



# **MICROENCAPSULAÇÃO DA CURCUMINA EM PARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS VISANDO APLICAÇÕES ALIMENTARES SUJEITAS A PROCESSAMENTO TÉRMICO**

**Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de  
Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar**

**Guilherme Dallarmi Sorita**

## **Orientadores**

**Maria Filomena F. Barreiro  
Isabel C.F.R. Ferreira  
Ângela Maria Gozzo**

**Bragança  
2018**



“Por mais impossível que seja nossos sonhos a determinação, a força e a fé são indispensáveis para sua realização.”

**Guilherme Dallarmi Sorita**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **Deus**, pela presença constante em minha vida, por ter guiado todos os meus passos, pelas oportunidades concebidas e pelo conhecimento adquirido ao longo desses anos, que me fez chegar até aqui.

Aos meus pais, **Lucilene Regina Dallarmi e Márcio Antônio Sorita** e a minha irmã **Mariana Dallarmi Sorita** que me apoiaram incondicionalmente a todo momento e não mediram esforços para que eu pudesse realizar meu sonho.

Às minhas orientadoras do Instituto Politécnico de Bragança (IPB), **Maria F. Barreiro** e **Isabel C.F.R. Ferreira** e Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), **Ângela Maria Gozzo**, pela oportunidade e apoio, agradeço também pela confiança depositada em mim e pelos conhecimentos proporcionados.

À professora **Fernanda Vitória Leimann** e ao professor **Odinei Hess Gonçalves** por todo apoio, paciência e esclarecimento nas horas de dúvidas e preocupações. Estou imensamente agradecido pela vossa dedicação e por todo o ensinamento proporcionado.

À investigadora **Isabel Fernandes** que sempre esteve disponível para esclarecer todas as minhas dúvidas e contribuir para a minha aprendizagem.

Agradeço a todos os **meus professores** em especial os da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR-CM e do Instituto Politécnico de Bragança – IPB que contribuíram para a minha aprendizagem e me ajudaram a chegar até aqui.

Aos meus amigos do Brasil da cidade de Tupi Paulista – SP, **Paulo, Raíssa, Suzuqui, Eduardo, Thamyris, Marcelo, Paulo Barravieira e Flávia**, que sempre estiveram comigo independentemente de qualquer circunstância desde dos meus 12 anos de idade. Agradeço também aos meus amigos de Campo Mourão - PR, **Alana, Edson, Maria e Flávia** pelos inúmeros e bons momentos que vivemos juntos e tornaram a minha graduação numa época inesquecível.

Às minhas amigas da UTFPR, **Bianca, Núbia e Marcela** pelos momentos engraçados que vivemos durante a nossa estadia em Portugal.

Às instituições de ensino **UTFPR** e **IPB** que por meio do programa de Dupla Diplomação me proporcionaram um crescimento pessoal e profissional, conhecer novas culturas e me permitir vivenciar momentos que só um programa de intercâmbio pode oferecer. Estou muito grato pela oportunidade de estudar em instituições de alta qualidade de ensino.

E a todos os meus **amigos** e **familiares** que direta ou indiretamente me acompanharam, aconselharam e auxiliaram na realização deste trabalho.

Este trabalho é financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Programa Operacional Regional Norte 2020, no âmbito do Projeto Norte-01-0247-FEDER-024479 (projeto *Mobilizador ValorNatural*®).



UNIAO EUROPEIA  
Fundo Europeu  
de Desenvolvimento Regional

## Índice

<b>LISTA DE ABREVIATURA.....</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xvi</b>
<b>1. MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
2.1. Aditivos na Indústria alimentar .....	5
2.2. Corantes.....	6
2.2.1. Corantes Artificiais .....	6
2.2.2. Corantes Naturais .....	8
2.3. Principais problemas de aplicação dos corantes naturais.....	10
2.4. Soluções para uma aplicação efetiva dos corantes naturais .....	11
2.4.1. Partículas lipídicas sólidas .....	15
2.4.2. Encapsulação por <i>Spray Chilling/Congeling</i> .....	19
2.5. Planeamento para a definição das misturas.....	22
2.6. Delineamento <i>Box-Behnken</i> .....	26
2.7. Técnicas de caracterização .....	27
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
3.1. Materiais.....	30
3.2. Planeamento experimental para a definição das misturas com temperatura de fusão e solidificação adequadas ao processo .....	30
3.3. Encapsulação da curcumina e caracterização das micropartículas .....	33
3.4. Avaliação da estabilidade da cor das micropartículas incorporando curcumina .....	35
3.5. Incorporação das micropartículas de curcumina em matrizes alimentares. ....	37
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>

4.1. Planeamento experimental para a definição das misturas .....	41
4.1.1. Delineamento experimental.....	41
4.1.2. Validação dos Modelos .....	48
4.2. Encapsulação da curcumina .....	49
4.3. Avaliação da estabilidade da cor das micropartículas de curcumina em estufa.....	58
4.3.1. Avaliação do planeamento experimental .....	58
4.3.2. Análise de Componentes Principais .....	63
4.4. Estudos de incorporação das micropartículas contendo curcumina em matrizes alimentares.....	65
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>72</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>75</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>84</b>

## Lista de Abreviaturas

<b>ATR</b>	<i>Attenuated total reflection</i> - Reflexão total atenuada
<b>CA</b>	Cera de Abelha
<b>CC</b>	Cera de Carnaúba
<b>C</b>	Curcumina
<b>Cr</b>	Chroma
<b>CP</b>	Componente Principal
<b>DDA</b>	Dose Diária Aceitável
<b>DSC</b>	<i>Differential Scanning Calorimetry</i> - Calorimetria Diferencial de Varredura
<b>EE</b>	Eficiência de Encapsulação
<b>Exp</b>	Experimento
<b>FTIR</b>	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
<b>H</b>	Hue
<b>IG</b>	Iogurte Natural Batido Grego
<b>IN</b>	Iogurte Natural
<b>LC</b>	Leite condensado
<b>Mi</b>	Miglyol 812
<b>M</b>	Manteiga
<b>M<sub>i</sub></b>	Massa do componente i
<b>Min</b>	Tempo expresso em minutos
<b>ML</b>	Margarina Vegetal Líquida
<b>MEV</b>	Microscopia electrónica da varrimento
<b>MF1</b>	Mistura física contendo cera de abelha 98.5% e curcumina 1.5%
<b>MF2</b>	Mistura física contendo cera de abelha 39.4%, miglyol 59.1% e curcumina 1.5%
<b>MF3</b>	Mistura física contendo cera de abelha 41.37%, cera de carnaúba 14.78%, mygliol 42.35% e curcumina 1.5%
<b>MGV</b>	Monoestearato de Glicerila Vegetal 90
<b>MO</b>	Microscopia ótica
<b>MY</b>	Maionese

<b>N</b>	Nata culinária
<b>OP</b>	Óleo de Palma totalmente esterificado
<b>PCA</b>	<i>Principal Component Analysis</i> – Análise de Componentes Principais
<b>QF</b>	Queijo Fundido
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficiente de determinação
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub></b>	Coefficiente de determinação ajustado
<b>S</b>	Iogurte natural 0% matéria gordura
<b>SR</b>	Superfície resposta
<b>TGA</b>	<i>Thermogravimetric analysis</i> – Análise termogravimétrica
<b>T<sub>a</sub></b>	Temperatura de atomização
<b>T<sub>e</sub> MGV 90</b>	Temperatura de entrada do lipido monoestearato de glicerila vegetal 90
<b>T<sub>e</sub> OP</b>	Temperatura de entrada do óleo de palma totalmente esterificado
<b>T<sub>ar</sub></b>	Temperatura do ar de atomização
<b>T<sub>e</sub></b>	Temperatura de entrada
<b>T<sub>F</sub> (°C) Exp.</b>	Temperatura de fusão experimental
<b>T<sub>s</sub> (°C) Exp.</b>	Temperatura de solidificação experimental
<b>T<sub>s</sub></b>	Temperatura de solidificação
<b>w/w</b>	Massa do composto/massa total.
<b>X<sub>ca</sub></b>	Proporção de Cera de Abelha
<b>X<sub>cc</sub></b>	Proporção de Cera de Carnaúba
<b>X<sub>mi</sub></b>	Proporção de miglyol
<b>XDR</b>	<i>X-ray Powder Diffraction</i> - Difração de raios-X
<b>ΔE</b>	Varição total de cor
<b>ΔE<sub>c</sub></b>	Varição total de cor em relação ao controlo
<b>ΔE<sub>t</sub></b>	Varição total de cor em relação ao controlo

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Estrutura química da curcumina (Fonte: Adaptado de Silva, (2016)).....	9
<b>Figura 2.</b> Açafrão da Índia. Disponível em: <a href="http://www.colormaker.com/natural-ingredients_turmeric">http://www.colormaker.com/natural-ingredients_turmeric</a> Consultado em: 14/12/2017. ....	10
<b>Figura 3.</b> Esquema das adaptações feitas no <i>spray dryer</i> para o uso da técnica de <i>spray congealing</i> . (Fonte: Okuro; Eustáquio de matos; Favaro-trindade, (2013)). ....	20
<b>Figura 4.</b> Design <i>Simplex-Centroid</i> para uma mistura ternária (Fonte: Adaptado de Jiao et al., (2018)). ....	22
<b>Figura 5.</b> Representação do espaço experimental no Planeamento <i>Box-Behnken</i> (Fonte: Ferreira et al., (2007)). ....	26
<b>Figura 6.</b> Parâmetros de aquecimento das amostras do planeamento experimental <i>Simplex-Centroid</i> .....	32
<b>Figura 7.</b> Configurações do equipamento utilizado para a produção das micropartículas de curcumina: (A) Mini <i>Spray Dryer</i> B-290 Buchi, (B) Acessórios para <i>Spray Cooling</i> e (C) Desumidificador B-295. Fonte: Adaptado Mini <i>Spray Dryer</i> B-290 manual técnico. Disponível em: <a href="http://static2.buchi.com/sites/default/files/technicaldatapdf/B290_Data_Sheet_en_C_1.pdf">http://static2.buchi.com/sites/default/files/technicaldatapdf/B290_Data_Sheet_en_C_1.pdf</a> . Acesso em: maio de 2018. ....	34
<b>Figura 8.</b> Gráfico de valores observados <i>versus</i> previstos para o modelo de resposta da temperatura de fusão (°C). ....	43
<b>Figura 9.</b> Superfícies de resposta obtidas para o modelo de resposta da temperatura de fusão em termos dos pseudocomponentes. ....	43
<b>Figura 10.</b> Gráfico de valores observados <i>versus</i> previstos para o modelo da temperatura de solidificação (°C).....	46
<b>Figura 11.</b> Superfícies de resposta obtidas para o modelo de ponto de solidificação em termos de pseudocomponentes.....	47
<b>Figura 12.</b> Termogramas referentes ao segundo aquecimento, mistura 1 (A), mistura 2 (B) e mistura 3 (C) e segundo resfriamento, mistura 1 (D), mistura 2 (E) e mistura 4 (F), obtidos por DSC. ....	48

<b>Figura 13.</b> Imagens obtidos por microscopia ótica das micropatículas de curcumina encapsuladas com cera de abelha (MP1) em diferentes ampliações. ....	49
<b>Figura 14.</b> Imagens obtidos por microscopia ótica das micropatículas de curcumina encapsuladas com cera de abelha e miglyol (MP2) em diferentes ampliações. ....	50
<b>Figura 15.</b> Imagens obtidos por microscopia ótica das micropatículas de curcumina encapsuladas com cera de abelha, cera de carnaúba e miglyol (MP3) em diferentes ampliações. ....	50
<b>Figura 16.</b> Distribuição do tamanho de partícula das micropatículas obtidas pela técnica de spray congealing para as micropatículas MPB1 e MP1 (A) MPB2 e MP2 (B) e MPB3 e MP3 (C). ....	51
<b>Figura 17.</b> Termogramas obtidos por DSC para CA, CC, C, MP1, MF1 e MPB1 (A), CA, CC, C, MP2, MF2 e MPB2 (B) e CA, CC, C, MP3, MF3 e MPB3 (C). ....	53
<b>Figura 18.</b> Espectros de infravermelho obtidos para o Miglyol 812 (M), Curcumina pura (C), Cera de Abelha (CA), Cera de Carnaúba (CC), misturas físicas (MF1, MF2 e MF3), micropatículas brancas (MPB1, MPB2 e MPB3) e para as micropatículas (MP1, MP2, MP3). ....	56
<b>Figura 19.</b> Gráfico de valores observados <i>versus</i> preditos para o modelo da variação da cor ( $\Delta E$ ) das micropatículas de curcumina. ....	61
<b>Figura 20.</b> Superfícies de resposta obtidas para o modelo da variação da cor ( $\Delta E$ ) das micropatículas de curcumina. ....	61
<b>Figura 21.</b> Distância de Mahalanobis obtida para as 4 componentes principais da análise de componentes principais. ....	63
<b>Figura 22.</b> <i>Scree plot</i> com as respectivas percentagens de variância explicada por cada componente principal e os seus autovalores. ....	63
<b>Figura 23.</b> Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros de cor estudados no planeamento experimental <i>Box-Behnken</i> . ....	64
<b>Figura 24.</b> Registro de imagens das matrizes alimentares incorporadas com a curcumina pura e encapsulada no dia 0, sendo: (A) Queijo Fundido, (B) Nata culinária, (C) Manteiga, (D) Leite condensado, (E) Margarina vegetal líquida, (F) Iogurte natural 0% matéria gorda, (G) Iogurte natural, (H) Iogurte batido natural (Tipo Grego) e (I) Maionese. ....	66
<b>Figura 25.</b> Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros estudados no teste de incorporação das micropatículas de curcumina em matrizes alimentares. ....	70



## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Exemplos de corantes artificiais utilizados em alimentos (Fonte: Martins et al., (2016)).	8
<b>Tabela 2.</b> Exemplos de corantes naturais utilizados em alimentos e principais problemas de estabilidade.	11
<b>Tabela 3.</b> Comparação de vários processos utilizados para preparação de partículas lipídicas sólidas. (Fonte: Adptado de Ganesan; Narayanasamy (2017)).	13
<b>Tabela 4.</b> Exemplos de compostos bioativos encapsulados por partículas lipídicas sólidas na área alimentar.	16
<b>Tabela 5.</b> Aplicações da técnica de <i>Spray Congealing</i> e respetivos parâmetros de processo.	21
<b>Tabela 6.</b> Matriz experimental do planeamento de mistura tipo <i>Simplex-centroid</i> com grau 3. Pseudocomponentes: $X_{CA}$ : fração mássica de cera de abelha; $X_{CC}$ : fração mássica de cera de carnaúba; $X_{Mi}$ : fração mássica de miglyol 812. Componentes originais: CA: cera de abelha; CC: cera de carnaúba e Mi: miglyol 812.	31
<b>Tabela 7.</b> Composições em pseudocomponentes das misturas avaliadas para a validação dos modelos de temperaturas de solidificação ( $T_S$ ) e temperatura de fusão ( $T_F$ ).	33
<b>Tabela 8.</b> Formulações utilizadas para a encapsulação da curcumina.	33
<b>Tabela 9.</b> Parâmetros aplicados aos ensaios para produção de micropartículas com as misturas lipídicas.	34
<b>Tabela 10.</b> Matriz do planeamento experimental <i>Box-Behnken</i> para avaliação da estabilidade da cor sob condições de aquecimento.	36
<b>Tabela 11.</b> Matrizes alimentares utilizadas para o estudo da aplicação da curcumina na forma pura e encapsulada e seus respetivos valores nutricionais.	38
<b>Tabela 12.</b> Resultados obtidos para o ponto de fusão ( $T_F$ ) e ponto de solidificação ( $T_S$ ) das misturas compostas por cera de abelha (CA), cera de carnaúba (CC) e miglyol 812 (Mi).	41
<b>Tabela 13.</b> ANOVA para o modelo de resposta da temperatura de fusão.	42
<b>Tabela 14.</b> Coeficientes do modelo de regressão para a temperatura de fusão ( $T_F$ ) das misturas lipídicas.	42

<b>Tabela 15.</b> ANOVA para o modelo de resposta da temperatura de solidificação. ....	45
<b>Tabela 16.</b> Coeficientes do modelo de regressão da temperatura de solidificação ( $T_S$ ) das misturas lipídicas. ....	45
<b>Tabela 17.</b> Validação experimental dos modelos matemáticos obtidos para as temperaturas de fusão e de solidificação ( $T_F$ e $T_S$ Exp. – valores determinados experimentalmente). ....	48
<b>Tabela 18.</b> Valores de $D_{10}$ , $D_{50}$ e $D_{90}$ para micropartículas obtidas pela técnica de <i>spray congealing</i> . ....	51
<b>Tabela 19.</b> Dados obtidos por DSC dos encapsulantes CA, CC e da curcumina (C) utilizados para a produção das micropartículas de curcumina. ....	54
<b>Tabela 20.</b> Coeficientes do modelo de regressão da variação da cor ( $\Delta E$ ) das micropartículas de curcumina. ....	60
<b>Tabela 21.</b> ANOVA para o modelo de resposta da variação da cor ( $\Delta E$ ) das micropartículas. ....	61
<b>Tabela 22.</b> Valores de $a^*$ , $b^*$ , $L^*$ , $\Delta E$ , Chroma e Hue obtidos a partir do procedimento descrito na secção 2.5.9 e utilizados para a construção do modelo experimental <i>Box-Behnken</i> . ....	62
<b>Tabela 23.</b> Medidas de $a^*$ , $b^*$ , $L^*$ para as micropartículas de curcumina originais utilizadas para os cálculos de $\Delta E$ para a construção do modelo estatístico. ....	62
<b>Tabela 24.</b> Teor de humidade (%) e valor de pH das matrizes alimentares utilizadas para a incorporação das micropartículas. ....	66
<b>Tabela 25.</b> Valor dos parâmetros $a^*$ , $b^*$ e $L^*$ obtidos em triplicado, suas respectivas médias e desvio padrão avaliados nas matrizes alimentares incorporadas com curcumina pura (CP), MP1, MP2 e MP3 no dia 0 e dia 7. ....	67
<b>Tabela 26.</b> Coeficientes de correlação de <i>Pearson</i> e <i>p-valor</i> para as correlações das variáveis avaliadas. ....	70



## RESUMO

A utilização de corantes naturais é uma tendência de marketing atual, pois possuem benefícios para a saúde e o seu uso vai ao encontro das preocupações dos consumidores com a segurança dos corantes artificiais. Porém, a sua utilização eficiente apresenta vários desafios. A curcumina é um corante natural que, além de conferir cor, possui diversas atividades biológicas, servindo de alternativa a alguns corantes artificiais. Tal como grande parte dos corantes naturais, apresenta sensibilidade a tratamentos térmicos, o que limita a sua aplicação em produtos alimentares submetidos ao cozimento em fornos, como por exemplo, os produtos de pastelaria/panificação, sendo a encapsulação uma alternativa que pode ser utilizada para superar este problema. Neste contexto, o trabalho teve como objetivo encapsular a curcumina em matrizes lipídicas sólidas, viabilizando a sua estabilidade térmica para posterior aplicação em produtos de pastelaria/panificação, garantindo a manutenção da cor. A composição do material encapsulante foi definida por um planeamento experimental *simplex-centroid*. A técnica utilizada para a produção das partículas foi o *Spray Congealing*, tendo sido produzidas três formulações compostas por cera de abelha, cera de carnaúba e miglyol 812 em diferentes proporções. Estudos de caracterização foram realizados mostrando que a curcumina foi eficientemente encapsulada e análises de microscopia ótica mostraram que as micropartículas produzidas apresentaram formato esférico com tamanhos na faixa de micrômetros (0,19-139  $\mu\text{m}$ ). A estabilidade térmica das partículas foi avaliada por Calorimetria de Varrimento Diferencial (DSC), as interações entre o material encapsulante e o princípio ativo foram analisadas por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e um delineamento *Box-Behenken* foi realizado permitindo descrever a variação da cor com a temperatura, o tempo de aquecimento e a composição do material encapsulante. Os resultados do planeamento foram também submetidos a uma análise de componentes principais (PCA), tendo as micropartículas encapsuladas com cera de abelha pura e com a mistura cera de abelha, carnaúba e miglyol as que conduziram a uma menor variação de cor. Por fim as micropartículas foram adicionadas a matrizes alimentares com diferente carácter hidrofílico/lipofílico, sendo elas, queijo fundido, nata de culinária, manteiga, leite condensado, margarina vegetal líquida, iogurte natural com 0% de matéria gorda, iogurte natural, iogurte natural batido (tipo Grego) e

maionese, tendo-se avaliado o seu comportamento quanto à estabilidade da cor durante o armazenamento por 7 dias, tendo o teor de humidade influência direta na homogeneidade do ingrediente corante com a matriz alimentar.

## ABSTRACT

The use of natural colorants is a current marketing trend; they have health benefits and their use meets consumer's concerns with the safety of artificial counterparts. However, their efficient use presents several challenges. Curcumin is a natural colorant that, in addition to conferring color, has several biological activities, serving as an alternative to some artificial colorants. Like most natural colorants, it is sensitive to heat treatments, which limits its application in foodstuffs submitted to cooking in ovens, as is the case of pastry/bakery products, being encapsulation an alternative that can be used to overcome this problem. In this context, the objective of the present work was to encapsulate curcumin in solid lipid matrices, increasing thermal stability for subsequent application in pastry/bakery products, ensuring color maintenance. The composition of the encapsulating material was defined by a *simplex-centroid* experimental design. The technique used for the production of the particles was *Spray Congealing*, and three formulations comprising beeswax, carnauba wax and miglyol 812 in different proportions were produced. Characterization studies were performed showing that curcumin was efficiently encapsulated and optical microscopy analyzes showed that the produced microparticles had a spherical shape with sizes in the micrometer range (0,19-139  $\mu\text{m}$ ). The thermal stability of the particles was evaluated by Differential Scanning Calorimetry (DSC), the interactions between the encapsulating material and the active principle were analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), and a *Box-Behnken* design was performed allowing to describe the color variation with temperature, heating time and the composition of the encapsulating material. The results of the planning were also submitted to a principal component analysis (PCA) showing that the microparticles encapsulated with pure beeswax and the mixture of beeswax, carnauba and miglyol were the ones conducting to the lowest color variation. Finally, the microparticles were added into food matrices with different hydrophilic/lipophilic character, such as melted cheese, cooking cream, butter, condensed milk, liquid vegetable margarine, natural yogurt with 0% fat, natural yogurt, natural yogurt whipped (Greek type) and mayonnaise, and color stability was evaluated during a storage period of 7 days, having the moisture content a direct influence on the color homogeneity of the food matrix.



# **1. MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS**

Para uma maior conservação, melhoria das características organolépticas e integridade durante a vida útil dos produtos alimentares, os aditivos são considerados fundamentais. Além disso, estes destacam-se também pela sua atratividade sensorial, nomeadamente a perceção visual, a cor e o cheiro, sendo os corantes alimentares, em particular, de extrema importância neste domínio. A crescente demanda dos consumidores pela procura de uma alimentação mais saudável para a manutenção da saúde tem ganho importância nos últimos anos. Tal demanda, tornou prioritário o desenvolvimento de tecnologias que possibilitem agregar compostos bioativos aos alimentos, bem como melhorar sua bioacessibilidade. Assim, é fundamental o estudo de formas de proteção, para aumento da solubilidade e/ou melhoria da estabilidade, para que sejam incorporados de forma efetiva em matrizes alimentares. Nesse contexto, o corante curcumina que surge como uma alternativa viável a certos corantes artificiais, apresenta de acordo com diversos estudos uma extensa gama de propriedades benéficas, motivo pelo qual a indústria alimentar procura intensificar o seu uso. Porém a sua incorporação em matrizes alimentares é restrita devido às suas características hidrofóbicas, sensibilidade à luz e resistência a temperaturas elevadas (por exemplo as utilizadas em processos de cozimento em fornos). Nesse contexto o presente trabalho teve como objetivo a encapsulação da curcumina em partículas lipídicas para aplicações em matrizes alimentares sujeitas a processos de cozimento. Adicionalmente, a sua incorporação em matrizes alimentares com diferente composição e carácter hidrofílico/lipofílico foi também testado. Numa perspetiva futura, a curcumina apresenta-se como um corante natural que além de conferir cor, confere propriedades bioativas, melhorando a qualidade dos produtos, promovendo assim uma maior competitividade no mercado. Adicionalmente poderá ganhar campo como alternativa viável aos corantes artificiais.

### **Objetivo geral:**

Encapsular curcumina em micropartículas lipídicas e avaliar seu potencial corante e estabilidade à temperatura e à incorporação em alimentos com diferente carácter hidrofílico/lipofílico.

### **Objetivos Específicos:**

- Obter um modelo estatístico *Simplex-Centroides* para determinação da composição do material encapsulante que garanta o estado sólido das micropartículas à temperatura ambiente;
- Encapsular a curcumina em partículas lipídicas sólidas pela técnica de *spray congealing* usando os sistemas químicos selecionados no ponto anterior;
- Caracterizar as micropartículas quanto ao tamanho, morfologia, propriedades térmicas e químicas estruturais;
- Estudar a estabilidade da cor da curcumina microencapsulada quando sujeita ao aquecimento por períodos de tempo determinados através de modelo estatístico *Box-Behnken*;
- Incorporar as diferentes formulações de curcumina (pura e encapsulada) em matrizes alimentares com diferente carácter hidrofílico/lipofílico e avaliar o poder corante e estabilidade ao longo do tempo de armazenamento (0 e 7 dias);
- Avaliar a estabilidade da cor dos alimentos incorporados com as micropartículas através de análise de componentes principais (PCA).

# **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 2.1. Aditivos na Indústria alimentar

De acordo com o *Codex Alimentarius*, a primeira coleção internacional de padrões e diretrizes alimentares, “aditivo alimentar” é uma substância que, normalmente, não é consumida como alimento por si só ou usada como ingrediente, dotada ou não de valor nutritivo, e que é adicionada ao alimento com um propósito tecnológico (e organolético) na sua fabricação, processamento, acondicionamento, transporte ou armazenamento, para promover possíveis alterações, direta ou indiretamente, afetando características do alimento. Este termo não inclui contaminantes ou substâncias adicionadas com o propósito de melhorar a qualidade nutricional do alimento. Os aditivos alimentares podem ser classificados como conservantes, antioxidantes, emulsificantes, estabilizantes, aromatizantes, edulcorantes e agentes colorantes (corantes) (FEKETEÁ; TSABOURI, 2017).

A utilização de aditivos alimentares justifica-se quando a sua aplicação apresenta vantagens, sem ludibriar o consumidor ou apresentar risco para a saúde do mesmo, servindo para uma ou mais funções tecnológicas através de meios economicamente e tecnologicamente praticáveis, visando preservar a qualidade nutricional do alimento; fornecer ingredientes ou componentes necessários a grupos de consumidores que tenham necessidades nutritivas especiais; aumentar a conservação ou estabilidade de um alimento melhorando as suas propriedades sensoriais, desde que isso não altere a natureza e qualidade do alimento; auxiliar o processo tecnológico desde que o aditivo não seja utilizado para dissimular efeitos de matérias-primas defeituosas ou más práticas de manipulação no decorrer do seu processamento (CODEX, 2016).

Do ponto de vista tecnológico, os aditivos alimentares desempenham um papel importante no desenvolvimento de alimentos complexos. No entanto, o uso de aditivos é um tópico sensível e que motiva preocupação no consumidor. Nos últimos anos, estes têm-se tornado cada vez mais cautelosos quanto à segurança alimentar; dos vários itens associados à segurança alimentar, os aditivos alimentares estão entre os mais controversos (VARELA; FISZMAN, 2013).

## **2.2. Corantes**

Entre os principais aditivos aplicados em produtos alimentares estão os corantes. A *Food and Drugs Administration* (FDA) descreve “corantes alimentares” como “qualquer corante, pigmento ou substância que quando adicionada ou aplicada ao alimento, medicamento ou cosmético, ou ao corpo humano, é capaz (isoladamente ou através de reações com outras substâncias) de transmitir cor”. A *European Food Safety Authority* (EFSA) define “corantes alimentares” como “aditivos alimentares que são adicionados aos alimentos com objetivo de compensar a exposição à luz, ar, humidade, variação de temperatura, para melhorar as cores naturais e adicionar cor aos alimentos que de outra forma, seriam incolores ou coloridos de forma diferente” (FEKETEÁ; TSABOURI, 2017).

A cor é frequentemente associada ao fator qualidade. As principais razões para a adição de corantes em alimentos são: restaurar a cor natural perdida durante o processamento e armazenamento; reduzir a variação de cor de lote para lote; complementar a intensidade das cores naturais; dar cor a produtos incolores e gerar produtos aceitáveis e atraentes para o consumidor (DAMANT, 2011).

Existem duas classes distintas de corantes disponíveis para uso alimentar, os artificiais e os naturais. Os artificiais são sintetizados por via química e os naturais são extraídos de substâncias vegetais ou animais (ALMEIDA, 2017).

A indústria alimentar e a produção industrial de corantes têm ganho importância crescente nas últimas décadas. Toneladas de corantes artificiais e naturais são utilizadas todos os dias, principalmente para melhorar ou modificar a cor natural dos produtos. Os requisitos dos consumidores são elevados, exigem que os alimentos possuam cores agradáveis e contenham apenas ingredientes “naturais”. Além disso, há uma forte preferência por produtos produzidos biologicamente (por exemplo, carotenoides), em vez de pigmentos obtidos por via química (AGÓCS; DELI, 2011).

### **2.2.1. Corantes Artificiais**

Os corantes artificiais são compostos orgânicos com uma estrutura química contendo ligações duplas alternando com ligações simples ou anéis aromáticos simples ou conjugados e

compostos azoicos (BENTO; LIMA; PAIM, 2015). São amplamente utilizados para melhorar a atratividade de inúmeros alimentos, apesar de um grande número estar a ser sucessivamente substituído, e até proibido, na indústria alimentar. Os corantes com cores azul, na gama do vermelho a laranja, amarelo, verde e branco estão entre os corantes artificiais mais utilizados e estudados em termos de segurança, nomeadamente quanto a efeitos colaterais, toxicidade a curto, médio e longo prazo, bem como os impactos na saúde decorrentes do seu consumo. A sua aplicação em produtos alimentares é atualmente permitida pela FDA e EFSA, com doses de aceitação diária (*Acceptable Daily Intake*, ADI) já estabelecidas (MARTINS et al., 2016).

Em geral, os corantes artificiais podem ser classificados, tendo por base a sua solubilidade, em corantes hidrossolúveis e lipossolúveis. Alguns corantes solúveis em água, como o novo vermelho, carmin, amaranto, vermelho allura, eritrosina e amarelo do pôr-do-sol, são autorizados em aplicações alimentares, devido à sua forte capacidade de coloração, estabilidade e baixo custo. No entanto, muitos corantes azo podem ser convertidos em derivados perigosos no corpo humano; por exemplo, o carmin, o vermelho allura e o amarelo pôr-do-sol podem ser reduzidos a aminas aromáticas por bactérias anaeróbicas do trato intestinal humano, o que pode causar dor de cabeça frequente para adultos e distração e hiperatividade em crianças. A maioria dos corantes solúveis em meio lipídico (por exemplo, o corante de sudão e a rodamina B) e os seus metabolitos têm efeitos cancerígenos, teratogénicos e mutagénicos e, portanto, não são permitidos para adição em alimentos, nem em complexos que promovam o sabor. Para evitar o uso excessivo de corantes solúveis em água, alguns países e regiões têm leis e regulamentos para limitar a pureza, usos e quantidades permitidas em alimentos e bebidas (TANG et al., 2014).

Na Tabela 1 encontram-se alguns exemplos de corantes artificiais, aplicados em alimentos, respetivo código E e DDA (Dose Diária Aceitável).

**Tabela 1.** Exemplos de corantes artificiais utilizados em alimentos (Fonte: Martins et al., (2016)).

<b>Corante</b>	<b>Código E</b>	<b>DDA (mg/kg massa corporal)</b>	<b>Aplicações</b>
<b>Índigo-carmim</b>	E132	5	Sorvetes, doces, produtos cozidos, confeitaria e biscoitos
<b>Ácido carmínico</b>	E120	5	Bolos, biscoitos, bebidas, geleias, gelatinas, sorvetes, salsichas, tortas, peixe seco, iogurte, gelatina, cidra, tomate, produtos lácteos, cervejas, bebidas não gaseificadas
<b>Amarelo pôr-do-sol</b>	E110	2,5	Bebidas não alcoólicas, doces, gelatinas
<b>Verde S</b>	E142	5	Conservas de ervilhas, misturas de bolo, gelatina de hortelã e molhos
<b>Dióxido de titânio</b>	E171	Não especificado	Confeitaria, produtos sujeitos a cozedura em forno, queijos, gelo, coberturas diversas

### **2.2.2. Corantes Naturais**

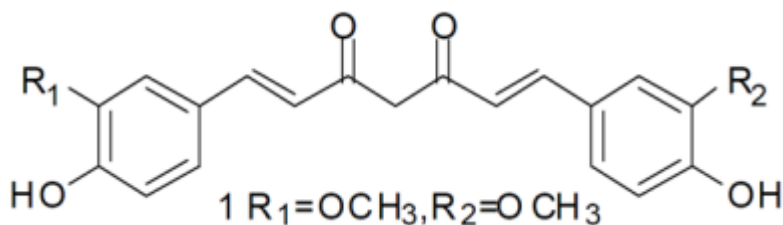
Dado o crescente interesse por parte dos consumidores por produtos naturais e ingredientes alimentares mais seguros, sem efeitos colaterais tóxicos e até mesmo promotores de saúde, o estudo de novas formulações, mais efetivas e seletivas, para abastecer a indústria alimentar tem sido alvo de desenvolvimento.

Os corantes naturais são obtidos de três fontes principais, entre elas: plantas (folhas, flores e frutos), animais (insetos) e microrganismos (fungos e bactérias) (MENDONÇA, 2011). Estes têm-se revelado mais eficazes, quanto a benefícios de longo prazo, oferecem maior segurança e proporcionam benefícios para a saúde, ou seja, além de conferirem características sensoriais, atuam também como antioxidantes e conservantes, e por último, contribuem para conferir propriedades funcionais aos produtos alimentares (MARTINS et al., 2016).

A aplicação de cores naturais é a atual tendência de marketing devido à preocupação dos consumidores com a segurança dos corantes artificiais, reforçada por possíveis benefícios para a saúde, desde que o processo de extração seja adequado e não envolva agentes tóxicos. A substituição do artificial pelo natural, no entanto, é um desafio porque os corantes naturais geralmente são menos estáveis, mais caros, não são tão facilmente aplicáveis como as cores artificiais, requerendo de uma forma geral uma maior quantidade de material para obter um poder corante equivalente (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

### 2.2.2.1. Curcumina

A curcumina (1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil -1,6-heptadieno-3,5-diona) (Figura 1) é um composto fenólico hidrofóbico natural extraído do rizoma do açafrão da Índia (*Curcuma longa* L.). Pertencente à família Zingiberaceae, sendo utilizada desde há muito tempo como corante alimentar natural (cor amarelo-alaranjado) (SILVA, 2016).



**Figura 1.** Estrutura química da curcumina.

(Fonte: Adaptado de Silva, (2016))

O açafrão, também conhecido como cúrcuma, gengibre dourado ou açafrão da Índia, é uma espécie originária do sudeste asiático. É uma planta de pequeno porte que mede aproximadamente 1 m, composta de um rizoma principal com várias ramificações menores, todas marcadas com anéis de brácteas secas. Largamente cultivada nos países asiáticos, não se restringe apenas à alimentação, e hoje está presente em diversas áreas da indústria, medicina, agricultura, etc. Quando cortados, os rizomas mostram uma superfície de cor vermelha alaranjada, proveniente da presença do pigmento curcumina como mostrado na Figura 2. Esta possui um cheiro forte, agradável e um sabor aromático e picante (DORNELLAS, 2016).



**Figura 2.** Açafraão da Índia. Disponível em: [http://www.colormaker.com/natural-ingredients\\_turmeric](http://www.colormaker.com/natural-ingredients_turmeric) Consultado em: 14/12/2017.

A curcumina tem uma longa história na tradição asiática, especialmente na chinesa e indiana, devido às suas inúmeras atividades biológicas. Diversos estudos têm comprovado uma extensa gama de propriedades, tais como efeitos antimicrobianos (DUBEY et al, 2008; FENG et al, 2012; GÓMEZ-ESTACA et al., 2017; GOVINDARAJ et al., 2014; LAL et al., 2013), anti-inflamatórios (DUVOIX et al., 2005; FADUS et al., 2017), anticancerígeno (DARWISH et al., 2017), antiprotozoários (GOVINDARAJ; KANDASUBRAMANIAN; KODAM, 2014), antisépticos (DUVOIX et al., 2005), quimiopreventivos (DUVOIX et al., 2005), anti-Alzheimer, anti-HIV, antimalária, antidiabetes (LAL et al., 2013), antiamilóide (FENG; SONG; ZHAI, 2012), anti-úlceras, imunomoduladores, neuroprotetores (KHAN; RATHOD, 2014), cicatrizantes (DUBEY et al., 2008; KHAN; RATHOD, 2014; LAL et al., 2013) e anti-envelhecimento (DUBEY et al., 2008; KHAN; RATHOD, 2014).

### **2.3. Principais problemas de aplicação dos corantes naturais**

Alguns fatores externos interferem na estabilidade da cor dos alimentos reduzindo a sua atratividade, nomeadamente a temperatura, luz, ar/oxigênio, pH, solventes, materiais de embalagem e condições de armazenamento. No que respeita aos corantes naturais, ao nível industrial têm sido aplicadas várias técnicas para otimizar a sua extração, visando garantir a sua

estabilidade nos alimentos, evitando a perda de cor e o aparecimento de características desagradáveis (MARTINS et al., 2016). No entanto, estes problemas subsistem, tal como se pode observar na Tabela 2 onde se listam as suas principais aplicações e problemas de estabilidade associados.

**Tabela 2.** Exemplos de corantes naturais utilizados em alimentos e principais problemas de estabilidade.

Corante	Código E	Aplicações	Problemas de estabilidade	Referências
<b>Antocianinas</b>	E163	Pães, Bolos, Biscoitos Bebidas, Doces, Gomas de mascar, Iogurtes, Molhos, Refrigerantes, Gelatina doce, Confeitaria e Produtos lácteos.	Fatores externos: pH, temperatura, humidade, salinidade, stress oxidativo e condições de armazenamento.	Martins et al., (2016)
<b>Betalaina</b>	E162	Leite, Sorvete, Biscoito, Confeções gelatinosas.	Fatores intrínsecos: Estrutura química e conteúdo de pigmento. Fatores externos: Temperatura, atividade da água, pH, presença de catiões, agentes quelantes, luz, oxigénio, radicais livres, sistema de solventes.	Celli; Brooks, (2016); Martins et al., (2016)
<b>Carotenoides</b>	E160	Manteigas e Margarinas, bolos, produtos lácteos, Refrigerantes.	Fatores intrínsecos: Componentes químicos Fatores extrínsecos: Temperatura, luz e oxigénio.	Martins et al., (2016); Silva et al., (2017)
<b>Curcumina</b>	E100	Bebidas, caril, mostarda, queijos, gelados, iogurtes e margarina.	Fatores extrínsecos: Baixa solubilidade em água e suscetibilidade a condições alcalinas, luz, oxidação e calor.	Almeida, (2017)

#### 2.4. Soluções para uma aplicação efetiva dos corantes naturais

A indústria alimentar tem feito um esforço para disponibilizar alimentos que, para além da sua função vital, possam ter uma vertente funcional. Uma das estratégias passa pela incorporação de compostos bioativos em alimentos durante a sua produção, tais como curcumina, carvacrol, retinol,  $\alpha$ -tocoferol, resveratrol, quercetina,  $\beta$ -caroteno e minerais (ex.

ferro, cálcio). No entanto, as tecnologias e os processos utilizados pela indústria alimentar para a incorporação desses compostos bioativos em alimentos não têm sido muito eficazes; muitas vezes estes compostos apresentam problemas relacionados com solubilidade, degradação, agregação, coalescência e interação com as matrizes alimentares, que fazem com que o seu efeito funcional seja diminuído e até mesmo perdido antes de chegar ao consumidor (PINHEIRO; CERQUEIRA; VICENTE, 2013).

De acordo com Dias, Ferreira e Barreiro (2015) a encapsulação é definida como uma técnica capaz de superar problemas relacionados com o processamento, biodisponibilidade e características organoléticas de compostos bioativos, possibilitando a incorporação destas substâncias em matrizes alimentares. Adicionalmente, e de acordo com Đordevic, (2014), um sistema eficiente para a encapsulação e transporte de um composto bioativo, bem como para a incorporação em matrizes alimentares, deve apresentar as seguintes características:

(1) ser formulado com ingredientes de preferência naturais, adequados para o consumo humano e através de sistemas isentos de solvente;

(2) proporcionar a incorporação de compostos bioativos estáveis, física e quimicamente, às matrizes alimentares, sem alterar as características organoléticas do produto;

(3) evitar ou minimizar a interação do composto encapsulado com outros ingredientes do alimento, além de o proteger de fatores como luz, temperatura, oxigénio e pH extremos;

(4) maximizar a absorção do composto encapsulado e garantir a libertação controlada como resposta a estímulos ambientais específicos;

(5) ser de fácil aplicação à escala industrial.

A escolha do método mais adequado para a encapsulação depende do tipo de material ativo, da aplicação pretendida e do mecanismo de libertação desejado para a sua ação. Existem diferentes métodos de encapsulação, que dependem da forma como o material é colocado/formado para proteger o princípio ativo. Estes podem ser subdivididos em métodos físicos, químicos ou físico-químicos.

Entre as técnicas utilizadas para encapsulação utilizando como material encapsulante lípidos sólidos, destacam-se as técnicas listadas na Tabela 3, onde também se incluem as vantagens e desvantagens da sua utilização.

**Tabela 3.** Comparação de vários processos utilizados para preparação de partículas lipídicas sólidas. (Fonte: Adptado de Ganesan; Narayanasamy (2017)).

<b>Técnica</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Homogeneização a alta pressão</b>	Técnica de dispersão muito eficaz.	Envolve grandes consumos de energia.
<b>Homogeneização a alta pressão a quente</b>	Escalável, disponibilidade comercial.	Degradação dos materiais induzida pela temperatura, cristalização da nanoemulsão provocando várias modificações e fusões em temperaturas elevadas.
<b>Homogeneização a alta pressão a frio</b>	Não há degradação dos princípios ativos induzida por temperatura ou modificação cristalina.	Não reportado.
<b>Técnica da microemulsão</b>	Baixo consumo de energia e estabilidade teórica.	Produção de nanopartículas com baixa concentração e mão-de-obra intensiva necessária para o trabalho de formulação.
<b>Método da emulsificação – evaporação do solvente</b>	A emulsificação (ou difusão) das gotículas seguida pela evaporação do solvente que leva à precipitação destas como partículas.	Tamanho de partícula pequeno ( $\leq 24$ nm), formação de um sistema com baixa viscosidade, baixo consumo de energia. Os lípidos são dissolvidos num solvente imiscível com água, por exemplo, ciclo-hexano, clorofórmio. Adequada para fármacos termolábeis.
<b>Método de deslocamento de solvente/injeção de solvente</b>	Fácil manuseio e processo de produção rápida, os lípidos são dissolvidos num solvente miscível com água (por exemplo etanol, metanol e acetona) sem usar equipamento sofisticado (homogeneizador de alta pressão).	Não reportado.

**Tabela 3.** Comparação de vários processos utilizados para preparação de partículas lipídicas sólidas. (Fonte: Adptado de Ganesan; Narayanasamy (2017)).

(CONTINUAÇÃO)

<b>Técnica</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Emulsificação por membrana</b>	Produção em grande escala, facilidade de uso, controle de tamanho. Neste caso, a fase lipídica é forçada através dos poros da membrana formando pequenas gotículas. Sob arrefecimento à temperatura ambiente, estas gotículas solidificam resultando na formação de nanopartículas lipídicas.	Obstrução da membrana.
<b>Técnica de inversão de fases</b>	Baixo consumo de energia.	A incorporação de moléculas adicionais influencia o fenómeno de inversão e instabilidade da emulsão.
<b>Técnica de coacervação</b>	Adequado para fármacos lipofílicos (por solubilização na solução micelar após coacervação), não utiliza solvente, não necessita de técnicas sofisticadas, simples para ampliar escala.	Não é adequado para princípios ativos sensíveis ao pH.
<b>Técnica de arrefecimento de microemulsão</b>	Este método é reproduzível, simples e fácil de ampliar a escala; em geral, todos os ingredientes utilizados são biocompatíveis; não são utilizados solventes orgânicos.	Não reportado.
<b>Atomização por <i>Spray Chilling</i></b>	Produz pós finos de baixa densidade e não aglomerados. Condições operacionais adequadas para a preparação de partículas lipídicas micrométricas.	Não reportado.

**Tabela 3.** Comparação de vários processos utilizados para preparação de partículas lipídicas sólidas. (Fonte: Adptado de Ganesan; Narayanasamy (2017)).

(CONTINUAÇÃO)

Técnica	Vantagens	Desvantagens
<b>Método do fluido supercrítico</b>	As partículas são obtidas como um pó seco, evita o uso de solventes; preferencial em relação às suspensões, condições de temperatura e pressão moderadas, dióxido de carbono em condições supercríticas é uma boa escolha como solvente.	Método caro.
<b>Método da emulsificação/difusão do solvente</b>	A emulsificação (ou difusão) das gotículas seguido pela evaporação do solvente leva à precipitação na forma de partículas.	Os lípidos são dissolvidos num solvente parcialmente miscível (álcool benzílico, tetra-hidrofurano), baixo grau de dispersão, instabilidade da emulsão, insolubilidade de certos lípidos em solventes orgânicos, requer procedimento adicional de remoção de solvente, toxicológico (solvente residual).

Relativamente à proteção do composto encapsulado quanto à temperatura, destacam-se as partículas sólidas lipídicas. Guimarães-Inácio et al. (2018) avaliaram o óleo de chia encapsulado com cera de carnaúba tendo obtido um ganho na estabilidade térmica e uma menor oxidação. De realçar ainda que a cera de carnaúba é um material encapsulante promissor, uma vez que é aceite em formulações alimentares, pois é classificado como “Geralmente Aceite como Seguro” (*Generally Recognized as Safe*, GRAS). Este material pode então ser considerado como uma possibilidade para a proteção da curcumina, porém é necessário realizar estudos adicionais para que seja possível fazer uma melhor avaliação, nomeadamente quanto à possibilidade de utilização de sistemas mistos (misturas de lípidos).

### 2.4.1. Partículas lipídicas sólidas

No contexto da encapsulação, as partículas lipídicas sólidas apresentam-se muito promissoras como sistemas coloidais para libertação de compostos bioativos (BEHBAHANI et al., 2017). Estas têm sido desenvolvidas com o objetivo de encapsular, proteger e liberar componentes funcionais lipofílicos, tais como bioativos lipídicos e substâncias hidrofóbicas.

Os lípidos utilizados são sólidos à temperatura ambiente, podendo também ser compostos por uma mistura de lípidos sólidos e líquidos. São biológicos e biodegradáveis garantindo uma baixa toxicidade do sistema (KATOUZIAN et al., 2017).

Os lípidos sólidos geralmente utilizados incluem o Compritol888, monoestearato de glicerila, palmitoesterato de glicerila, ácido esteárico entre outros (ZHUANG et al., 2010). Os lípidos líquidos compreendem principalmente óleos digestíveis. Existem dois tipos de lípidos líquidos utilizados na preparação de partículas lipídicas sólidas, os óleos saturados, tais como triglicerídeos de cadeia média, óleo de parafina, palmitato isopropilo e ácido cáprico / caprílico; e óleos insaturados como ácido oleico, esqualeno, óleos vegetais e de sementes (FANG; AL-SUWAYEH; FANG, 2013). Os triglicerídeos de cadeia média possuem grande estabilidade à oxidação, porém a sua incorporação em formulações saudáveis (como alimentos funcionais) pode ser problemática devido ao seu nível de saturação. Óleos saturados podem elevar os níveis de colesterol no sangue e levar a doenças cardiovasculares. Por outro lado, essas partículas podem ser formuladas por alguns ácidos gordos saudáveis, como os ácidos oleico e linoleico, sendo estes mais suscetíveis à oxidação quando comparados com triglicerídeos ricos em ácidos gordos insaturados (DINICOLANTONIO; LUCAN; O'KEEFE, 2016). O miglyol 812 é um triglicerídeo de cadeia média muito utilizado como lípido líquido em partículas lipídicas sólidas. Este óleo possui uma estrutura semelhante à de alguns lípidos sólidos, como o Compritol888, podendo ser facilmente combinado com eles na fase interna (DINICOLANTONIO; LUCAN; O'KEEFE, 2016). Na literatura encontram-se diversos exemplos de encapsulação por partículas lipídicas sólidas, alguns desses exemplos estão listados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Exemplos de compostos bioativos encapsulados por partículas lipídicas sólidas na área alimentar.

<b>Composto Bioativo</b>	<b>Referência</b>
<b>Beta Caroteno</b>	Hejri et al., (2013)
<b>Astaxantina</b>	Tamjidi et al., (2014)
<b>Rutina</b>	Babazadeh; Ghanbarzadeh; Hamishehkar, (2016)
<b>Terpenos</b>	Lason et al., (2016)
<b>Curcumina</b>	Behbahani et al., (2017)
<b>Luteína</b>	Liu et al., (2010)

### 2.4.1.1. Exemplos de lípidos sólidos utilizados como materiais encapsulantes

#### 2.4.1.1.1. Cera de Carnaúba

A cera de carnaúba é um produto natural extraído da *Copernicia cerifera*, composta quase inteiramente de ésteres de ácidos gordos com tamanho de cadeia entre C<sub>24</sub> e C<sub>28</sub>, ácidos carboxílicos com cadeias carbonicas C<sub>32</sub> e C<sub>34</sub> e álcoois primários de cadeia linear. Quando comparada com outras ceras (como a cera de abelha), a cera de carnaúba é significativamente menos viscosa (e, portanto, mais fácil de manipular durante o processamento de encapsulamento), mais elástica e mais resistente às deformações. Nos alimentos, é usado como aditivo de formulações, lubrificante, agente de libertação, agente antiaglutinante e de acabamento superficial em alimentos cozidos e misturas, chiclete, confeções, sorvetes, frutas e sumos frescos, molhos e sumos processados. As ceras são também usadas extensivamente como transportadoras para vários tipos de drogas em aplicações farmacêuticas (MILANOVIC et al., 2010).

O ponto de fusão da cera de carnaúba é o mais elevado de todas as ceras vegetais. Tem sido utilizada numa ampla variedade de produtos, incluindo cosméticos, graxas, produtos alimentares e na indústria do papel. Adicionalmente, a cera de carnaúba é utilizada como aditivo de outras ceras tais como a cera de abelha visando o aumento do ponto de fusão, permitindo ampliar o espectro de aplicação (HARRON et al., 2017).

Na indústria alimentar, é utilizado como componente minoritário em coberturas para doces, gomas e revestimentos de frutas. A cera de carnaúba é solúvel na maioria dos solventes orgânicos polares. Contém ésteres (84-85%), ácidos livres (3-3,5%), resinas (4-6%), álcoois (2-3%) e hidrocarbonetos (1,5-3,0%). Tipicamente, a carnaúba tem um índice de acidez de 2,9-9,7, éster de 39-55, saponificação de 79-95, iodo de 7-14 e uma faixa de fusão na gama 78-85°C (O'KEEFE, 2008).

Milanovic et al., (2010) utilizaram a cera de carnaúba para encapsular, por difusão a quente, compostos aromáticos, tais como etilvanilina, para melhorar a funcionalidade do aroma e garantir proteção à evaporação destes princípios ativos voláteis durante o processamento de alimentos.

A escolha da cera de carnaúba para o desenvolvimento do presente trabalho deve-se à sua baixa viscosidade e ao facto de o seu ponto de fusão (78-85°C) ser apropriado para o uso no equipamento previsto para a preparação das partículas (*spray-congealing*), além de ser um componente utilizado na indústria alimentar como agente de liberação de princípios ativos.

#### **2.4.1.1.2. Cera de Abelha**

A cera de abelha é um produto complexo, segregado na forma líquida por glândulas especiais presentes no abdômen de abelhas trabalhadoras jovens (idades entre 12 e 18 dias), ou seja, no final do período em que estas atuam como enfermeiras, época em que protegem a colmeia de epidemias, produzindo substâncias medicinais acrescidas ao mel. Resiste à ação dos ácidos e sucos gástricos de abelhas e é insolúvel em água e álcool a frio; dissolvendo-se parcialmente em álcool em ebulição e completamente em clorofórmio, dissulfureto de carbono e essência de turpentina quente. A sua densidade a 15°C é de 0,960-0,970 kg/m<sup>3</sup> e a sua temperatura de fusão está compreendida entre 63,5- 64,5°C (FRATINI et al., 2016).

A cera de abelha é uma mistura complexa (mais de 300 componentes) de hidrocarbonetos, ésteres de ácidos gordos e álcoois, diésteres e substâncias exógenas. A cera de abelha é composta por: hidrocarbonetos (12-16%), ácidos gordurosos livres (12-14%), álcoois livres (cerca de 1%), monoésteres lineares e monoésteres de hidroxilo (35%-45%), cera complexa de ésteres (15-27%). A composição da cera de abelha pode variar entre as diferentes famílias e raças de abelhas, porque a produção está intimamente relacionada com a sua genética (FRATINI et al., 2016).

Kheradmandniak et al., (2010) desenvolveram nanoencapsulados de cetoprofeno a partir de uma mistura de cera de abelha e cera de carnaúba utilizando Tween 80 e lecitina de ovo como emulsionantes tendo-se concluído que o uso de cera de abelha em combinação com cera de carnaúba levou a uma diminuição no tamanho das partículas, comparativamente à utilização das duas ceras isoladamente.

Soleimanian et al., (2018) desenvolveram partículas lipídicas sólidas, com base na combinação de ceras naturais (cera de abelha e cera de própolis) e óleo de semente de romã, para posterior aplicação na indústria alimentar. As partículas produzidas foram consideradas como um sistema de transporte eficiente, saudável e promissor para aplicação alimentar, em virtude dos benefícios para a saúde demonstrados pelo óleo de semente de romã e pela cera de

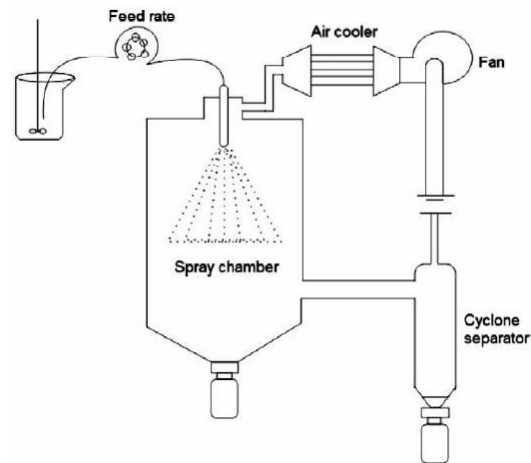
própolis, que possuiu também capacidade antioxidante e antibacteriana. As partículas foram obtidas com uma eficiência de encapsulação elevada devido à composição complexa da matriz lipídica, adicionalmente a uma estabilidade física elevada.

A escolha da cera de abelha para a produção das micropartículas a desenvolver no presente trabalho deve-se às vantagens que esta oferece para a microencapsulação de princípios ativos, além de apresentar um ponto de fusão considerado apropriado para o presente estudo (63,5-64,5°C) (FRATINI et al., 2016).

#### **2.4.2. Encapsulação por *Spray Congealing***

A técnica de *spray congealing* garante inúmeras vantagens quando comparada a outras técnicas tradicionais, uma vez que é segura, rápida, económica e ecologicamente correta, pois dispensa o uso de quaisquer tipos de solventes, sejam eles aquosos ou orgânicos. O *spray congealing* é definido como um processo pelo qual há formação de micropartículas a partir da pulverização do princípio ativo dissolvido ou disperso num material encapsulante fundido (geralmente 10°C acima do ponto de fusão do material encapsulante), numa câmara de arrefecimento onde as gotículas pulverizadas, após contacto com o ar frio, solidificam resultando na formação das micropartículas (MCCARRON; DONNELLY; AL-KASSAS, 2008). É um método conveniente para transformar matérias-primas fundidas em partículas de tamanho controlado, sendo uma técnica rápida produzindo partículas numa única etapa (PASSERINI et al., 2006).

A técnica de *spray congealing* é semelhante à de *spray drying*, sendo os princípios básicos de funcionamento similares. Dessa forma, o mesmo equipamento pode ser utilizado desde que sejam feitas algumas adaptações (Figura 2), uma vez que o fluxo de energia é diferente. No *spray drying* o calor aplicado provoca a evaporação do solvente presente nas gotículas, ou seja, o calor é transportado do ar quente para as gotas atomizadas. Já no *spray congealing*, o ar arrefecido remove calor das gotículas quentes, levando à solidificação do veículo fundido (NOSARI, 2012).



**Figura 3.** Esquema das adaptações feitas no *spray dryer* para o uso da técnica de *spray congealing*. (Fonte: Okuro; Eustáquio de matos; Favaro-Trindade, (2013)).

Existem inúmeras variáveis que podem influenciar o processo de produção das micropartículas por *spray congealing*, sendo que as mais importantes são as seguintes: temperatura do material fundido, temperatura do ar de refrigeração, pressão e temperatura do gás de atomização e o caudal de alimentação ao atomizador (ILIC<sup>Ć</sup> et al., 2009).

Alguns exemplos da aplicação da técnica de *spray congealing*, assim como os parâmetros processuais utilizados, estão descritos na Tabela 5.

**Tabela 5.** Aplicações da técnica de *Spray Congealing* e respectivos parâmetros de processo.

Princípio ativo	Encapsulante	Composição	Condições de atomização	Referências
<b>Ácido Ascórbico</b>	Óleo de palma totalmente esterificado e monoestearato de glicerila vegetal 90	Ácido ascórbico: 15, 25 e 40% (w/w) MGV e OP: 85, 75 e 60% (w/w)	T <sub>e</sub> MGV 90: 89,51°C T <sub>e</sub> OP: 74,02°C Pressão: 4bar T <sub>a</sub> : 100°C Fluxo de ar aberto T <sub>s</sub> : 22°C	Matos-Jr et al., (2015)
<b>Grânulos contendo Praziquantel e lactose monohidratada</b>	Gelucire 50/13 E.P.	Grânulos de Praziquantel: 5, 10, 20 e 30% (w/w) Gelucire 50/13 E.P.: 95, 90, 80 e 70% (w/w)	T <sub>e</sub> do encapsulante Gelucire 50/13 E.P: 10°C acima do ponto seu ponto de fusão T <sub>a</sub> : 70°C T <sub>s</sub> : temperatura ambiente	Passerini et al., (2006)
<b>Ácido Ascórbico</b>	Lecitina de soja e cera de abelha	Várias concentrações de lecitina de soja, cera de abelha e ácido ascórbico.	T <sub>e</sub> do encapsulante: 65 ou 90°C Pressão: 2,2 kgf/cm <sup>2</sup> T <sub>s</sub> : 13 ± 1 °C Caudal: 50 mL/min	Paucar et al., (2016)
<b>Mistura de Licopeno e Óleo de girassol</b>	Gorduras	6 formulações diferentes, algumas com adição de goma arábica.	T <sub>e</sub> do encapsulante: 60°C Pressão: 1.0 kgf/cm <sup>2</sup> Caudal: 40 mL/min T <sub>ar</sub> : 13°C	Pelissari et al., (2016)
<b>Ácido Ascórbico</b>	Ácido Esteárico e gordura vegetal hidrogenada	Ácido Ascórbico: 20% (w/w) Ácido Esteárico: 40% (w/w) Gordura Vegetal Hidrogenada: 40% (w/w)	T <sub>e</sub> do encapsulante: 70°C Caudal: 12 mL/min T <sub>s</sub> : 15 ± 2°C	Alvim et al., (2016)

**Legenda** - MGV: Monoestearato de Glicerila Vegetal 90, OP: Óleo de Palma totalmente esterificado, T<sub>ar</sub>: Temperatura do ar de atomização, T<sub>a</sub>: Temperatura de atomização, T<sub>e</sub>: Temperatura de entrada, T<sub>s</sub>: Temperatura de solidificação, w/w: Massa do composto/massa total.

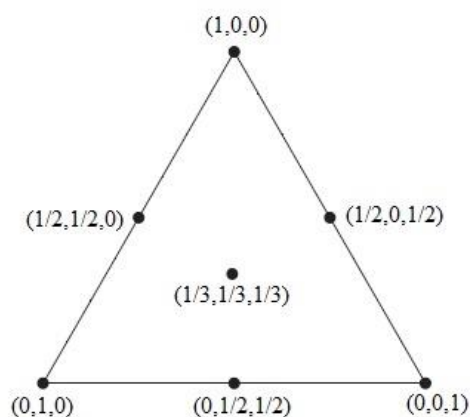
Não há relatos de trabalhos na literatura sobre encapsulação de corantes, tais como a curcumina, com lípidos pela técnica de *spray congealing*, destacando a importância do atual estudo.

## 2.5. Planeamento para a definição das misturas

As misturas são definidas como um conjunto de dois ou mais componentes, onde sua função está relacionada à proporção de cada componente. Um experimento com misturas utiliza proporções diferentes de cada componente, sendo a sua soma cem por cento (CORNELL, 2011). No delineamento para a definição de uma mistura experimental, a quantidade total dos componentes é mantida constante, sendo que a resposta depende das proporções relativas dos componentes (ingredientes) na mistura e não da quantidade da mistura (RAO; BARAL, 2011).

Os métodos estatísticos, em particular o delineamento de superfície de resposta, têm sido usados em ciência dos alimentos para explorar os efeitos das variáveis de processo sobre as respostas específicas de um sistema. Na criação de misturas, a utilização de modelos tais como o *Simplex-Centroid*, permite investigar os efeitos sinérgicos ou antagonistas dos componentes da mistura nas variáveis de resposta (CORNELL, 2002; HANDA et al., 2016).

O termo simplex refere-se à forma geométrica de um triângulo quando em duas dimensões e tetraedro quando em três dimensões. O *Simplex-Centroid* é distribuído de forma mais uniforme no interior do triângulo e ajuda a detetar a curvatura de superfície de resposta, como mostra a Figura 3 (ABDULLAH; CHIN, 2010). De forma simplificada, *simplex* é o espaço experimental dimensional delimitado pelo número de componentes e sua proporção máxima e mínima pré-estabelecidas.



**Figura 4.** Design *Simplex-Centroid* para uma mistura ternária (Fonte: Adaptado de Jiao et al., (2018)).

Dentro do espaço *simplex* são montados planejamentos de experimentos que permitem a estimativa de modelos matemáticos que irão representar o comportamento do sistema de misturas, percorrendo todo o espaço experimental, ou seja, os resultados obtidos no planejamento de misturas devem tornar possível, através dos resultados obtidos, o ajuste da equação de regressão para Superfície de Resposta (SR) (REIS; ANDRADE, 1996).

O objetivo do modelo *Simplex-centroid* é o de avaliar as respostas associadas a cada ingrediente separado, a cada par de ingredientes (em proporções iguais), a cada trio de ingredientes (também em proporções iguais); e assim, sucessivamente (CORNELL; DENG, 1982; DUTCOSKY et al., 2006).

Muitas vezes pode haver restrições adicionais, de valores mínimos associado a cada componente da mistura. Ou seja, a região experimental não cobre todo o espaço *simplex*, mas apenas um subespaço do mesmo. Nestes casos, os componentes originais são representados através de pseudocomponentes ( $X_i'$ ) (CORNELL, 2011).

Para misturas onde um ou mais componentes possuem limites inferiores ( $L_i$ ), tal que  $L_i \leq X_i \leq 1$ , onde  $X_i$  indica a proporção do  $i$ -ésimo componente, com  $i = 1, 2, \dots, q$ , onde  $q$  indica o número de componentes da mistura, a transformação para pseudocomponentes é dada pela Equação 1, onde  $L$  representa o somatório das restrições de limites inferiores e é dado pela Equação 2.

$$X_i' = \frac{X_i - L_i}{1 - L} \quad \text{Equação (1)}$$

$$L = \sum_{i=1}^q L_i < 1 \quad \text{Equação (2)}$$

Para a análise da superfície de resposta existe um grupo de técnicas matemáticas e estatísticas usadas com a finalidade de construir um modelo funcional de relação entre a resposta de interesse e as variáveis independentes. Esse modelo torna possível a análise de como, e quanto, cada variável influencia cada resposta, sendo assim possível maximizar ou minimizar cada resposta, de acordo com o interesse. Os modelos utilizados são os polinômios canônicos de *Scheffé*, usados especificamente para experimentos utilizando misturas. De forma

geral as formas canônicas ou os modelos de regressão para misturas são: Linear, quadrático, cúbico completo e cúbico especial (BOX; DRAPER, 2007; MYERS; ANDERSON-COOK, 2009).

Os modelos de misturas de três componentes (ou misturas ternárias) podem ser obtidos através da ampliação do modelo de misturas binárias. Nas Equações 3, 4 e 5 estão representados os modelos matemáticos linear, quadrático e cúbico especial, respectivamente.

$$Y = b_0 + b_1.X_1 + b_2.X_2 + b_3.X_3 \quad \text{Equação (3)}$$

$$Y = b_1.X_1 + b_2.X_2 + b_3.X_3 + b_{12}.X_1.X_2 + b_{13}.X_1.X_3 + b_{23}.X_2.X_3 \quad \text{Equação (4)}$$

$$Y = b_1.X_1 + b_2.X_2 + b_3.X_3 + b_{12}.X_1.X_2 + b_{13}.X_1.X_3 + b_{23}.X_2.X_3 + b_{123}.X_1.X_2.X_3 \quad \text{Equação (5)}$$

Onde:

- Y*** - Resposta avaliada com o modelo matemático;
- b<sub>0</sub>*** - Interceção;
- b<sub>i</sub>*** - Coeficiente linear do componente i;
- b<sub>ij</sub>*** - Coeficiente de interação binário;
- b<sub>ijk</sub>*** - Coeficiente de interação ternária
- X<sub>i</sub>*** - Proporção do componente i na mistura.

Na determinação de qual o modelo que descreve adequadamente os dados experimentais, inicialmente é necessário que os coeficientes destas equações sejam determinados por análise de regressão. Em seguida, através da análise de variância (ANOVA) verifica-se cada fator do modelo (componentes individuais, interações binárias e interações ternárias) definindo-se assim a composição da equação, sendo mantidos os coeficientes significativos para a resposta e eliminados os coeficientes não significativos. Em paralelo analisam-se os coeficientes de regressão ( $R^2$ ) e de regressão ajustado ( $R^2_{\text{adj}}$ ) que permitem interpretar a medida da correlação da resposta com as variáveis. Com a eliminação dos fatores que não apresentam influência no modelo, os valores de  $R^2_{\text{adj}}$  devem aproximar-se de 1. Quando o melhor conjunto de coeficientes é definido, o teste de falta de ajuste pode ser utilizado quando existem observações repetidas que permitem obter a estimativa de erro aleatório. Essa

estimativa permite julgar se o modelo apresenta o número de observações de modo satisfatório, ou a necessidade de acrescentar mais termos ao modelo. Então, a avaliação dos resíduos, que representam o erro experimental do modelo ajustado, é feita para detectar graficamente desvios considerados fora da normalidade do erro experimental e pontos fora da tendência. Finalmente, a superfície de contorno pode ser representada (SMITH, 2005).

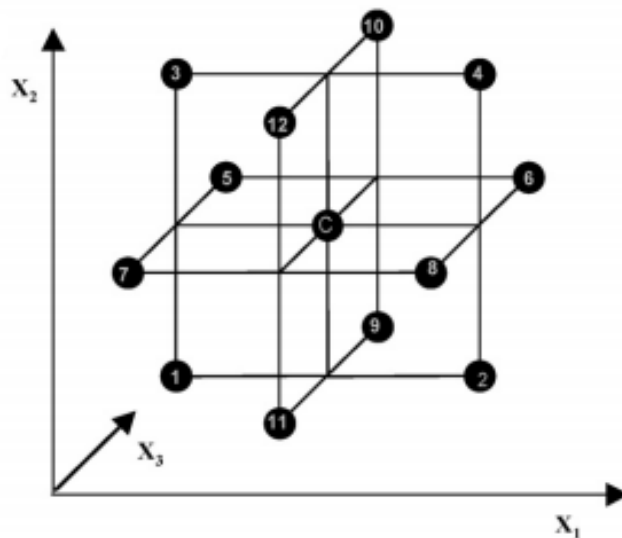
O planejamento de misturas tem sido utilizado na área alimentar para otimizar composições alimentares visando a redução de gordura (NIKZADE; TEHRANI; SAADATMAND-TARZJAN, 2012), obtenção de sucos ricos em antioxidantes (KIM; KO; LIM, 2017) e melhoria do valor nutricional de alimentos processados (RYTZ et al., 2017). A aplicação do planejamento de misturas pode visar também a otimização de processos, onde a composição do meio defina as características do produto final, como na produção de L-asparginase por fermentação sólida (DIAS et al., 2015), onde os autores avaliaram a composição do substrato fermentativo, composto por quatro matrizes: farelo de trigo, resíduo de grãos de soja, resíduo de semente de algodão e casca de laranja. Zanela et al., (2015) avaliaram o efeito da composição de embalagens alimentares compostas por poli(álcool vinílico), amido e glicerol, nas propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor d'água.

Ainda na área alimentar, encontra-se um estudo feito por Gomes et al., (2018), que desenvolveram modelos para avaliar misturas com combinações de amidos de três fontes vegetais diferentes, ervilha (*Pisum sativum* L.), arroz (*Oryza sativa*) e mandioca (*Arracacia xanthorrhiza*), nas propriedades de gelificação por avaliação das curvas de DSC (temperatura inicial (*onset*), temperatura máxima, temperatura final e entalpia da gelificação). Os autores observaram que houve um aumento na entalpia de gelificação quando a mistura possuía proporções superiores de mandioca e um decréscimo decorrente da interação dos três amidos. Já em relação às temperaturas (inicial, máxima e final) de gelificação obtidas a partir da curva obtida por DSC, houve um aumento nas misturas com concentrações superior de amido de arroz e uma diminuição em misturas que continham concentrações superiores de amido de arracacia.

A avaliação do ponto de fusão e de solidificação de misturas lipídicas, como as compostas por cera de abelha e cera de carnaúba, pode ser avaliada através de um planejamento de misturas, garantindo o estado sólido das micropartículas de curcumina à temperatura ambiente.

## 2.6. Delineamento *Box-Behnken*

O delineamento experimental *Box-Behnken* é definido como um delineamento fatorial incompleto obtido pela combinação de delineamentos fatoriais de dois níveis com delineamentos em blocos incompletos. Os pontos experimentais estão distribuídos de forma equidistante do ponto central como mostra a Figura 5. Neste delineamento as variáveis são estudadas nos níveis inferior (-1), central (0) e superior (+1). Ao menos três réplicas contendo o ponto central devem ser utilizadas para a estimativa do erro (BEZERRA et al., 2010; KAMMOUN; NAILI; BEJAR, 2008).



**Figura 5.** Representação do espaço experimental no Planejamento *Box-Behnken* (Fonte: Ferreira et al., (2007)).

O número de experimentos necessários para o desenvolvimento do planejamento *Box-Behnken* é definido através da Equação 6, onde  $N$  é o número de experimentos,  $k$  é o número de variáveis, e  $C_0$  é o número de pontos centrais (FERREIRA et al., 2007).

$$N = 2k(k - 1) + C_0 \quad (\text{Equação 6})$$

Para avaliar a adequação do modelo é realizado um teste de análise de variância (ANOVA) e uma equação de segundo grau é utilizada para estimar o efeito de cada variável e suas interações (Equação 7).

$$Y = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 + b_4 \cdot X_1 \cdot X_2 + b_5 \cdot X_1 \cdot X_3 + b_6 \cdot X_2 \cdot X_3 + b_7 \cdot X_1^2 + b_8 \cdot X_2^2 + b_9 \cdot X_3^2 \quad (\text{Equação 7})$$

Onde:

- Y** - Resposta avaliada com o modelo matemático;
- b<sub>0</sub>** - Interceção;
- b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>3</sub>** - Coeficientes lineares;
- b<sub>4</sub>, b<sub>5</sub>, b<sub>6</sub>** - Coeficientes de interações binárias;
- b<sub>7</sub>, b<sub>8</sub>, b<sub>9</sub>** - Coeficientes quadráticos;
- X<sub>i</sub>** - Proporção do componente i na mistura.

O planeamento *Box-Behnken* tem sido muito utilizado na área alimentar para diversos fins. Laqui-Vilca et al., (2018) avaliaram a influência da amplitude, ciclo e o tempo no processo de extração de betalaína por ultrassom, Sánchez et al., (2016) estudou a os efeitos das variáveis: pH, proporção do extrato de brócolis:material de parede e a concentração do material de parede na mistura reacional no processo de microencapsulação do extrato de brócolis, Gozé et al., (2016) induziram a oxidação de grãos de trigo por ozono e observaram a influência das variáveis taxa de humidificação, concentração de entrada de ozono e tempo de reação no processo. Fernández et al., (2016) otimizaram o processo de encapsulação do ácido polilático extraído de uva por emulsificação–evaporação do solvente avaliando o tempo de sonicação na formação da emulsão, quantidade de extrato de uva utilizado e concentração de agentes estabilizantes.

Neste contexto, o delineamento experimental *Box-Behnken* pode ser útil para predizer se parâmetros como a composição dos materiais de parede, o tempo e a temperatura podem influenciar o poder corante da curcumina e sua estabilidade, quando esta for incorporada numa matriz alimentar e submetida a processamento térmico.

## 2.7. Técnicas de caracterização

A caracterização de micropartículas é uma etapa importante do processo de encapsulação de compostos bioativos. Através de técnicas específicas é possível verificar se os

materiais obtidos são adequados ao fim pretendido. Geralmente são caracterizados aspectos como tamanho de partícula, distribuição do tamanho de partícula, potencial zeta, morfologia, fluidez, eficiência de encapsulação, e estabilidade térmica (KWAK, 2014).

O tamanho da partícula, bem como a sua distribuição são parâmetros importantes a aferir no processo de microencapsulação de compostos ativos uma vez que, dependendo do tamanho da partícula, é possível obter perfis de liberação diferentes, afetar a atividade do composto, bem como interferir na viscosidade do alimento onde as partículas são incorporadas (KWAK, 2014; PRISCO; MAURIELLO, 2016).

A morfologia da partícula é verificada através de métodos de microscopia, como por exemplo a microscopia eletrônica de varrimento (MEV) e microscopia ótica (MO). Esta análise é importante para aferir as propriedades globais dos sistemas coloidais, nomeadamente a forma das partículas. Adicionalmente, a MO é um método simples que pode ser muito útil na monitorização do processo de microencapsulação (KWAK, 2014).

Outras técnicas de grande interesse para a caracterização dos sistemas microencapsulados são a espectroscopia de infravermelhos (FTIR, Infravermelho por transformada de Fourier (do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) e a análises térmicas (Calorimetria de varrimento diferencial (DSC, do inglês *Differential Scanning Calorimetry*). (DI SABATINO et al., 2012; MASCHKE et al., 2007; MATOS-JR et al., 2015; PASSERINI et al., 2006).

Quando ao estudo da estabilidade da cor de corantes encapsulados, as análises colorimétricas são amplamente utilizadas tanto para caracterização das micropartículas em si como também as matrizes alimentares onde estas são incorporadas (ALMEIDA et al., 2018; BUTSTRAEN; SALAÛN, 2014).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

### 3.1. Materiais

A curcumina (80% de pureza) foi adquirida à Sigma-Aldrich. As ceras de abelha (100% de pureza, Acros Organics), carnaúba (100% de pureza, Acros Organics) foram usadas como encapsulantes sólidos, enquanto o miglyol 812 (mistura de ésteres de ácidos cáprico e caprílico, Oleochemicals) foi utilizado como lípido líquido. Para efeitos de matrizes alimentares com diferentes características hidrofílicas/lipofílicas selecionou-se queijo fundido, nata de culinária, manteiga, leite condensado, margarina vegetal líquida, iogurte natural com 0% de matéria gorda, iogurte natural, iogurte natural batido (tipo Grego) e maionese.

### 3.2. Planejamento experimental para a definição das misturas com temperatura de fusão e solidificação adequadas ao processo

O planejamento experimental do tipo *Simplex Centroid* foi aplicado considerando misturas ternárias dos lípidos definidos (cera de abelha, cera de carnaúba e miglyol) com o objetivo de encontrar as proporções que conduzam a soluções com pontos de fusão e solidificação próximos, e que garantam o estado sólido das micropartículas à temperatura ambiente. Para os ensaios definiram-se restrições de concentração mínima (40% de cera de abelha) e de concentração máxima (60% de miglyol). Tais limites foram definidos uma vez que quantidades superiores a esse limite para a cera de carnaúba tornam o ponto de fusão da mistura superior ao que pode ser utilizado no equipamento de *spray chilling*, e quantidades superiores a 60% de miglyol tornam a mistura pastosa e/ou líquida à temperatura ambiente. A matriz experimental dos pseudocomponentes foi obtida utilizando um *software* Statistica 7.0 (Statsoft) e encontra-se representada na Tabela 6, juntamente com os valores dos componentes originais, considerando que a massa total é igual a 1 g para todas as misturas. A Equação 1 foi utilizada para determinar os valores dos respectivos componentes originais da mistura a partir dos pseudocomponentes.

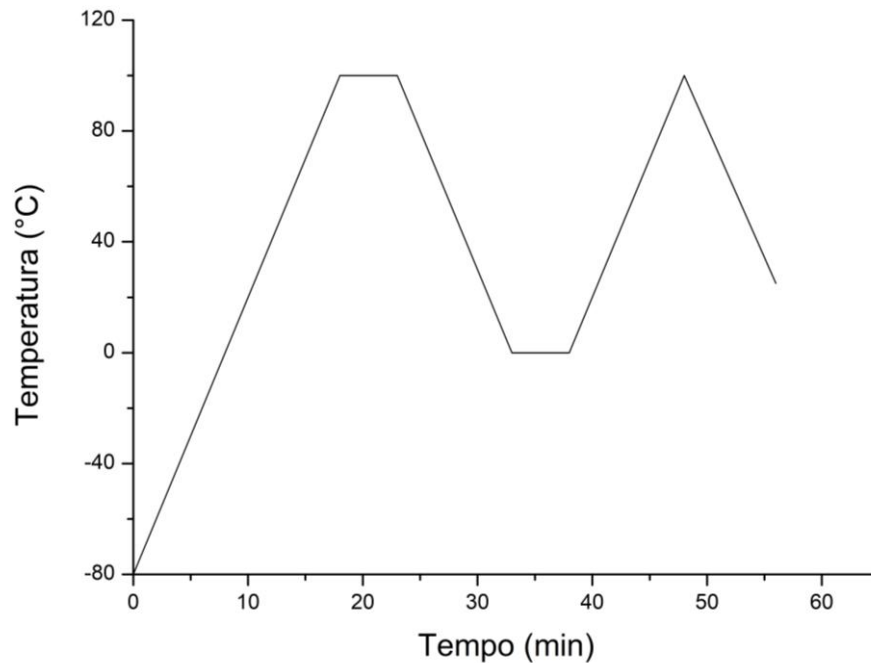
**Tabela 6.** Matriz experimental do planeamento de mistura tipo *Simplex-centroid* com grau 3. Pseudocomponentes:  $X_{CA}$ : fração mássica de cera de abelha;  $X_{CC}$ : fração mássica de cera de carnaúba;  $X_{Mi}$ : fração mássica de miglyol 812. Componentes originais: CA: cera de abelha; CC: cera de carnaúba e Mi: miglyol 812.

Experimento	Pseudocomponentes			Componentes originais		
	$X_{CA}$	$X_{CC}$	$X_{Mi}$	CA (g)	CC (g)	Mi (g)
1	1,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
2	0,0	1,0	0,0	0,4	0,6	0,0
3	0,0	0,0	1,0	0,4	0,0	0,6
4	0,5	0,5	0,0	0,6	0,4	0,0
5	0,5	0,0	0,5	0,6	0,0	0,4
6	0,0	0,5	0,5	0,4	0,2	0,4
7	0,7	0,3	0,0	0,8	0,2	0,0
8	0,7	0,0	0,3	0,8	0,0	0,2
9	0,0	0,7	0,3	0,4	0,4	0,2
10	0,3	0,3	0,3	0,6	0,2	0,2
11	0,3	0,3	0,3	0,6	0,2	0,2
12	0,3	0,3	0,3	0,6	0,2	0,2
13	0,3	0,3	0,3	0,6	0,2	0,2

Os componentes foram pesados num tubo de ensaio que foi colocado num banho termostaticado a óleo (NAHITA modelo 602/6) a 90°C, durante 10 min sob agitação branda. Por fim, os tubos foram rapidamente arrefecidos a -19°C para promover a solidificação da mistura tendo permanecido nesta condição durante 1 hora antes da realização das análises de DSC.

As temperaturas de fusão e solidificação das misturas foram determinadas por DSC (*Netzsch, DSC 204 F1 Phoenix*). As amostras (aproximadamente 5 a 10 mg) foram pesadas numa balança de precisão analítica, acondicionados em cadinhos de alumínio fechados e submetidas a aquecimento conforme a Figura 6. Inicialmente de 80°C a 100°C a uma taxa de aquecimento de 10°C/min, mantendo a temperatura de 100°C durante 5 minutos, seguida de um arrefecimento a 0°C a numa taxa de 20°C/min, permanecendo a nesta temperatura por mais 5 minutos. Seguidamente aqueceu-se novamente até 150° a 10°C/min e por fim arrefeceu-se até 25°C a uma taxa de 20°C/min. As análises foram realizadas em atmosfera inerte (azoto) sob fluxo de 20 mL/min. Os dados para a determinação do modelo de temperatura de fusão ( $T_F$ ) foram colhidos no segundo aquecimento (de 0°C a 150°C), sendo o ponto máximo do pico definido como o valor de  $T_F$ . Para o modelo de resposta da temperatura de solidificação ( $T_S$ )

foi utilizado o segundo arrefecimento (de 150°C a 25°C) e na presença de dois picos foi selecionado o primeiro.



**Figura 6.** Parâmetros de aquecimento das amostras do planejamento experimental *Simplex-Centroid*.

Para a obtenção dos modelos, os dados experimentais foram tratados por regressão linear no *software* Statistica 7.0. Por fim, foram escolhidos três pontos para a validação de ambos os modelos, observando-se que as temperaturas de fusão e solidificação obtidas experimentalmente estavam contidas num intervalo de confiança indicado na previsão dos modelos.

Após a modelação das temperaturas de fusão e solidificação realizaram-se os ensaios para a validação dos mesmos. Definiram-se três misturas com composições diferentes para verificar se a previsão dos modelos estava correta (Tabela 7). As temperaturas de fusão e solidificação das misturas selecionadas foram determinadas por DSC, de acordo com a metodologia descrita anteriormente. Para verificar a validade do ponto experimental analisou-se o valor determinado experimentalmente e o intervalo de confiança gerado pela previsão do ponto em questão.

**Tabela 7.** Composições em pseudocomponentes das misturas avaliadas para a validação dos modelos de temperaturas de solidificação ( $T_S$ ) e temperatura de fusão ( $T_F$ ).

Mistura	$X_{CA}$	$X_{CC}$	$X_{Mi}$	Modelo validado
1	1	0	0	$T_F$ e $T_S$
2	0	0	1	$T_F$ e $T_S$
3	0,03	0,25	0,72	$T_S$
4	0	0,17	0,83	$T_F$

### 3.3. Encapsulação da curcumina e caracterização das micropartículas

Na Tabela 8 apresentam-se as formulações usadas na encapsulação da curcumina, que correspondem às misturas designadas por 1, 2 e 3 na Tabela 7.

**Tabela 8.** Formulações utilizadas para a encapsulação da curcumina.

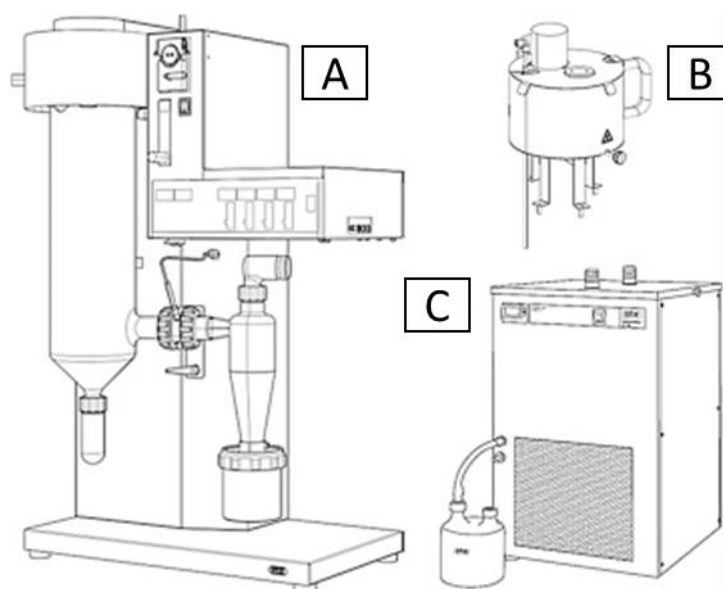
Experimento	Massas dos compostos (g)			
	Cera de abelha	Cera de carnaúba	Miglyol 812	Curcumina
MP1	98,4657	0,0000	0,0000	1,4955
MP2	39,4463	0,0000	59,1074	1,5030
MP3	41,3466	14,3690	42,3690	1,4981

As micropartículas sem a adição de curcumina (branco) foram produzidas para cada uma das formulações e utilizadas como controlo. Assim, foram produzidas micropartículas contendo as misturas do material encapsulante com o objetivo de serem utilizadas como controlos (MPB1, MPB2 e MPB3, respetivamente brancos das amostras MP1, MP2 e MP3). A microencapsulação da curcumina foi realizada pela técnica de *spray congealing*. Os lípidos foram aquecidos a 100°C sob agitação branda por 10 minutos. A curcumina foi então adicionada e misturada por mais 10 minutos, também sob agitação. A mistura foi mantida sob aquecimento para garantir o estado líquido até à sua atomização. Para a produção das micropartículas foi utilizado um *Mini Spray Dryer B-290 Buchi (Flawil, Switzerland)* em conjunto com um Desumidificador *B-295*, tal como representado na Figura 7 (C), para promover o arrefecimento do ar na câmara de atomização, o equipamento, foi adaptado com

um recipiente apropriado (Figura 7 (B)), para manter os materiais utilizados em aquecimento. A Tabela 9 resume os parâmetros utilizados na atomização para a produção das micropartículas lipídicas.

**Tabela 9.** Parâmetros aplicados aos ensaios para produção de micropartículas com as misturas lipídicas.

Parâmetros	Valor estabelecido
Caudal do ar de resfriamento	37.5 m <sup>3</sup> /h
Diâmetro do bico atomizador	0.7 mm
Temperatura de entrada	140°C
Temperatura de atomização	10°C
Aspiração	100%



**Figura 7.** Configurações do equipamento utilizado para a produção das micropartículas de curcumina: (A) Mini *Spray Dryer* B-290 Buchi, (B) Acessórios para *Spray Congealing* e (C) Desumidificador B-295. Fonte: Adaptado Mini *Spray Dryer* B-290 manual técnico. Disponível em: [http://static2.buchi.com/sites/default/files/technical-data-pdf/B-290\\_Data\\_Sheet\\_en\\_C\\_1.pdf](http://static2.buchi.com/sites/default/files/technical-data-pdf/B-290_Data_Sheet_en_C_1.pdf). Acesso em: maio de 2018.

Os tamanhos das micropartículas foram determinados num equipamento Malvern Mastersize 3000 equipado com uma unidade de dispersão Hydro MV (Malvern) usando água como meio de dispersão. A morfologia das micropartículas foi analisada por microscopia ótica através de um microscópio Ni-U (Nikon Eclipse) equipado com um camera digital, as imagens foram observadas pelo *software* NIS-Elements Documentation nas ampliações de 40, 100, 200 e 400 vezes.

A cera de carnaúba, cera de abelha, curcumina e as micropartículas foram analisadas por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC, Netzsch, DSC 204 F1 Phoenix) no intervalo de 0°C a 250°C, numa taxa de aquecimento de 10°C/min sob fluxo de azoto (20 mL/min). Misturas físicas (MF1, MF2 e MF3) dos lípidos e curcumina foram obtidas por mistura manual dos componentes e avaliadas por DSC para comparação.

Para identificar a existência de possíveis interações químicas entre os materiais encapsulantes e a curcumina, foram feitas análises de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier em modo de Refletância Atenuada (FTIR-ATR, ABB MB300). Foram realizados 32 escaneamentos com resolução de 16 cm<sup>-1</sup> de 4000 a 550 cm<sup>-1</sup>. Os espectros foram normalizados em relação ao pico de maior intensidade.

### **3.4. Avaliação da estabilidade da cor das micropartículas incorporando curcumina**

As micropartículas produzidas, e cuja formulação foi obtida pelo planeamento experimental, foram aquecidas em estufa a fim de avaliar a estabilidade da cor. A análise foi realizada seguindo um planeamento experimental *Box-Behnken* de três fatores sendo registada a variação da cor da curcumina ( $\Delta E$ ) após o aquecimento de acordo com os seguintes parâmetros: temperatura, tipo de partícula (MP1, MP2 e MP3) e tempo de aquecimento. O fator temperatura e o fator tempo foram definidos em função das condições típicas a que as matrizes alimentares são submetidas aquando do processo de cozimento (temperatura e tempo máximo de 180°C e 1 hora, respetivamente). A matriz do planeamento experimental, obtida pelo *software* Statistica 7.0 (Statsoft, USA), está representada na Tabela 10.

**Tabela 10.** Matriz do planejamento experimental *Box-Behnken* para avaliação da estabilidade da cor sob condições de aquecimento.

<b>Exp.</b>	<b>Partícula</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo (min)</b>
1	MP1	100	37.5
2	MP3	100	37.5
3	MP1	180	37.5
4	MP3	180	37.5
5	MP1	140	15.0
6	MP3	140	15.0
7	MP1	140	60.0
8	MP3	140	60.0
9	MP2	100	15.0
10	MP2	180	15.0
11	MP2	100	60.0
12	MP2	180	60.0
13	MP2	140	37.5
14	MP2	140	37.5
15	MP2	140	37.5

As amostras (aproximadamente 1 g de micropartículas ou de curcumina pura) foram colocadas numa placa de petri numa estufa pelo tempo e temperatura definidos na Tabela 10. A avaliação da cor das micropartículas de curcumina foi feita pela leitura direta de refletância das coordenadas  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$  em triplicata com auxílio de um colorímetro (Konica Minolta CR-400). Pelo sistema Hunter de cor, os valores de  $L^*$  indicam a luminosidade e variam de 100 (branco) até 0 (preto); a coordenada  $a^*$  indica variação do verde ( $-a^*$ ) a vermelho ( $+a^*$ ) enquanto  $b^*$  indica a variação do azul ( $-b^*$ ) a amarelo ( $+b^*$ ). Os valores de  $\Delta E$  foram calculados pela Equação 8, onde  $\Delta L^2$ ,  $\Delta a^2$  e  $\Delta b^2$  representam as diferenças das leituras das partículas antes do aquecimento e as partículas submetidas ao aquecimento. O valor de Chroma, calculado pela Equação 9, pode ser definido como a profundidade, ou então, como a quantidade de cor pela qual se distingue uma cor forte de uma fraca. O valor do croma é zero no centro do eixo de cores, aumentando conforme se distancia do centro. Outro parâmetro importante na análises de cor é o ângulo Hue (Equação 10), definido como iniciando no eixo  $+a^*$  e é expresso em graus, sendo que  $0^\circ$  corresponde a  $+a^*$  (vermelho),  $90^\circ$  corresponde a  $+b^*$  (amarelo),  $180^\circ$

corresponde a  $-a^*$  (verde) e  $270^\circ$  corresponde a  $-b^*$  (azul) (OLIVEIRA; RESENDE; COSTA, 2016).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^2) + (\Delta a^2) + (\Delta b^2)} \quad (\text{Equação 8})$$

$$Cr = \sqrt{(\Delta a^2) + (\Delta b^2)} \quad (\text{Equação 9})$$

$$H = \arctang \left( \frac{b}{a} \right) \quad (\text{Equação 10})$$

Os resultados foram avaliados por análise de componentes principais (PCA). Antes de aplicar o método multivariado, analisou-se a existência de *outliers*, que podem influenciar os resultados finais da análise estatística. Com o intuito de detetar dados discrepantes, a distância de Mahalanobis foi analisada. Após a identificação das observações atípicas, foram excluídas as que mostram verdadeira discrepância em comparação com os dados restantes estudados. Considerando a variabilidade das dimensões das respostas, os coeficientes de correlação foram aplicados para formar a matriz e extrair o valor próprio. O PCA foi realizado através do *software* MATLAB R2008b (*MathWorks Inc.*).

### 3.5. Incorporação das micropartículas de curcumina em matrizes alimentares.

Num teste complementar à análise da estabilidade da cor, as micropartículas contendo curcumina (MP1, MP2 e MP3) e a curcumina pura foram incorporadas em diversas matrizes alimentares a fim de avaliar o poder corante em função do tipo de matriz alimentar. Os alimentos foram adquiridos num mercado local da cidade de Bragança – Portugal, e as suas composições por 100 g de produto encontram-se listadas na Tabela 11.

**Tabela 11.** Matrizes alimentares utilizadas para o estudo da aplicação da curcumina na forma pura e encapsulada e seus respectivos valores nutricionais.

<b>Matriz Alimentar</b>	<b>Valor Energético (KJ)</b>	<b>Lípidos (g)</b>	<b>Hidratos de Carbono (g)</b>	<b>Proteína (g)</b>
<b>Queijo fundido</b>	890	17,5	5,0	9,5
<b>Nata Culinária</b>	1406	35,0	3,2	2,0
<b>Manteiga</b>	3060	82,1	0,6	0,5
<b>Leite Condensado</b>	1325	8,0	55,0	7,5
<b>Creme Vegetal Líquido</b>	2700	74,0	0,0	0,0
<b>Iogurte Líquido Natural (0% matéria gorda)</b>	224	0,4	4,7	7,6
<b>Iogurte Natural</b>	171	1,8	3,4	2,7
<b>Iogurte Batido Natural (tipo Grego)</b>	496	10,0	3,7	3,7
<b>Maionese</b>	2695	70,0	3,0	0,8

Os alimentos adicionados com curcumina foram utilizados como controlo positivo e os alimentos sem adição foram utilizados como controlo. A massa de curcumina pura incorporada em 9 g do alimento selecionado foi proporcional à quantidade de curcumina contida nas micropartículas (0.6% da massa da matriz alimentar).

A determinação da cor foi analisada em triplicado utilizando um colorímetro (Konica Minolta CR-400), no dia de preparação (dia 0) e sete dias após a preparação e armazenamento a 10°C. Antes da adição dos agentes corantes foi determinado o pH dos alimentos e o seu teor de humidade, gravimetricamente após secagem das amostras.

A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para avaliar qualitativamente a relação entre o pH, o teor de humidade e o tipo de formulação com a cor através do *software* MATLAB R2008b (*MathWorks Inc.*). Adicionalmente, a análise de correlação baseada no coeficiente de correlação de *Pearson* foi também determinada considerando um nível de significância de 5%.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 4.1. Planeamento experimental para a definição das misturas

### 4.1.1. Delineamento experimental

Com o objetivo de obter misturas com temperaturas de fusão em uma faixa de temperatura de 80 a 100°C, faixa de temperatura delimitada pelo equipamento a utilizar para a produção das micropartículas, foi produzido um modelo matemático para a temperatura de fusão das misturas. Além disso, também foi construído um modelo matemático com o objetivo de obter misturas lipídicas sólidas a temperatura ambiente.

Os pontos de fusão e de solidificação das misturas lipídicas foram determinados por DSC e os resultados obtidos estão reunidos na Tabela 12.

**Tabela 12.** Resultados obtidos para o ponto de fusão ( $T_F$ ) e ponto de solidificação ( $T_S$ ) das misturas compostas por cera de abelha (CA), cera de carnaúba (CC) e miglyol 812 (Mi).

Experimento	Pseudocomponentes			$T_F$ (°C)	$T_S$ (°C)
	$X_{CA}$	$X_{CC}$	$X_{Mi}$		
1	1,0	0,0	0,0	64,2	48,4
2	0,0	1,0	0,0	80,3	55,1
3	0,0	0,0	1,0	58,6	49,4
4	0,5	0,5	0,0	77,5	52,5
5	0,5	0,0	0,5	60,6	46,5
6	0,0	0,5	0,5	72,6	47,4
7	0,7	0,3	0,0	63,4	48,1
8	0,7	0,0	0,3	62,6	47,5
9	0,0	0,7	0,3	77,6	51,6
10	0,3	0,3	0,3	61,8	46,2
11	0,3	0,3	0,3	61,4	48,7
12	0,3	0,3	0,3	61,5	48,8
13	0,3	0,3	0,3	61,6	48,6

A Tabela 13 apresenta a ANOVA para o modelo de resposta da temperatura de fusão. Os coeficientes obtidos para o modelo cúbico especial da resposta temperatura de fusão

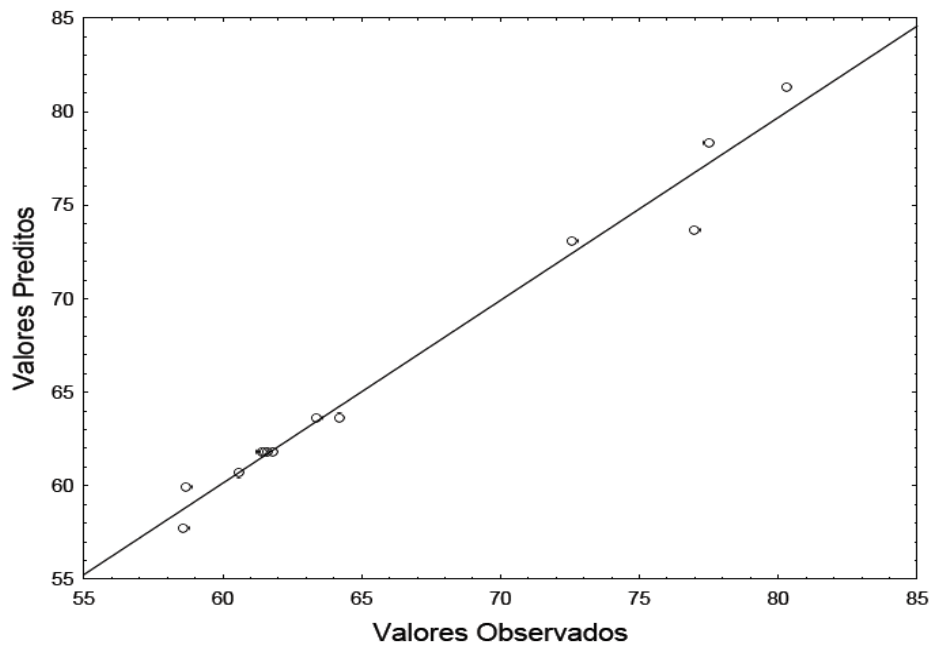
encontra-se na Tabela 14. O modelo obtido para a temperatura de fusão das misturas estudadas pode ser observado na Equação 11 e as superfícies de resposta na Figura 9. Na Figura 8 apresenta-se o gráfico de valores observados *versus* valores previstos para o modelo de  $T_F$ .

**Tabela 13.** ANOVA para o modelo de resposta da temperatura de fusão.

	<b>Soma de quadrados</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Média de quadrados</b>	<b>F<sub>calculado</sub></b>	<b>p-valor</b>
<b>Regressão</b>	710,77	5	142,15	62,06	0,000120
<b>Erro</b>	16,03	7	2,29	-	-
<b>Falta de ajuste</b>	15,95	4	3,99	136,69	0,001004
<b>Erro puro</b>	0,09	3	0,03	-	-
<b>Total</b>	726,81	12	60,57	-	-

**Tabela 14.** Coeficientes do modelo de regressão para a temperatura de fusão ( $T_F$ ) das misturas lipídicas.

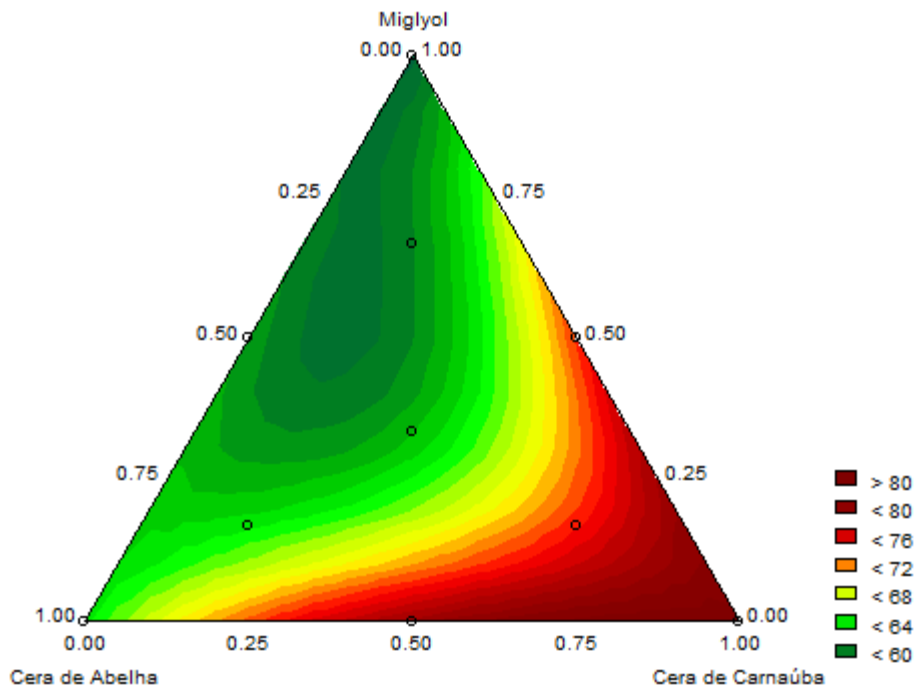
<b>Fatores</b>	<b>Coeficientes</b>	<b>p-valor</b>
<b>CA</b>	63,637	<0,000001
<b>CC</b>	81,308	<0,000001
<b>Mi</b>	57,710	<0,000001
<b>CA x CC</b>	23,414	0,014489
<b>CC x M</b>	14,360	0,088199
<b>CA x CC x Mi</b>	-268,265	0,000090
<b>R<sup>2</sup></b>		0,978
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub></b>		0,962



**Figura 8.** Gráfico de valores observados *versus* previstos para o modelo de resposta da temperatura de fusão (°C).

$$T_F = 63,637 \cdot X_{CA} + 81,308 \cdot X_{CC} + 57,710 \cdot X_{Mi} + 23,414 \cdot X_{CA} \cdot X_{CC} + 14,360 \cdot X_{CC} \cdot X_{Mi} - 268,265 \cdot X_{CA} \cdot X_{CC} \cdot X_{Mi}$$

Equação 11



**Figura 9.** Superfícies de resposta obtidas para o modelo de resposta da temperatura de fusão em termos dos pseudocomponentes.

Da análise realizada nota-se que, para o modelo de resposta da temperatura de fusão, a interação entre a cera de abelha e o miglyol 812 (CA x Mi) foi retirada do modelo, já que esta não era significativa ( $p > 0,05$ ). Contudo, a interação entre a cera de carnaúba e o miglyol (CC x Mi), apesar de também não ser significativa para a construção do modelo ( $p > 0,05$ ), a sua exclusão torna pior a previsão (redução do valor de  $R^2_{adj}$ ), tendo-se mantido este fator no modelo. Adicionalmente, pode observar-se que o modelo apresenta falta de ajuste significativo ( $p < 0,05$ ), contudo o modelo apresenta valores baixos para os resíduos, o que indica a possibilidade de utilização do modelo para a previsão e otimização. Como se observa na Figura 8, onde se apresentam os valores observados *versus* valores previstos, os pontos estão distribuídos de forma homogênea mostrando que os resíduos não possuem tendências aleatórias.

Nota-se ainda, por análise da superfície de resposta para o modelo de resposta da temperatura de fusão (Figura 9), que o componente individual que mais influenciou o comportamento foi a cera de carnaúba, tendo um efeito positivo, ou seja, quanto maior a sua concentração, mais levada é a temperatura de fusão. Quanto aos fatores de interação quadráticos, a cera de carnaúba demonstrou um efeito marcante no aumento do ponto de fusão, resultando em efeitos positivos para a interação entre as duas ceras, e para a cera de carnaúba e o miglyol. Como o ponto de fusão da cera de carnaúba pura é o mais elevado entre os componentes utilizados (78-85°C, O'keefe, 2008), esta apresentou maior efeito.

Entre todos os fatores da equação obtida (Equação 11), o que mais influenciou a resposta foi o fator de interação ternária, exibindo um efeito antagônico. A redução na temperatura de fusão de uma substância pela adição de outros componentes a este ocorre quando estes apresentem solubilidade no primeiro (MARSAC; LI; TAYLOR, 2009). Pode-se concluir então que os três componentes, cera de abelha, miglyol e cera de carnaúba estão dispersos ao nível molecular entre si (MITRI et al., 2011), dado o efeito de interação entre os três componentes na redução da resposta.

Para o modelo de resposta da temperatura de solidificação ( $T_s$ ), os correspondentes resultados da análise de variância e os coeficientes do modelo de regressão estão apresentados nas Tabelas 15 e 16, respetivamente. Na Figura 10 é apresentada a relação entre os valores observados e os valores previstos para o modelo de  $T_s$ . Na Figura 11 encontra-se a superfície

de resposta obtida para o modelo de resposta da temperatura de solidificação em termos dos pseudocomponentes.

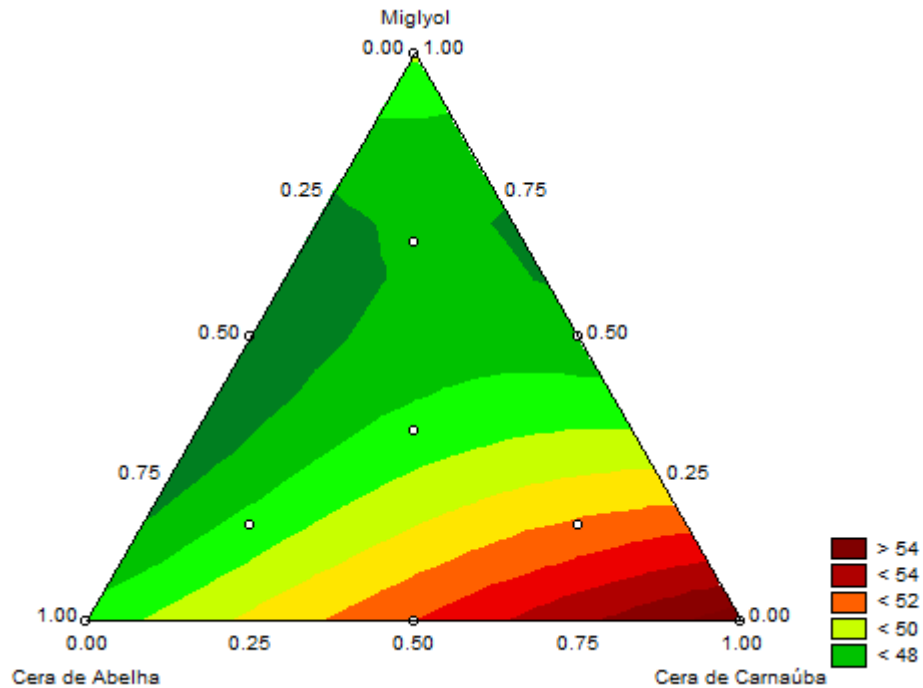
**Tabela 15.** ANOVA para o modelo de resposta da temperatura de solidificação.

	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Média de quadrados	F <sub>calculado</sub>	p-valor
<b>Regressão</b>	73.72	5	14.74	37.32	0.000067
<b>Erro</b>	2.76	7	0.395	-	-
<b>Falta de ajuste</b>	2.48	4	0.62	6.40	0.079556
<b>Erro puro</b>	0.29	3	0.10	-	-
<b>Total</b>	76.49	12	6.37	-	-

**Tabela 16.** Coeficientes do modelo de regressão da temperatura de solidificação (T<sub>s</sub>) das misturas lipídicas.

Fatores	Coeficientes	p-valor
<b>CA</b>	48,437	<0,000001
<b>CC</b>	55,564	<0,000001
<b>Mi</b>	49,182	<0,000001
<b>CA x Mi</b>	-10,962	0,008296
<b>CC x Mi</b>	-19,908	0,000302
<b>CA x CC x Mi</b>	20,419	0,185381
<b>R<sup>2</sup></b>		0,964
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub></b>		0,938





**Figura 11.** Superfícies de resposta obtidas para o modelo de ponto de solidificação em termos de pseudocomponentes.

Pode-se observar neste modelo que a interação entre as ceras de abelha e de carnaúba (CA x CC) não foram significativas ( $p < 0,05$ ), tendo sido removida do modelo. No caso da interação ternária (CA x CC x Mi), apesar de não ser significativa ( $p > 0,05$ ), a sua remoção reduz a capacidade de previsão do modelo, o que também reduziria este a um modelo tipo quadrático ao invés do cúbico especial. Desta forma esta interação foi mantida no modelo.

O modelo de resposta da temperatura de solidificação não apresentou falta de ajuste significativa ( $p > 0,05$ ) (Tabela 15). Adicionalmente conduziu a uma distribuição homogénea dos pontos ao longo da reta de valores observados *versus* previstos (Figura 10).

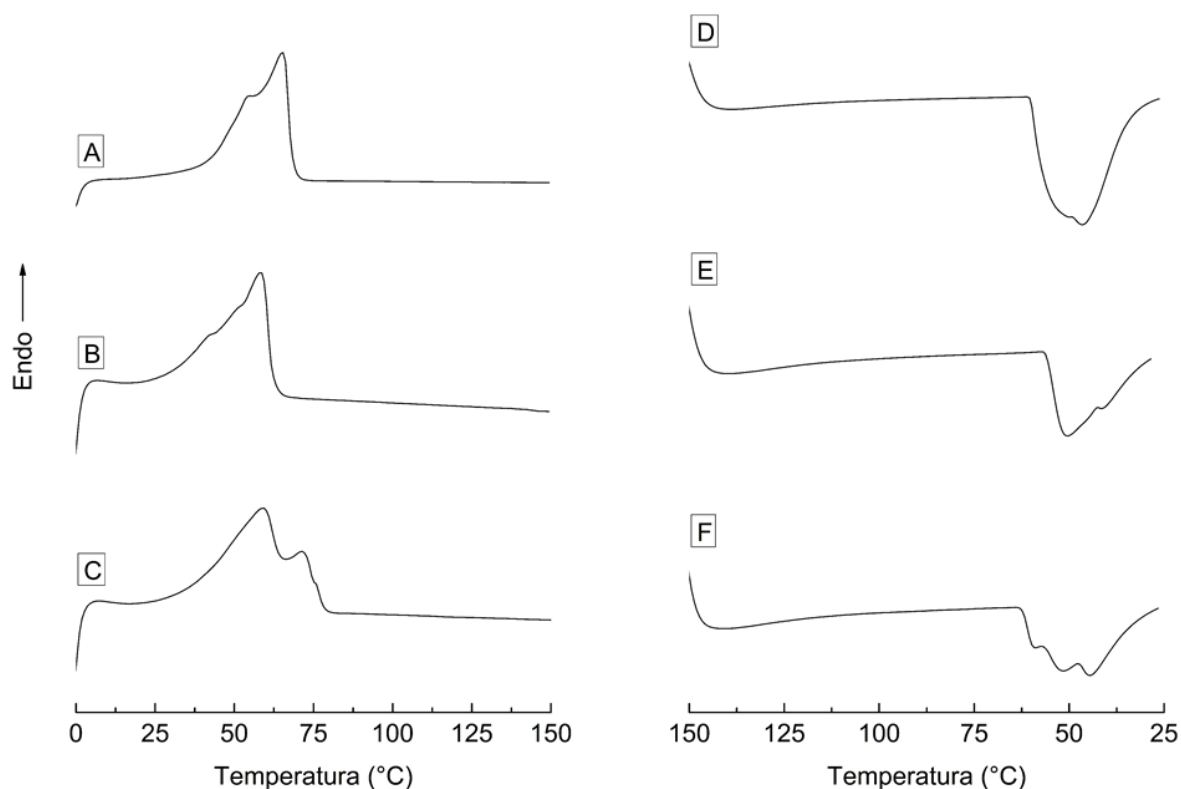
Na superfície de resposta do modelo de temperatura de solidificação nota-se que o miglyol influenciou significativamente o comportamento da mistura, devido às interações com as ceras, sendo os efeitos na resposta das duas interações,  $X_{CC} \times X_{Mi}$  e  $X_{CA} \times X_{Mi}$ , antagónicos, ou seja, reduzindo a temperatura de solidificação. Como o miglyol é o componente que apresenta a menor temperatura de fusão ( $-6.5^{\circ}\text{C}$ , Alfutimie et al., (2016)), quanto maior a sua proporção na mistura menor a resposta.

#### 4.1.2. Validação dos Modelos

Para validação foram selecionadas quatro formulações com base nos modelos obtidos para a validação experimental. Os valores teóricos e previstos pelos modelos juntamente com os seus intervalos de confiança e os valores obtidos experimentalmente encontram-se na Tabela 17. Os termogramas para as amostras correspondentes são apresentados na Figura 12.

**Tabela 17.** Validação experimental dos modelos matemáticos obtidos para as temperaturas de fusão e de solidificação ( $T_F$  e  $T_S$  Exp. – valores determinados experimentalmente).

Exp.	$X_{CA}$	$X_{CC}$	$X_{Mi}$	$T_F$ (°C) Exp.	Intervalo de confiança $T_F$ (°C)	$T_S$ (°C) Exp.	Intervalo de confiança $T_S$ (°C)
1	1	0	0	65,2	58,9 < 63,6 < 68,4	46,5	46,4 < 48,4 < 50,4
2	0	0	1	58,3	52,9 < 57,2 < 62,4	50,5	47,1 < 49,2 < 51,2
3	0	0,17	0,83	67,2	59,2 < 63,6 < 67,9	-	-
4	0,03	0,25	0,72	-	-	44,5	45,5 < 47,4 < 49,3



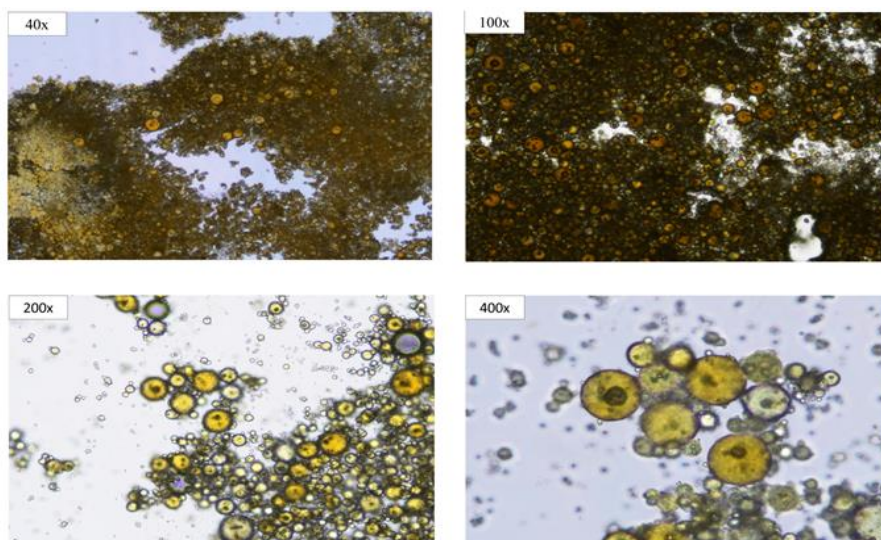
**Figura 12.** Termogramas referentes ao segundo aquecimento, mistura 1 (A), mistura 2 (B) e mistura 3 (C) e segundo resfriamento, mistura 1 (D), mistura 2 (E) e mistura 4 (F), obtidos por DSC.

É evidente pela análise da Tabela 17 que os valores obtidos experimentalmente para as temperaturas de fusão das misturas 1, 2 e 3 estão dentro dos intervalos de confiança determinados pelo modelo matemático para a temperatura de fusão. Em relação ao modelo para a temperatura de solidificação das misturas 1, 2 e 4 também se observaram valores experimentais dentro do intervalo de confiança previsto pelo modelo para a temperatura de solidificação. Esse resultado garante uma boa previsão de ambos os modelos, tornando-os válidos para determinar as temperaturas de fusão e de solidificação das misturas que contenham cera de abelha, cera de carnaúba e miglyol, dentro das proporções avaliadas no presente trabalho.

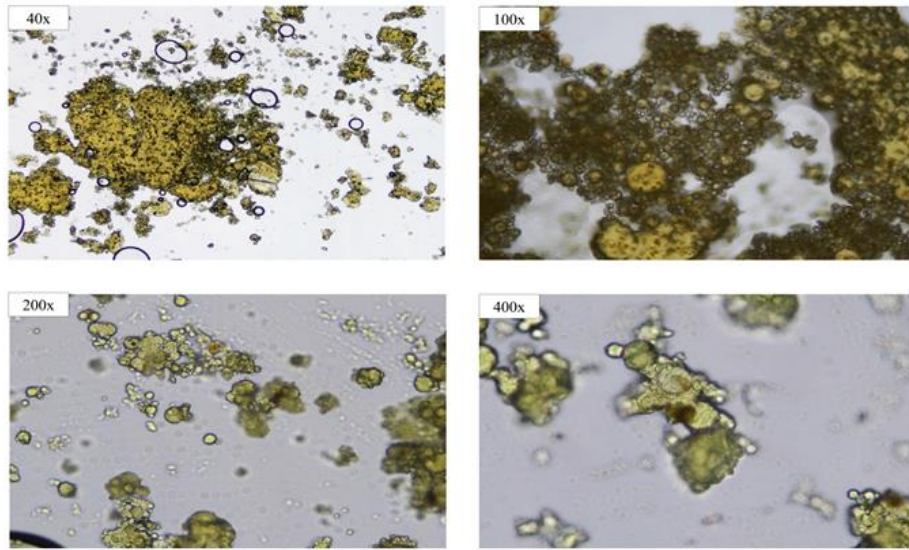
#### 4.2. Encapsulação da curcumina

As Figuras 13, 14 e 15 apresentam as imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas de curcumina encapsuladas com cera de abelha (MP1), cera de abelha e miglyol 812 (MP2) e cera de abelha, cera de carnaúba e miglyol 812 (MP3) (C) utilizando ampliações de 40, 100, 200 e 400X.

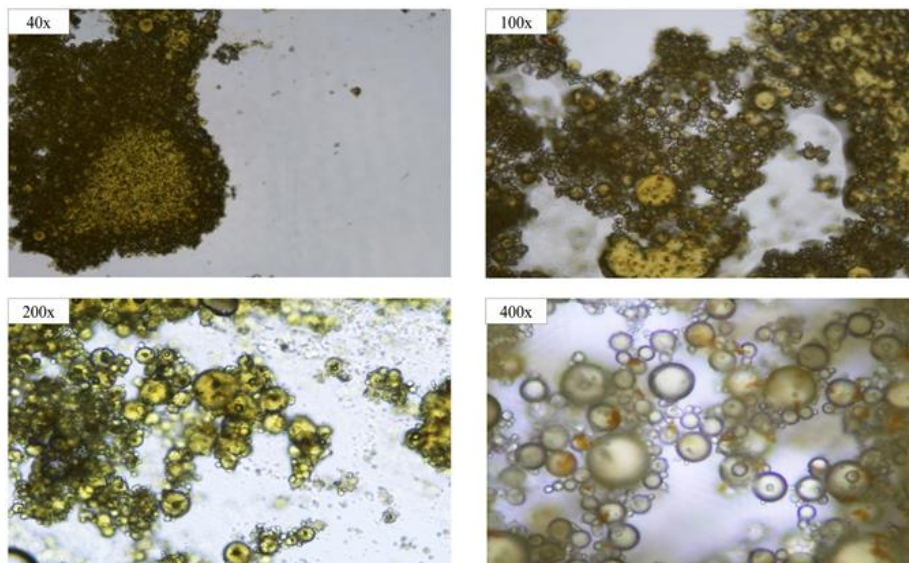
A Figura 16 representa a distribuição de tamanho de partícula em volume para as micropartículas obtidas pela técnica de *spray congealing*. Os tamanhos das partículas (Tabela 18) foram expressos em termos de  $D_{10}$ ,  $D_{50}$  e  $D_{90}$  que representam o tamanho máximo correspondente a 10, 50 e 90% do volume de partículas, respectivamente.



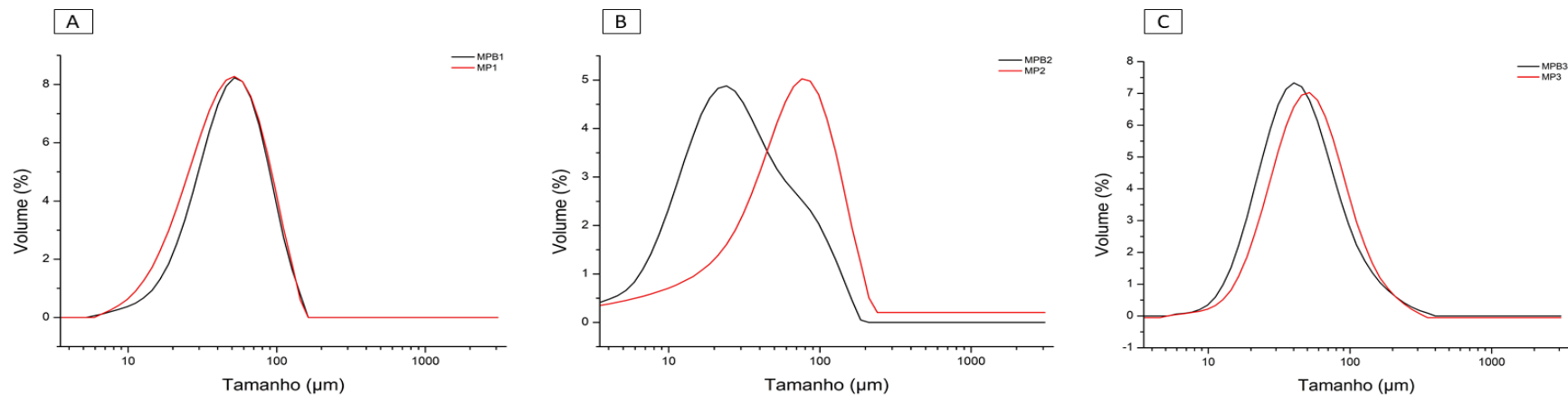
**Figura 13.** Imagens obtidas por microscopia ótica das micropartículas de curcumina encapsuladas com cera de abelha (MP1) em diferentes ampliações.



**Figura 14.** Imagens obtidos por microscopia ótica das micropartículas de curcumina encapsuladas com cera de abelha e miglyol (MP2) em diferentes ampliações.



**Figura 15.** Imagens obtidos por microscopia ótica das micropartículas de curcumina encapsuladas com cera de abelha, cera de carnaúba e miglyol (MP3) em diferentes ampliações.



**Figura 16.** Distribuição do tamanho de partícula das micropartículas obtidas pela técnica de *spray congealing* para as micropartículas MPB1 e MP1 (A) MPB2 e MP2 (B) e MPB3 e MP3 (C).

**Tabela 18.** Valores de  $D_{10}$ ,  $D_{50}$  e  $D_{90}$  para micropartículas obtidas pela técnica de *spray congealing*.

Amostra	$D_{10}$ ( $\mu\text{m}$ )	$D_{50}$ ( $\mu\text{m}$ )	$D_{90}$ ( $\mu\text{m}$ )
MPB1	0,48 $\pm$ 0,01	47,80 $\pm$ 0,20	95,60 $\pm$ 0,9
MP1	8,48 $\pm$ 3,40	45,00 $\pm$ 3,00	95,00 $\pm$ 3,00
MPB2	0,19 $\pm$ 0,01	21,30 $\pm$ 0,20	79,00 $\pm$ 2,00
MP2	0,41 $\pm$ 0,01	60,20 $\pm$ 0,50	139,00 $\pm$ 4,00
MPB3	9,16 $\pm$ 0,09	41,60 $\pm$ 0,30	103,00 $\pm$ 2,00
MP3	11,60 $\pm$ 0,09	49,40 $\pm$ 0,50	117,00 $\pm$ 3,00

**Legenda:** MPB1, MPB2 e MPB3: micropartículas brancas (sem curcumina) das micropartículas MP1, MP2 e MP3, respetivamente.

Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

As micropartículas contendo curcumina apresentaram uma morfologia esférica típica de micropartículas lipídicas sólidas (ALVIM et al., 2016; CHAMBI et al., 2008). A existência de aglomerados de partículas foi observada em todas as formulações. Adicionalmente, observou-se que as esferas com diâmetros menores aderiram à superfície das micropartículas com tamanhos maiores, conforme observado nas Figuras 13 e 15. A ocorrência de aglomerados em partículas produzidas por *spray congealing* também foi descrito por Consoli et al. (2016) e Wegmuller et al. (2006). Segundo estes autores, as aglomerações podem ocorrer devido à existência de micropartículas que não foram completamente solidificadas no processo de produção por *spray cooling*. Sabatino et al. (2012) encapsularam proteínas por *spray congealing* e obtiveram partículas esféricas sem aglomerações, tendo sido justificado este facto pelo ponto de fusão elevado do material lipídico utilizado como parede. O menor ponto de fusão das partículas contendo cera de abelha e miglyol 812 pode ter afetado o aspeto morfológico, tal como observado na Figura 14. Um comportamento morfológico similar foi também reportado por Albertini et al. (2008).

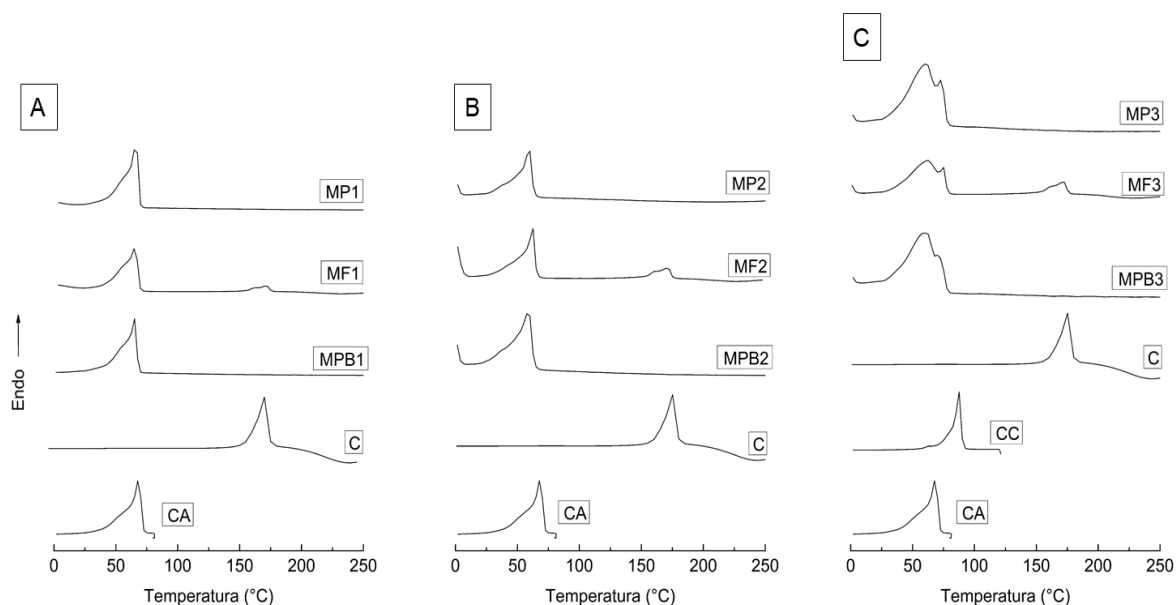
As micropartículas apresentaram uma distribuição de tamanhos em volume que varia entre 0,19 e 139  $\mu\text{m}$ , em termos de percentis. Albertini et al., (2008) e Maschke et al., (2007) relataram que o tamanho de partícula pode ser influenciado por variáveis associadas à formulação (ou seja, concentração de curcumina, tipo de lípido e concentração do material de parede) e/ou pelos parâmetros do processo (tipo de atomização, pressão e temperatura) utilizados durante o processo de fabrico. Consoli et al., (2016) avaliou diversas composições do material de parede para encapsular ácido gálico e observou que as micropartículas com maior quantidade de óleo de soja totalmente hidrogenado apresentaram uma diminuição do tamanho médio em volume, uma vez que o óleo de soja totalmente hidrogenado apresenta-se sólido a temperatura ambiente, fato não evidenciado no trabalho. Albertini et al., (2008) e Matos-Jr et al., (2015), indicam que as variações de tamanho ocorrem também devido à viscosidade do fluído alimentado ao atomizador do *spray congealing*. Antes da atomização, a mistura de lípidos utilizados para a formulação das microesferas MPB2 e MP2 apresentavam-se com menor viscosidade em relação às outras misturas. No entanto, no presente trabalho este parâmetro não foi analisado para as formulações utilizadas no *spray congealing*, o que dificulta esta associação.

A distribuição em volume representada na Figura 16 (B) mostra que apenas as micropartículas com curcumina MP2 apresentaram um deslocamento significativo em relação

às micropartículas sem a curcumina (MPB2). Ao analisar a Figura 16 (C) observa-se que a distribuição de tamanho das micropartículas MP3 se encontram ligeiramente deslocadas para a uma gama de tamanhos superiores em relação ao branco (MPB3), o contrário acontece em relação a MP1, cuja distribuição se encontra ligeiramente deslocada para uma gama de valores inferiores, relativamente às micropartículas com curcumina (MPB1) (Figura 16 (A)).

É importante referir que a heterogeneidade das distribuições de tamanho observadas com algumas das micropartículas produzidas, com e sem curcumina, são justificadas pela existência de aglomeração, devido à coalescência das partículas lipídicas. Este fato foi também evidenciado por Consoli et al. (2016) ao encapsular o ácido gálico com óleo de soja totalmente hidrogenado como material de parede pela técnica de *spray congealing*.

A Figura 17 apresenta os termogramas das micropartículas das misturas físicas e das micropartículas sem curcumina. A Tabela 19 apresenta a temperatura de fusão das misturas, representada pela temperatura do pico (°C) e a entalpia de fusão  $\Delta H$  (J/g) da cera de abelha, cera de carnaúba, das misturas físicas 1, 2 e 3, das micropartículas e das micropartículas sem curcumina.



**Figura 17.** Termogramas obtidos por DSC para CA, CC, C, MP1, MF1 e MPB1 (A), CA, CC, C, MP2, MF2 e MPB2 (B) e CA, CC, C, MP3, MF3 e MPB3 (C).

**Tabela 19.** Dados obtidos por DSC dos encapsulantes CA, CC e da curcumina (C) utilizados para a produção das micropartículas de curcumina.

<b>Material</b>	<b>T<sub>pico</sub> (°C)</b>	<b>ΔH (J/g)</b>
<b>Cera de abelha (CA)</b>	68,4	158,8
<b>Cera de carnaúba (CC)</b>	86,8	173,1
<b>Curcumina (C)</b>	175,4	125,8
<b>MP1</b>	66,4	167,6
<b>MF1</b>	65,6	124,6
<b>MPB1</b>	65,9	149,5
<b>MP2</b>	58,7	63,4
<b>MF2</b>	62,0	55,0
<b>MPB2</b>	57,6	71,3
<b>MP3</b>	60,4	93,7
<b>MF3</b>	62,2	75,6
<b>MPB3</b>	59,3	105,7

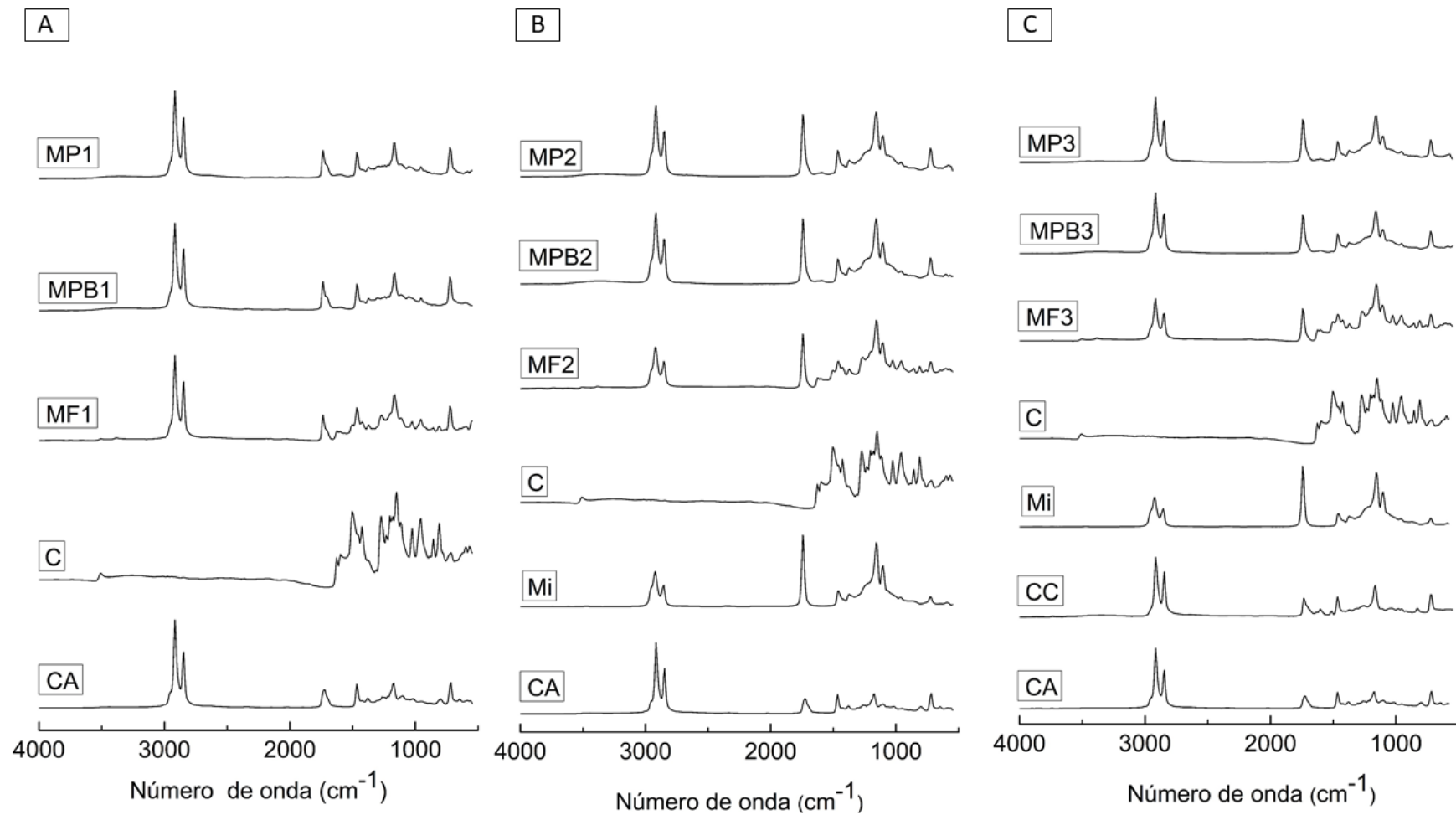
É possível identificar o ponto de fusão da curcumina como sendo 175,4°C, resultado este de acordo com a literatura (FENG; SONG; ZHAI, 2012; KHAN; RATHOD, 2014), além disso a cera de abelha apresentou uma temperatura de fusão de 68,4°C, valor encontrado entre a faixa de temperatura descrita na literatura por Fratini et al., (2016), 63,5-64,5°C, o mesmo foi observado para cera de carnaúba, que apresentou uma temperatura de fusão de 86,8°C, valor também encontrado próximo a gama de temperatura de fusão encontrada por O'keefe, (2008), 78-85°C.

Comparativamente às outras micropartículas, as micropartículas de curcumina que utilizaram apenas a cera de abelha, como material encapsulante (MP1) apresentaram uma temperatura de fusão superior, próxima da temperatura de fusão da cera de abelha, e uma entalpia de fusão também superior. Ao adicionar o lipídeo líquido miglyol 812 como material encapsulante observa-se que houve um decréscimo significativo na temperatura de fusão das micropartículas (MP2) e, conseqüentemente, também uma diminuição na entalpia de fusão. Este decréscimo é justificado pela elevada concentração (60%) do lipídeo líquido na formulação das micropartículas (FANG; AL-SUWAYEH; FANG, 2013). Já para as micropartículas MP3, constituídas por cera de abelha, cera de carnaúba e miglyol 812 como materiais de parede, apresentaram uma temperatura de fusão superior a MP2 e inferior a MP1. Assim, a introdução da cera de carnaúba, que apresenta um ponto de fusão elevado, como constituinte do material

encapsulante, em pequena proporção provoca um aumento não significativo na temperatura de fusão das micropartículas, quando comparado com as micropartículas MP2. Observa-se, porém, que a entalpia de fusão aumentou significativamente (de 63,4J/g para 93,7J/g).

Para as misturas físicas foi possível observar picos de fusão cristalina para a curcumina a 170,8, 171,2 e 171,7°C, nas misturas físicas MF1, MF2 e MF3, respectivamente. Nas micropartículas contendo curcumina não foi possível detectar a presença deste pico de fusão, sugerindo que ela esteja na sua forma amorfa, formando assim uma mistura sólida homogênea com o lípido. Ramalingam; Yoo; Ko (2016) encapsularam a curcumina em nanopartículas lipídicas sólidas com glicerol monoesterato e ácido palmítico e obtiveram um resultado semelhante, sugerindo um maior grau de miscibilidade entre a curcumina e o material de parede ou o aprisionamento da curcumina no interior do núcleo lipídico sólido. O mesmo foi verificado por Behbahani et al. (2017) ao encapsular a curcumina em partículas lipídicas sólidas utilizando ácido esteárico e tripalmitina, indicando que a curcumina foi completamente solubilizada dentro da matriz lipídica.

A Figura 17 reúne os espectros de FTIR obtidos para o miglyol 812 (Mi), curcumina (C), cera de abelha (CA), cera de carnaúba (CC), misturas físicas (MF1, MF2 e MF3), micropartículas sem a curcumina (MPB1, MPB2 e MPB3) e micropartículas com curcumina (MP1, MP2, MP3).



**Figura 18.** Espectros de infravermelho obtidos para o Miglyol 812 (Mi), Curcumina pura (C), Cera de Abelha (CA), Cera de Carnáúba (CC), misturas físicas (MF1, MF2 e MF3), micropartículas brancas (MPB1, MPB2 e MPB3) e para as micropartículas (MP1, MP2, MP3).

Para a curcumina observaram-se bandas características de grupos hidroxilos OH em aproximadamente  $3500\text{ cm}^{-1}$ , vibrações do grupo fenólico em  $1640$ ,  $1647$  e  $1650\text{ cm}^{-1}$  relacionados com a vibração do grupo carbonilo, bandas na região  $1380$ - $1470\text{ cm}^{-1}$  referente às vibrações associadas à ligação C=C do anel aromático e estiramento da ligação C-O, bandas em  $1020$ - $1155\text{ cm}^{-1}$  associadas ao estiramento C-O do grupamento éter. As bandas localizadas em  $700$ - $900\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas com vibrações C-H dos alcenos. Em estudos realizados por Massimino; Faria; Yoshioka (2017) foram identificadas bandas semelhantes às apresentadas na Figura 18 (B).

No caso do miglyol 812, as principais características a assinalar correspondem a bandas registradas na região  $2800$ - $3000\text{ cm}^{-1}$  características do estiramento simétrico e assimétrico C-H de alcanos,  $1750\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento do grupo carbonilo (C=O),  $1380$ - $1470\text{ cm}^{-1}$  da deformação angular do grupo  $\text{CH}_2$  e por fim uma banda de estiramento C-O do éster em aproximadamente  $1100\text{ cm}^{-1}$ , de acordo com o observado por Butstraen; Salaun, (2014).

Para o espectro da cera de abelha e da cera de carnaúba destacam-se as bandas referentes ao estiramento C-H dos alcanos e alcenos na gama  $2800$ - $3000\text{ cm}^{-1}$ , o estiramento C=O aproximadamente a  $1750\text{ cm}^{-1}$ , próximo de  $1180\text{ cm}^{-1}$  a banda de estiramento do grupo C-O do éster e uma banda de deformação angular assimétrica dos C-H na região de  $710$ - $730\text{ cm}^{-1}$ , característica de cadeias longas de hidrocarbonetos, corroborando a análise frequentemente indicada, por exemplo nos trabalhos de Milanovic et al., (2010) e Fratini et al., (2016) que indicam que a cera de carnaúba e a cera de abelha são compostas maioritariamente por ésteres de ácidos gordos de cadeia longa.

Ao analisar os espectros da Figura 18 (A) verifica-se que as bandas características da cera de abelha estão presente em todos os espectros (MPB1, MF1 e MP1), entre estas a banda referente ao estiramento C-H dos alcanos e alcenos ( $2800$ - $3000\text{ cm}^{-1}$ ), estiramento C=O ( $1750\text{ cm}^{-1}$ ), estiramento C-O do grupamento éster ( $1180\text{ cm}^{-1}$ ) e uma banda de deformação angular assimétrica de C-H ( $710$ - $730\text{ cm}^{-1}$ ) característica de cadeias longas de hidrocarbonetos (FRATINI et al., 2016; MILANOVIC et al., 2010).

Em comparação com o espectro de FTIR da MP1, a MP2, presente na Figura 18 (B), este apresenta as bandas características do mygliol 812. A banda de estiramento do grupo carbonilo (C=O) ( $1750\text{ cm}^{-1}$ ) apresenta-se mais intensa quando comparada a MP1(Figura 18

(A)). Verificam-se também as bandas de deformação angular do grupo CH<sub>2</sub> (1380-1470 cm<sup>-1</sup>) (BUTSTRAEN; SALAÜN, 2014) e as bandas menos intensas do estiramento C-H de alcanos e alcenos (2800-3000 cm<sup>-1</sup>) características da cera de abelha (FRATINI et al., 2016; MILANOVIC et al., 2010).

No espectro de FTIR da MP3 observam-se também as bandas características de ambas as partículas (MP1 e MP2), exceto a intensidade da banda de estiramento do grupo carbonilo (C=O) (1750 cm<sup>-1</sup>) que é inferior (BUTSTRAEN; SALAÜN, 2014; FRATINI et al., 2016; MILANOVIC et al., 2010), indicando que com a adição de cera de carnaúba, e consequente diminuição da concentração de mygliol 812 (M), a intensidade destas bandas no espectro da formulação MP3 diminuiu.

Da análise dos espectros das misturas físicas (MF1, MF2 e MF3) são evidentes as bandas característica da curcumina, tal como observado no espectro de curcumina (OH em aproximadamente 3500 cm<sup>-1</sup>), porém não foi possível observar as bandas características do espectro da curcumina nos espectros de FTIR dos microcristais de curcumina (MP1, MP2 e MP3), sugerindo que a curcumina esteja aprisionada dentro das micropartículas (ALMEIDA et al., 2018; LEMES et al., 2017; SILVA-BUZANELLO et al., 2016).

### **4.3. Avaliação da estabilidade da cor das micropartículas de curcumina em estufa**

#### **4.3.1. Avaliação do planejamento experimental**

A partir dos parâmetros apresentados na Tabela 10 foram realizados os procedimentos descritos na secção 3.4. Os coeficientes obtidos e a análise de variância (ANOVA) do modelo são apresentados nas Tabelas 20 e 21, respetivamente. Na Tabela 22 são apresentados os valores em triplicado de cada ensaio, assim como as suas médias e desvio padrão. Os valores originais de a\*, b\* e L\* obtido para as micropartículas produzidas, e utilizados para o cálculo de ΔE, encontram-se na Tabela 23. Para a construção do modelo matemático *Box-Behnken* foram utilizados os valores de ΔE que se encontram na Tabela 22 e calculados a partir da Equação 8. O registo das imagens dos ensaios submetidos aos testes da estufa pode ser consultado no Anexo A.

Para melhorar a qualidade da previsão do modelo houve a necessidade de se retirar a interação Temperatura (°C) (L) – Partícula (L). Outros parâmetros, que não foram significativos para a construção do modelo ( $p > 0,05$ ), foram o Tempo (min) (L) e Tempo (min) (Q), Tempo (min) (L) – Temperatura (°C) (L) e Tempo (min) (L) – Partícula (L), porém com a exclusão destes parâmetros piorou a previsão (redução do valor de  $R^2_{adj}$ ), tendo-se mantido estes fatores no modelo. A Tabela 21 mostra que o modelo não apresentou falta de ajuste significativo ( $p > 0,05$ ). Como se observa na Figura 19, onde o gráfico que relaciona os valores observados *versus* valores previstos é apresentado, os pontos apresentam-se distribuídos de forma homogênea ao longo da reta, e os resíduos não demonstram tendências para se agrupar, fazendo com que exista um comportamento aleatório dos mesmos.

O modelo de previsão obtido para a variação da cor das micropartículas de curcumina ( $\Delta E$ ) (Equação 13), sendo  $X_1$  o fator tempo,  $X_2$  fator temperatura e  $X_3$  o fator partícula, e a superfície de resposta está representada na Figura 20.

$$\Delta E = -108,996 + 0,383.X_1 + 1,273.X_2 + 25,762.X_3 - 0,002.X_1.X_2 + 0,052.X_1.X_3 - 0,003.X_1^2 - 0,004.X_2^2 - 6,914.X_3^2 \quad (\text{Equação 13})$$

Ao analisar a superfície de resposta para a variação da cor das micropartículas de curcumina, Figura 20, observamos que para as micropartículas MP1 e MP3, isto é para as que contem menor quantidade de miglyol, à temperatura de 100°C apresentaram uma menor variação de cor. À medida que a temperatura aumenta a variação da cor torna-se mais evidente. A amostra MP2 foi a que originou uma maior mudança de coloração na faixa de temperatura, aproximada, de 138 a 174°C, sendo que esta é a que possui a maior quantidade de miglyol 812.

Comparativamente a outros estudos, neste trabalho a variação da cor ( $\Delta E$ ) das micropartículas com a temperatura, embora sofrendo variações, mostrou-se mais estável. Estes trabalhos incluem, por exemplo, o estudo realizado por Wang et al., (2017) em que a curcumina foi encapsulada com maltodextrina pela técnica de *spray drying*, mostrando que a curcumina encapsulada com maltodextrina apresentou estabilidade térmica na faixa de 50 a 70°C. Este fato pode estar diretamente relacionado com o material de parede (ou então com a matriz alimentar, não considerada neste trabalho), colocando em evidência a vantagem de utilizar ceras quando se pretende estabilidade à temperatura.

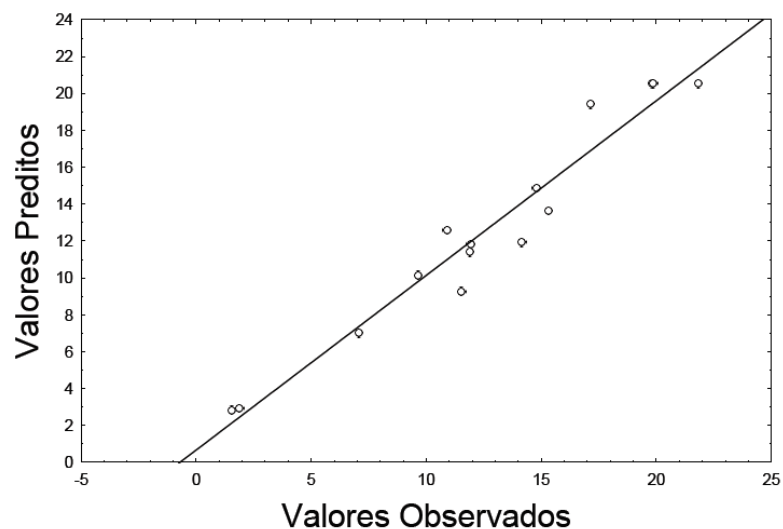
De facto, o material de parede é um fator significativo na estabilidade da cor da curcumina, dependendo também da matriz alimentar onde vai ser incorporada. Zheng et al., (2017) estudaram a degradação da curcumina em diferentes sistemas de entrega através da determinação do valor de  $b^*$  para aplicação em alimentos funcionais, os quais foram incubados a pH ácido e neutro a uma temperatura de 55°C por 14 dias, tendo chegado à conclusão de que a estabilidade da curcumina está diretamente relacionada com a composição da matriz alimentar utilizada.

**Tabela 20.** Coeficientes do modelo de regressão da variação da cor ( $\Delta E$ ) das micropartículas de curcumina.

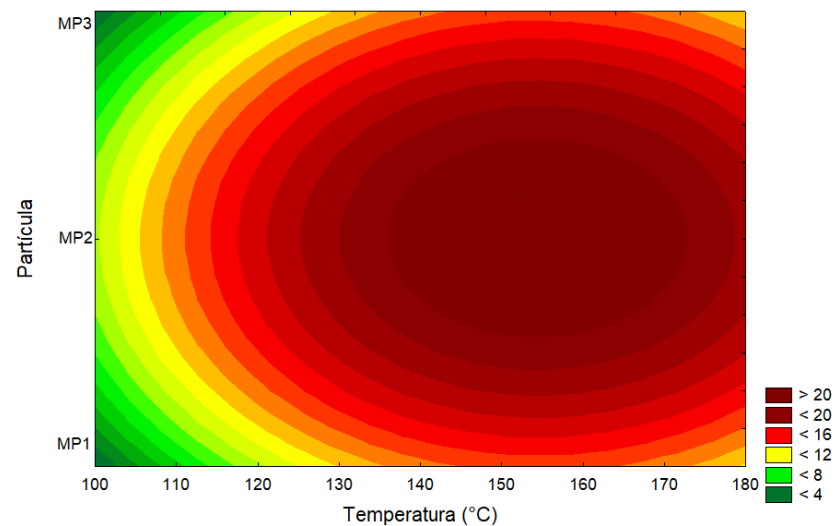
<b>Fatores</b>	<b>Coefficientes</b>	<b>p-valor</b>
<b>Intersecção</b>	-108,996	0,006333
<b>Tempo (min) (L)</b>	0,383	0,106052
<b>Tempo (min) (Q)</b>	-0,003	0,107074
<b>Temperatura (°C) (L)</b>	1,273	0,006963
<b>Temperatura (°C) (Q)</b>	-0,004	0,008929
<b>Partícula (L)</b>	25,762	0,009907
<b>Partícula (Q)</b>	-6,914	0,007258
<b>Tempo (min) (L) – Temperatura (°C) (L)</b>	-0,002	0,095314
<b>Tempo (min) (L) – Partícula (L)</b>	0,052	0,176589
<b>R<sup>2</sup></b>		0,94704
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub></b>		0,87642

**Tabela 21.** ANOVA para o modelo de resposta da variação da cor ( $\Delta E$ ) das micropartículas.

	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Média de quadrados	F <sub>calculado</sub>	p-valor
<b>Tempo (min) (L) + (Q)</b>	12,7920	2	6,3960	4,9377	0,168415
<b>Temperatura (°C) (L) + (Q)</b>	305,0485	2	152,5243	117,7483	0,008421
<b>Partícula (L) + (Q)</b>	176,5508	2	88,2754	68,1484	0,014462
<b>Tempo (min) (L) + (Q) - Temperatura (°C) (L) + (Q)</b>	11,6796	1	11,6796	9,0167	0,095314
<b>Tempo (min) (L) + (Q) - Partícula (L) + (Q)</b>	5,4551	1	5,4551	4,2113	0,176589
<b>Falta de ajuste</b>	24,2870	4	6,0717	4,6874	0,183485
<b>Erro puro</b>	2,5907	2	1,2953	-	-
<b>Total</b>	507,4651	14	-	-	-



**Figura 19.** Gráfico de valores observados *versus* preditos para o modelo da variação da cor ( $\Delta E$ ) das micropartículas de curcumina.



**Figura 20.** Superfícies de resposta obtidas para o modelo da variação da cor ( $\Delta E$ ) das micropartículas de curcumina.

**Tabela 22.** Valores de  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$ ,  $\Delta E$ , Chroma e Hue obtidos a partir do procedimento descrito na secção 2.5.9 e utilizados para a construção do modelo experimental *Box-Behnken*.

Exp,	MP	$a^*$	$b^*$	$L^*$	$\Delta E$	Chroma	Hue
1	MP1	6,60±0,52	53,12±1,13	70,10±1,81	1,53	53,60±1,06	82,92±0,52
2	MP3	8,12±0,05	63,49±2,35	70,52±0,14	1,89	64,89±1,10	83,08±0,01
3	MP1	16,74±0,35	53,69±0,08	65,87±1,54	11,92	56,24±0,95	72,68±0,89
4	MP3	4,00±0,41	52,52±1,14	65,51±0,57	14,16	52,67±1,35	85,63±0,56
5	MP1	17,27±0,07	62,28±2,32	74,29±0,61	15,33	64,63±2,25	74,49±0,48
6	MP3	-2,08±0,17	66,34±2,26	73,69±0,91	11,90	66,37±2,25	91,80±0,20
7	MP1	13,71±0,89	58,05±0,90	72,03±0,81	9,65	59,65±0,74	76,70±1,00
8	MP3	-1,20±0,26	62,88±4,13	69,68±0,81	10,89	62,89±4,14	91,09±0,17
9	MP2	10,30±0,93	61,21±0,46	62,73±0,42	7,06	62,07±0,38	80,44±0,89
10	MP2	-7,58±0,89	64,30±3,82	69,44±0,20	17,14	64,75±3,85	96,72±0,61
11	MP2	4,63±0,51	57,36±1,01	61,49±0,86	11,53	57,54±1,05	85,39±0,43
12	MP2	-3,55±0,31	58,48±2,15	66,25±1,02	14,78	58,59±2,12	93,48±0,42
13	MP2	-11,93±0,51	66,25±4,96	72,44±0,54	21,83	67,32±4,97	100,22±0,33
14	MP2	-9,36±0,11	60,59±1,95	72,90±0,37	19,83	61,30±1,93	98,79±0,28
15	MP2	-9,78±0,55	61,08±4,22	71,47±1,10	19,89	61,85±4,25	99,10±0,18

Valores expressos como média ± desvio padrão.

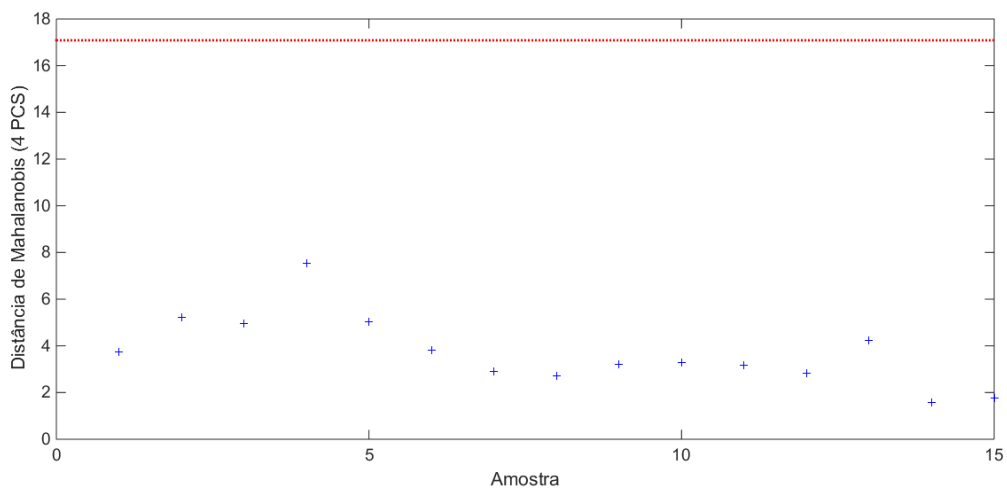
**Tabela 23.** Medidas de  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$  para as micropartículas de curcumina originais utilizadas para os cálculos de  $\Delta E$  para a construção do modelo estatístico.

	$a^*$	$b^*$	$L^*$
<b>MP1</b>	5,39±1,18	53,856±1,60	69,52±0,92
<b>MP2</b>	9,54±0,45	64,91±4,43	68,69±0,38
<b>MP3</b>	9,43±1,24	64,00±2,48	71,79±1,48

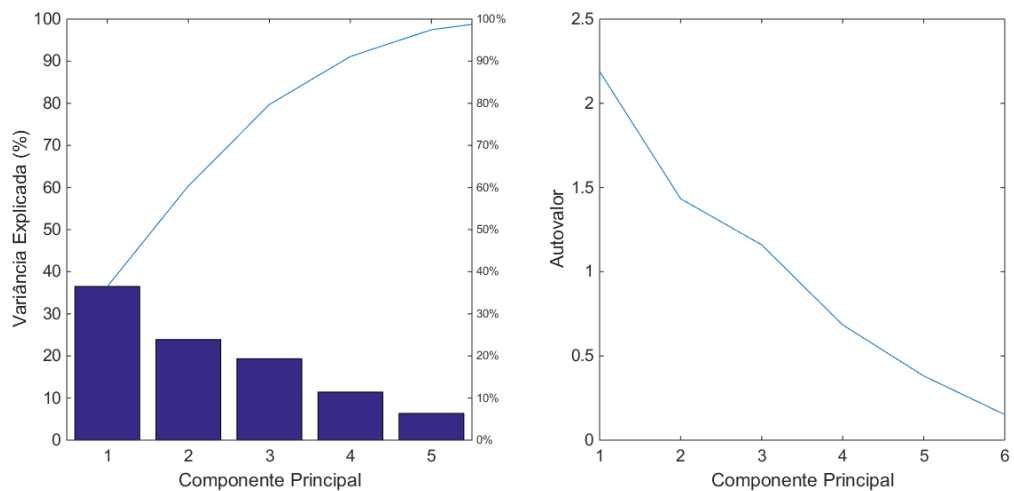
Valores expressos como média ± desvio padrão.

### 4.3.2. Análise de Componentes Principais

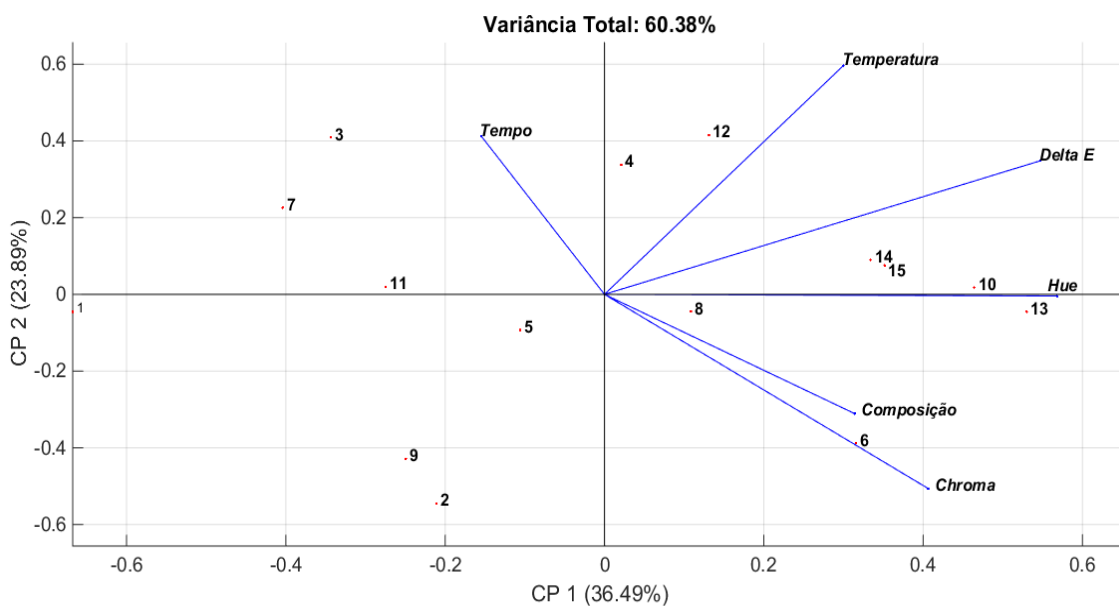
A fim de caracterizar e classificar os experimentos analisados no planejamento *Box-Behnken* quanto à variação da cor da curcumina encapsulada, a análise de componentes principais (PCA) foi aplicada. A Figura 21 apresenta a distância de Mahalanobis obtida para os 4 componentes principais da análise de componentes principais. A Figura 22 representa o *Scree plot* com as respectivas percentagens de variância explicada por cada componente principal e os seus autovalores. A análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros de cor estudados no planejamento experimental *Box-Behnken* pode ser visto na Figura 23.



**Figura 21.** Distância de Mahalanobis obtida para as 4 componentes principais da análise de componentes principais.



**Figura 22.** *Scree plot* com as respectivas percentagens de variância explicada por cada componente principal e os seus autovalores.



**Figura 23.** Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros de cor estudados no planejamento experimental *Box-Behnken*.

A avaliação do gráfico *Scree plot* (Figura 22) indicou que as duas primeiras componentes foram suficientes para explicar 60.38% da variação total dos dados (36.49% da primeira componente e 23,89% da segunda componente). Analisando o gráfico *Scatter plot* (Figura 21) para a identificação de *outliers* através da distância de Mahalanobis para as 4 componentes principais, verificou-se que os dados não apresentaram observações atípicas, não havendo a necessidade de exclusão de nenhuma das amostras.

Vale ressaltar que as duas componentes apresentam autovalores superior a 1, valor recomendado por Reid e Spencer, (2009) como critério para inclusão da componente principal na análise. Por fim, todas as amostras estudadas foram representadas em espaço reduzido com duas componentes principais. A primeira componente principal é altamente e positivamente correlacionada com os valores de chroma, hue e delta E. A temperatura e o tempo estão relacionados positivamente com a segunda componente, como mostra a Figura 23.

Os experimentos descritos na Tabela 22 estão representados em espaço reduzido com as duas primeiras componentes principais, como é mostrado na Figura 22. Como pode ser observado, as amostras 1, 2 e 9, que se assemelham dado corresponderem ao tratamento em estufa a 100°C, correlacionam-se negativamente com as duas componentes principais, implicando uma menor variação total de cor ( $\Delta E$ ), o que pode ser observado na Tabela 22. Para as amostras 10, 13, 14 e 15, todos referentes a MP2, obtiveram-se os maiores valores de Hue,

diferenciando-se menos o que indica uma tonalidade de cor próxima entre eles. Analisando as amostras 4 e 12, observamos que a temperatura foi o fator mais significativo na mudança de cor (ambos os ensaios foram correspondem a uma temperatura de 180°C).

Spada et al., (2012) ao utilizar análise colorimétrica em conjunto com análise de componentes principais verificou que esta ferramenta foi útil para avaliar a degradação e a retenção de  $\beta$ -caroteno quando encapsulado numa matriz de amido hidrolisado de Pinhão (*Araucaria angustifolia seeds*). Chranioti; Nikoloudaki; Tzia, (2015) também se basearam em análise multivariadas e análise colorimétricas para estudar a degradação de corantes provindos de fontes naturais como o açafrão e extrato de beterraba.

#### **4.4. Estudos de incorporação das micropartículas contendo curcumina em matrizes alimentares**

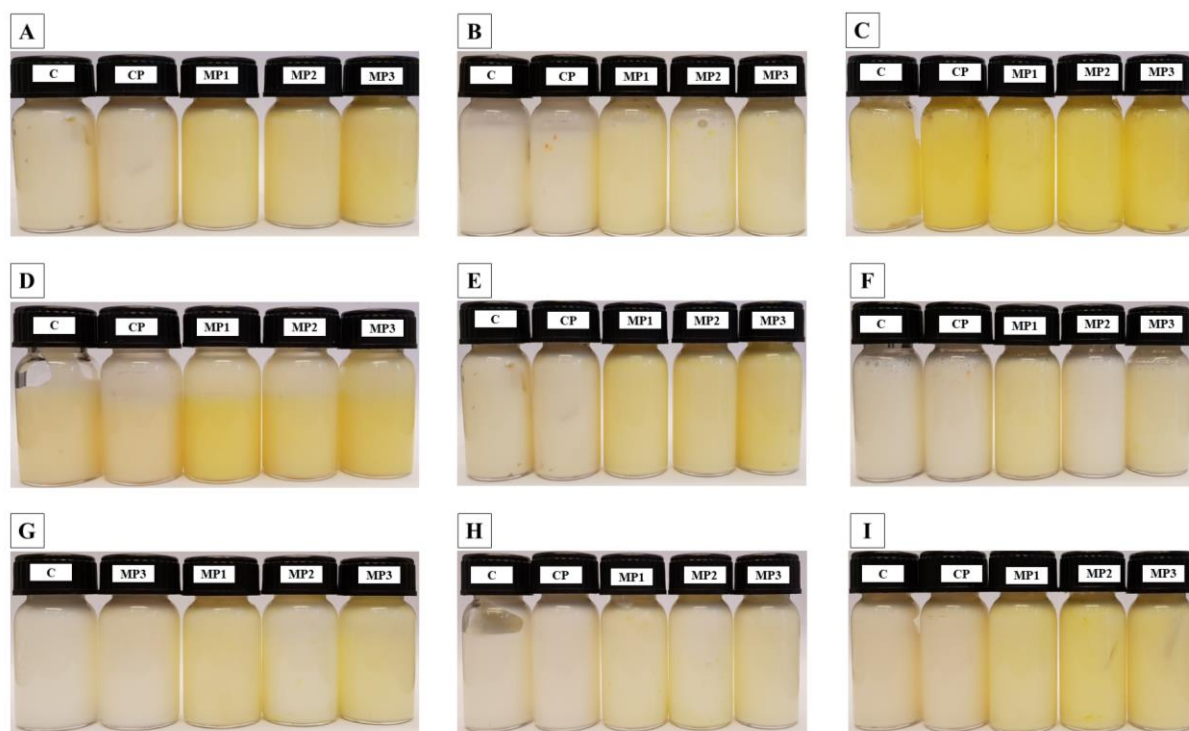
A curcumina e as micropartículas contendo curcumina foram adicionadas em diversas matrizes alimentares com o objetivo de verificar o poder corante das micropartículas e definir um grupo de alimentos de interesse para futuras aplicações na indústria alimentar. Para isso, foram selecionadas diversas matrizes alimentares com diferentes caracteres hidrofílico/lipofílico e foi realizada uma avaliação da cor das matrizes alimentares aditivadas com a curcumina livre e microencapsulada.

Inicialmente foi determinado o teor de humidade (U%) e o pH das matrizes alimentares selecionadas, conforme apresentado na Tabela 24. O registo de imagens das matrizes alimentares incorporadas com as micropartículas de curcumina MP1, MP2 e MP3, assim como o controlo (C) e o controlo positivo (CP) encontra-se na Figura 23. Os parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$  e  $\Delta E$  relativos à avaliação das cores das matrizes alimentares, determinados no dia 0 e no dia 7, para os controlos positivos e negativos e para as micropartículas MP1, MP2 e MP3 encontram-se na Tabela 25.

**Tabela 24.** Teor de umidade (%) e valor de pH das matrizes alimentares utilizadas para a incorporação das micropartículas.

Matriz alimentar	Teor de umidade (%)	pH
Queijo fundido	58.59±0.02	5
Nata Culinária	80.85±0.01	6
Manteiga	10.97±0.75	6
Leite Condensado	22.79±0.14	7
Creme Vegetal Líquido	22.39±2.72	5
Iogurte Líquido Natural (0% matéria gorda)	85.53±0.01	5
Iogurte Natural	89.50±0.01	5
Iogurte Batido Natural (Grego)	80.92±0.11	5
Maionese	21.55±3.23	4

Os valores são expressos como média ± desvio padrão



**Figura 24.** Registro de imagens das matrizes alimentares incorporadas com a curcumina pura e encapsulada no dia 0, sendo: (A) Queijo Fundido, (B) Nata culinária, (C) Manteiga, (D) Leite condensado, (E) Margarina vegetal líquida, (F) Iogurte natural 0% matéria gorda, (G) Iogurte natural, (H) Iogurte batido natural (Tipo Grego) e (I) Maionese.

**Tabela 25.** Valor dos parâmetros a\*, b\* e L\* obtidos em triplicado, suas respectivas médias e desvio padrão avaliados nas matrizes alimentares incorporadas com curcumina pura (CP), MP1, MP2 e MP3 no dia 0 e dia 7.

Matriz Alimentar		Dia 0			Dia 7			$\Delta E_c$	$\Delta E_t$
		a*	b*	L*	a*	b*	L*		
Queijo Fundido (QF)	C	-4,127±0,102	16,170±0,431	87,353±0,387	-5,473±0,138	22,283±0,312	89,163±0,480	-	6,516
	CP	-3,987±0,029	14,220±0,113	89,327±0,127	-4,243±0,011	13,44±0,375	89,163±0,506	2,778	0,821
	MP1	-12,787±0,150	42,007±0,879	87,377±0,391	-12,577±0,162	48,023±0,178	89,907±0,121	27,249	6,530
	MP2	-11,277±0,085	38,030±0,606	87,297±0,114	-13,647±0,136	48,363±0,433	87,967±0,313	23,000	10,622
	MP3	-12,920±0,072	49,317±0,290	87,170±0,095	-14,247±0,151	58,897±0,414	88,636±0,235	34,294	9,782
Nata Culinária (N)	C	-2,640±0,026	3,177±0,414	86,087±0,749	-2,697±0,038	10,250±0,358	82,220±0,354	-	8,061
	CP	-2,867±0,120	4,1967±0,780	84,063±0,654	-4,797±0,049	20,803±0,138	80,913±0,073	2,277	17,012
	MP1	-7,320±0,145	19,627±0,136	86,143±0,864	-8,587±0,146	26,883±0,405	86,973±0,160	17,102	7,413
	MP2	-4,453±0,195	7,693±0,790	85,807±1,419	-6,767±0,110	19,157±0,090	85,630±0,236	4,875	11,696
	MP3	-8,063±0,263	18,127±1,416	87,570±0,615	-8,287±0,029	29,893±0,202	81,043±0,102	15,972	13,457
Manteiga (M)	C	-5,407±0,046	28,933±0,485	83,437±0,248	-5,347±0,075	30,350±1,100	83,947±0,707	-	1,507
	CP	-8,907±0,195	48,200±0,639	82,810±0,456	-10,843±0,278	56,730±0,426	83,993±0,303	19,592	8,827
	MP1	-10,390±0,070	46,270±1,070	83,797±0,415	-10,933±0,287	49,503±0,410	84,997±0,403	18,042	3,491
	MP2	-10,910±0,089	51,350±0,286	85,147±0,440	-12,120±0,190	56,436±0,986	85,387±0,168	23,145	5,234
	MP3	-10,350±0,197	51,793±0,286	84,573±0,405	-12,260±0,230	55,163±0,650	84,717±0,520	23,415	3,876
Leite Condensado (LC)	C	-7,097±0,194	11,533±0,426	75,387±0,685	-5,427±0,477	8,003±0,610	74,567±0,411	-	3,990
	CP	-6,830±0,217	13,590±0,442	74,327±0,106	-6,030±0,085	12,497±0,551	74,223±0,412	2,329	1,359
	MP1	-14,023±76,443	40,013±1,133	76,443±0,630	-15,377±0,408	38,167±1,542	75,233±0,300	29,329	2,589
	MP2	-10,733±0,697	24,687±2,032	75,380±0,477	-12,307±0,076	26,463±0,581	74,290±0,509	13,647	2,611
	MP3	-14,030±0,017	36,777±0,775	74,037±0,603	-14,647±0,225	41,137±2,905	74,700±0,582	26,213	4,453
Margarina Vegetal Líquida (ML)	C	-3,133±0,035	12,697±0,691	85,427±0,389	-2,901±0,041	8,623±0,660	83,227±0,450	-	4,635
	CP	-4,293±0,146	21,327±0,235	87,240±0,425	-7,440±0,141	24,417±1,084	86,657±0,575	8,894	4,448
	MP1	-8,647±0,247	29,497±1,314	86,097±0,763	-9,117±0,070	28,937±1,521	85,897±1,387	17,694	0,758
	MP2	-9,060±0,322	31,233±1,374	86,027±0,969	-10,837±0,544	38,243±1,764	83,427±0,191	19,470	7,684
	MP3	-10,397±0,248	36,360±0,930	87,113±0,497	-11,767±0,057	38,053±0,351	87,153±0,150	24,810	2,178

**Tabela 25.** Valor dos parâmetros a\*, b\* e L\* obtidos em triplicado, suas respectivas médias e desvio padrão avaliadas nas matrizes alimentares incorporadas com curcumina *pura* (CP), MP1, MP2 e MP3 no dia 0 e dia 7.

(CONTINUAÇÃO)

Matriz Alimentar		Dia 0			Dia 7			$\Delta E_c$	$\Delta E_t$
		a*	b*	L*	a*	b*	L*		
Iogurte Natural 0% matéria gordura (S)	C	-2,530±0,043	9,900±0,061	80,443±0,165	-2,737±0,005	10,473±0,066	81,707±0,136	-	1,402
	CP	-2,373±0,049	11,307±0,290	80,340±0,085	-5,047±0,021	22,603±0,023	80,510±0,043	1,419	11,610
	MP1	-6,013±0,143	27,523±1,032	79,420±0,053	-8,977±0,035	34,343±0,158	81,347±0,125	17,993	7,681
	MP2	-3,547±0,025	13,183±0,145	80,293±0,025	-7,740±0,020	20,713±0,100	86,733±0,170	3,440	10,759
	MP3	-6,187±0,444	22,937±1,062	79,427±0,030	-10,017±0,065	37,213±0,161	80,767±0,080	13,578	14,842
Iogurte Natural (IN)	C	-2,820±0,034	2,880±0,087	85,550±0,052	-2,923±0,108	4,300±0,533	88,957±0,935	-	3,692
	CP	-2,653±0,055	10,910±0,839	85,693±2,147	-6,690±0,030	17,100±0,439	87,850±0,187	8,033	7,698
	MP1	-8,243±0,196	26,873±1,045	86,780±0,303	-11,517±0,075	31,540±1,453	87,000±0,737	24,629	5,704
	MP2	-4,997±0,363	8,857±1,938	85,403±0,524	-9,107±0,415	23,780±0,654	87,570±0,648	6,362	15,630
	MP3	-10,527±0,057	26,737±1,407	85,730±0,524	-12,867±0,134	34,170±2,553	84,340±1,174	25,071	7,916
Iogurte Batido Natural Grego (IG)	C	-2,910±0,121	6,377±0,716	90,537±0,707	-3,310±0,111	6,713±0,575	91,330±0,306	-	0,950
	CP	-2,463±0,177	6,927±0,801	87,987±1,153	-6,127±0,058	18,360±0,481	91,553±0,247	2,647	12,524
	MP1	-7,797±0,085	20,800±0,053	88,387±0,577	-10,330±0,140	28,377±1,061	91,040±0,830	15,378	8,418
	MP2	-5,740±0,209	11,983±1,255	87,983±1,150	-9,750±0,131	24,040±1,751	91,097±1,088	6,780	13,082
	MP3	-8,700±0,075	20,597±0,145	88,890±0,399	-12,240±0,200	40,500±11,510	92,397±0,645	15,441	20,517
Maionese (MY)	C	-3,127±0,015	11,450±0,282	87,620±0,452	-3,347±0,070	13,503±0,551	89,187±0,288	-	2,592
	CP	-3,980±0,101	15,657±1,324	87,543±0,602	-9,737±0,299	32,703±1,510	90,327±0,277	4,293	18,206
	MP1	-9,683±0,116	28,777±0,395	86,963±0,602	-10,947±0,072	32,260±0,835	89,580±0,478	18,537	4,536
	MP2	-9,517±0,035	26,037±1,049	86,470±0,666	-12,613±0,122	39,800±0,340	90,260±0,503	15,966	14,607
	MP3	-10,907±0,046	31,763±0,174	87,033±0,096	-14,400±0,052	39,797±1,416	88,500±0,720	21,760	8,882

Valores expressos como média ± desvio padrão.

A diferença de cor observada entre o dia 0 e o dia 7 foi analisada pelo valor de  $\Delta E_t$ , calculado pela Equação 8. Em geral, a formulação MP2 foi a que conduziu a valores de  $\Delta E_t$  superiores, exceto no caso da nata culinária, leite condensado, iogurte natural 0% matéria gorda e iogurte batido natural (tipo grego).

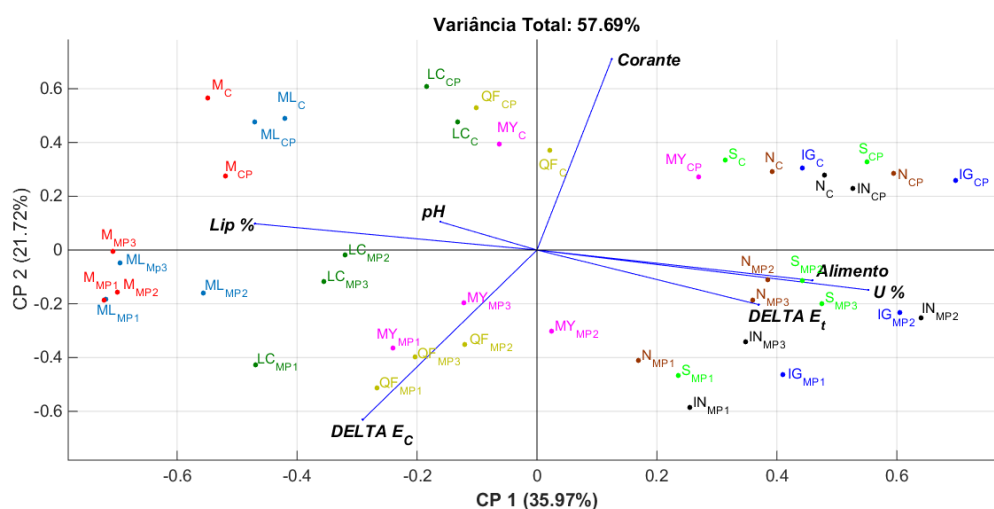
As micropartículas MP1 conduziram aos valores de  $\Delta E_t$  inferiores para todas as matrizes alimentares, mostrando que a cera de abelha é um excelente material encapsulante para a curcumina. As matrizes alimentares foram analisadas também quanto à separação de fases durante o armazenamento, tendo-se observado separação com todas as formulações de micropartículas de curcumina (MP1, MP2 e MP3) na nata culinária, no iogurte natural 0% matéria gorda e no iogurte natural. Adicionalmente observou-se também separação com as micropartículas MP2 na margarina vegetal líquida, no leite condensado e no iogurte natural batido (tipo grego).

O poder corante da curcumina e das micropartículas produzidas, nas matrizes alimentares foi também avaliado. Os valores de ( $\Delta E_c$ ) em relação ao controlo, encontram-se também na Tabela 25. No geral as micropartículas de curcumina MP1 e MP3 apresentaram um maior poder corante, comparativamente às micropartículas MP2 e a curcumina livre, exceto no caso da manteiga e da margarina vegetal líquida. Este fato pode estar relacionado com a composição do material de parede das micropartículas; nomeadamente, as micropartículas MP2 possuem um teor de lípido líquido (miglyol 812) superior.

De referir também que a quantidade de água presente nas matrizes alimentares influencia diretamente a aplicação das micropartículas de curcumina. As matrizes alimentares que apresentaram um teor de humidade elevado (nata culinária, iogurte líquido natural (0% matéria gorda), iogurte natural e o iogurte batido natural (tipo grego)) foram as que conduziram à observação de uma separação das micropartículas superior. Tal está relacionado com o carácter hidrofóbico da curcumina e da matriz de encapsulação, dificultando o uso desta solução (curcumina encapsulada em matrizes lipídicas) em matrizes alimentares com teor de humidade elevado.

As matrizes alimentares utilizadas apresentaram pHs ácidos, exceto o leite condensado que se apresentou neutro. A curcumina pura é pouco estável em alimentos alcalinos (ARIYARATHNA; KARUNARATNE, 2016) com isto acredita-se que a variação da cor das micropartículas de curcumina nas matrizes alimentares não foi influenciada pelo pH.

O teor de lípidos das matrizes alimentares (apresentado na Tabela 11), os valores de  $\Delta E_c$  e  $\Delta E_t$  estão presentes na Tabela 25. O teor de humidade e o pH representados na Tabela 24, o tipo de alimento e o tipo de formulação corante (micropartículas ou livre) foram submetidos a uma análise de componentes principais (PCA) e os resultados encontram-se representados na Figura 25. Adicionalmente, fez-se uma análise de correlação baseada no coeficiente de correlação de *Pearson* estando os resultados representados na Tabela 26.



**Figura 25.** Análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros estudados no teste de incorporação das micropartículas de curcumina em matrizes alimentares.

**Tabela 26.** Coeficientes de correlação de *Pearson* e p-valor para as correlações das variáveis avaliadas.

<i>r Pearson</i>	pH	U (%)	Lip (%)	DELTA E <sub>c</sub>
<b>Alimento</b>	-0.31103	0.455779	-0.36649	-0.252157315
<b>Corante</b>	0	-1.03E.10 <sup>-17</sup>	-1.29.10 <sup>-18</sup>	-0.59917782
<b>DELTA E<sub>t</sub></b>	-0.27764	0.398146	-0.20747	-0.030307567
<i>p-valor</i>	pH	U (%)	Lip (%)	DELTA E <sub>c</sub>
<b>Alimento</b>	0.039877	0.001876	0.014411	0.098682473
<b>Corante</b>	1	1	1	1.73.10 <sup>-05</sup>
<b>DELTA E<sub>t</sub></b>	0.06805	0.007437	0.176591	0.845162108

As duas componentes principais explicaram 57.69% dos dados analisados, a primeira componente (CP 1) está positivamente relacionada com o tipo de alimento, percentagem de humidade (U, %) e com o valor de Delta Et; já a segunda componente está positivamente

relacionada com a percentagem de lípidos (Lip %) presente nas matrizes alimentares, com o pH e com o tipo de formulação corante. Adicionalmente, verifica-se que DELTA  $E_t$  está correlacionado com o teor de humidade dos alimentos e com o tipo de matriz alimentar. A maionese (MY) incorporada com as microesferas MP1 e MP3 e o queijo fundido incorporado com as microesferas MP1, MP2 e MP3 originaram uma maior variação de cor, o que não aconteceu com a maionese incorporada com a curcumina pura (MYCP), iogurte líquido natural (0% matéria gorda) (S), iogurte grego (IG), nata culinária (N), o iogurte natural (IN), o controlo (C) e controlo positivo (CP).

Pela análise do coeficiente de *r de Pearson* (0.398146), o *p-valor* (0.007437) presentes na Tabela 26 e a Figura 24, verifica-se que o teor de humidade (U, %) está positivamente correlacionado com a variação de cor ao longo do tempo (DELTA  $E_t$ ). Este comportamento pode ser observado no iogurte natural, nata culinária e no iogurte líquido natural (0% matéria gorda) (S) incorporados com as micropartículas MP2 e MP3 e no iogurte natural (tipo grego) incorporado com as micropartículas MP1 e MP2. Este fato pode estar associado com o carácter hidrofóbico das micropartículas lipídicas. As matrizes alimentares com menor variação de cor ao longo do tempo correspondem à margarina líquida e à manteiga, ao controlo e ao controlo positivo. Analisando ainda os resultados da Tabela 26 é evidente que a interação da variação de cor (Delta E) com o tipo de formulação corante também é significativa em relação ao *p-valor* ( $1.73 \cdot 10^{-05}$ ), indicando que os corantes apresentaram efeitos diferentes na coloração, não obstante corresponderem à adição de uma quantidade de curcumina equivalente. Este efeito pode estar relacionado com o tipo de encapsulante utilizado (diferentes formulações lipídicas). Adicionalmente, e por avaliação dos resultados da Tabela 26 é evidente a existência de uma correlação significativa do pH, a humidade e o teor de lípidos, com o tipo de alimento, o que é expectável pois são características individuais dos mesmos.

## **5. CONCLUSÕES**

O presente trabalho teve como objetivo encapsular a curcumina em micropartículas lipídicas com diferentes composições encapsulantes (diferentes componentes lipídicos). Tal visou, numa primeira fase, conferir uma maior resistência à temperatura tornando estas formulações corantes apropriadas para alimentos que necessitem de procedimentos de cozimento. Numa segunda fase, este estudo foi estendido à avaliação da adequação do uso das formulações desenvolvidas em diferentes matrizes alimentares (carácter hidrofílico/lipofílico variável).

A abordagem selecionada para a microencapsulação em partículas lipídicas recorreu à utilização da técnica de *spray congealing*, os lípidos sólidos utilizados como material de parede foram a cera de abelha e a cera de carnaúba. Adicionalmente, utilizou-se mygliol 812 (lípidio líquido). Foram realizados dois planeamentos de misturas *simplex centroid* para seleccionar a composição do material encapsulante a ser usado nos estudos, tendo por base as temperaturas de fusão e solidificação dos materiais.

Após seleção das composições a utilizar para os materiais de parede, a curcumina foi microencapsulada utilizando a técnica de *spray congealing*. As micropartículas obtidas foram caracterizadas quanto ao tamanho tendo-se verificado que as mesmas apresentaram tamanhos micrométricos. Adicionalmente, as análises de caracterização por DSC mostraram que a curcumina foi solubilizada na matriz lipídica, enquanto as análises de microscopia ótica mostraram que as partículas formadas apresentaram aspeto esférico, tendo revelado a existência de aglomerados.

A análise de componentes principais foi utilizada para descrever a variação da cor das micropartículas em função do material de parede aplicado, temperatura e tempo de aquecimento. Esta análise revelou que as formulações MP1 (98,5% CA e 1,5% C) e MP3 (41,35% CA, 14,85% CC, 42,3% M e 1,5% C) foram as que revelaram mais resistentes à temperatura.

Os estudos de adição das micropartículas a diferentes matrizes alimentares (foram utilizadas nove matrizes alimentares com carácter hidrofílico/lipofílico distinto) compreenderam a avaliação da variação de cor, ao longo de 7 dias de armazenamento, e a sua correlação com o pH, o teor de humidade e o teor lipídico dos alimentos. Uma análise de componentes principais (PCA) indicou que o teor de humidade dos alimentos e a formulação corante utilizada estão correlacionados com a variação da cor da curcumina ao longo do tempo.

Como trabalho futuro, seria interessante proceder à incorporação das micropartículas de curcumina em alimentos que sofrem processamento térmico, proceder à avaliação das propriedades deste e comparar com as outras formas de curcumina estudadas. Adicionalmente seria interessante analisar as atividades biológicas da curcumina após o processamento térmico.

## **6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABDULLAH, N.; CHIN, N. L. Simplex-centroid mixture formulation for optimised composting of kitchen waste. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 21, p. 8205–8210, 2010.

AGÓCS, A.; DELI, J. Pigments in your food. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 6, p. 757–759, 2011.

ALBERTINI, B. et al. New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V**, v. 69, n. 1, p. 348–57, maio 2008.

ALFUTIMIE, A. et al. The Effect of monoglycerides on the crystallisation of triglyceride. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 494, p. 170–179, 2016.

ALMEIDA, H. H. S. Estudo de formulações hidrofílicas do corante natural curcumina para aplicações em iogurtes. Tese de mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar. **Instituto Politécnico de Bragança, Bragança**, p. 105, 2017.

ALMEIDA, H. H. S. et al. Bioactive evaluation and application of different formulations of the natural colorant curcumin ( E100 ) in a hydrophilic matrix ( yogurt ). **Food Chemistry**, v. 261, n. April, p. 224–232, 2018.

ALVIM, I. D. et al. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 689–694, 2016.

ARIYARATHNA, I. R.; KARUNARATNE, D. N. Microencapsulation stabilizes curcumin for efficient delivery in food applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 10, p. 79–86, 2016.

BABAZADEH, A.; GHANBARZADEH, B.; HAMISHEHKAR, H. Novel nanostructured lipid carriers as a promising food grade delivery system for rutin. **Journal of Functional Foods**, v. 26, p. 167–175, 2016.

BEHBAHANI, E. S. et al. Optimization and characterization of ultrasound assisted preparation of curcumin-loaded solid lipid nanoparticles: Application of central composite design, thermal analysis and X-ray diffraction techniques. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 271–280,

2017.

BENTO, W. D. A. S.; LIMA, B. P.; PAIM, A. P. S. Simultaneous determination of synthetic colorants in yogurt by HPLC. **Food Chemistry**, v. 183, p. 154–160, 2015.

BEZERRA, V. M. R. . et al. **Introdução à tecnologia de leite e derivados**.

BOX, G.; DRAPER, N. Response surfaces, mixtures, and ridge analyses 2.ed. **United States of America: Wiley**, p. 857, 2007.

BUTSTRAEN, C.; SALAÜN, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 608–616, 2014.

CELLI, G. B.; BROOKS, M. S.-L. Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins — A current review. **Food Research International**, v. 100, p. 501–509, 2016.

CHAMBI, H. N. M. et al. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterisation and release profiles. **Food Research International**, v. 41, n. 3, p. 229–236, 2008.

CHRANIOTI, C.; NIKOLOUDAKI, A.; TZIA, C. Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. **Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 252–263, 2015.

CODEX. Codex Alimentarius. **Codex stan**, v. 192–1995, n. revisado em 2016., 2016.

CONSOLI, L. et al. Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: Production and characterization. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 79–87, 2016.

CORNELL, J. A. **Experiments with mixture: Designs, models, and the analysis of mixture data**. 3<sup>o</sup>ed ed. Nova York: Editora John Wiley & Sons, 2002.

CORNELL, J. A. A Primer on Experiments with Mixtures. **Hoboken: John Wiley & Sons.**, 2011.

CORNELL, J. A.; DENG, J. C. Combining Process Variables and Ingredient Components in Mixing Experiments. **Journal of Food Science**, v. 47, n. 3, p. 836–843, 1982.

DAMANT, A. P. Food Colourants – Chapter 8, Food Standards Agency, Woodhead Publishing Limited. p. 252–305, 2011.

DARWISH, S. et al. Cyclic peptide conjugate of curcumin and doxorubicin as an anticancer agent. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 49, p. 4617–4622, 2017.

DI SABATINO, M. et al. Spray congealed lipid microparticles with high protein loading: preparation and solid state characterisation. **European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 5, p. 346–56, 15 ago. 2012.

DIAS, F. F. G. et al. Simplex centroid mixture design to improve l-asparaginase production in solid-state fermentation using agroindustrial wastes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 528–534, 2015.

DIAS, M. I.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARREIRO, M. F. Microencapsulation of bioactives for food applications. **Food & Function**, v. 5, n. 4, p. 1035–1052, 2015.

DINICOLANTONIO, J. J.; LUCAN, S. C.; O'KEEFE, J. H. The Evidence for Saturated Fat and for Sugar Related to Coronary Heart Disease. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 58, n. 5, p. 464–472, 2016.

ĐORĐEVIĆ, V. ET AL. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. **Food Engineering Reviews**, v. 7, p. 452–490, 2014.

DORNELLAS, F. C. Atividade antifúngica de *Cúrcuma longa* L. (ZINGIBERACEAE) contra fungos deteriorantes de pães. Trabalho de Conclusão de Curso em Tecnologia de Alimentos. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão**, p. 38, 2016.

DUBEY, S. K. et al. Design, synthesis and characterization of some bioactive conjugates of curcumin with glycine, glutamic acid, valine and demethylenated piperic acid and study of their antimicrobial and antiproliferative properties. **European journal of medicinal chemistry**, v. 43, n. 9, p. 1837–46, set. 2008.

DUTCOSKY, S. D. et al. Combined sensory optimization of a prebiotic cereal product using multicomponent mixture experiments. **Food Chemistry**, v. 98, n. 4, p. 630–638, 2006.

DUVOIX, A. et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. **Cancer letters**, v. 223, n. 2, p. 181–90, 8 jun. 2005.

FADUS, M. C. et al. Curcumin: An age-old anti-inflammatory and anti-neoplastic agent. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 7, n. 3, p. 339–346, 2017.

FANG, C.-L.; AL-SUWAYEH, S. A.; FANG, J.-Y. Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) for Drug Delivery and Targeting. **Recent Patents on Nanotechnology**, v. 7, n. 1, 2013.

FEKETE, G.; TSABOURI, S. Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality? **Food Chemistry**, v. 230, p. 578–588, 2017.

FENG, R.; SONG, Z.; ZHAI, G. Preparation and in vivo pharmacokinetics of curcumin-loaded PCL-PEG-PCL triblock copolymeric nanoparticles. **International journal of nanomedicine**, v. 7, p. 4089–98, jan. 2012.

FERNÁNDEZ, K. et al. Factorial design optimization and characterization of poly-lactic acid (PLA) nanoparticle formation for the delivery of grape extracts. **Food Chemistry**, v. 207, p. 75–85, 2016.

FERREIRA, S. L. C. et al. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, n. 2, p. 179–186, 2007.

FRATINI, F. et al. Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 9, p. 839–843, 2016.

GANESAN, P.; NARAYANASAMY, D. Lipid nanoparticles: Different preparation techniques, characterization, hurdles, and strategies for the production of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for oral drug delivery. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 6, n. July, p. 37–56, 2017.

GOMES, D. DE S. et al. Thermal, pasting properties and morphological characterization of pea starch (*Pisum sativum* L.), rice starch (*Oryza sativa*) and arracacha starch (*Arracacia xanthorrhiza*) blends, established by simplex-centroid design. **Thermochemica Acta**, v. 662, p. 90–99, 2018.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Improving antioxidant and antimicrobial properties of curcumin by means of encapsulation in gelatin through electrohydrodynamic atomization. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 313–320, 2017.

GOVINDARAJ, P.; KANDASUBRAMANIAN, B.; KODAM, K. M. Molecular interactions and antimicrobial activity of curcumin (*Curcuma longa*) loaded polyacrylonitrile films. **Materials Chemistry and Physics**, v. 147, n. 3, p. 934–941, out. 2014.

GOZÉ, P. et al. Starch characterization after ozone treatment of wheat grains. **Journal of**

**Cereal Science**, v. 70, p. 207–213, 2016.

GUIMARÃES-INÁCIO, A. et al. Evaluation of the oxidative stability of chia oil-loaded microparticles by thermal, spectroscopic and chemometric methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 87, p. 498–506, 2018.

HANDA, C. L. et al. Multi-response optimisation of the extraction solvent system for phenolics and antioxidant activities from fermented soy flour using a simplex-centroid design. **Food Chemistry**, v. 197, p. 175–184, 2016.

HARRON, A. F. et al. Analysis of sorghum wax and carnauba wax by reversed phase liquid chromatography mass spectrometry. **Industrial Crops and Products**, v. 98, p. 116–129, 2017.

HEJRI, A. et al. Optimisation of the formulation of  $\beta$ -carotene loaded nanostructured lipid carriers prepared by solvent diffusion method. **Food Chemistry**, v. 141, n. 1, p. 117–123, 2013.

ILIĆ, I. et al. Microparticle size control and glimepiride microencapsulation using spray congealing technology. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 381, n. 2, p. 176–183, 2009.

JIAO, D. et al. Mixture design of concrete using simplex centroid design method. **Cement and Concrete Composites**, v. 89, p. 76–88, 2018.

KAMMOUN, R.; NAILI, B.; BEJAR, S. Application of a statistical design to the optimization of parameters and culture medium for  $\alpha$ -amylase production by *Aspergillus oryzae* CBS 819.72 grown on gruel (wheat grinding by-product). **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5602–5609, 2008.

KATOUZIAN, I. et al. Formulation and application of a new generation of lipid nano-carriers for the food bioactive ingredients. **Trends in Food Science and Technology**, v. 68, p. 14–25, 2017.

KHAN, W. H.; RATHOD, V. K. Process intensification approach for preparation of curcumin nanoparticles via solvent-nonsolvent nanoprecipitation using spinning disc reactor. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 80, p. 1–10, 2014.

KHERADMANDNIA, S. et al. Preparation and characterization of ketoprofen-loaded solid lipid nanoparticles made from beeswax and carnauba wax. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 6, n. 6, p. 753–759, 2010.

- KIM, M. B.; KO, J. Y.; LIM, S. BIN. Formulation Optimization of Antioxidant-Rich Juice Powders Based on Experimental Mixture Design. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, 2017.
- KWAK, H. S. Overview of Nano- and Microencapsulation for Foods. **Nano- and Microencapsulation for Foods**, p. 1–14, 2014.
- LAL, J. et al. Biological activity, design, synthesis and structure activity relationship of some novel derivatives of curcumin containing sulfonamides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, p. 579–588, jun. 2013.
- LAQUI-VILCA, C. et al. Ultrasound-assisted optimal extraction and thermal stability of betalains from colored quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) hulls. **Industrial Crops and Products**, v. 111, n. May 2017, p. 606–614, 2018.
- LASON, E. et al. Release study of selected terpenes from nanostructured lipid carriers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 510, p. 87–92, 2016.
- LEMES, G. F. et al. Enzymatically crosslinked gelatin coating added of bioactive nanoparticles and antifungal agent: Effect on the quality of Benitaka grapes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 175–182, 2017.
- LIU, C. et al. Genome relationships in the genus *Dasypyrum*: evidence from molecular phylogenetic analysis and in situ hybridization. **Plant Systematics and Evolution**, v. 288, n. 3–4, p. 149–156, 2010.
- MARSAC, P. J.; LI, T.; TAYLOR, L. S. Estimation of drug-polymer miscibility and solubility in amorphous solid dispersions using experimentally determined interaction parameters. **Pharmaceutical Research**, v. 26, n. 1, p. 139–151, 2009.
- MARTINS, N. et al. Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. **Trends in Food Science and Technology**, v. 52, p. 1–15, 2016.
- MASCHKE, A. et al. Development of a spray congealing process for the preparation of insulin-loaded lipid microparticles and characterization thereof. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, n. 2, p. 175–187, 2007.
- MASSIMINO, L. C.; FARIA, H. A. M.; YOSHIOKA, S. A. Curcumin bioactive nanosizing:

Increase of bioavailability. **Industrial Crops and Products**, v. 109, n. September, p. 493–497, 2017.

MATOS-JR, F. E. et al. Development and characterization of solid lipid microparticles loaded with ascorbic acid and produced by spray congealing. **Food Research International**, v. 67, p. 52–59, 2015.

MCCARRON, P. A. .; DONNELLY, R. F. .; AL-KASSAS, R. Comparison of a novel spray congealing procedure with emulsion-based methods for the micro-encapsulation of water-soluble drugs in low melting point triglycerides. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, p. 365–378, 2008.

MENDONÇA, J. Identificação e Isolamento de Corantes Naturais produzidos por Actinobactérias. Tese de mestrado em Química. **Universidade de São Paulo**, p. 101, 2011.

MILANOVIC, J. et al. Microencapsulation of flavors in carnauba wax. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 1, p. 901–12, jan. 2010.

MITRI, K. et al. Lipid nanocarriers for dermal delivery of lutein: Preparation, characterization, stability and performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 414, n. 1–2, p. 267–275, 2011.

MYERS, R.; ANDERSON-COOK, C. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. 2.ed. **United States of America: Wiley**, p. 1247, 2009.

NIKZADE, V.; TEHRANI, M. M.; SAADATMAND-TARZJAN, M. Optimization of low-cholesterol-low-fat mayonnaise formulation: Effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 2, p. 344–352, 2012.

NOSARI, A B. F. L. Desenvolvimento de micropartículas lipídicas sólidas contendo óleo de café verde por spray congealing. Tese de mestrado em Ciências Farmacêuticas. **Universidade de São Paulo**, p. 116, 2012.

O'KEEFE, S. **Nomenclature and classification of lipids.**

OKURO, P. K.; EUSTÁQUIO DE MATOS, F.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. **Food Technology and Biotechnology**, v. 51, n. 2, p. 171–182, 2013.

OLIVEIRA, D. E. C. DE; RESENDE, O.; COSTA, L. M. C. Drying effects on the baru fruit color (*Dipteryx alata* Vogel). **Revista agroambiente.**, v. 10, p. 364–370, 2016.

PASSERINI, N. et al. Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 318, n. 1–2, p. 92–102, 2006.

PAUCAR, O. C. et al. Production by spray chilling and characterization of solid lipid microparticles loaded with vitamin D3. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 344–350, 2016.

PELLISSARI, J. R. et al. 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.

PINHEIRO, A.; CERQUEIRA, M.; VICENTE, A. Nanotecnologia como ferramenta para produzir novos alimentos funcionais: vantagens e precauções. **Tecno hospital – revista de engenharia e gestão da saúde**, p. 59, 2013.

PRISCO, A.; MAURIELLO, G. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. **Trends in Food Science & Technology**, p. 48, 27–39, 2016.

RAMALINGAM, P.; YOO, S. W.; KO, Y. T. Nanodelivery systems based on mucoadhesive polymer coated solid lipid nanoparticles to improve the oral intake of food curcumin. **Food Research International**, v. 84, p. 113–119, 2016.

RAO, P. V.; BARAL, S. S. Experimental design of mixture for the anaerobic co-digestion of sewage sludge. **Chemical Engineering Journal**, v. 172, n. 2–3, p. 977–986, 2011.

REID, M. K.; SPENCER, K. L. Use of principal components analysis (PCA) on estuarine sediment datasets: The effect of data pre-treatment. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 8–9, p. 2275–2281, 2009.

REIS, C.; ANDRADE, J. DE. Planejamento experimental para misturas usando cromatografia em papel. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 313–319, 1996.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Natural food pigments and colorants. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 20–26, 2016.

RYTZ, A. et al. Using fractional factorial designs with mixture constraints to improve

nutritional value and sensory properties of processed food. **Food Quality and Preference**, v. 58, p. 71–75, 2017.

SÁNCHEZ, F. M. et al. Optimization of broccoli microencapsulation process by complex coacervation using response surface methodology. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 34, p. 243–249, 2016.

SILVA-BUZANELLO, R. A. et al. Preparation of curcumin-loaded nanoparticles and determination of the antioxidant potential of curcumin after encapsulation. **Polímeros**, v. 26, n. 3, p. 207–214, 2016.

SILVA, A. C. Avaliação da atividade antimicrobiana de nanopartículas de curcumina e aplicação de microcristais de curcumina em cenoura minimamente processada. p. 44, 2016.

SILVA, M. M. et al. Thermal and ultraviolet–visible light stability kinetics of co-nanoencapsulated carotenoids. **Food and Bioproducts Processing**, v. 105, p. 86–94, 2017.

SMITH, W. Experimental design for formulation. **Philadelphia**, 2005.

SOLEIMANIAN, Y. et al. Formulation and characterization of novel nanostructured lipid carriers made from beeswax, propolis wax and pomegranate seed oil. **Food Chemistry**, v. 244, n. May 2017, p. 83–92, 2018.

SPADA, J. C. et al. Study on the stability of  $\beta$ -carotene microencapsulated with pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 4, p. 1166–1173, 2012.

TAMJIDI, F. et al. Design and characterization of astaxanthin-loaded nanostructured lipid carriers. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 26, p. 366–374, 2014.

TANG, B. et al. Simultaneous determination of 16 synthetic colorants in hotpot condiment by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 960, p. 87–91, 2014.

VARELA, P.; FISZMAN, S. M. Exploring consumers' knowledge and perceptions of hydrocolloids used as food additives and ingredients. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 477–484, 2013.

WANG, S. et al. Spray-drying of curcumin-loaded octenylsuccinated corn dextrin micelles stabilized with maltodextrin. **Powder Technology**, v. 307, p. 56–62, 2017.

WEGMÜLLER, R. et al. Development, Stability, and Sensory Testing of Microcapsules Containing Iron, Iodine, and Vitamin A for Use in Food Fortification. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 2, p. S181–S187, 2006.

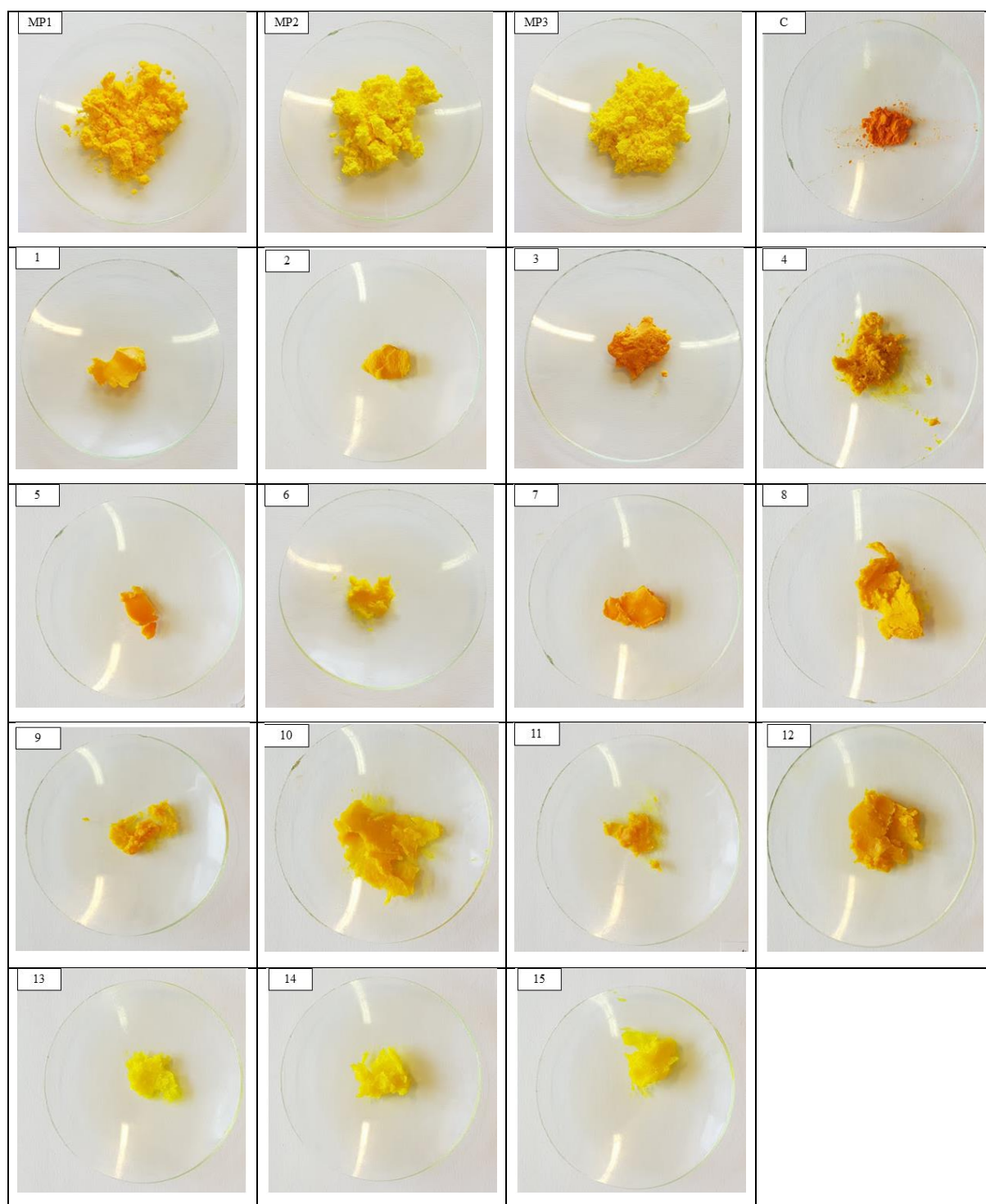
ZANELA, J. et al. Mixture design to develop biodegradable sheets with high levels of starch and polyvinyl alcohol. **Starch/Staerke**, v. 67, n. 11–12, p. 1011–1019, 2015.

ZHENG, B. et al. Impact of delivery system type on curcumin stability: Comparison of curcumin degradation in aqueous solutions, emulsions, and hydrogel beads. **Food Hydrocolloids**, v. 71, p. 187–197, 2017.

ZHUANG, C. Y. et al. Preparation and characterization of vinpocetine loaded nanostructured lipid carriers (NLC) for improved oral bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 394, n. 1–2, p. 179–185, 2010.

## **7. ANEXOS**

**ANEXO A:** Registro das imagens das micropartículas de curcumina utilizadas no planejamento *Box-Behnken* representado pela Tabela 10.



**Obs:** Os números das imagens representam os experimentos presente na Tabela 10.

