E4, E7 e E8 apresentaram maior eficiência de encapsulação (EE%). No entanto, os tratamentos E1, E2, E4 e E7 não se diferiram significativamente ( $p < 5\%$ ), o que indica que nesses tratamentos as diferentes concentrações de polímeros totais e proporções de núcleo e material de parede não interferiram no rendimento do óleo encapsulado. A maior quantidade de óleo foi encapsulada na relação núcleo/parede de 2:1 com 99,5% (E1), no entanto essa elevada eficiência pode estar relacionada à menor quantidade de material de parede em relação ao óleo, não sendo o suficiente para cobrir completamente o material do núcleo obtendo um valor subestimado de eficiência, resultados similares foram encontrados por Timilsena et al., (2016). Na razão 1:1 comparada aos demais tratamentos obteve-se uma eficiência de encapsulação de 94,1% (E8) e apresentou uma diferença significativa dos tratamentos citados anteriormente, indicando que para ideal encapsulação é necessária a mesma proporção de núcleo/parede. O oposto foi observado



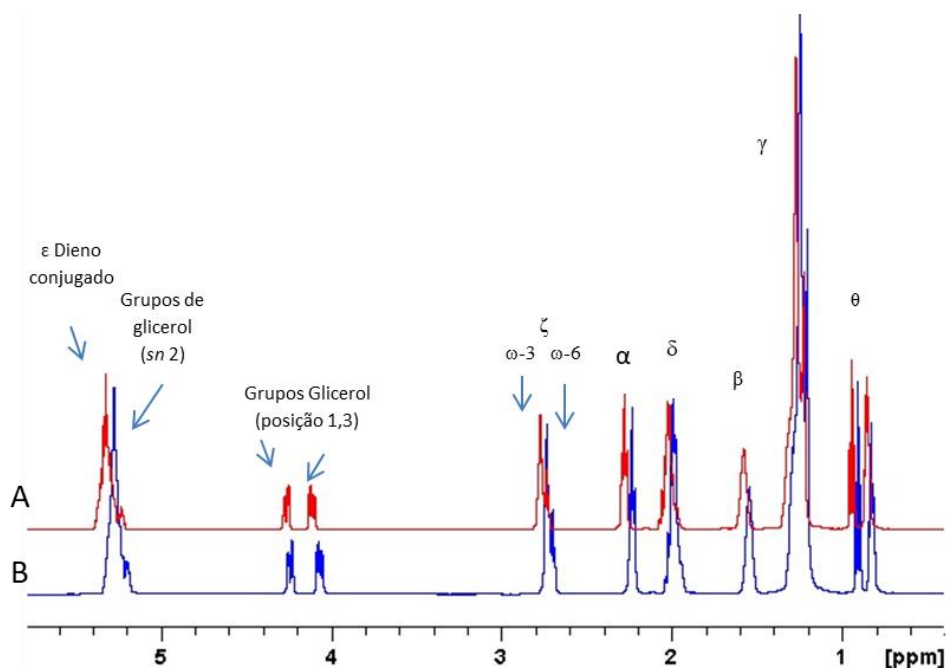
por Wang et al., (2016) que microencapsulou óleo de gengibre utilizando gelatina e alginato de sódio na razão 1:1 e obtiveram menor eficiência de encapsulação de 69,2%. Outros autores como Devi et al., (2012) e Shen et al., 2016 que utilizaram alginato como material de parede para microencapsular óleo de oliva e tomilho e obtiveram eficiência de 89,3% e 85,1% respectivamente. Sendo assim, o tratamento escolhido foi o experimento E8 representado na (Tabela 1), com uma eficiência de encapsulação de  $94,1\% \pm 8,9$  e razão 1:1.

A eficiência de ômega-3 foi calculada de acordo com a metodologia citada no item 3.3.3.2 e observou-se que o teor de ômega-3 do óleo sachá inchi empregado no processo foi de 48,91% e após o processo de microencapsulação esse teor reduziu para 37,29%, apresentando um rendimento de 76,24% e uma perda de 23,76%, indicando que o processo de microencapsulação não interferiu no teor de ômega-3 contido no óleo sachá inchi e os biopolímeros utilizados como materiais de parede garantiram uma ideal proteção desse composto bioativo. Na Figura 4 observamos o espectro do óleo sachá inchi extraído após microencapsulação (A) e óleo sachá inchi conforme obtido comercialmente (B), observamos que os dois espectros apresentaram sinais idênticos típicos dos óleos vegetais de acordo com a faixa de deslocamento químico dos prótons. Esses compostos igualmente presentes nos dois espectros sugere que o processo de encapsulação não afetou a composição do óleo, como observado por Vicente et al., 2017.

**Tabela 1.** Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental da microencapsulação do óleo sacha inchi utilizando os biopolímeros ovalbumina (OVA) e alginato de sódio(AL). A solução de CaCl<sub>2</sub> foi fixada em 30 mg/mL.

Experimentos	Peso do material da parede (g)				Razão núcleo/ Parede	Teor de óleo encapsulado(%)	Teor de óleo teorico (%)	EE(%)
	Material do núcleo (g)	OVA(g)	AL(g)	Total (g)				
E1	1	0,4	0,1	0,5	2:1	66,3 ± 2,2 <sup>a</sup>	66,6	99,5 ± 3,3 <sup>a</sup>
E2	0,5	0,4	0,1	0,5	1:1	42,4 ± 4,5 <sup>b</sup>	50	84,9 ± 1,0 <sup>ab</sup>
E3	0,25	0,4	0,1	0,5	1:2	17,2 ± 6,8 <sup>c</sup>	33,3	51,8 ± 1,4 <sup>abc</sup>
E4	2	0,8	0,2	1	2:1	55,4 ± 1,7 <sup>a</sup>	66,6	83,2 ± 2,6 <sup>abc</sup>
E5	1	0,8	0,2	1	1:1	34,5 ± 2,6 <sup>b</sup>	50	69,1 ± 5,2 <sup>abc</sup>
E6	0,5	0,8	0,2	1	1:2	14,0 ± 1,3 <sup>c</sup>	33,3	42,0 ± 4,1 <sup>bcd</sup>
E7	3	1,2	0,3	1,5	2:1	57,9 ± 2,9 <sup>a</sup>	66,6	86,8 ± 4,4 <sup>dc</sup>
E8	1,5	1,2	0,3	1,5	1:1	47,0 ± 4,4 <sup>b</sup>	50	94,1 ± 8,9 <sup>d</sup>
E9	0,75	1,2	0,3	1,5	1:2	19,8 ± 5,1 <sup>c</sup>	33,3	59,5 ± 8,05 <sup>d</sup>

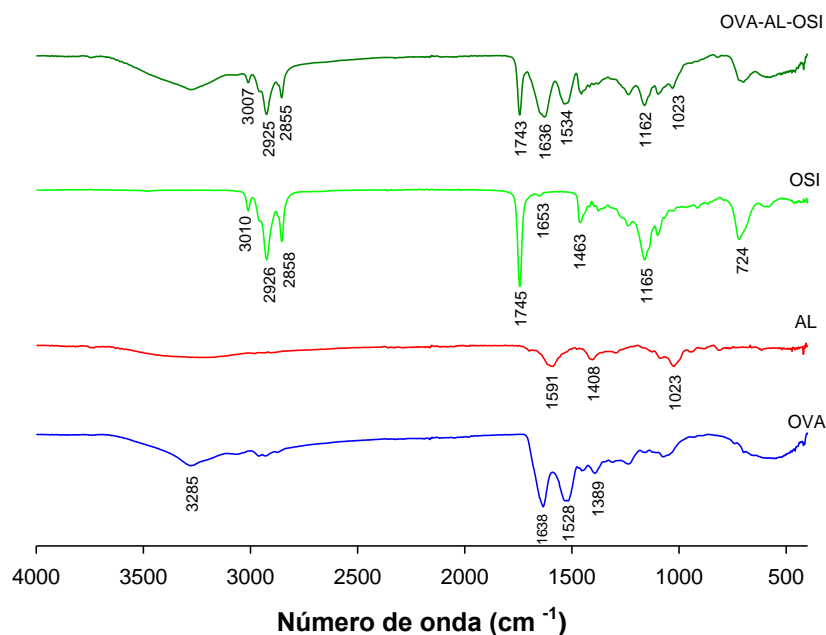
As análises foram realizadas em três repetições. As letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey com uma probabilidade de 5%.



**Figura 4.** Espectro do RMN  $^1\text{H}$  do óleo sachá inchi extraído da microcápsula OVA/AL (A) e óleo sachá inchi obtido comercialmente (B).

### 3.4.2.2. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).

Os espectros de FTIR da OVA, AL, OSI e da microcápsula (proporção material de parede/núcleo 1:1), na região de comprimento de onda selecionada ( $4000$  a  $500\text{ cm}^{-1}$ ) são apresentados na Figura 5. As bandas de amida I ( $1638\text{ cm}^{-1}$ ), amida II ( $1528\text{ cm}^{-1}$ ) e amida III ( $1389\text{ cm}^{-1}$ ), são características das proteínas e foram identificadas no espectro da ovalbumina descrito na literatura por MILLER et al., (2013). O espectro da OVA revelou a presença dos grupos funcionais de O-H e N-H característico, e um estiramento do grupo amino próximo à faixa de  $3285\text{ cm}^{-1}$ . No alginato de sódio, as principais bandas estão relacionadas  $\text{CO}_2^-$  presente nos sais de ácido carboxílicos ( $\text{RCOO}^-$ ) representado pela banda  $1591\text{ cm}^{-1}$  de um alongamento assimétrico na região entre  $1650$ - $1550\text{ cm}^{-1}$  e a ligação C-O do grupo ácido ( $\text{RCOOH}$ ) representado pela banda  $1408\text{ cm}^{-1}$  de um estiramento simétrico na região de  $1440$ - $1395\text{ cm}^{-1}$  (BARBOSA., 2007; LI et al., 2011). A banda  $1023\text{ cm}^{-1}$  está relacionada ao estiramento de vibração do C-O e C-C do anel de piranose como descrito por DEVI et al., 2012; BOKKHIN et al., 2015 e SHEN et al., 2016.



**Figura 5.** Espectro obtido por FTIR dos biopolímeros ovalbumina (OVA), alginato (AL), óleo sacha inchi (OSI) e microcápsula carregada com óleo (OVA-AL-OSI).

O espectro da microcápsula exibiu a banda característica do grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) da ovalbumina na região  $1636\text{ cm}^{-1}$  e a banda característica do grupo carboxílico do alginato de sódio ( $\text{COO}^-$ ) na região  $1023\text{ cm}^{-1}$  indicando que houve interação entre eles (DEVI et al., 2012; SHEN et al., 2016). Além disso, as vibrações de estiramento do grupo carboxílico  $1591\text{ cm}^{-1}$  mudaram para  $1534$  no espectro da microcápsula, podendo ser atribuída a substituição de íons de sódio com íons de cálcio (DAEMI, H. & BARIKANI, M, 2012), confirmando a interação. A microcápsula carregada com OSI apresentou as bandas características do óleo em  $3007\text{ cm}^{-1}$  (C-H),  $2925\text{-}2855\text{ cm}^{-1}$  (C-H de  $\text{CH}_2$ ) e  $1166\text{ cm}^{-1}$  (C-O), principalmente a banda referente aos valores típicos de ondas de absorção do éster em  $1743\text{ cm}^{-1}$  (C=O) confirmando a presença do óleo e formação da microcápsula. Valores similares foram encontrados por Vicente et al., (2017).

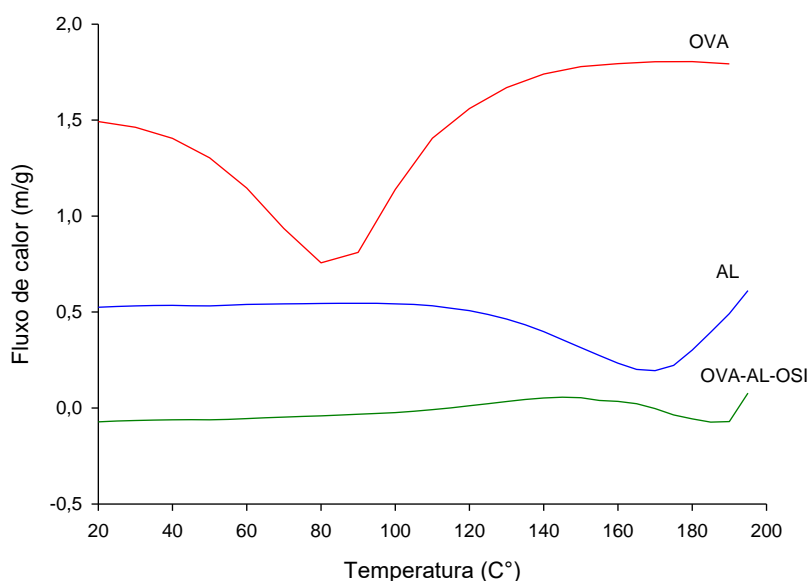
### 3.4.2.3. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A Figura 6 apresenta os termogramas do material de parede ovalbumina e alginato isolados e microcápsulas carregadas com óleo sacha inchi.

A temperatura de desnaturação da proteína isolada foi de 80,5°C, estando de acordo com encontrado na literatura (MATSUDOMI et al., 2001). O alginato de sódio exibiu um pico endotérmico de 169,67°C, correspondente à temperatura de fusão (FAREEZ et al., 2015). Este resultado apresentou-se maior do que o encontrado por BAGHERI et al., 2014 ao avaliar o termograma do alginato de sódio, exibindo um pico endotérmico até 80 ° C, justificado como sendo correspondente à transição vítrea ( $T_g$ ) de conjuntos moleculares do alginato de sódio do estado amorfo para o estado borrachoso causado pelo calor.

O termograma da microcápsula composta por OVA-AL (materiais de parede) e o óleo sacha inchi (núcleo) reticuladas com  $\text{CaCl}_2$  apresentaram temperatura de ( $T_g$ ) deslocada para ~ 189,86 ° C, uma temperatura mais alta do que as encontradas com os biopolímeros isolados, demonstrando claramente o aumento da estabilidade térmica. O mesmo foi observado por RATHER et al., 2017, ao avaliar a estabilidade térmica da microcápsula carregada com *Lactobacillus plantarum* NCDC201 e *L. casei* NCDC297, empregando alginato de sódio como material de parede e  $\text{CaCl}_2$  como reticulante.

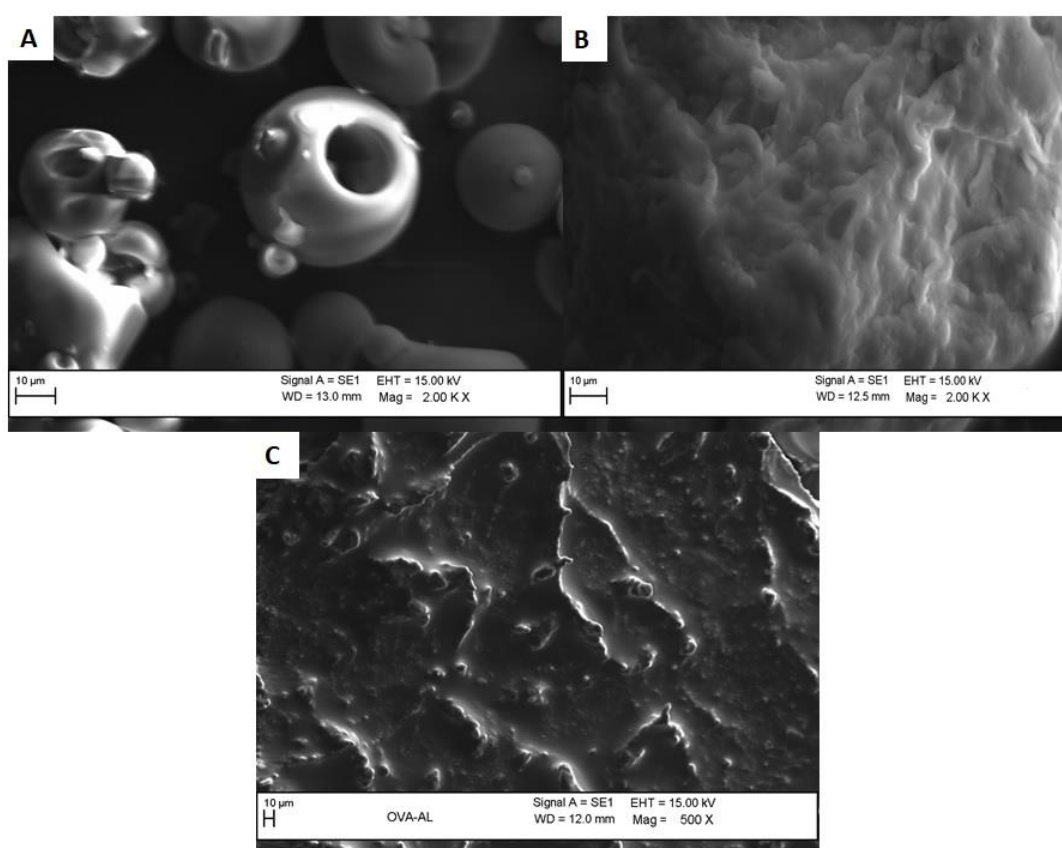
BAGHERI et al., 2014 e RATHER et al., 2017 sugeriram que este resultado está relacionado com a reticulação da microcápsula com  $\text{CaCl}_2$ , reforçando a estrutura da microcápsula e permitindo a fluidização apenas com uma entrada suficiente de calor.



**Figura 6.** Termograma gerado pela análise de DSC das amostras de ovalbumina (OVA), alginato de sódio (AL) e microcápsula (OVA-AL-OSI).

#### 3.4.2.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Foram obtidas imagens dos biopolímeros desidratados individuais, OVA (A) e AL (B) e da microcápsula composta por Ova-AL-OSI (C) proporção material de parede/núcleo 4:1 e pH 3,8 apresentados na Figura 6. Observou-se na Figura 7 (C) da microcápsula uma superfície homogênea e reticulada. Estes resultados sugeriram que os biopolímeros utilizados, assim como uso do cloreto de cálcio poderia garantir a proteção do material encapsulado e que a reticulação das micropartículas após a sua preparação contribui para redução das fissuras e enrugamentos na superfície provocadas após sua formação, armazenamento e manuseio, associado à estrutura vulnerável das partículas não reticuladas (BAGHERI et al., 2014).

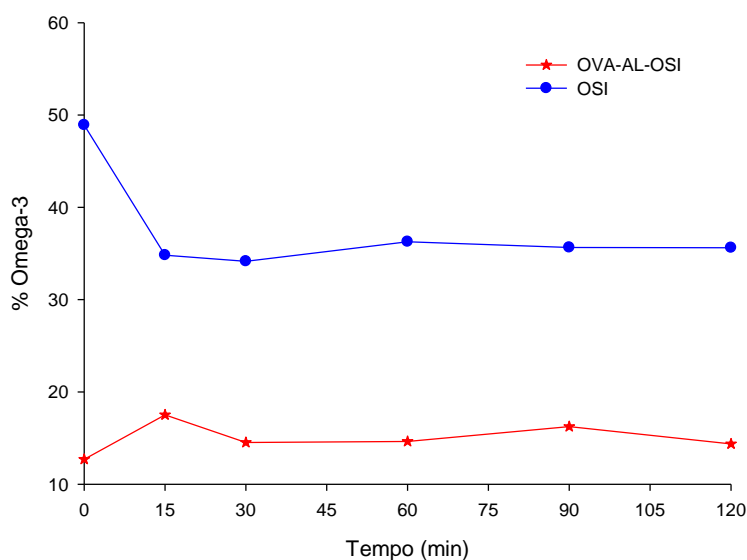


**Figura 7.** MEV dos biopolímeros (A) OVA, (B) AL e (C) microcápsula (OVA-AL-OSI).

#### 3.4.3. Liberação do ômega-3 durante a simulação gástrica *in vitro*

A Figura 8 apresenta a liberação das unidades de acil (ômega-3) presente no OSI submetido condições gástricas. No tempo 0 em que amostra não foi submetida a simulação gástrica *in vitro* observou-se que o óleo sacha inchi apresentava 48,9% de unidades de acil, estando de acordo com encontrado na literatura (FOLLEGATTI-

ROMERO et al., 2009; WANG et al., 2012), Durante a digestão o óleo sacha inchi livre apresentou uma queda de 29,75% no teor de ômega-3 nos primeiros 15 min de digestão, permanecendo constante até 120 min. O óleo sacha inchi livre apresentou um perfil de liberação em torno de 35,3 % do de ômega-3, valores maiores do que o observado no perfil de liberação do ômega-3 contido no óleo sacha inchi encapsulado, na qual as unidades de acil manteve-se constante durante toda simulação gástrica liberando apenas em torno de 14,6% do ômega-3.



**Figura8.** Liberação de unidades de acil do ômega-3 durante a simulação gástrica *in vitro* nos tempos 0, 15, 30, 60, 90 a 120 min.

A liberação reduzida em condições gástricas (pH baixo e presença de enzimas proteolíticas), indica que a microcápsula de ovalbumina e alginato protegeu as unidades de acil (ômega-3) quando comparada ao óleo sacha inchi livre. De acordo com estudo realizado por Timilsena et al., (2017), este resultado pode ser justificado pela presença de polissacarídeo na microcápsula que não sofre degradação e ainda dificulta a hidrólise enzimática da proteína em condições gástricas. Além disso, a reticulação das microcápsulas com  $\text{CaCl}_2$  reduz a porosidade da cápsula, reforçando sua estrutura e diminuindo a degradação da proteína, consequentemente reduzindo a perda do composto encapsulados como descrito por Rather et al., (2017). Em um estudo sobre micropartículas de alginato carregadas com cafeína e reticuladas com  $\text{CaCl}_2$ , Bagheri et al., (2014) observaram de forma semelhante uma liberação reduzida do composto bioativo em torno de  $28,4\% \pm 1,6$  devido à reticulação, valor menor quando comparado

asmicropartículas de alginato carregadas com cafeína e não reticuladas cerca de 37,1%  $\pm$  1,2.

Este resultado sugere que os biopolímeros empregados são excelentes transportadores como sugerido por Wichchukitaet al., (2013), resistentes às condições gástricas, aumentando a disponibilidade do composto bioativo no intestino. Vicente et al., (2017) observou que a microcápsula de óleo sacha inchi composta pelos biopolímeros ovalbumina/pectina e ovalbumina/goma xantana foram mais resistentes as condições gástricas por 180 min, do que quando comparadas apenas ao óleo sacha inchi/ovalbumina.

### 3.5. CONCLUSÃO

Os biopolímeros OVA/AL demonstram-se eficientes como materiais de parede no processo de microencapsulação do óleo sacha inchi através da técnica de coacervação complexa, interação foi confirmada através das análises de FTIR e MEV. A análise calorimétrica sugeriu que o material de parede escolhido para microencapsulação reticulado com CaCl<sub>2</sub>, apresentou maior estabilidade térmica, aumentando a chance da microcápsula ser empregada em alimentos que necessitam de tratamentos térmicos. Além disso, as microcápsula apresentaram resistência em condições gástricas, com baixa liberação de unidades de acil (ômega-3), contribuindo ainda mais para futuras aplicações na indústria alimentícia como produtos funcionais. De acordo com a análise no RMN coacervação complexa e secagem por liofilização não afetam a composição do óleo de Sacha Inchi, após encapsulação.

### 3.6 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- AUGUSTIN, M. A., SANGUANSRI, L., RUSLI, J. K., SHEN, Z., CHENG, L. J., KEOGH, J. & CLIFTON, P. Digestion of microencapsulated oil powders: *in vitro* lipolysis and *in vivo* absorption from a food matrix. **Food & Function**, 5, 2905-2912, 2014.
- BAGHERI, L., MADADLOU, A., YARMAND, M., & MOUSAVI, M. E. Spray-dried alginate microparticles carrying caffeine-loaded and potentially bioactive nanoparticles. **Food research international**, 62, 1113-1119, 2014.
- BOKKHIM, H., BANSAL, N., GRØNDAHL, L., & BHANDARI, B. Interactions between different forms of bovine lactoferrin and sodium alginate affect the properties of their mixtures. **Food Hydrocolloids**, 48, 38-46, 2015.
- Chen, K. N.; Chen, M. J.; Lin, C. W. Optimal combination of the encapsulating materials for probiotic microcapsules and its experimental verification (R1). **Journal of Food Engineering, Oxford**.2006, 76, 3, 313-320.
- CHIRINOS R., ZULOETA G., PEDRESCHI R., MIGNOLET E., LARONDELLE Y., CAMPOS D. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty



acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidante capacity. **Food Chemistry** 141, 1732-1739, 2013.

DAEMI, H. & BARIKANI, M. Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles. **Scientia Iranica**, v. 19, n. 6, p. 2023-2028, 2012.

DEVI, N., HAZARIKA, D., DEKA, C., & KAKATI, D. K. Study of complex coacervation of gelatin A and sodium alginate for microencapsulation of olive oil. **Journal of Macromolecular Science**, Part A, 49(11), 936-945, 2012.

DIARRASSOUBA, F. G. R. et al. Self-assembly of  $\beta$ -lactoglobulin and egg white lysozyme as a potential carrier for nutraceuticals. **Food Chemistry**, v. 173, p. 203–209, 2015

FAREEZ, I. M., LIMA, S. M., MISHRA, R. K., & RAMASAMY, K. Chitosan coated alginate-xanthan gum bead enhanced pH and thermotolerance of *Lactobacillus plantarum* LAB12. **International Journal of Biological Macromolecules**, 72, 1419–1428, 2015.

FOLLEGATTI-ROMERO, L. A., PIANTINO, C. R., GRIMALDI, R., & CABRAL, F. A. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. **Journal of Supercritical Fluids**, 49(3), 323–329, 2009.

KARACA, A. C., NICKERSON, M. & LOW, N. H. Microcapsule production employing chickpea or lentil protein isolates and maltodextrin: Physicochemical properties and oxidative protection of encapsulated flaxseed oil. **Food Chemistry**, 139, 448–457, 2013.

KLEMMER, K. J., WALDNER, L., STONE, A., LOW, N. H., & NICKERSON, M. T. Complex coacervation of pea protein isolate and alginate polysaccharides. **Food Chemistry**, 130(3), 710-715, 2012.

LAVIE, C. J., MILANI, R. V., MEHRA, M. R., & VENTURA, H. O. Omega 3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. **Journal of the American College of Cardiology**, 54(7), 585e594, 2009.

LIU W., WEI LIU, YE A., PENG S., WEI F., LIU C., HAN J. Environmental stress stability of microencapsules based on liposomes decorated with chitosan and sodium alginate. **Food Chemistry**, 196, 396-404, 2016.

MARFIL, P. H., VASCONCELOS, F. H., PONTIERI, M. H., & TELIS, V. Development and validation of analytical method for palm oil determination in microcapsules produced by complex coacervation. **Química Nova**, 39(1), 94-99, 2016.

MATALANIS A., JONES O. G & McCLEMENTS D. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. **Food Hydrocolloids**. v. 25 p. 1865-1880, 2011.

MATSUDOMI, N; TAKAHASHI, H & MIYATA, T. Some structural properties of ovalbumin heated at 80 C in the dry state. **Food Research International**, v. 34, n. 2, p. 229-235, 2001.

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

MCCLEMENTS, D. J. Food emulsions: principles, practices, and techniques. CRC press, 2015.

McClements, D. J. Nanoparticle-and microparticle-based delivery systems: Encapsulation, protection and release of active compounds. CRC Press, 2014.

MILLER, L. M.; BOURASSA, M. W.; SMITH, R. J. FTIR spectroscopic imaging of protein aggregation in living cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1828, n. 10, p. 2339-2346, 2013

MÖBUS, K., SIEPMANN, J., & BODMEIER, R. Zinc–alginate microparticles for controlled pulmonary delivery of proteins prepared by spray-drying. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 81, 121–130, 2012.

MOEBUS, K., SIEPMANN, J., & BODMEIER, R. Novel preparation techniques for alginate–poloxamer microparticles controlling protein release on mucosal surfaces. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 45, 358–366, 2012.

NIU, F.; SU, Y.; LIU, Y.; WANG, G.; ZHANG, Y.; YANG, Y. Ovalbumin-gum arabic interactions: effect of pH, temperature, salt, biopolymers ratio and total concentration. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 113, p. 477–482, 2014.

PAMIES R., SCHMIDT R. R., MARTÍNEZ M. D. C. L., TORRE J. G. D L. The influence of mono and divalent cations on dilute and non-dilute aqueous solutions of sodium alginates. **Carbohydrate Polymers** 80, 248–253, 2010.

POOLE, C. D., HALCOX, J. P., JENKINS-JONES, S., CARR, E. S.M., SCHIFFLERS, M. G., RAY, K. K., & CURRIE, C. J. Omega-3 fatty acids and mortality outcome in patients with and without type 2 diabetes after myocardial infarction: A retrospective, matched-cohort study. *Clinical Therapeutics*, 35(1), 40–51, 2013.

RATHER, S. A., AKHTER, R., MASOODI, F. A., GANI, A., & WANI, S. M. Effect of double alginate microencapsulation on in vitro digestibility and thermal tolerance of *Lactobacillus plantarum* NCDC201 and *L. casei* NCDC297. **LWT-Food Science and Technology**, v. 83, p. 50-58, 2017.

RAZZAK, M. A., KIM, M., & CHUNG, D. Elucidation of aqueous interactions between fish gelatin and sodium alginate. **Carbohydrate polymers**, 148, 181-188, 2016.

SANTOS, M. B., DA COSTA, A. R., & GARCIA-ROJAS, E. E. Heteroprotein complex coacervates of ovalbumin and lysozyme: Formation and thermodynamic characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2017.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades-degradacoes-modificacoes**. Livraria Varela, 1996.

SIM, J. S., & NAKAI, S. Eggs uses and processing technologies: New developments. **CAB International**, 1994.

SOUZA, C. J. F., & GARCIA-ROJAS, E. E. Effect of salt and protein concentration on the association and dissociation of ovalbumin-pectin complexes. **Food Hydrocolloids**, 47, 124-129, 2015.

SHEN, L.; CHEN, J.; BAI, Y.; MA, Z.; HUANG, J.; FENG, W. Physical Properties and Stabilization of Microcapsules Containing Thyme Oil by Complex Coacervation. **Journal of food science**. 81, 9, 2016.

SPONTON, Osvaldo E.; PEREZ, Adrián A.; SANTIAGO, Liliana G. Protein-polysaccharide associative phase separation applied to obtain a linoleic acid dried ingredient. **Food Hydrocolloids**, v. 71, p. 158-167, 2017.

SPONTON, O. E., PEREZ, A. A., CARRARA, C. R., & SANTIAGO, L. G. Linoleic acid binding properties of ovalbumin nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 128, 219-226, 2015.

SPONTON, O. E., PEREZ, A. A., CARRARA, C. R., & SANTIAGO, L. G. Complexes between ovalbumin nanoparticles and linoleic acid: Stoichiometric, kinetic and thermodynamic aspects. **Food chemistry**, 211, 819-826, 2016.

TANEJA, A., & SINGH, H. Challenges for the delivery of long-chain n-3 fatty acids in functional foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, 3, p.105-123, 2012.

- TIMILSENA, Y. P., ADHIKARI, R., BARROW, C. J., & ADHIKARI, B. Digestion behaviour of chia seed oil encapsulated in chia seed protein-gum complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, 66, 71-81, 2017.
- TIMILSENA, Y. P.; WANG, B.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Preparation and characterization of chia seed protein isolate–chia seed gum complex coacervates. **Food hydrocolloids**.2016, 52, 554-563.
- THIES, C. Microencapsulation of Flavors by Complex Coacervation. In: (Ed.). **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**: Blackwell Publishing, p.149-170, 2007.
- UBBINK, J.; KRÜGER, J. Physical approaches for the delivery of active ingredients in foods. **Trends in Food Science and Technology**, London. 2006, 17, 244-254.
- VICENTE, J., CARVALHO, M. G., & GARCIA-ROJAS, E. E. Fatty acids profile of Sacha Inchi oil and blends by <sup>1</sup>H NMR and GC–FID. **Food Chemistry**, 181, 215-221, 2015.
- VICENTE, J.; SOUZA CEZARINO, T.; PEREIRA, L. J. B.; DA ROCHA, E. P.; SÁ, G. R.; GAMALLO, O. D.; GARCIA-ROJAS, E. E. Microencapsulation of sachu inchi oil using emulsion-based delivery systems. **Food Research International**.99, 612-622, 2017.
- WANG, L., YANG, S., CAO, J., ZHAO, S., & WANG, W. Microencapsulation of Ginger Volatile Oil Based on Gelatin/Sodium Alginate Polyelectrolyte Complex. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 64(1), 21-26, 2016.
- WANG, X., XU, R., WANG, R., & LIU, A. Transcriptome analysis of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds at two developmental stages. **BMC genomics**, 13(1), 716, 2012.
- WICHCHUKIT, S. et al. Whey protein/alginate beads as carriers of a bioactive component. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 66-73, 2013.

## CONCLUSÃO GERAL

A interação entre ovalbumina e ácido tânico foi confirmada através do aumento do tamanho de partícula, e contribui para uma melhor complexação entre os biopolímeros ovalbumina/pectina, esta interação pode ser usada para melhorar a capacidade emulsificante da proteína. Além disso, o uso do ácido tânico pertencente ao grupo dos compostos fenólicos poderia ser empregado para contribuir na estabilidade oxidativa da microcápsula por possuírem capacidade antioxidante.

A microcápsula do óleo sacha inchi empregando como material de parede o complexo coacervado de ovalbumina e alginato de sódio reticuladas com  $\text{CaCl}_2$ , apresentaram maior eficiência de encapsulação quando comparadas as microcápsulas compostas por ovalbumina, ácido tânico e pectina como materiais de parede. Indicando que o uso de reticulantes contribuiu para uma microcápsula estruturalmente fortalecida. Além disso, as microcápsulas de ovalbumina e alginato reticuladas com  $\text{CaCl}_2$  apresentaram durante a simulação gástrica *in vitro* perfil de liberação reduzida do ômega-3, podendo ser empregada como um eficiente transportador de compostos bioativos, aumentando a biodisponibilidade destas substâncias no intestino.

A microencapsulação utilizando estes biopolímeros como materiais de parede mostrou-se eficiente para encapsular o Omega-3 e pode ser utilizado para encapsular outros compostos bioativos, pois apresentam alta eficiência de encapsulação em torno de 70 a 90%, as microcápsulas formadas apresentaram resistência térmica, apresentando assim potencial para ser empregado em alimentos que necessitam de tratamentos térmicos, contribuindo para proteção destes compostos sensíveis contra as altas temperaturas.

Por fim, é possível concluir que a microencapsulação está associada a diversos benefícios, principalmente proteção de compostos bioativos e a escolha do material de parede adequado assim como a metodologia empregada, influenciam diretamente no resultado final da microencapsulação.