



JÚLIA PERES ANTONIO

**MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE
BETERRABA POR *SPRAY CHILLING***

**LAVRAS – MG
2021**

JÚLIA PERES ANTONIO

**MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE BETERRABA POR
*SPRAY CHILLING***

MICROENCAPSULATION OF BEET EXTRACT BY *SPRAY CHILLING*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, área de concentração em Engenharia de Alimentos, para a obtenção do Título de Mestre.

Profa. Dra. Soraia Vilela Borges
Orientadora

Dra. Amanda Maria Teixeira Lago
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA,
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Antonio, Júlia Peres.

Microencapsulação do extrato de beterraba por *spray chilling*.

Brasil. / Júlia Peres Antonio. - 2021.

101 p. : il.

Orientadora: Soraia Vilela Borges.

Coorientadora: Amanda Maria Teixeira Lago.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Betalaína. 2. Materiais lipídicos. 3. Microesferas. I. Borges, Soraia Vilela. II. Lago, Amanda Maria Teixeira. III. Título.

JÚLIA PERES ANTONIO

**MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE BETERRABA POR
*SPRAY CHILLING***

MICROENCAPSULATION OF BEET EXTRACT BY *SPRAY CHILLING*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, área de concentração em Engenharia de Alimentos, para a obtenção do Título de Mestre.

APROVADA em 09 de julho de 2021.

Dra. Amanda Maria Teixeira Lago UFLA

Dra. Joyce Maria Gomes da Costa UFVJM



Profa. Dra. Soraia Vilela Borges
Orientadora

**LAVRAS – MG
2021**

À minha avó Neusa (in memoriam). Que sempre apoiou, incentivou e financiou os meus estudos. Mesmo no céu, sei que está zelando por mim.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que preparou o caminho para que tudo acontecesse no tempo certo, tornando o momento da espera tão importante quanto o da conquista.

Ao meu irmão Pedro, e principalmente à minha mãe Mariana e meu pai Leonardo, que me ensinaram a ser forte, dar tempo ao tempo e pelo amor incondicional. Obrigada por me passarem tranquilidade, estarem sempre ao meu lado e por serem as pessoas mais importantes da minha vida.

Aos meus companheiros de 4 patas, Bebel, Flor, Belinha, Thor, Amendoim e Paçoca, que cada um com sua peculiaridade, me distraíram nas horas de desespero e me ensinaram o verdadeiro significado da parceria.

As minhas tias, Ana, Bia e Lê pela torcida e orações. Amo vocês.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL) pela oportunidade concedida para a realização do Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro à pesquisa.

À minha orientadora, Profa. Dra. Soraia Vilela Borges, que me acolheu sem pestanejar quando foi preciso. Serei eternamente grata.

Gostaria de agradecer em especial a minha coorientadora Amanda Maria Teixeira Lago e a Jayne Figueiredo, pela paciência, dedicação e disponibilidade. Por toda a ajuda e ensinamentos nos experimentos. Pela leveza e descontração quando éramos pura gordura da cabeça aos pés.

Aos amigos do departamento que contribuíram para este trabalho, principalmente a Natália Leite, Sergio Henrique, Isabelle Neves e Eloá do Carmo que doaram tempo e conhecimento para me ajudar.

A todos do Laboratório de Embalagem e Encapsulação, pela troca de conhecimentos, união e amizade.

Aos meus amigos Victor e Édipo pelo acolhimento, incentivo, convivência, paciência, cumplicidade, amizade e auxílio.

A todos os meus amigos, que direta ou indiretamente, apoiaram-me, auxiliaram e torceram por mim.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade.

A todos que de alguma forma contribuíram para a concretização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

A beterraba (*Beta vulgaris* L.) é uma hortaliça rica em substâncias antioxidantes denominadas betalaínas, responsáveis pela coloração vermelho arroxeadas. As betalaínas impedem ou retardam processos de oxidação, apresentam efeitos benéficos à saúde e são empregadas pelas indústrias como corante natural. Como forma de aproveitamento dos resíduos de descarte e perdas de pós-colheita, a microencapsulação do extrato de beterraba por *spray chilling* ou spray a baixas temperaturas pode ser considerada uma técnica bastante viável. O processo é baseado na atomização de uma mistura do composto ativo e um material lipídico derretido em uma câmara fria, em que as gotículas em contato com o ar frio solidificam para formar micropartículas lipídicas sólidas que retêm e protegem a substância ativa. Essa técnica apresenta alto rendimento, baixo custo, simples operação e minimiza os danos térmicos do material encapsulado pelo emprego de temperaturas relativamente baixas. Assim, o estudo objetivou o aproveitamento do descarte da beterraba e o emprego da técnica de *spray chilling*, como forma de garantir a qualidade e a estabilidade do produto final. Para tanto, três variáveis independentes foram estudadas: formulações binárias lipídicas (agentes carreadores), contendo ácido esteárico (AE) e ácido oleico (AO), preparadas em homogeneizador ultrassônico, nas proporções de 50/50, 60/40 e 70/30, respectivamente; tempo de permanência (1, 2 e 3 min) no homogeneizador e amplitude de potência (50% e 70%) do equipamento. Em seguida, as misturas foram avaliadas quanto à estabilidade cinética e viscosidade e, a partir destes resultados, foram selecionados a amplitude de potência e o tempo ótimos, para a obtenção de sistemas coloidais ideais visando a microencapsulação das partículas em *spray chilling*. Cada tratamento foi avaliado pelas análises de teor e retenção de betalaínas, rendimento, morfologia, atributos de cor, atividade de água, diâmetro médio e distribuição do tamanho de partícula. Em relação à análise estatística, a metodologia de superfície de resposta foi escolhida para avaliar os padrões de resposta e determinar a combinação ótima das variáveis. Em relação à estabilidade das microesferas ao armazenamento, o aumento da temperatura e umidade relativa foram fatores que afetaram negativamente. Os tratamentos com maior concentração de AE tiveram melhor desempenho tanto para menores valores de ΔE^* como para maiores concentrações de betanina. Ao longo do tempo de armazenamento, pôde-se observar maior degradação dos pigmentos presentes nas microesferas com 50/50 e 60/40 de AE/AO e, conseqüente, maior alteração visual da cor, quando comparado ao tratamento 70/30. Com alto potencial a uma liberação antecipada e maior retenção das betalaínas, as microesferas elaboradas com menor concentração de AE apresentaram potencial aplicação em alimentos refrigerados como iogurtes, geleias, gelatinas e sorvetes. Já o aumento do AE, além de promover maior tamanho de partículas em temperaturas mais altas, apresentou melhor aspecto visual, sendo ideal para alimentos que pode vir a ter boas propriedades de fusão na boca como chocolates, leites aromatizados e massas para bolo. De modo geral, é possível desenvolver microesferas de compostos hidrossolúveis de diferentes concentrações lipídicas a partir da otimização dos métodos operacionais para a obtenção das emulsões. Em complemento, a técnica do *spray chilling* juntamente com as condições das operações testadas mostraram-se uma alternativa promissora para a encapsulação do extrato de beterraba e manutenção de sua estabilidade, o que torna viável sua aplicação na indústria de alimentos em projetos vindouros.

Palavras-chaves: Betalaína. Materiais lipídicos. Microesferas.

ABSTRACT

Beetroot (*Beta vulgaris* L.) is a vegetable rich in antioxidant substances called betalains, responsible for the purplish red color. Betalains prevent or delay oxidation processes, have beneficial effects on health and are used by industries as a natural dye. As a way of reusing discarded residues and post-harvest losses, the microencapsulation of beetroot extract by spray chilling or spray at low temperatures can be considered a very viable technique. The process is based on the atomization of a mixture of the active compound and a molten lipid material in a cold chamber, where the droplets in contact with cold air solidify to form solid lipid microparticles that retain and protect the active substance. This technique has high yield, low cost, simple operation and minimizes thermal damage to the encapsulated material by using relatively low temperatures. Thus, the study aimed to take advantage of beetroot disposal and the use of the spray chilling technique, as a way to ensure the quality and stability of the final product. Therefore, three independent variables were studied: binary lipid formulations (carrier agents), containing stearic acid (EA) and oleic acid (OA), prepared in an ultrasonic homogenizer, in proportions of 50/50, 60/40 and 70/30, respectively; residence time (1, 2 and 3 min) in the homogenizer and power range (50% and 70%) of the equipment. Then, the mixtures were evaluated for kinetic stability and viscosity and, based on these results, the optimum power range and time were selected to obtain ideal colloidal systems aimed at microencapsulation of particles in spray chilling. Each treatment was evaluated by analysis of betalain content and retention, yield, morphology, color attributes, water activity, mean diameter and particle size distribution. Regarding statistical analysis, the response surface methodology was chosen to assess response patterns and determine the optimal combination of variables. Regarding the stability of the microspheres to storage, the increase in temperature and relative humidity were factors that negatively affected it. The treatments with the highest concentration of AE performed better both for lower values of ΔE^* and for higher concentrations of betanin. Over the storage time, it was possible to observe greater degradation of the pigments present in the microspheres with 50/50 and 60/40 of AE/AO and, consequently, a greater visual change in color, when compared to the 70/30 treatment. With high potential for an early release and greater retention of betalains, microspheres prepared with lower concentration of AE showed potential application in refrigerated foods such as yogurts, jellies, gelatins and ice creams. The increase in AE, in addition to promoting greater particle size at higher temperatures, presented a better visual appearance, being ideal for foods that may have good melting properties in the mouth, such as chocolates, flavored milks and cake batters. In general, it is possible to develop microspheres of water-soluble compounds of different lipid concentrations from the optimization of operational methods to obtain emulsions. In addition, the spray chilling technique under the conditions of the tested operations proved to be a promising alternative for the encapsulation of beetroot extract and maintenance of its stability, which makes its application in the food industry future projects viable.

Keywords: Betalain. Lipid materials. Microspheres.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

Figura 1 –	Estrutura química geral das (a) betacianinas, (b) betaxantinas, (c) betanina e (d) vulgaxantina-I.....	17
Figura 2 –	Estrutura das microcápsulas e microesferas.	19
Figura 3 –	Diagrama esquemático para atomização pela técnica de <i>spray chilling</i>	22

SEGUNDA PARTE

ARTIGO

Figura 1 –	Fluxograma das etapas do experimento aplicado para a produção de micropartículas lipídicas contendo extrato de beterraba.....	46
Figura 2 –	Comparação dos valores preditos e experimentais para: (A) índice de cremeação – IC (%) e (B) índice de consistência – k (Pa·s ⁿ) das emulsões preparadas.	57
Figura 3 –	Superfície de resposta para o índice de cremeação (IC) das emulsões em função da interação entre as variáveis independentes tempo × amplitude.....	58
Figura 4 –	Superfícies de resposta para o índice de consistência (k) das emulsões em função da interação entre as variáveis independentes (A) concentração de ácido esteárico × tempo, e (B) concentração de ácido esteárico × amplitude.	59
Figura 5 –	Imagens microscópicas das emulsões otimizadas preparadas por meio do homogeneizador ultrassônico (amplitude e o tempo ótimos 50% e 2,75 min): (A) 50/50, (B) 60/40 e (C) 70/30 de ácido esteárico e ácido oleico, respectivamente.....	62
Figura 6 –	Micropartículas lipídicas sólidas produzidas por meio do <i>spray chilling</i> . Da esquerda para a direita: (A) 50/50, (B) 60/40 e (C) 70/30 de ácido esteárico e ácido oleico, respectivamente.	65
Figura 7 –	Micrografias das microesferas lipídicas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i> : (A) 50/50; (B) 60/40; (C) 70/30.....	68
Figura 8 –	Espectro de FTIR: (A) Extrato de beterraba e agentes carreadores (ácido esteárico e ácido oleico); (B) Emulsão contendo o extrato de beterraba e diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico preparadas por meio do homogeneizador ultrassônico; (C) Microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i>	74

Figura 9 –	Valores de ΔE^* calculados para as microesferas lipídicas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i> , ao longo do armazenamento à: (A) 5 °C, (B) 25 °C e (C) 45 °C.....	83
Figura 10 –	Teores de betanina e vulgaxantina-I (mg·100 g ⁻¹ s.s.) e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i> , armazenadas a 5 °C durante 28 dias.....	84
Figura 11 –	Teores de betanina e vulgaxantina-I (mg·100 g ⁻¹ s.s.) e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i> , armazenadas a 25 °C durante 28 dias.....	85
Figura 12 –	Teores de betanina e vulgaxantina-I (mg·100 g ⁻¹ s.s.) e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i> , armazenadas a 45 °C durante 28 dias.....	86

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE

ARTIGO

Tabela 1 –	Delineamento experimental aplicado para o preparo das emulsões elaboradas com 30% de extrato de beterraba, 70% de agentes carreadores e 4% de emulsificante.....	45
Tabela 2 –	Delineamento experimental aplicado para a produção de micropartículas lipídicas contendo extrato de beterraba.....	49
Tabela 3 –	Delineamento experimental aplicado para os efeitos da proporção dos agentes carreadores lipídicos e dos parâmetros operacionais do processo sobre a formação da emulsão.....	56
Tabela 4 –	Diâmetros médio, índice de polidispersão, potencial zeta e distribuição do tamanho das partículas das microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i>	71
Tabela 5 –	Retenção de betalaínas e propriedades químicas e físico-químicas das microesferas lipídicas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i>	76
Tabela 6 –	Retenção de betalaínas (%) das microesferas lipídicas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i> , armazenadas à 5 °C, 25 °C e 45 °C durante 28 dias.....	82
Tabela 7 –	Microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por <i>spray chilling</i> , armazenadas nas temperaturas de 5 °C; 25 °C e 45 °C durante 28 dias.	89

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	13
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Aproveitamento de resíduos e descartes da beterraba	15
2.1.1 Betalaínas	16
2.2 Microencapsulação	18
2.2.1 <i>Spray chilling</i>	21
2.3 Agentes carreadores lipídicos	23
2.4 Emulsificantes e métodos de homogeneização	25
3 CONSIDERAÇÕES GERAIS	29
REFERÊNCIAS	30
SEGUNDA PARTE – ARTIGO	40
EMULSÕES ASSISTIDAS POR ULTRASSOM PARA A MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE BETERRABA (<i>Beta vulgaris</i> L.) POR MEIO DA TÉCNICA DE <i>SPRAY CHILLING</i>	40
1 INTRODUÇÃO	41
2 MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1 Material	44
2.2 Extração dos compostos ativos	44
2.3 Planejamento experimental	44
2.4 Preparo das emulsões	47
2.4.1 Estabilidade cinética	47
2.4.2 Comportamento reológico	47
2.5 Otimização das emulsões	48
2.5.1 Microscopia ótica	49
2.5.2 Ponto de fusão – “Melting Point”	49
2.6 Produção das micropartículas lipídicas sólidas por <i>spray chilling</i>	49
2.6.1 Rendimento de processo	50

2.6.2	Morfologia.....	50
2.6.3	Diâmetro médio das microesferas e índice de polidispersão	50
2.6.4	Potencial zeta	51
2.6.5	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de <i>Fourier</i> (FTIR).....	51
2.6.6	Sólidos solúveis	51
2.6.7	Atividade de água e pH.....	51
2.6.8	Índice de peróxido	52
2.6.9	Teor e retenção de betalaínas	52
2.7	Estabilidade das microesferas ao longo do armazenamento	54
2.7.1	Atributos de cor	54
2.8	Análise estatística	55
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
3.1	Efeitos da proporção dos agentes carreadores lipídicos e dos parâmetros operacionais do processo sobre a formação da emulsão.....	56
3.1.1	Índice de cremeação (<i>Creaming stability</i>)	60
3.1.2	Comportamento reológico	63
3.1.3	Ponto de fusão.....	64
3.2	Rendimento de processo (<i>spray chilling</i>)	65
3.3	Microesferas produzidas por meio do <i>spray chilling</i>	67
3.3.1	Morfologia.....	67
3.3.2	Diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e potencial zeta	70
3.3.3	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FTIR)	73
3.4	Propriedades físico-químicas.....	75
3.5	Estabilidade acelerada	82
4	CONCLUSÃO	90
	REFERÊNCIAS	91

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos, a beterraba (*Beta vulgaris* L.) tem atraído muita atenção como alimento funcional, com importante efeito promotor de saúde. É um dos poucos vegetais que contêm um grupo de pigmentos altamente bioativos conhecidos como betalaínas. As betalaínas são substâncias corantes e antioxidantes, que apresentam uma correlação direta com a saúde pública, com propriedades antitumorais, antiaterosclerótica, anti-inflamatória, dentre outras. Em complemento, o uso de betalaínas como corante natural em produtos alimentícios é aprovado e apresenta várias vantagens. Dado que é composta por moléculas de nitrogênio solúveis em água, sintetizadas a partir do aminoácido tirosina, divididas em dois grupos estruturais - betacianinas (pigmentos vermelho-violeta) e betaxantinas (pigmentos amarelo-laranja), apresenta a capacidade de cobrir uma ampla gama de cores, do vermelho ao roxo. Além de serem pigmentos considerados mais estáveis em uma faixa mais ampla de pH e às mudanças induzidas pela temperatura.

A estratégia de incorporar compostos ativos em alimentos e bebidas vem atraindo consumidores, ganhando espaço e despertando o interesse da indústria para atender as novas demandas. No entanto, o uso de pigmentos de uma origem natural é geralmente limitado devido à sua baixa estabilidade, solubilidade, biodisponibilidade e interação com outros componentes da matriz alimentar. Além disso, as atividades antioxidantes de substâncias bioativas podem ser dificultadas devido à sua degradação desencadeada pela luz, oxigênio, temperatura, umidade e existência de ligações insaturadas em sua estrutura molecular. Como alternativa, o processo de encapsulação de betalaínas em matrizes complexas pode aumentar sua estabilidade ao longo do armazenamento e favorecer o processo de liberação controlada.

A tecnologia de microencapsulação é uma ferramenta baseada na formação de uma estrutura de proteção (material de parede) cobrindo uma substância de interesse (material ativo ou de núcleo) para sua proteção e liberação controlada. Existem diferentes métodos para a microencapsulação, que incluem emulsificação seguido pela remoção do solvente e secagem por pulverização. Essas técnicas geralmente produzem material polidisperso, ou seja, tamanhos de partícula não uniformes, com estruturas porosas, e fazem uso de calor que pode não ser adequado para amostras sensíveis à temperatura, como as betalaínas. Dessa forma, a técnica de *spray chilling* se destaca por seu bom desempenho, baixo custo e por evitar o uso de solventes e altas temperaturas durante todo o processo.

Durante o processo de *spray chilling*, o material do núcleo é disperso em uma matriz fundida ou é atomizada através de um bico de alta pressão. As gotículas são solidificadas rapidamente quando em contato com um meio de resfriamento e, em consequência, formam as microesferas. O processo por *spray chilling* é normalmente referido como encapsulamento de matriz na literatura, uma vez que as micropartículas apresentam uma estrutura em que o material do núcleo é homogeneamente distribuído por todo o material de parede. Em complemento, os agentes carreadores consistem em materiais hidrofóbicos como ácidos graxos, fosfolípidios, triacilgliceróis, gorduras hidrogenadas, ceras ou suas misturas com óleos para modular o ponto de fusão e as propriedades de retenção do material do núcleo.

No entanto, poucos estudos exploraram o encapsulamento de extratos vegetais por *spray chilling*, o que culmina com a inovação no campo. A principal contribuição científica da proposta refere-se à ampliação das opções de processamento e de materiais para a indústria de alimentos. Os conhecimentos gerados, a partir da caracterização das emulsões e microesferas de diferentes matérias-primas e processos, permitem a sugestão de produtos encapsulados mais indicados do ponto de vista tecnológico, econômico e ambiental. Além de inovadores, podem ser empregados como aditivos, corantes e antioxidantes de alta qualidade, por serem processados em baixas temperaturas. Por fim, em termos ambientais e econômicos, o sucesso das microesferas produzidas reduzirá o descarte e os resíduos de materiais, bem como agregará valor econômico considerável sobre estes subprodutos.

Com este propósito, objetivou-se com o presente estudo realizar a microencapsulação de compostos com propriedades corantes e antioxidantes, oriundos do descarte de beterrabas, por meio da técnica de *spray chilling*. Em adição, otimizar a obtenção das emulsões a partir da aplicação da técnica de ultrassom, pela avaliação do comportamento reológico e estabilidade cinética, bem como caracterizar os melhores tratamentos; estudar a influência das diferentes proporções dos materiais de parede (ácido esteárico e ácido oleico) sobre as propriedades físicas, microscópicas, estruturais e térmicas das micropartículas lipídicas; e por fim verificar a estabilidade do composto ativo em diferentes condições de armazenamento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aproveitamento de resíduos e descartes da beterraba

A beterraba (*Beta vulgaris* L.) é originária das regiões de clima temperado da Europa e Norte da África. No Brasil é cultivada principalmente no Sul e Sudeste, sendo mais comum o tipo *Early Wonder* (beterraba vermelha ou “de mesa”). Apresenta alta capacidade de cultivo e baixo custo de processamento (CLIFFORD *et al.*, 2015), bem como possui teor significativo de vitaminas do complexo B e minerais como K, Fe, Cu, Zn e Na (TACO, 2011). Dessa forma, resíduos oriundos da beterraba tornam-se matérias-primas interessantes, uma vez que, normalmente são descartados, possuem baixo custo e estão disponíveis em grande quantidade. Além disso, este vegetal é classificado como um dos 10 vegetais mais potentes, devido ao seu conteúdo de compostos fenólicos (total de 50 a 60 L mol/g de matéria seca) (CHANTARO; DEVAHASTIN; CHIEWCHAN, 2008; CRIZEL *et al.*, 2013; KUJALA *et al.*, 2000).

Um dos parâmetros de qualidade da beterraba está relacionado com os defeitos físicos e o grau desses defeitos que a hortaliça possa apresentar. Com isso, em casos de defeitos físicos ou visuais mais graves, que limitem a comercialização do vegetal *in natura*, as beterrabas são descartadas, independentemente de sua qualidade nutricional e sanitária, caracterizando um tipo de perda pós-colheita. O Brasil tem altos níveis de perdas pós-colheitas em cultivos de frutas, hortaliças e grãos, o que coloca o país entre as 10 nações que mais desperdiçam alimentos no mundo (EMBRAPA, 2017; HENZ, 2015).

Nos últimos anos, além do seu alto valor nutricional, a beterraba tem atraído atenção significativa como um produto alimentar funcional. Os alimentos funcionais são produtos que quando consumidos como parte da dieta, além do fornecimento de nutrientes básicos, apresenta benefícios para o funcionamento metabólico e fisiológico, proporcionando melhora à saúde física e mental e prevenindo o desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas (BRASIL, 1999; CLIFFORD *et al.*, 2015). Sendo assim, o interesse científico pela beterraba foi reivindicado pela composição dos vários nutrientes e pela proposta como um alimento promotor da saúde, que além de estimular o sistema imunológico, reduz risco de desenvolver doença cardiovascular (CLIFFORD *et al.*, 2016).

A beterraba vermelha é rica em ativos valiosos como carotenoides, betalaínas, polifenóis, flavonoides e saponinas (FIGIEL, 2010; KAUR; SINGH, 2014; KOWALSKI; ŁECHTAN'SKA, 2015). O pigmento vermelho deste vegetal é conhecido como betalaínas e sua quantidade é influenciada por vários fatores como espécie, variedade, área de cultivo e

armazenamento do período de maturação (NISTOR *et al.*, 2017). As betalaínas possuem fortes propriedades antioxidantes e é o principal grupo de compostos que ocorrem neste vegetal, tornando a beterraba vermelha um dos vegetais antioxidantes mais poderosos disponíveis no mercado (KANNER; HAREL; GRANIT, 2001). Os antioxidantes encontrados na beterraba vermelha têm um maior potencial para eliminar o radical ABTS do que os presentes na cebola, alho, couve de Bruxelas, alho-poró, couve, batata e ervilha (ZITNANOVÁ *et al.*, 2006).

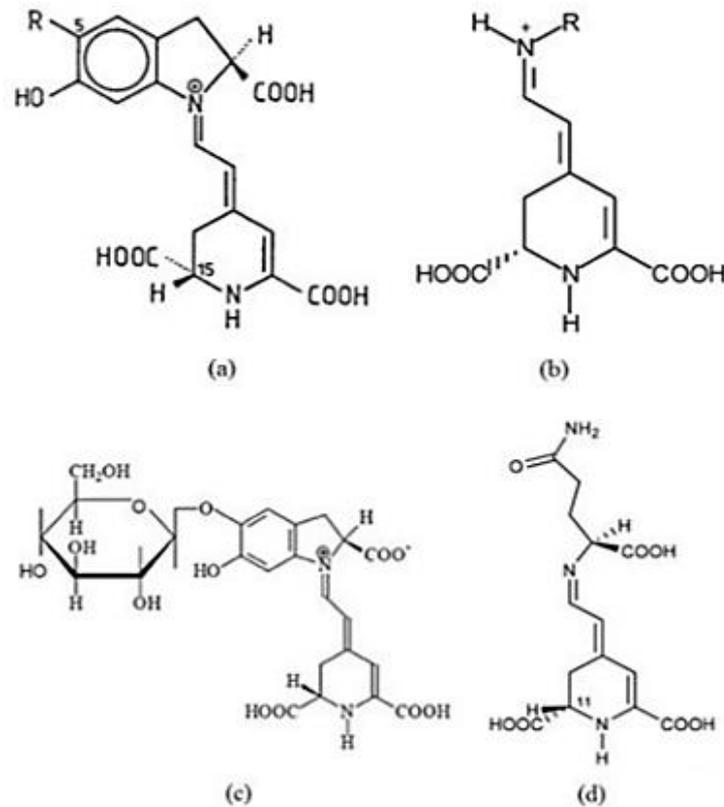
O grande interesse por alimentos desse tipo reside no fato de que essas substâncias impedem ou retardam processos de oxidação e apresentam efeitos benéficos à saúde humana, tais como propriedades antitumorais, antiaterosclerótica, anti-inflamatória, dentre outras. Além disso, a beterraba pode servir como fonte natural de betalaínas, utilizadas para pigmentação de diversos produtos alimentícios (MARTINEZ *et al.*, 2015).

2.1.1 Betalaínas

As betalaínas são moléculas contendo nitrogênio que conferem a beterraba coloração vermelha e estão relacionados à manutenção e regulação dos processos de redução de oxidação. Semelhante aos polifenóis, as betalaínas são importantes compostos anti-radicais, pois são eficazes na eliminação de radicais livres e reconhecem alta capacidade antioxidante (MIKOLAJCZYK-BATOR; CZAPSKI, 2017). Além disso, são agentes anti-inflamatórios e protegem a célula contra peroxidação e danos ao DNA, bem como previnem doenças cardiovasculares (ESATBEYOGLU *et al.*, 2015; PRECZENHAK *et al.*, 2019), inibem a peroxidação lipídica (KANNER; HAREL; GRANIT, 2001), protegem as células sanguíneas humanas contra a hemólise oxidativa (TESORIERE *et al.*, 2008) e induzem a quinona redutase, enzima que desempenha um papel importante no anticâncer, nas vias de desintoxicação e na defesa antioxidante (JI *et al.*, 2013; SAWICKI; WICKOWSKI, 2018).

Essas moléculas são solúveis em água e podem ser divididas em pigmentos vermelho-violeta (betacianinas) e amarelo-laranja (betaxantinas) (PACIULLIN *et al.*, 2016; RAVICHANDRAN *et al.*, 2013). Betanina (principal betacianina) e vulgaxantina-I (principal betaxantina) compreendem a maior parte da concentração dos pigmentos da beterraba, uma vez que, além dessas, estão presentes no vegetal outros pigmentos betalínicos, tais como isobetanina, prebetanina e vulgaxantina-II (ELBE, 2001). A Figura 1 demonstra a estrutura química geral das betacianinas e betaxantinas, bem como betanina e vulgaxantina-I.

Figura 1 – Estrutura química geral das (a) betacianinas, (b) betaxantinas, (c) betanina e (d) vulgaxantina-I.



Fonte: Chandrasekhar *et al.* (2015), Esatbeyoglu *et al.* (2015), Martinez *et al.* (2015) e Strack, Vogt e Schliemann (2003).

A betalaína pode ser utilizada como aditivo alimentar, como corante natural ou para enriquecer os alimentos. O uso de betalaínas é particularmente adequado como corante alimentar, visto que é aprovado pela União Europeia (CAI *et al.*, 2001; ROY *et al.*, 2004). Embora as antocianinas tenham a propagação de pigmentos naturais mais utilizados na faixa de cores vermelho-púrpura, as betalaínas são mais estáveis quanto ao pH e à temperatura, sendo mais adequadas para alimentos com baixa acidez, em que a coloração com antocianinas geralmente não é possível (STINTZING; CARLE, 2004). Para a faixa de cores de amarelo-laranja, os carotenoides são os pigmentos naturais, mas devido à baixa solubilidade na água, a betaxantina é mais indicada nessas situações (AZEREDO, 2009). As misturas de pigmentos de betalaína podem ser usadas como aditivo natural para alimentos, medicamentos e produtos cosméticos na forma de concentrado de suco de beterraba ou pó de beterraba (RAVICHANDRAN *et al.*, 2013).

As betalaínas são compostos muito sensíveis, que se degradam facilmente pelo calor, oxigênio, luz, pH e enzimas. Portanto, como forma de aproveitamento deste resíduo, a microencapsulação por *spray chilling*, pode ser considerada uma técnica bastante viável, a qual

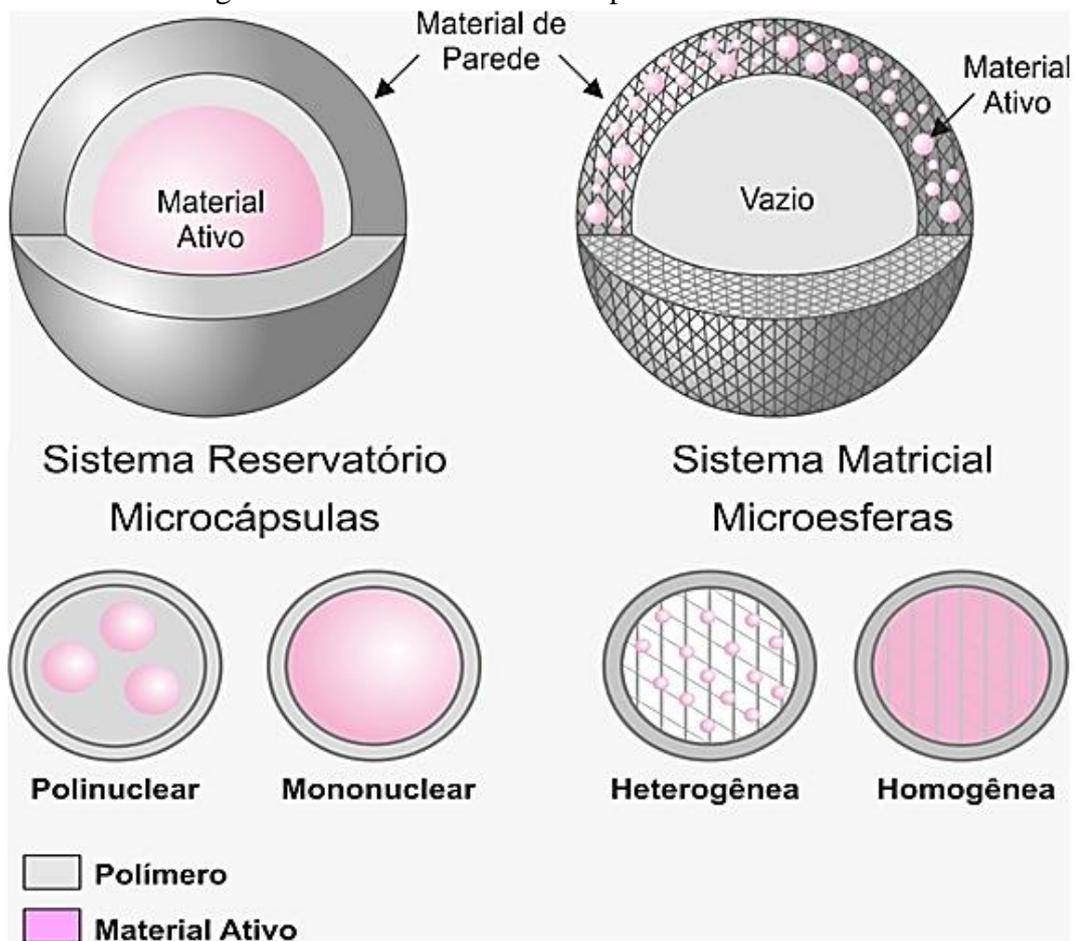
torna possível a obtenção de um extrato de beterraba em pó com considerável teor de betalaínas, possibilitando o seu uso como aditivo alimentar, seja para conferir coloração desejável ou enriquecer um produto com propriedades funcionais (JANISZEWSKA; WLODARCZYK, 2013; RAVICHANDRAN *et al.*, 2013).

2.2 Microencapsulação

A microencapsulação é uma técnica utilizada para proteger compostos ativos e nutracêuticos (RIBEIRO *et al.*, 2020) e consiste em revestir uniformemente ingredientes funcionais (vitaminas, enzimas, fenóis, moléculas e células) com um filme polimérico para obtenção de cápsulas micrométricas (DHAKAL; HE, 2020; OZKAN *et al.*, 2019; RIBEIRO *et al.*, 2020). O processo de encapsulamento pode ser realizado com gases, gotas líquidas ou pequenas partículas sólidas (OZKAN *et al.*, 2019). O filme atua como uma barreira para proteger o composto ativo do ambiente, controlar sua liberação, evitar a interação com outros ingredientes e melhorar sua estabilidade (CARDONA TANGARIFE; PATIÑO ARIAS; ORMAZA ZAPATA, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2020). A substância a ser encapsulada pode ser referida como a fase interna ou de carga útil, núcleo, preenchimento ou material ativo, enquanto que o material de encapsulamento pode ser designado como fase externa, casca, matriz, revestimento, membrana ou material de parede (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

As micropartículas produzidas pelos diferentes métodos de microencapsulação são conhecidas como microcápsulas ou microesferas. As microcápsulas implicam a estrutura da parede central e pode ser categorizada como sistemas de reservatórios, onde é possível notar a presença de um núcleo contendo a substância ativa e revestido com o material de parede. Enquanto que as microesferas são sistemas monolíticos (matriciais), onde o material do núcleo é incorporado em uma rede contínua da matriz material sem uma parede externa distinta (AUGUSTIN; HEMAR, 2009; SINGH *et al.*, 2010). Em um tipo de matriz, o agente ativo é disperso sobre o material transportador na forma de pequenas gotículas (heterogênea) ou de forma mais homogênea (ZUIDAM; SHIMONI, 2010). As microcápsulas podem ser mononucleares, onde um material do núcleo é encapsulado por uma casca, pode ser agregada onde uma cápsula consiste em múltiplos núcleos (NAZZARO *et al.*, 2012) ou pode ser multicamadas (AUGUSTIN; HEMAR, 2009; DHAKAL; HE, 2020) (FIGURA 2).

Figura 2 – Estrutura das microcápsulas e microesferas.



Fonte: Do autor (2021).

A microencapsulação tem sido empregada em diversos campos: farmacêutica, agroquímica, processamento de alimentos, cosméticos, pigmentos, adesivos, agentes de cura e encapsulamento de células vivas. No setor de alimentos, sua aplicação é baseada, de acordo com o método, principalmente em transformação de líquido em sólido, a fim de facilitar a manipulação, transporte e adição em formulações, além de reduzir a toxicidade do ativo, promover a liberação controlada do material ativo encapsulado, reduzir a volatilidade ou a inflamabilidade de líquidos, mascarar o sabor e o odor de certos componentes, proteger contra luz, umidade e calor e, conseqüentemente, prolongar a vida útil (BARRETT *et al.*, 2011; DA COSTA NETO *et al.*, 2019; FREIBERG; ZHU, 2004).

Existem diferentes técnicas disponíveis para a produção de micropartículas que podem ser divididas em três métodos, sendo eles químicos, físico-químicos ou físico-mecânicos (JYOTHI *et al.*, 2010). Entre os métodos químicos encontram-se a polimerização interfacial, polimerização *in situ* e inclusão molecular (ou inclusão por complexação). Quanto aos métodos físico-químicos, as técnicas são coacervação e separação de fases, encapsulação polimérica pela

expansão rápida de fluidos supercríticos e incorporação em lipossomas. Entre os métodos físico-mecânicos, estão *spray drying*, *spray chilling/cooling*, cobertura em leito fluidizado, extrusão, extrusão centrífuga por múltiplos orifícios, co-cristalização, liofilização e evaporação de solvente (DA COSTA NETO *et al.*, 2019; JYOTHI *et al.*, 2010; SHAHIDI; HAN, 1993). Vários métodos de microencapsulação podem ser usados para muitas substâncias e a escolha do método mais adequado depende do tipo de substância, de sua função especial e da aplicação desejada (ALVIM *et al.*, 2016).

Os primeiros registros da microencapsulação se deu por volta de 1930 por técnicas de coacervação, cujo princípio incluía a vaporização da água presente no sistema (RÉ, 2000). Devido aos altos custos do processo, o setor alimentício levou cerca de 30 anos para dar os primeiros passos com trabalhos envolvendo encapsulação, cujos objetivos eram proteger aromas e permitir sua liberação controlada (FAVARO-TRINDADE; PINHO, 2008). Desde então, novas técnicas foram desenvolvidas a fim de reduzir os custos e maximizar os benefícios, o que possibilitou a aplicação da tecnologia para diversas áreas do setor como a produção de aditivos, ingredientes e produtos acabados (COSTA *et al.*, 2020; RÉ, 2000). Nori; Areas (1996), adaptaram o processo de *spray cooling* para encapsular ácido cítrico a partir de gorduras de diferentes pontos de fusão como agentes encapsulantes. No entanto, apesar do uso de lipídios na produção de micropartículas ser conhecido há muitos anos na indústria farmacêutica, bem como a técnica *spray chilling*, na indústria alimentícia ainda é pouco conhecida e menos explorada que a técnica de *spray drying* (OXLEY, 2012). O conceito de microencapsulação foi desenvolvido pela indústria farmacêutica com o objetivo de controlar e/ou modificar a liberação de substâncias. A área farmacêutica representa a maior fração que utiliza as técnicas de microencapsulação, com 68%, enquanto o setor alimentício representa 13% apenas (DIAS; FERREIRA; BARREIRO, 2015).

Recentemente, o método de *spray chilling* tem sido usado como uma nova técnica em pesquisas alimentares devido a sua possibilidade de produção em larga escala, baixas temperaturas de processamento, e ao alto efeito protetor da microencapsulação, uma vez que emprega ácidos graxos, triacilgliceróis, ceras ou misturas entre eles como seus agentes carreadores, formando as chamadas micropartículas lipídicas sólidas (MLS) (ARSLAN; ERBAS, 2017; ORIANI *et al.*, 2016).

Dessa forma, a técnica de *spray chilling* tem recebido considerável atenção, pois é um processo físico rápido, seguro e reproduzível, permitindo o fácil ajuste do tamanho das partículas, em que uma solução, suspensão ou emulsão contendo um material central em uma matriz de lipídio fundido é atomizada em um ambiente a uma temperatura abaixo do ponto de

fusão da mistura em uso (ALBERTINI *et al.*, 2008), geralmente em uma câmara fria (ar frio ou nitrogênio líquido) (RIBEIRO; ARELLANO; GROSSO, 2012).

2.2.1 *Spray chilling*

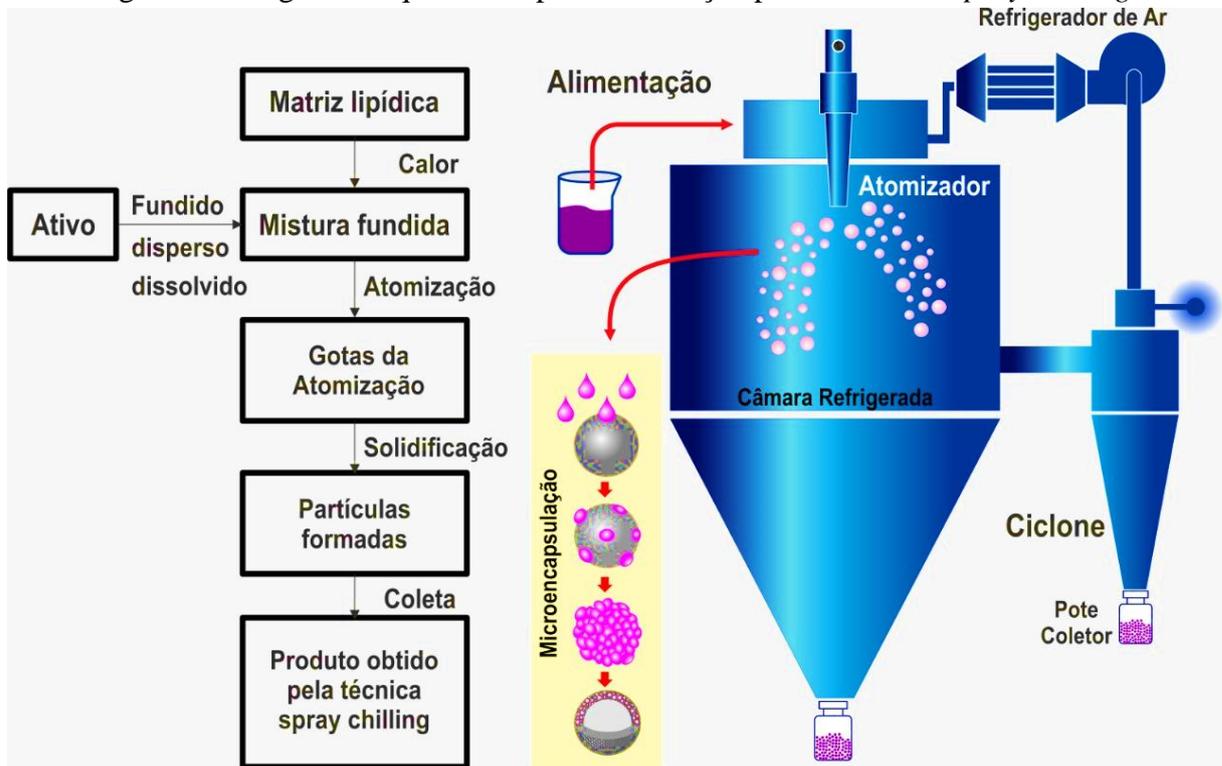
A tecnologia de *spray chilling* é baseada na atomização de uma suspensão contendo a substância ativa e um material da parede lipídico derretido em uma câmara fria, onde são formadas micropartículas lipídicas sólidas (ALVIM *et al.*, 2016). Dessa forma, a degradação de compostos bioativos é evitada, uma vez que são usadas temperaturas mais amenas (FADINI *et al.*, 2018; TULINI *et al.*, 2017). O principal mecanismo do *spray chilling* é a injeção de matriz derretida em uma câmara fria e a rápida solidificação de gotículas quando em contato com o ar frio; assim, as gotículas se tornam microesferas contendo o material ativo (CHAMBI *et al.*, 2008). Além disso, o principal fator que separa o *spray chilling* de outras técnicas de microencapsulação, como *spray drying* e a liofilização, é o tipo de material de parede. Nessas duas técnicas, geralmente são utilizados materiais de parede hidrofílicos à base de carboidratos ou proteínas (DIANAWATI *et al.*, 2016). Em contrapartida, carreadores hidrofóbicos à base de gordura são empregados como materiais de parede no *spray chilling* (ARSLAN; ERBAS, 2017).

O uso da técnica de *spray-chilling* para a formação de micropartículas lipídicas sólidas tem sido estudado nos últimos anos na indústria farmacêutica e áreas veterinárias (MARTINS, SIQUEIRA; FREITAS, 2012; MEUNIER *et al.*, 2007; PASSERINI *et al.*, 2010), mas existem poucos estudos em aplicações alimentares em comparação com a técnica de secagem por pulverização. A técnica consiste no uso de transportadores lipídicos, como ácidos graxos, triacilgliceróis e ceras, ou uma mistura destes, que devem ser sólidos a temperatura ambiente, para obter partículas de consistência dura, garantindo boa resistência física, dispersibilidade, facilidade de manuseio e armazenamento (OH *et al.*, 2014; OKURO, MATOS JÚNIOR, FAVARO-TRINDADE, 2013; ORIANI *et al.*, 2018; ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

O material ativo é o primeiro a ser disperso, emulsionado ou solubilizado na matriz lipídica fundida que é, então, alimentada em um bico aquecido e atomizada em uma câmara com temperatura mantida abaixo do ponto de fusão, onde as gotículas solidificam em contato com o ar resfriado para formar as micropartículas lipídicas sólidas (FIGURA 3). O *spray chilling* tem muitas vantagens em comparação ao *spray drying* ou outras técnicas de encapsulamento, como, por exemplo, a não necessidade de evaporação do solvente, aumento da produtividade, redução de custos e facilidade de expansão (DESAI; PARK, 2005; OKURO,

MATOS JÚNIOR; FAVARO-TRINDADE, 2013). Em adição, o uso de lipídios como materiais encapsulantes amplia a aplicação de possibilidades de partículas, explorando a temperatura ou a liberação da mecânica acionada (MADENE *et al.*, 2006; ORIANI *et al.*, 2016).

Figura 3 – Diagrama esquemático para atomização pela técnica de *spray chilling*.



Fonte: Do autor (2021).

Os benefícios das microesferas produzidas pela técnica de *spray chilling* são a proteção contra oxigênio e umidade, resultando, portanto, em maior estabilidade e biodisponibilidade do ativo. Além disso, apresenta melhor controle na liberação do material ativo, bem como baixo custo e fácil reprodutibilidade (ABBAS *et al.*, 2012; CARVALHO *et al.*, 2019). Entretanto, a eficiência de encapsulação e estabilidade das microesferas são fortemente influenciadas pela escolha do material de parede. Portanto, o material de parede deve apresentar comportamento de fluido newtoniano, cuja viscosidade é constante para diferentes taxas de cisalhamento e não variam com o tempo, e facilidade de manipulação; possuir a capacidade de dispersar ou emulsionar o material de recheio e de manter as emulsões estáveis; e capacidade de aprisionar em sua estrutura o material ativo durante as etapas de processamento e armazenamento. Além de proporcionar proteção máxima ao material ativo contra condições ambientais adversas (por exemplo, oxigênio, calor, luz e umidade) (RAY; RAYCHUDRHURI; CHAKRABORTY, 2016). Com base neste contexto, uma vez que nenhum material de revestimento possui

particularmente todas essas propriedades, estes podem ser utilizados de forma combinada ou serem modificados pela incorporação de aditivos, tais como surfactantes e emulsificantes (DESAI; PARK, 2005). Em complemento, o método de homogeneização pode influenciar diretamente na estabilidade das emulsões (GOODARZI; ZENDEHBOUDI, 2018).

2.3 Agentes carreadores lipídicos

Os carreadores lipídicos utilizados pela técnica de *spray chilling* para aplicação em alimentos são derivados de ácidos graxos, ceras, óleos e gorduras, devem ser de grau alimentício e reconhecido como substância segura para a utilização em alimentos (GRAS – *Generally Recognized As Safe*) (FAVARO-TRINDADE; OKURO; MATOS JÚNIOR, 2015; OKURO; MATOS JÚNIOR; FAVARO-TRINDADE, 2013). A seleção do carreador irá depender do material encapsulado, por exemplo, se o recheio for sensível a altas temperaturas, o correto é selecionar lipídios que apresentem ponto de fusão que não interfira nas propriedades do material encapsulado, mas que sejam capazes de proteger contra o ambiente externo (OKURO; MATOS JÚNIOR; FAVARO-TRINDADE, 2013). Contudo, a utilização de carreadores lipídicos com baixo ponto de fusão pode requerer armazenamento com temperatura controlada após a formação das partículas, para garantir a integridade até a aplicação. Lipídios com temperatura de fusão acima de 50 °C são desejáveis para a formação de micropartículas lipídicas e, conseqüentemente, para a sua aplicação (VASISHT, 2014).

Os carreadores lipídicos são uma alternativa interessante para a formação de micropartículas devido à sua baixa toxicidade e facilidade de reprodução em uma larga escala (AKHAVAN *et al.*, 2018). Grande parte dos compostos bioativos, como polifenóis e algumas vitaminas, são lipossolúveis e a presença de lipídios digeríveis facilita a absorção desses compostos pelo intestino (MCCLEMENTS, 2012; ORIANI *et al.*, 2016). O papel dos materiais hidrofóbicos como materiais de revestimento em sistemas alimentícios e farmacêuticos cresceu na última década em vista de suas propriedades físico-químicas favoráveis (KNEVIC *et al.*, 2009; PHAM; CHRISTENSEN, 2014; ZOU *et al.*, 2009). Dentre as fontes lipídicas, o ácido esteárico, ácido palmítico e o ácido oleico são altamente utilizados em produtos alimentares devido à sua natureza não tóxica e são listados pelo FDA (2016) como “aditivos alimentares permitidos para adição direta em alimentos para consumo humano”, o que garante a utilização desses lipídios para formação de partículas lipídicas para fins alimentícios.

O ácido esteárico (C18:0) pode ser empregado no processo de *spray chilling* para atuar como uma matriz sólida, devido ao seu alto ponto de fusão, para garantir a formação de

partículas sólidas. Além de estar presente em concentrações abundantes na manteiga de cacau (~34%) e algumas gorduras animais, por exemplo, gordura de porco (5 a 24%) e sebo bovino (6 a 40%), apresenta ponto de fusão de 69,6 °C. Nos óleos vegetais, alto nível de ácido graxo esteárico é resultado da hidrogenação de óleos ricos em insaturação no carbono 18. Em adição, é um ácido graxo saturado que apresenta efeito neutro ou de redução dos níveis de colesterol em comparação com outros lipídios saturados, sendo que o possível mecanismo que o diferencia é a rápida conversão em ácido oleico (O'BRIEN, 2009; SCRIMGEOUR; HARWOOD, 2007).

O ácido oleico (C18:1) é encontrado na maioria dos lipídios vegetais e animais, sendo o principal ácido graxo do azeite (70 a 75%) e de vários óleos de amêndoas como macadâmia, pistache, noz-pecã e avelã, com mais de 70%. Em geral, os óleos com alto teor de ácido oleico têm aspectos benéficos para a saúde, devido aos seus baixos níveis de ácidos graxos saturados e possível diminuição dos valores de triglicerídeos, colesterol LDL e colesterol total, assim como uma alta estabilidade oxidativa (SCRIMGEOUR; HARWOOD, 2007; O'BRIEN, 2009).

Materiais lipídicos e óleos vegetais hidrogenados, em particular, ganharam maior interesse devido ao seu custo acessível e segurança. Em adição, sua adequação em uma ampla gama de aplicações, desde mascarar sabor a liberação controlada, apoia fortemente seu uso no desenvolvimento de novos produtos. No que diz respeito ao seu relativo baixo ponto de fusão, várias técnicas diferentes de fabricação e revestimento podem ser investigadas para a microencapsulação de ingredientes ativos. Diferentes tecnologias de revestimentos foram relatadas na literatura, subjacente ao papel das diferenças no teor de triglicerídeos e das gorduras comestíveis (ELVIRI *et al.*, 2015; KANAYA; SATO, 2012).

Micropartículas lipídicas sólidas são um exemplo de transportadores lipídicos estruturados (FARIDI ESFANJANI; ASSADPOUR; JAFARI, 2018). É de conhecimento que as gorduras sólidas são cristais dispersos em uma matriz lipídica líquida (MARANGONI, 2012). O mesmo se aplica as microcápsulas lipídicas, onde a distribuição espacial dos cristais lipídicos presentes na estrutura das partículas está diretamente relacionada ao aprisionamento do ativo (AKHAVAN *et al.*, 2018; OKURO; MATOS JÚNIOR; FAVARO-TRINDADE, 2013). No entanto, as microcápsulas lipídicas apresentam como desvantagem uma rígida microestrutura que podem reduzir a capacidade de encapsulamento e promover uma rápida liberação do ativo em virtude das transições polimórficas. Assim, na produção de micropartículas lipídicas sólidas, lipídios de alto e baixo ponto de fusão para atuar em conjunto como transportadores podem resultar em uma desorganização na estrutura cristalina que melhora a retenção ativa, devido a uma modulação da rede cristalina lipídica (HU *et al.*, 2005; RIBEIRO; ARELLANO; GROSSO, 2012; SARTORI *et al.*, 2015).

Essa desorganização é devido ao fenômeno do polimorfismo, característico dos óleos e gorduras vegetais. O polimorfismo pode ser descrito como a capacidade de um material lipídico de apresentar a mesma composição química com diferentes estruturas cristalinas e empacotamento moleculares, classificadas como α , β' e β (CARVALHO *et al.*, 2019; FENNEMA; PARKIN; DAMODARAN, 2010; SATO; UENO, 2011). A forma α é metaestável, com o empacotamento em cadeia hexagonal. A forma β' tem estabilidade intermediária e perpendicular ortorrômbico, enquanto a forma β tem maior estabilidade e empacotamento paralelo triclinico. A temperatura de fusão aumenta com o aumento da estabilidade ($\alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$), como resultado de diferenças na densidade do empacotamento molecular (MARTINI *et al.*, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2015).

Contudo, existe a necessidade de estudar os hábitos polimórficos das misturas lipídicas a serem utilizadas como material de parede, a fim de utilizar o polimorfismo como gatilho de liberação ao invés de desvantagem (BATTAGLIA; GALLARATE, 2012). Assim, além de influenciar na liberação do ativo, o ponto de fusão dos lipídios é de grande importância na formação das partículas. O material lipídico deve prover partículas dispersas e com boa estabilidade física após atomização, bem como apresentar polimorfismo na forma mais estável (β) para garantir que não ocorrerá expulsão do ativo durante a armazenagem (FAVARO TRINDADE; OKURO; MATOS JÚNIOR, 2015).

2.4 Emulsificantes e métodos de homogeneização

Os emulsificantes, aditivos funcionais de extrema importância na indústria de alimentos, são moléculas anfifílicas, geralmente com longas cadeias de hidrocarbonetos, caracterizadas por propriedades hidrofílicas e lipofílicas. Além de suas funções de emulsificação e estabilização, os emulsificantes podem modificar o comportamento de fase sólida de um produto alimentar, de forma a promover diversos benefícios. Em alimentos ricos em gordura, os emulsificantes podem ser usados para controlar ou modificar as propriedades de cristalização da fase lipídica (RIBEIRO *et al.*, 2015).

Emulsificantes com diferentes propriedades hidrofóbicas podem afetar a dinâmica da cristalização de gorduras e óleos, acelerando ou retardando esse processo, bem como as transições polimórficas. Além disso, podem atuar como inibidores da proliferação de gordura. Esses compostos promovem alterações nas propriedades da superfície de lipídios, resultando em alterações relacionadas ao tamanho e morfologia dos cristais e densidade cristalina (GARTI, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2015).

Dessa forma, para auxiliar a incorporação do material do núcleo na matriz lipídica e garantir melhor estabilidade das emulsões, o PGPR (poliglicerol polirricinoleato) pode ser amplamente utilizado como emulsificante, uma vez que apresenta um número de equilíbrio hidrofílico-lipofílico (HLB, do inglês hydrophile–lipophile balance), entre 2 e 4 (METTU; WU; DAGASTINE, 2018). O HLB é um número relacionado à estrutura química de cada surfactante, em termos de grupos hidrofílicos e lipofílicos presentes na molécula, e fornece uma indicação sobre a afinidade de sua molécula às fases aquosa ou oleosa. Um surfactante com número HLB baixo (entre 3 e 6) tem mais afinidade pela fase oleosa e, por isso, é mais adequado para estabilizar emulsões A/O (água em óleo) (MCCLEMENTS, 2005). Pelo mesmo motivo, é utilizado também na formação de emulsões múltiplas do tipo A/O/A (GARTI *et al.*, 1999; MUN *et al.*, 2010; SU *et al.*, 2006). Nestes sistemas, a fase oleosa geralmente é composta por um óleo vegetal (soja, girassol) ou uma combinação de materiais lipídicos, e as concentrações de PGPR utilizadas são mais altas, de até 10%.

O PGPR é um emulsificante de grau alimentício preparado por meio da técnica da esterificação de ácidos graxos condensados de óleo de rícino com poliglicerol (WILSON *et al.*, 1998). Apresenta-se como um líquido límpido e altamente viscoso, insolúvel em água e etanol, mas solúvel em éter, hidrocarbonetos e hidrocarbonetos halogenados (MORTENSEN *et al.*, 2017). No Brasil, a quantidade máxima permitida de PGPR (INS 476, de acordo com o Sistema Internacional de Aditivos Alimentares) é de 0,4 g/100g em produtos como cremes vegetais e margarinas (BRASIL, 2005) e de 0,5 g/100g em balas, confeitos, chocolates e similares (BRASIL, 1999).

A emulsificação refere-se ao processo pelo qual uma emulsão é formada a partir de duas (ou mais) fases separadas, ou o processo em que o tamanho da gotícula é reduzido em uma emulsão existente (homogeneização). A formação de emulsão por homogeneização é comumente usada na produção e pesquisa de alimentos para aumentar a estabilidade do produto e projetar estruturas coloidais. Combinar duas fases imiscíveis em uma emulsão requer dois fatores: um emulsificante que reduz a tensão interfacial e evita o risco de recoalescência e energia suficiente para compensar o aumento da energia interfacial (HÅKANSSON, 2019).

Existem vários métodos empregados para obtenção das emulsões, que podem ser geralmente classificados como abordagens de baixa e alta energia. Métodos de baixa energia, como emulsificação de membrana, emulsificação espontânea e inversão de fase, são frequentemente empregadas e dependem de mudanças nas condições ambientais dos sistemas (emulsionantes contendo óleo/água) para a formação de gotículas finas (JIN *et al.*, 2016; LAGO *et al.*, 2018; MCCLEMENTS; RAO, 2011).

A emulsificação de alimentos industriais geralmente ocorre empregando as chamadas técnicas de alta energia, em que a energia é fornecida em excesso e impulsiona o processo. Dispositivos como agitadores, sistemas rotor-estator e homogeneizadores de alta velocidade e pressão são comumente utilizados (WALSTRA, 1993). No entanto, esses dispositivos consomem muita energia, bem como não fornecem a flexibilidade necessária para a obtenção do tamanho desejado das gotículas e sua distribuição (RAYNER; DEJMEK, 2015). O tamanho das gotículas afeta a estabilidade e, normalmente, o menor tamanho e a alta área superficial proporcionam maior estabilidade.

Dispositivos ultrassônicos podem controlar efetivamente a distribuição do tamanho das partículas e, com isso, melhorar a estabilidade a longo prazo das emulsões. Muitos estudos relatam que emulsões assistidas por ultrassom são comprovadas como sistemas adequados para o encapsulamento e entrega de vários medicamentos e compostos ativos de alimentos (ALZORQI *et al.*, 2016; CARPENTER; SAHARAN, 2017; SHANMUGAM; ASHOKKUMAR, 2014, 2015; TANG; SIVAKUMAR, 2012;). Em adição, nos últimos anos, o interesse em usar a técnica de ultrassom para processar alimentos líquidos aumentou (WANG, 2008), tendo em vista que, o homogeneizador ultrassônico (também denominado de sonicador) utiliza ondas ultrassônicas de alta intensidade, não tóxicas, seguras e ecologicamente corretas que geram forças disruptivas e transformam soluções imiscíveis em gotículas pequenas e estáveis (GOIK; GOIK; TAL-FIGIEL, 2013; YU; HUANG, 2010).

Efeitos cavitacionais induzidos pelo ultrassom oferecem potencial significativo para produzir emulsões monodispersas, sem a necessidade de grandes quantidades de emulsificantes, bem como possuem vantagens consideráveis sobre os métodos convencionais como a obtenção de micropartículas, distribuição e tamanho de partículas e emulsões mais estáveis juntamente com baixo consumo de energia (ABISMAÏL, 2020). É um processo de duas etapas em que a instabilidade de *Rayleigh-Taylor* impulsiona a formação de gotículas da fase dispersa na fase contínua e, posteriormente, na segunda etapa, as gotas geradas são quebradas em minúsculas gotas pelas ondas de choque criadas pela cavitação transitória (PATIL; GOGATE, 2018).

Tal processo de cisalhamento gerado, predominantemente fornecido por cavitação, é definido como um combinado fenômeno de formação, crescimento e colapso implosivo das bolhas em meio líquido (UMBANHOWAR; PRASAD; WEITZ, 2020). A cavitação acústica, associada à dissipação de energia, é considerada a força motriz no processamento sonoquímico (SIVAKUMAR; TANG; TAN, 2014). E, em particular, o mecanismo essencial de quebra de gotículas que ocorre durante a emulsificação do ultrassom (JAFARI *et al.*, 2008). Em zonas de

depressão, se a intensidade exceder um certo limiar, a coesão do líquido é reduzida e microbolhas bastante estáveis ou transitórias, contendo gás dissolvido e/ou vapor da fase contínua, aparecem, oscilam e depois implodem (PATIL; GOGATE, 2018).

Embora as emulsões ultrassônicas sejam menos polidispersas e mais estáveis em comparação com o preparado por outros dispositivos mecânicos (CARPENTER; SAHARAN, 2017; TANG; SHRIDHARAN; SIVAKUMAR, 2013; TANG; SIVAKUMAR; NASHIRU, 2013), a formação e o tamanho das gotículas dependem principalmente da amplitude e do tempo de sonicação aplicado. Em complemento, a resistência à deformação das gotículas também depende da atividade de superfície do emulsificante e de sua concentração na fase contínua (LAGO *et al.*, 2018; LEONG *et al.*, 2009; SIVAKUMAR; TANG; TAN, 2014).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

No intuito de incorporar compostos ativos em alimentos e bebidas a partir de substâncias com propriedades corantes e antioxidantes como as betalaínas, pigmentos de origem natural oriundos do descarte de beterrabas, faz-se necessário analisar as principais variáveis espaciais que influenciam em sua estabilidade. Embora o processo de microencapsulação de substâncias bioativas em matrizes complexas possa aumentar sua estabilidade ao longo do armazenamento, bem como favorecer o processo de liberação controlada, há uma forte e crescente influência das técnicas aplicadas. Dessa forma, vale destacar a importância das tecnologias de encapsulamento por *spray chilling* e homogeneização das emulsões a partir de dispositivos ultrassônicos, técnicas ainda pouco exploradas na indústria de alimentos.

Com base na literatura apresentada, verifica-se a importância e o diferencial da técnica de *spray chilling* em comparação às outras técnicas, principalmente, em decorrência do emprego de temperaturas relativamente baixas, que favorecem a minimização dos danos térmicos do material encapsulado. Em complemento, para controlar efetivamente a distribuição do tamanho das partículas e, com isso, melhorar a estabilidade a longo prazo das emulsões, o emprego do ultrassom é apontado como uma ferramenta eficaz, no que diz respeito ao mapeamento e diagnóstico de resultados, ao otimizar a amplitude e o tempo de sonicação empregados durante o processo.

Neste âmbito, para a obtenção das micropartículas lipídicas, enfatiza-se também a influência das diferentes proporções dos materiais de parede, como o ácido esteárico e ácido oleico, sobre as propriedades físicas, microscópicas, estruturais e térmicas, que podem influenciar diretamente a estabilidade do composto ativo, presente nas microesferas obtidas, em diferentes condições de armazenamento. Neste escopo, novos desenvolvimentos poderão ser implementados, visando por exemplo, o uso de produtos encapsulados mais indicados do ponto de vista tecnológico, econômico e ambiental. Ainda, outras implementações serão empregadas para incorporar as microesferas como aditivo alimentar, como corante natural ou para enriquecer os produtos alimentícios. Em geral, esses novos desenvolvimentos e muitas outras aplicações estarão a partir de agora abertas aos trabalhos vindouros.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. *et al.* Ascorbic acid: Microencapsulation techniques and trends — A review. **Food Reviews International**, Chicago, v. 28, n. 4, p. 343–374, 2012.
- ABISMAÏL, B. Emulsification processes: on-line study by multiple light scattering measurements. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 7, n. 4, p. 187–192, 2020.
- AUGUSTIN, M. A.; HEMAR, Y. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. **Chemical Society Reviews**, Canadá, v. 38, n. 4, p. 902-912, 2009.
- AKHAVAN, S. *et al.* Lipid nano scale cargos for the protection and delivery of food bioactive ingredients and nutraceuticals. **Trends in Food Science & Technology**, Norwich, v. 74, n. 1, p. 132–146, 2018.
- ALBERTINI, B. *et al.* New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Regensburg, v. 69, n. 1, p. 348–357, 2008.
- 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**, Amsterdam, v. 65, n. 1, p. 689–694, 2016.
- ALZORQI, I. *et al.* Optimization of ultrasound induced emulsification on the formulation of palm-olein based nanoemulsions for the incorporation of antioxidant β -d-glucan polysaccharides. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 31, p. 71–84, 2016.
- ARSLAN, T. S.; ERBAS, M. Single and double layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 160–169, 2017.
- AZEREDO, H. M. C. Betalains: properties, sources, applications, and stability: A review. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 44, n. 12, p. 2365–2376, 2009.
- BARRETT, A. H. *et al.* Effect of various antioxidants, antioxidant levels, and encapsulation on the stability of fish and flax seed oils: Assessment by fluorometric analysis. **Journal of Food Processing and Preservation**, Christchurch, v. 35, n. 3, p. 349–358, 2011.
- BATTAGLIA, L.; GALLARATE M. Lipid nanoparticles: state of the art, new preparation methods and challenges in drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, Denver, v. 9, n. 5, p. 497-508, 2012.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº. 18, 1999.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº. 23, 2005.

- CAI, Y. Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigments from *Celosia argentea*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Munique, v. 49, n. 9, p. 4429–4435, 2001.
- CARDONA TANGARIFE, D. P.; PATIÑO ARIAS, L. P.; ORMAZA ZAPATA, A. M. Aspectos tecnológicos de la microencapsulación de compuestos bioactivos em alimentos mediante secado por aspersión. **Ciencia & Tecnología Agropecuaria**, Colômbia, v. 22, n. 1, p. 1-21, 2021.
- CARPENTER, J.; SAHARAN, V. K. Ultrasonic assisted formation and stability of mustard oil in water nanoemulsion: Effect of process parameters and their optimization. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 35, p. 422–430, 2017.
- CARVALHO, J. D. S. *et al.* Characterization of ascorbic acid microencapsulated by the spray chilling technique using palm oil and fully hydrogenated palm oil. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 101, n. 1, p. 306–314, 2019.
- CHAMBI, H. N. M. *et al.* Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: production, characterization and release profiles. **Food Research International**, Essex, v. 41, n. 3, p. 229–236, 2008.
- CHANDRASEKHAR, J. *et al.* Differential partitioning of betacyanins and betaxanthins employing aqueous two phase extraction. **Journal of Food Engineering**, Califórnia, v. 144, n. 1, p. 156-163, 2015.
- CHANTARO, P.; DEVAHASTIN, S.; CHIEWCHAN, N. Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 41, n. 10, p. 1987-1994, 2008.
- CLIFFORD, T. *et al.* The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. **Nutrients**, Storrs, v. 7, n. 4, p. 2801-2822, 2015.
- CLIFFORD, T. *et al.* The plasma bioavailability of nitrate and betanin from *Beta vulgaris rubra* in humans. **European journal of nutrition**, Guilford, v. 56, n. 3, p.1-10, 2016.
- COSTA, V. T. *et al.* A perspective for optimizing açai encapsulation with whey protein in spray dryer, **Congresso Internacional da Agroindustria - CIAGRO**, Recife, 2020.
- CRIZEL, T. M. *et al.* Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 53, n. 1, p. 9-14, 2013.
- DA COSTA NETO, J. G. *et al.* Microencapsulation of tiger nut milk by lyophilization: Morphological characteristics, shelf life and microbiological stability. **Food Chemistry**, Norwich, v. 284, n. 1, p. 133–139, 2019.
- DHAKAL, S.; HE, J. Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. **Food Research International**, Essex, v. 137, 109326, 2020.

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

DIANAWATI, D.; MISHRA, V.; SHAH, N. P. Viability, acid and bile tolerance of spray dried probiotic bacteria and some commercial probiotic supplement products kept at room temperature. **Journal of Food Science**, Illinois, v. 81, n. 6, p. 1472-1479, 2016.

DIAS, M. I.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARREIRO, M. F. Microencapsulation of bioactives for food applications. **Food and Function**, Clermont-Ferrand, v. 6, n. 4, p. 1035-1052, 2015.

ELBE, J. H. Von. Betalains. In: _____. **Current protocols in food analytical chemistry**. Madison: University of Wisconsin, p. F3.1.1-F3.1.7, 2001.

ELVIRI, L. *et al.* Understanding solid-state properties of triglycerides used in pharmaceutical and food microencapsulation. **Journal of Microencapsulation**, Londres, v. 32, n. 3, p. 240–246, 2015.

EMBRAPA. **União Européia e Brasil discutem desperdício de alimentos**. Rio de Janeiro: EMPRAPA, 2017.

ESATBEYOGLU, T. *et al.* Betanin: a food colorant with biological activity. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 59, n. 1, p. 36-47, 2015.

FADINI, A. L. *et al.* Innovative strategy based on combined microencapsulation technologies for food application and the influence of wall material composition. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam v. 91, n. 1, p. 345–352, 2018.

FARIDI ESFANJANI, A.; ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M. Improving the bioavailability of phenolic compounds by loading them within lipid-based nanocarriers. **Trends in Food Science & Technology**, Norwich, v. 76, n. 1, p. 56–66, 2018.

FAVARO, T. C. S.; OKURO, P. K.; MATOS JUNIOR, F. E. Encapsulation via Spray Chilling/Cooling/Congeeing. **CRC Press**, Flórida, p. 71-88, 2015.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.11, p.103-112, 2008.

FDA – Food and Drug Administration. **Subchapter B--Food For Human Consumption**, 2016.

FENNEMA, O. R.; PARKIN, K.; DAMODARAN, S. **Fennema's food chemistry**. 4th ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FIGIEL, A. Drying kinetics and quality of beetroots dehydrated by combination of convective and vacuum-microwave methods. **Journal of Food Engineering**, Califórnia, v. 98, n. 4, p. 461–470, 2010.

FREIBERG, S.; ZHU, X. X. Polymer microspheres for controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutic**, Lille, v. 282, n. 1-2, p. 1–18, 2004.

GARTI, N. Food emulsifiers: structure-reactivity, relationships, design, and applications. In: MARANGONI, A.G.; NARINE, S. **Physical properties of lipids**. 1. ed. Nova Iorque: Taylor & Francis Group, p. 265-386, 2002.

GARTI, N. *et al.* Double emulsions of water-in-oil-in-water stabilized by α -form fat microcrystals. Part 1: Selection of emulsifiers and fat microcrystalline particles. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Nova Jersey, v. 76, n. 3, p. 383-389, 1999.

GOIK, U.; GOIK, T.; TAL-FIGIEL, B. Breakage and Coalescence Phenomena in Ultrasound Field for Liquid-Liquid Dispersion Systems. **Journal of Dispersion Science and Technology**, Marcel Dekker Inc., USA, v. 34, n. 11, p. 1609–1617, 2013.

GOODARZI, F.; ZENDEHBOUDI, S. A comprehensive review on emulsions and emulsion stability in chemical and energy industries. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, Ottawa, v. 97, n. 1, p. 281–309, 2018.

HÅKANSSON, A. Emulsion Formation by Homogenization: Current Understanding and Future Perspectives. **Food Science and Technology**, Cambridge, v.10, p. 239-258, 2019.

HENZ, G. P. **Perishables postharvest losses in Brazil**: a review and a current view of an old problem. In: _____. First International Congress on Postharvest Loss Prevention, p. 6-8, 2015.

HU, F. Q. *et al.* Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 45, n. 3-4, p. 167–173, 2005.

JAFARI, S. M. *et al.* Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 7, p. 1191–1202, 2008.

JANISZEWSKA, E.; WLODARCZYK, J. Influence of spray drying conditions on beetroot pigments retention after microencapsulation process. **Acta Agrophysica**, Varsóvia, v. 20, n. 2, p. 343-356, 2013.

JL, L. *et al.* Induction of quinone reductase (QR) by withanolides isolated from *Physalis pubescens* L. (Solanaceae). **Steroids**, Pittsburgh, v. 78, n. 9, p. 860–865, 2013.

JIN, W. Nanoemulsions for food: properties, production, characterization, and applications, In: A.M. Grumezescu (Ed.), *Emulsions. Nanotechnology in the Agri-Food Industry*. 1. ed. Londres: **Academic Press**, p. 33–69, 2016.

JYOTHI, N. V. N. *et al.* Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **Journal of Microencapsulation**, Londres, v. 27, n. 3, p. 187-197, 2010.

KANAYA K.; SATO, M. Development of enteric-coated S/O microcapsules utilizing edible fats. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, Tóquio, v. 45, n. 2, p. 82–8, 2012.

- KANNER, J.; HAREL, S.; GRANIT, R. Betalains: a new class of dietary cationized antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 49, n. 11, p. 5178-5185, 2001.
- KAUR, K.; SINGH, A. K. Drying kinetics and quality characteristics of beetroot slices under hot air followed by microwave finish drying. **African Journal of Agricultural Research**, Etiópia, v. 9, n. 12, p. 1036–1044, 2014.
- KNEVIC Z, *et al.* Application of hot-melt coating process for designing a lipid based controlled release drugdelivery system for highly aqueous soluble drugs. **Chem Pharm Bull**, Tóquio, v. 57, n. 5, p. 464–71, 2009.
- KOWALSKI, S. J.; LECHTANSKA, J. M. Drying of red beetroot after osmotic pretreatment: Kinetics and quality considerations. **Chemical and Process Engineering**, Glasgow, v. 36, n. 3, p. 345–354, 2015.
- KUJALA, T. S. *et al.* Phenolics and Betacyanins in Red Beetroot (*Beta vulgaris*) Root: Distribution and Effect of Cold Storage on the Content of Total Phenolics and Three Individual Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 48, n. 1, p. 5338-5342, 2000.
- LAGO, A. *et al.* Ultrasound-Assisted Oil-in-Water Nanoemulsion Produced From *Pereskia aculeata* Miller Mucilage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 50, p. 339-353, Melbourne, 2018.
- LEONG, T. S. H., *et al.* Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 16, n. 6, p. 721–727, 2009.
- MADENE, A. *et al.* Flavour encapsulation and controlled release — A review. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 1–21, 2006.
- MARANGONI, A. G. Organogels: An alternative edible oil-structuring method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Nova Jersey, v. 89, n. 5, p. 749–780, 2012.
- MARTINEZ, R. M. *et al.* Anti-inflammatory activity of betalain-rich dye of *Beta vulgaris*: effect on edema, leukocyte recruitment, superoxide anion and cytokine production. **Archives of Pharmacal Research**, Korea, v. 38, n. 4, p. 494-504, 2015.
- MARTINI, S. *et al.* **Modifying lipids for use in food**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2006.
- MARTINS, R. M.; SIQUEIRA, S.; FREITAS, L. A. P. Spray congealing of pharmaceuticals: Study on production of solid dispersions using box-Behnken design. **Drying Technology**, Quebec, v. 30, n. 9, p. 935–945, 2012.
- MCCLEMENTS, D. J. Food Emulsions. Principles, Practices, and Techniques. 2nd ed. Florida: **CRC Press**, 2005.
- MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, Newark, v. 8, n. 6, p. 1719, 2012.

MCCLEMENTS, D. J.; RAO, J. Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Olsztyn, v. 51, n. 4, p. 285–330, 2011.

MEUNIER, J. P. *et al.* Use of spray-cooling technology for development of microencapsulated capsicum oleoresin for the growing pig as an alternative to in-feed antibiotics: A study of release using in vitro models. **Journal of Animal Science**, Oxford, v. 85, n. 10, p. 2699–2710, 2007.

METTU, S.; WU, C.; DAGASTINE, R. R. Dynamic forces between emulsified water drops coated with Poly-Glycerol-Poly-Ricinoleate (PGPR) in canola oil. **Journal of Colloid and Interface Science**, Kobenhavn, v. 517, p. 166–175, 2018.

MIKOŁAJCZYK-BATOR, K.; CZAPSKI, J. Effect of pH changes on antioxidant capacity and the content of betalain pigments during the heating of a solution of red beet betalains. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, Olsztyn, v. 67, n. 2, p. 123–128, 2017.

MORTENSEN, A. *et al.* Reevaluation of polyglycerol polyricinoleate (E 476) as a food additive. **European Food Safety Authority**, Irlanda, v. 15, n. 3, 2017.

MUN, S. *et al.* Preparation and Characterization of Water/Oil/Water Emulsions Stabilized by Polyglycerol Polyricinoleate and Whey Protein Isolate. **Journal of Food Science**, Illinois, v. 75, n. 2, p. E116-E125, 2010.

NAZZARO, F. *et al.* Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, Cambridge, v. 23, n. 2, p. 182-186, 2012.

NISTOR, O. V. *et al.* Influence of different drying methods on the physicochemical properties of red beetroot (*Beta vulgaris* L. var. *Cylindra*). **Food Chemistry**, Norwich, v. 236, n. 1, p. 59–67, 2017.

NORI, M. A.; AREAS, G. A. J. **Produção de microcápsulas de ácido cítrico para utilização em produtos cárneos**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1996.

O'BRIEN, R. D. Fats and Oils Formulation. In: _____ (Eds.). **Fats and Oils - Formulating and Processing for Applications**. Flórida: **CRC Press**, p. 263-345, 2009.

OH, C. M. *et al.* Spray-congealed microparticles for drug delivery – an overview of factors influencing their production and characteristics. **Expert Opinion on Drug Delivery**, Denver, v. 11, n. 7, p. 1047-1060, 2014.

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

ORIANI, V. B. *et al.* Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention. **Food Research International**, Essex, v. 80, n. 1, p. 41–49, 2016.

ORIANI, V. B. *et al.* The influence of the storage temperature on the stability of lipid microparticles containing ginger oleoresin. **Food Research International**, Essex, v. 109, n. 1, p. 472–480, 2018.

OZKAN, G. *et al.* A review of microencapsulation methods for food antioxidants: principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, Norwich, v. 272, p. 494-506, 2019.

OXLEY, J. D. Spray cooling and spray chilling for food ingredient and nutraceutical encapsulation. In: GARTI, N.; MCCLEMENTS, D. J. (Editores.). **Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals**. Amsterdam: Woodhead Publishing Limited, p. 110–130, 2012.

PACIULLIN, M. *et al.* Impact of thermal and high pressure processing on quality parameters of beetroot (*Beta vulgaris L.*) **LWT- Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 68, p. 98-104, 2016.

PASSERINI, N. *et al.* Solid lipid microparticles produced by spray congealing: Influence of the atomizer on microparticle characteristics and mathematical modeling of the drug release. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Lawrence, v. 99, n. 2, p. 916–931, 2010.

PATIL, L.; GOGATE, P. R. Ultrasound assisted synthesis of stable oil in milk emulsion: Study of operating parameters and scale-up aspects. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 40, p. 135–146, 2018.

PHAM, L.; CHRISTENSEN, J. M. Preparation of acetaminophen capsules containing beads prepared by hot-melt direct blend coating. **Pharmaceutical Development and Technology**, Londres, v. 19, n. 1, p. 91–102, 2014.

PRECZENHAK, A. P. *et al.* Cysteine enhances the content of betalains and polyphenols in fresh-cut red beet. **Food Chemistry**, Norwich, v. 286, n. 1, p. 600–607, 2019.

RAVICHANDRAN, K. *et al.* Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. **Food Research International**, Essex, v. 50, n. 2, p. 670–675, 2013.

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

RAYNER, M.; DEJMEK, P. Engineering Aspects of Food Emulsification and Homogenization. Flórida: **CRC Press**, p. 648, 2015.

RÉ, M.I. Microencapsulação: em busca de produtos “inteligentes”. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 162, p. 24-29, 2000.

RIBEIRO, A. M. *et al.* Microencapsulation of Vitamin A by spray-drying, using binary and ternary blends of gum arabic, starch and maltodextrin. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 108, 2020.

RIBEIRO, A. P. B. *et al.* Crystallization modifiers in lipid systems. **Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 52, n. 7, p. 3925–3946, 2015.

RIBEIRO, M. D. M. M.; ARELLANO, D. B.; GROSSO, C. R. F. The effect of adding oleic acid in the production of stearic acid lipid microparticles with a hydrophilic core by a spray-cooling process. **Food Research International**, Essex, v. 47, n. 1, p. 38–44, 2012.

ROY, K., *et al.* The use of a natural colorant based on betalain in the manufacture of sweet products in India. **International Journal of Food science and Technology**, Oxford, v. 39, n. 10, p. 1087–1091, 2004.

SARTORI, T. *et al.* Ascorbic acid microencapsulation by spray chilling: Production and characterization. **LWT- Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 63, n. 1, p. 353-360, 2015.

SATO, K.; UENO, S. Crystallization, transformation and microstructures of polymorphic fats in colloidal dispersion states. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, Madison, v. 16, n. 5, p. 384-390, 2011.

SAWICKI, T; WICZKOWSKI, W. The effects of boiling and fermentation on betalain profiles and antioxidant capacities of red beetroot products. **Food Chemistry**, Norwich, v. 259, n. 1, p. 292–303, 2018.

SCRIMGEOUR, C. M; HARWOOD, J. L. Fatty Acid and Lipid Structure. In: HARWOOD, J.L.; GUNSTONE, F.D.; DIJKSTRA, A. J. (Editores). **The Lipid Handbook**, Londres, p. 36, 2007.

SHAHIDI, F.; HAN, X.-Q. Encapsulation of Food Ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, China, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SHANMUGAM, A.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonic preparation of stable flax seed oil emulsions in dairy systems – Physicochemical characterization. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 39, p. 151–162, 2014.

SHANMUGAM, A.; ASHOKKUMAR, M. Characterization of Ultrasonically Prepared Flaxseed oil Enriched Beverage/Carrot Juice Emulsions and Process-Induced Changes to the Functional Properties of Carrot Juice. **Food and Bioprocess Technology**, Irlanda, v. 8, n. 6, p. 1258–1266, 2015.

SINGH, M. N. *et al.* Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. **Research in pharmaceutical sciences**, Isfahan, v. 5, n. 2, p. 65-77, 2010.

SIVAKUMAR, M.; TANG, S. Y.; TAN, K. W. Cavitation technology – A greener processing technique for the generation of pharmaceutical nanoemulsions. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 21, n. 6, p. 2069–2083, 2014.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food and in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, Norwich, v. 15, n. 1, p. 19–38, 2004.

STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, S. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, Londres, v. 62, n. 3, p. 247-269, 2003.

SU, J. *et al.* Synergistic effects of polyglycerol ester of polyricinoleic acid and sodium caseinate on the stabilisation of water–oil–water emulsions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, n. 2–3, p. 261-268, 2006.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4. ed. Campinas: Núcleo de Estudos e pesquisas em Alimentação – UNICAMP, p. 161, 2011.

TANG, S. Y.; SHRIDHARAN, P.; SIVAKUMAR, M. Impact of process parameters in the generation of novel aspirin nanoemulsions – Comparative studies between ultrasound cavitation and microfluidizer. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 20, n. 1, p. 485–497, 2013.

TANG, S. Y.; SIVAKUMAR, M.; NASHIRU, B. Impact of osmotic pressure and gelling in the generation of highly stable single core water-in-oil-in-water (W/O/W) nano multiple emulsions of aspirin assisted by two-stage ultrasonic cavitation emulsification. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 102, p. 653–658, 2013.

TANG, S. Y.; SIVAKUMAR, M. Design and evaluation of aspirin-loaded water-in-oil-in-water submicron multiple emulsions generated using two-stage ultrasonic cavitation emulsification technique. **Pacific Journal of Chemical Engineering**, Asia, v. 7, p. S145–S156, 2012.

TESORIERE, L. *et al.* In vitro digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessibility of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential of food digesta. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 56, n. 22, p. 10487–10492, 2008.

TULINI, F. L. *et al.* Evaluation of the release profile, stability and antioxidant activity of aproanthocyanidinrich cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) extract co-encapsulated with α -tocopherol by spray chilling. **Food Research International**, Essex, v. 95, n.1, p. 117-124, 2017.

UMBANHOWAR, P. B.; PRASAD, V.; WEITZ, D. A. Monodisperse Emulsion Generation via Drop Break Off in a Coflowing Stream. **Langmuir**, v. 16, n. 2, p. 347–351, 2020.

VASISHT, N. Selection of Materials for Microencapsulation. In: GAONKAR, A.G.; VASISHT, N.; KHARE, A.; SOBEL, R. (Ed.). **Microencapsulation in the Food Industry - A Practical Implementation Guide**, p. 173-180, 2014.

WALSTRA, P. Principles of emulsion formation. **Chemical Engineering Science**, Netherlands, v. 48, n. 2, p. 333–349, 1993.

WANG, X. *et al.* Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsions. **Food Chemistry**, Norwich, v. 108, n. 2, p. 419–424. 2008.

WILSON, R. *et al.* Overview of the preparation, use and biological studies on polyglycerol polyricinoleate (PGPR). **Food and Chemical Toxicology**, Reus, v. 36, n. 9-10, p. 711-718, 1998.

YU, H.; HUANG, Q. Enhanced in vitro anti-cancer activity of curcumin encapsulated in hydrophobically modified starch. **Food Chemistry**, Norwich, v. 119, n. 2, p. 669–674, 2010.

ZITNANOVÁ, I. *et al.* Antioxidative activity of selected fruits and vegetables. **Versita**, Bratislava, v. 61, n. 3, p. 27-284, 2006.

ZOU, M. *et al.* Wax-matrix tablet for time-dependent colon-specific delivery system of sophora flavescens Aiton: Preparation and in vivo evaluation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, Austin, v. 35, n. 2, p. 224–33, 2009.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. Nova Iorque: **Springer Science**, p. 3–29, 2010.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

EMULSÕES ASSISTIDAS POR ULTRASSOM PARA A MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE BETERRABA (*Beta vulgaris* L.) POR MEIO DA TÉCNICA DE SPRAY CHILLING

Norma NBR 6022 (ABNT, 2018)

Resumo

No intuito de incorporar compostos ativos em alimentos e bebidas a partir de substâncias com propriedades corantes e antioxidantes como as betalaínas, pigmentos de origem natural oriundos do descarte de beterrabas, faz-se necessário analisar as principais variáveis espaciais que influenciam em sua estabilidade. Dessa forma, vale destacar a importância das tecnologias de encapsulamento por *spray chilling* e homogeneização das emulsões a partir de dispositivos ultrassônicos. Para tanto, três variáveis independentes foram estudadas: formulações binárias lipídicas (agentes carreadores), contendo ácido esteárico (AE) e ácido oleico (AO), preparadas em homogeneizador ultrassônico, nas proporções de 50/50, 60/40 e 70/30, respectivamente; tempo de permanência (1; 2 e 3 min) no homogeneizador e amplitude de potência (50% e 70%) do equipamento. Em seguida, as misturas foram avaliadas quanto à estabilidade cinética (índice de cremeação) e reologia (índice de consistência) e, a partir destes resultados, foram selecionados a amplitude de potência e o tempo ótimos, para a obtenção de sistemas coloidais ideais visando a microencapsulação das partículas em *spray chilling*. Em geral, o aumento na proporção de ácido esteárico influenciou diretamente no aumento da viscosidade e estabilidade da emulsão. Tal comportamento permitiu fixar os parâmetros operacionais do sonicador no limite de 2,75 min de permanência e 50% de amplitude, além de indicar que o AE teria melhor desempenho na atomização do que o AO. Constatou-se nas análises morfológicas, que o tratamento 70/30 apresentou maior tamanho de partícula, formato esférico e superfície lisa; no entanto, menor rendimento de encapsulamento. A matriz lipídica com maior teor de lipídios insaturados (AO), principalmente a com 50% deste componente, apresentou uma maior aglomeração das partículas, demonstrando uma consistência pastosa e pegajosa, o que dificultou o manuseio. A partir do espectro FTIR foi possível verificar que o extrato de beterraba foi incorporado à matriz lipídica, ou seja, demonstrando que a técnica de *spray chilling* não destruiu as estruturas primárias. Ao longo do tempo de armazenamento, foi possível observar maior degradação dos pigmentos presentes nas microesferas com 50/50 e 60/40 de AE/AO e, conseqüente, maior alteração visual da cor, quando comparado ao tratamento 70/30. A pesquisa mostrou que, com alto potencial para uma liberação antecipada e uma maior retenção das betalaínas, o pó elaborado com menor concentração de ácido esteárico mostra-se viável para a aplicação em alimentos refrigerados, como gelatinas, geleias, iogurtes e sorvetes. Por outro lado, o aumento do ácido esteárico promove um maior tamanho de partículas e, em temperaturas mais altas, teve um melhor aspecto visual, sendo ideal para alimentos que possam vir a ter boas propriedades de fusão na boca, como chocolates, leites aromatizados e massas para bolo. Dessa forma, a técnica de *spray chilling* mostrou-se como uma alternativa promissora para a microencapsulação do extrato de beterraba e manutenção de sua estabilidade.

Palavras-chaves: Betalaína. Estabilidade. Microesferas.

1 INTRODUÇÃO

Um dos parâmetros de qualidade da beterraba está relacionado com os defeitos físicos e o grau desses defeitos que a hortaliça possa apresentar. Com isso, em casos de defeitos físicos tais como murchamento e rebrota, ou visuais mais graves e que limitem a comercialização do vegetal *in natura*, as beterrabas são descartadas, independentemente de sua qualidade nutricional e sanitária, caracterizando um tipo de perda pós-colheita (ISHWARYA; ANANDHARAMAKRISHNAN; STAPLEY, 2015). Este descarte representa o desperdício de um potencial produto rico em betalaínas, substâncias corantes e antioxidantes, que apresentam uma correlação direta com a saúde pública, com propriedades antitumorais, antiaterosclerótica, anti-inflamatória, dentre outras (RAVICHANDRAN *et al.*, 2013).

Devido ao seu valor nutricional satisfatório e efeitos de prevenção de doenças, tais extratos são considerados benéficos à saúde humana e podem ser aplicados como aditivos alimentares, corantes e suplementos dietéticos (NEMZER *et al.*, 2011). Além de conferir melhor qualidade em termos de cor e intensidade, a betalaína é aprovada pela FDA (*Federal Drug Administration*), agência federal do departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, como corante natural e pode ser aplicada em alimentos lácteos, cosméticos e produtos farmacêuticos (ESATBEYOGLU *et al.*, 2015). A cor característica do material é considerada um indicador de frescor e de alto valor nutricional, bem como estimula a aceitabilidade do produto. Consequentemente, durante a última década, as empresas iniciaram o emprego de componentes nativos, como plantas naturais ou pigmentos de origem animal (RAVICHANDRAN *et al.*, 2013). Os extratos de beterraba são utilizados para enfatizar a ascendência de tais produtos como sopas de tomate, molhos, pastas, sobremesas, compotas e doces. Em adição, podem ser utilizados para proteção da descoloração da carne e para estender sua vida útil (CHHIKARA *et al.*, 2019; KUMORKIEWICZ *et al.*, 2020; TANG *et al.*, 2015).

No entanto, extratos de compostos ativos apresentam menor vida útil, visto que possuem baixa estabilidade microbiológica e, portanto, são susceptíveis à deterioração por variações das condições de armazenamento (temperatura, umidade, níveis de oxigênio e luz), volatilização de compostos e degradações causadas por microrganismos (GASSARA-CHATTI *et al.*, 2013). Assim, com o intuito de preservar os benefícios das betalaínas, a microencapsulação do extrato de beterraba pode ser considerada uma técnica viável. A microencapsulação permite o revestimento de substâncias ativas como: partículas sólidas, gotas de líquidos e dispersões com um filme protetor, por meio do uso de um agente encapsulante, também conhecido como material de parede. O material a ser encapsulado pode ser nomeado como: agente ativo, material

de recheio, núcleo ou fase interna; assim como, os materiais que formam as micropartículas podem receber diversas denominações, tais quais: cobertura, veículo, membrana, casca, carreador ou material de parede (SOBEL; VERSIC; GAONKAR, 2014). Técnicas como *spray drying*, recobrimento em leito fluidizado e extrusão são amplamente empregadas no preparo de microcápsulas.

Com a evolução das técnicas de microencapsulação surgiu a técnica de *spray chilling*, também denominada de *spray congealing* ou *spray cooling* (*spray* a baixas temperaturas), que vem ganhando muito espaço nas pesquisas de microencapsulação de alimentos, por minimizar os danos térmicos do material encapsulado em decorrência do emprego de temperaturas relativamente baixas em comparação às outras técnicas. Além disso, se destaca por seu reduzido custo, facilidade na execução da microencapsulação e por não gerar resíduos, visto que elimina a possibilidade de uso de solventes orgânicos e água. Em consequência, é muito utilizado para a microencapsulação de extratos vegetais, compostos bioativos, enzimas e microrganismos probióticos (ALVIM *et al.*, 2016; OKURO; MATOS JÚNIOR; FAVARO-TRINDADE, 2013).

A escolha do material de parede é uma das etapas mais importantes no processo de secagem por *spray chilling*. Em razão de suas características térmicas, como ponto de fusão, são consideradas de extrema importância para a obtenção de partículas íntegras e para que possam proteger o material encapsulado ao longo do armazenamento (OXLEY, 2012). Em geral, o material de parede é de natureza lipídica, visto que os lipídeos apresentam alta biocompatibilidade minimizando a possibilidade de toxicidade, bem como são mais adequadas à aplicação direta em alimentos sólidos ou com baixo teor de água. Os materiais lipídeos mais utilizados como carreadores em *spray chilling* são ceras de abelha e carnaúba, óleo de rícino hidrogenado, cera microcristalizada, cera de parafina, ácido esteárico e álcool esteárico (OKURO; MATOS JÚNIOR; FAVARO-TRINDADE, 2013).

As microcápsulas lipídicas apresentam como desvantagem uma rígida microestrutura que podem reduzir a capacidade de encapsulamento e promover uma rápida liberação do ativo em virtude das transições polimórficas. Assim, na produção de micropartículas lipídicas sólidas, lipídios de alto e baixo ponto de fusão, como o ácido oleico, para atuar em conjunto como transportadores podem resultar em uma desorganização na estrutura cristalina que melhora a retenção ativa, devido a uma modulação da rede cristalina lipídica (HU *et al.*, 2005; RIBEIRO; ARELLANO; GROSSO, 2012; SARTORI *et al.*, 2015). A ampla disponibilidade de diferentes fontes lipídicas na natureza propicia o desenvolvimento de diferenciados materiais para o revestimento das micropartículas lipídicas.

No processo de *spray chilling*, a energia na forma de ar frio é removida forçando a solidificação do material de parede, formando micropartículas lipídicas sólidas que retêm e protegem a substância ativa (ALVIM *et al.*, 2016). Os estudos sobre microencapsulação por *spray chilling* são recentes e focados, principalmente, na compreensão do mecanismo de solidificação dos materiais e nas características de processo para otimizar as propriedades do microencapsulado. As perspectivas para o estudo da microencapsulação por *spray chilling* estão baseadas na busca de novos materiais e aplicação em alimentos e em embalagens (OXLEY, 2012; SARTORI *et al.*, 2015).

Em complemento, tanto do ponto de vista nutricional quanto funcional, é necessário escolher métodos apropriados para homogeneizar e, em consequência, estabilizar esses compostos ativos (MOCANU *et al.*, 2020). Diversas técnicas de homogeneização de alta energia tem sido usadas para produzir emulsões e aplicar em sistemas de encapsulamento. Dispositivos rotor-estator, sonicador, homogeneizador de alta pressão e microfluidizador são os mais usados para produzir esses sistemas coloidais. A técnica de ultrassom apresenta alto desempenho na formação de emulsões, atribuídas ao mecanismo de homogeneização, baseado no microcisalhamento gerado pelo colapso de microbolhas formadas durante o fenômeno de cavitação (SILVA; ROSA; MEIRELES, 2015; KAL TSA *et al.*, 2013). Gotículas menores podem ser produzidas pela intensificação do processo, devido ao aumento da potência nominal ou do tempo de processo, o que aumenta a eficiência de encapsulação dos compostos bioativos (ABBAS *et al.*, 2014; FERNANDES *et al.*, 2016; ROSA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2018).

Na área de alimentos, embora seja notório o alto potencial da técnica para contornar limitações e desenvolver novas aplicações, os estudos envolvendo a microencapsulação por *spray chilling* ainda são escassos. Em adição, em relação às substâncias ativas oriundas da beterraba nenhum estudo foi realizado utilizando o *spray chilling*, o que torna o projeto inovador. Com base neste contexto, o objetivo deste estudo foi otimizar os parâmetros operacionais do processo, amplitude ultrassônica (%) e tempo de sonicação (min), para a obtenção de emulsões água em óleo (A/O) pela aplicação da técnica de ultrassom para microencapsular o extrato de beterraba por meio da técnica de *spray chilling* empregando diferentes proporções dos materiais lipídicos (ácido esteárico e ácido oleico).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

No preparo das micropartículas lipídicas sólidas foram utilizados beterraba (*Beta vulgaris* L.); ácido esteárico P.A. (C18:0, 68 °C), ácido oleico P.A. (C18:1, 13 °C) (Êxodo Científica, Sumaré, São Paulo, Brasil) e o emulsificante poliglicerol polirricinoleato (PGPR) de HLB (balanço hidrofílico-lipofílico) 1,5 – 2,0 (Danisco Brasil Ltda, Cotia, São Paulo, Brasil). Os reagentes químicos empregados nos experimentos apresentaram grau analítico: clorofórmio P.A. - A.C.S (CHCl₃) (Synth, Diadema, SP, Brasil), como facilitador da reconstituição dos pós; fosfato de sódio dibásico anidro P.A. (Na₂HPO₄) (Vetec Química Fina Ltda, Sigma Aldrich, Duque de Caxias, RJ, Brasil); e fosfato de potássio monobásico anidro P.A. (KH₂PO) (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil) para o preparo da solução tampão fosfato (0,05 M e pH 6,5).

2.2 Extração dos compostos ativos

Para a obtenção do extrato, as beterrabas foram lavadas e higienizadas em solução 200 ppm de hipoclorito de sódio durante 10 min, descascadas, fracionadas e processadas em um centrifugador de alimentos (Philips Walita Juicer model RI1858, Royal Philips Electronics, Barueri, SP, Brasil), seguido da filtração em organza e homogeneização em uma centrífuga (Centrífuga Excelsa II 206-BL – Fanem, Guarulhos, SP, Brasil) por 5 min a 3500 rpm, em uma potência de 300 W, para eliminação dos sólidos em suspensão.

2.3 Planejamento experimental

Primeiramente, para a otimização dos parâmetros utilizados no processo de obtenção das emulsões água-em-óleo (A/O), a razão entre o extrato de beterraba (fase dispersa) e as misturas lipídicas (fase contínua) foi fixada em 30/70 e a porcentagem de emulsificante PGPR (poliglicerol polirricinoleato) em 4%, de acordo com testes preliminares, bem como três variáveis independentes foram estudadas: misturas lipídicas (agentes carreadores), ácido esteárico e ácido oleico, foram empregadas nas proporções de 50/50; 60/40 e 70/30, respectivamente; tempo de permanência (1; 2 e 3 min) no homogeneizador ultrassônico (sonicador), e amplitude de 50% e 70% do equipamento.

Um planejamento fatorial completo ($3^2 \times 2$) foi realizado para modelar as respostas de interesse, totalizando 18 tratamentos, estudados em 3 repetições por meio de uma superfície de resposta, conforme demonstra a Tabela 1. As proporções dos materiais de parede e material de núcleo foram estabelecidos a partir de pré-testes e com base nos resultados apresentados por Ribeiro, Arellano e Grosso (2012) e por Leonel *et al.* (2010) para misturas de ácidos graxos líquidos e sólidos empregadas em *spray chilling*; os limites mínimos e máximos estabelecidos para o equipamento homogeneizador, tempo (min) e amplitude (%) foram definidos a partir da avaliação sobre os parâmetros críticos para a preparação de emulsões contendo ácido esteárico, descrita por Zhong *et al.* (2015); e o valor fixo da concentração mássica de PGPR foi calculada em função da massa da fase lipídica, conforme apresentado por Consoli *et al.* (2016). As emulsões, produzidas de acordo com cada tratamento e definido no planejamento experimental foram avaliadas quanto à estabilidade cinética e viscosidade e, a partir destes resultados, foram selecionados a amplitude e o tempo ótimos a serem utilizados no sonicador para obtenção de sistemas coloidais ideais, visando a microencapsulação das partículas em *spray chilling*.

Tabela 1 – Delineamento experimental aplicado para o preparo das emulsões elaboradas com 30% de extrato de beterraba, 70% de agentes carreadores e 4% de emulsificante.

Sonicador		Agentes carreadores (g·100 g ⁻¹ de solução)	
Amplitude (%)	Tempo (min)	Ácido Esteárico (AE)	Ácido Oleico (AO)
50	1	35	35
		42	28
		49	21
	2	35	35
		42	28
		49	21
	3	35	35
		42	28
		49	21
70	1	35	35
		42	28
		49	21
	2	35	35
		42	28
		49	21
	3	35	35
		42	28
		49	21

Fonte: Do autor (2021).

Em suma, as etapas do experimento para a obtenção das emulsões e microesferas, elaboradas com extrato de beterraba e materiais lipídicos, estão representadas na Figura 1.

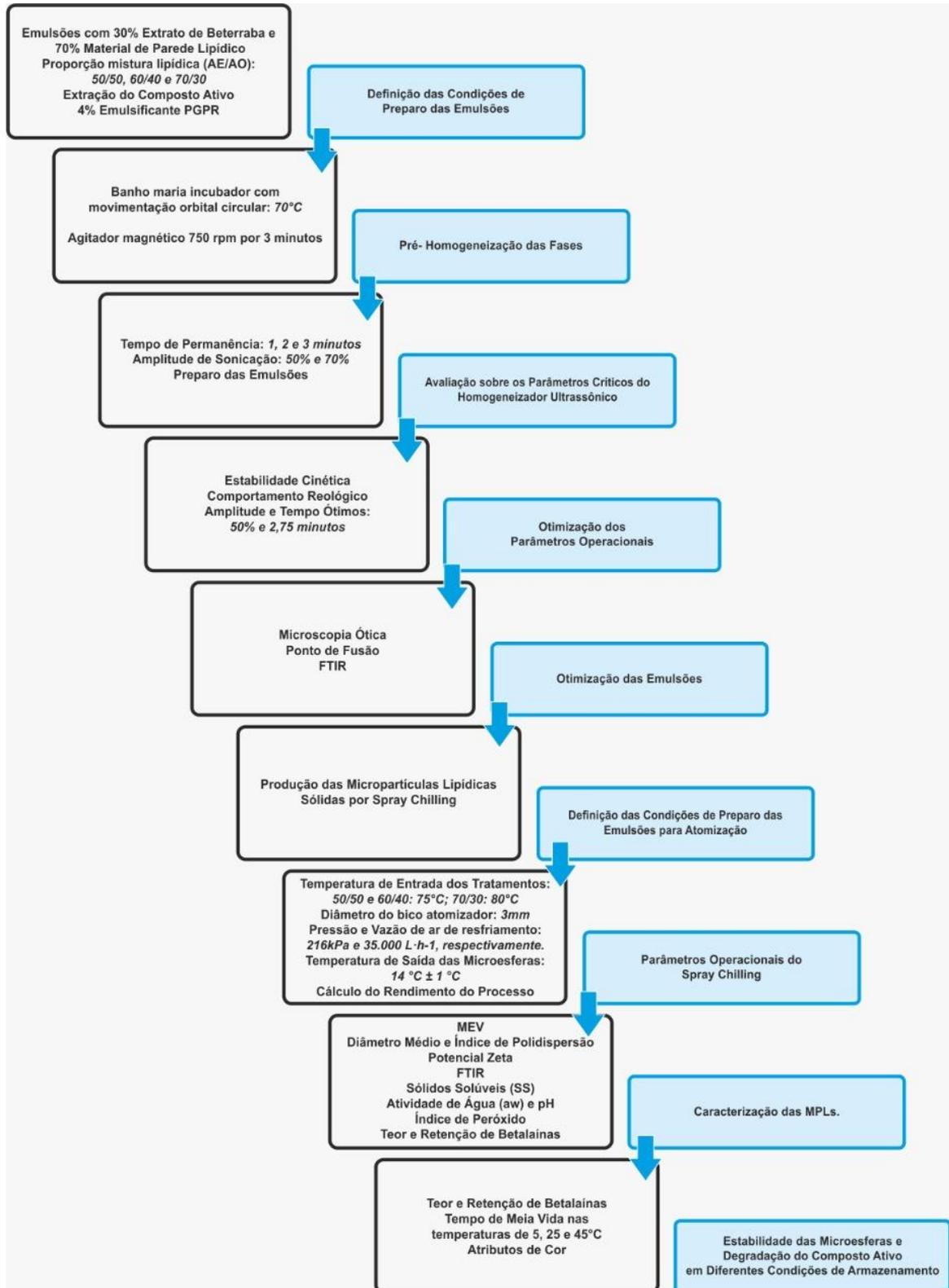


Figura 1 – Fluxograma das etapas do experimento aplicado para a produção de micropartículas lipídicas contendo extrato de beterraba.

Fonte: Do autor (2021).

2.4 Preparo das emulsões

Os agentes carreadores (ácido esteárico e ácido oleico) e o emulsificante PGPR, fase contínua, foram fundidos e homogeneizados (Tabela 1), por meio de aquecimento a 70 °C em um banho-maria incubador com movimento orbital circular (Biomedice 501-D, Ethiktechnology, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil), a fim de impedir a cristalização do ácido esteárico. Em seguida, a pré-homogeneização das fases contínua e dispersa (extrato de beterraba), foi realizada em agitação magnética constante (Diagtech DT3120H, São Paulo, SP, Brasil) operando a 15 000 rpm por 3 min. Para a obtenção dos sistemas emulsionados, foi empregado um homogeneizador ultrassônico de ponta (Digital Sonifier Cell Disruptor 450D, Branson, Manchester, Reino Unido), que opera a 20 kHz com uma potência máxima de 400 W, de acordo com os tratamentos definidos no planejamento experimental.

2.4.1 Estabilidade cinética

As emulsões, imediatamente após o preparo, foram transferidas para tubos cilíndricos (diâmetro interno de 17 mm), que foram selados e mantidos por 1 h a 70 °C (AOCS, 2004), sendo o aquecimento necessário para impedir a cristalização dos componentes lipídicos da emulsão. Como no processo de resfriamento por *spray chilling*, o tempo compreendido entre a preparação da emulsão e a atomização não excede 30 min (CONSOLI *et al.*, 2016), avaliar a estabilidade cinética por 1 h foi considerado suficiente para determinar as condições de preparação das emulsões. Para tanto, utilizou-se uma régua para obter a medida da altura das fases da emulsão, em que a altura da fase contínua foi medida a cada 30 minutos até completar a primeira hora após o preparo. A separação da fase aquosa foi medida para todos os ensaios e expresso como o índice de cremação (IC), calculado como uma porcentagem da razão entre altura da fase aquosa (H) e a altura total (H_0), como mostrado na Equação 1:

$$IC (\%) = \frac{H}{H_0} \times 100 \quad (1)$$

2.4.2 Comportamento reológico

O estudo do comportamento reológico das amostras foi realizado a 70 °C, em condições estacionárias, utilizando o viscosímetro rotacional (Brookfield DV III Ultra, Brookfield

Engineering Laboratories, Stoughton, USA), equipado com um adaptador para pequenas amostras 13R/RP e sensor de cisalhamento coaxial SC4-18, acoplado à um banho termostático (Brookfield EX 200, Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, USA) para controle de temperatura da amostra. As medições foram realizadas usando um sensor cone-placa. Para quebrar a tixotropia, eliminando a influência do tempo no comportamento de escoamento das emulsões e nanoemulsões, cada amostra foi submetida a rampas contínuas de cisalhamento (crescente, decrescente e crescente) com taxa de deformação variando entre 0 a 200 s⁻¹, durante 2 min para cada curva (CONSOLI *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2015). Os dados da segunda curva crescente foram utilizados no ajuste dos modelos Lei de Newton (Equação 2), Lei da Potência (Equação 3) e *Herschell-Buckley* (Equação 4).

$$\sigma = \mu\dot{\gamma} \quad (2)$$

$$\sigma = k\dot{\gamma}^n \quad (3)$$

$$\sigma = \sigma_0 + k\dot{\gamma}^n \quad (4)$$

Em que, σ (Pa) é a tensão de cisalhamento, $\dot{\gamma}$ (s⁻¹) é a taxa de deformação, μ (Pa·s) é a viscosidade newtoniana, k é o índice de consistência (Pa·sⁿ), n (adimensional) é o índice de comportamento de fluxo, e σ_0 (Pa) é a tensão inicial de escoamento.

2.5 Otimização das emulsões

Após a otimização dos parâmetros operacionais do homogeneizador ultrassônico (amplitude e o tempo ótimos), a partir das análises de estabilidade cinética e comportamento reológico, foi traçado um novo delineamento experimental, tornando fixo o melhor tempo e amplitude do sonicador no preparo das emulsões. Assim, as emulsões de cada proporção lipídica obtidas (3 tratamentos), foram caracterizadas e empregadas na alimentação do atomizador para a microencapsulação do extrato de beterraba. A Tabela 2 resume as novas condições de preparo das emulsões que foram designadas ao *spray chilling*. As condições estabelecidas foram amplitude (50%) e tempo do sonicador (2,75 min), bem como a proporção 30% de extrato de beterraba, 70% de agentes carreadores e 4% de emulsificante.

Tabela 2 – Delineamento experimental aplicado para a produção de micropartículas lipídicas contendo extrato de beterraba.

Sonicador		Agentes carreadores (g·100 g ⁻¹ de solução)		Agente de núcleo (g·100 g ⁻¹ de solução)
Amplitude (%)	Tempo (min)	Ácido Esteárico (AE)	Ácido Oleico (AO)	Extrato de beterraba
50	2,75	35	35	30
		42	28	
		49	21	

Fonte: Do autor (2021).

2.5.1 Microscopia ótica

A morfologia das emulsões foi realizada por microscopia óptica, utilizando-se o microscópio de luz polarizada (Olympus America Inc. BX51, Center Valley, USA), e técnica DIC (microscopia de contraste de interferência diferencial), acoplado a um sistema de captação de imagens, software Zen 2010 (ImageProgram). As lâminas foram preparadas com aproximadamente 1 mm³ de área de amostra da emulsão, sendo a lamínula colocada suavemente sobre a amostra, para que não houvesse ruptura da estrutura da emulsão. A medição foi realizada imediatamente após manufatura dos tratamentos.

2.5.2 Ponto de fusão – “Melting Point”

O ponto de fusão de cada mistura lipídica obtida foi determinado por meio do medidor de ponto de fusão analógico (Cienlab – Tecnopon PFM-II, Piracicaba, SP, Brasil), no intuito de auxiliar no processo de aplicação em *spray chilling*. O equipamento é projetado para determinação do ponto de fusão de 3 amostras simultâneas por aquecimento a seco. As amostras foram colocadas em capilares de vidro e aquecidas, sendo em seguida observado o momento da fusão através da lupa e realizada a leitura da temperatura em termômetro.

2.6 Produção das micropartículas lipídicas sólidas por *spray chilling*

As emulsões (3 tratamentos) obtidas foram empregadas na alimentação do atomizador para a microencapsulação do extrato de beterraba. A temperatura das amostras variou de acordo com o ponto de fusão de cada mistura lipídica (pré-determinado). A temperatura de 75 °C foi mantida para os tratamentos com proporção de 50/50 e 60/40 de ácido esteárico e ácido oleico,

respectivamente; e a temperatura de 80°C para o tratamento com 70/30. As condições de processamento do *spray chilling* (Labmaq, Ribeirão Preto, SP, Brasil) foram baseadas na pesquisa desenvolvida por Alvim *et al.* (2016). Para a obtenção das microesferas sólidas lipídicas, a emulsão foi pulverizada em uma câmara fria a $14\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por meio de um atomizador com diâmetro de bico de 3,0 mm, pressão de ar de 216 kPa e vazão de ar de resfriamento de $35\ 000\ \text{L}\cdot\text{h}^{-1}$. As amostras produzidas em cada processo foram coletadas e armazenadas sob refrigeração para posterior caracterização.

2.6.1 Rendimento de processo

O rendimento de processo foi calculado como a razão entre a quantidade de micropartículas coletadas, após o processo de microencapsulação em *spray chilling*, e a quantidade de mistura ou emulsão atomizada (PELLICER *et al.*, 2019). Vale ressaltar que o rendimento foi baseado na massa de partículas coletada no coletor (rendimento no coletor) e a massa total coletada no coletor, na câmara e no ciclone (rendimento global).

2.6.2 Morfologia

A visualização da morfologia das micropartículas lipídicas sólidas foi realizada por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram montadas em *stubs* de alumínio com fita dupla-face de carbono, metalizadas em aparelho evaporador de ouro (Baltec Sputter Coater SDC 50, Balzers, Liechtenstein) e observadas no microscópio eletrônico de varredura (LEO EVO 40 XVP, Carl Zeiss, Jena, Alemanha) com captura eletrônica de imagens com ampliação de 1500x e uma tensão de aceleração do laser de 15 kV (ORIANI *et al.*, 2016).

2.6.3 Diâmetro médio das microesferas e índice de polidispersão

O diâmetro médio (nm) e o índice de polidispersão (IP) foram determinados pela técnica de espalhamento dinâmico da luz (DLS, do inglês *Dynamic Light Scattering*), a 25 °C, em um ângulo de incidência do laser de 173°, utilizando um contador de partículas com raio laser monocromático Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, Inglaterra). As determinações foram realizadas após diluição 1:100 em solução aquosa de Tween 80 (1% p/v), em triplicata, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (MATOS-JR *et al.*,

2017). O valor máximo aceitável para considerar a amostra monodispersa foi IP igual ou inferior a 0,3.

2.6.4 Potencial zeta

O potencial zeta (ζ - mV) foi determinado pela técnica de DLS associado à mobilidade eletroforética, medindo a direção e a velocidade dos movimentos das micropartículas quando submetidos ao campo elétrico aplicado, utilizando o Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments; Worcestershire, Inglaterra), em ângulo fixo de 173° e temperatura de 25 °C (MATOS-JR *et al.*, 2017). As determinações foram realizadas e expressas da mesma forma que para determinação do diâmetro das micropartículas.

2.6.5 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As amostras do extrato de beterraba, ácido esteárico, ácido oleico e as 3 diferentes formulações dos pós foram analisadas por FTIR. As amostras foram analisadas a partir de pastilhas de KBr no equipamento Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (IRAffinity-1S, Shimadzu, Quioto, Japão) com faixa espectral entre 4 000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , 16 scans e resolução de 4 cm^{-1} .

2.6.6 Sólidos solúveis

O analisador de umidade infravermelho halógeno (IV3100, Gehaka, Uberaba, MG, Brasil) que determina os teores de umidade ou sólidos totais de produtos granulados, em pó, líquidos e outros, foi utilizado para determinar os teores de sólidos solúveis do extrato, das misturas lipídicas e das amostras em pó. O teor de sólidos solúveis foi expresso em porcentagem em base seca à 105 °C, em uma taxa de auto-dry de 0,10%/min.

2.6.7 Atividade de água e pH

A atividade de água (a_w) das microesferas foi determinada por um equipamento de medição de atividade de água (AquaLab 4TE, Decagon, Pullman, EUA) a 25 °C \pm 0,5 °C. A leitura do pH foi realizada diretamente por processo eletrométrico, em potenciômetro digital (Ion meter S220, Mettler Toledo®, Barueri, SP, Brasil) utilizando eletrodo de imersão.

2.6.8 Índice de peróxido

A determinação do índice de peróxidos das micropartículas foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu UV-VIS SP 2000, Bel Photonics Piracicaba, Brasil) de acordo com o método padrão IDF 74A:1991. Cerca de 0,5 g de amostra foram colocadas em um tubo de ensaio contendo 5,0 mL de etanol e agitada até dissolução total das micropartículas. Em seguida, as fases foram separadas por centrifugação (3000 rpm por 2 minutos). Uma alíquota de 100 µL do sobrenadante foram adicionados a 4,8 mL de uma mistura de clorofórmio/metanol (7:3 v/v), sendo realizado em triplicata. Para a formação de cor, foram adicionados 25 µL de soluções de cloreto de ferro (II) e 25 µL de tiocianato de amônia. A amostra foi mantida em repouso no escuro por 5 minutos e então foi medida a absorbância a 500 nm em um espectrofotômetro. Uma curva padrão de absorbância *versus* concentração de Fe⁺³ foi construída. O índice de peróxido (IP, meq·kg⁻¹) foi calculado a partir da Equação 5:

$$IP(\text{meq}/\text{kg}) = \frac{(A_a - A_b) \times a}{55,85 \times m \times 2} \quad (5)$$

Em que IP é o índice de peróxido (meq/kg), A_a é a absorbância da amostra, A_b é a absorbância do branco; a é o coeficiente angular da curva padrão e m é a massa da amostra. As massas de óleo das micropartículas e dos óleos AE e AO adotadas para os cálculos foram 0,007 g e 0,01 g, respectivamente.

2.6.9 Teor e retenção de betalainas

O método espectrofotométrico descrito por Elbe (2001) utilizando espectrofotômetro (Shimadzu UV-VIS SP 2000, Bel Photonics Piracicaba, Brasil) foi aplicado para determinar o teor de betacianinas (pigmento violeta) e betaxantinas (pigmento amarelo), expressos em termos de betanina e vulgaxantina-I, respectivamente. A concentração total de betalainas no extrato de beterraba foi calculada a partir da soma de betacianinas e betaxantinas, e todos os resultados foram apresentados em base seca (b.s.). Para tanto, 0,3 mL do extrato foi diluído em 50 mL de solução tampão fosfato 0,05 M (pH 6,5); já para reconstituição dos pós, 1 g de amostra foi diluída em 50 mL de solução tampão fosfato 0,05 M (pH 6,5) acrescida de 0,5 mL de clorofórmio e agitada por 1 min em Vórtex, para a completa homogeneização. Em ato contínuo, a solução foi deixada 2 h em banho ultrassônico, 40 °C e filtradas, 2 vezes, utilizando papel

filtro, para remoção do excesso de material de parede. Para a medição do teor dos compostos obteve-se a leitura das absorvâncias nos comprimentos de onda de 538 nm (betanina) e 476 nm (vulgaxantina-I). Além disso, a absorvância em 600 nm foi obtida e utilizada para correção dos valores de absorvância obtidos devido a pequenas quantidades de impurezas que possam estar presentes nas amostras (CALVO; PERULLINI; SANTAGAPITA, 2018). As Equações 6, 7 e 8 foram utilizadas para o cálculo:

$$C_B = \left\{ \frac{[1,095 \times (A_{538} - A_{600})] \times f_d \times 1000}{1120} \right\} \times \frac{1}{TSC} \quad (6)$$

$$C_{V-I} = \left\{ \frac{(A_{476} - 0,258 \times A_{538} - 0,742 \times A_{600}) \times f_d \times 1000}{750} \right\} \times \frac{1}{TSC} \quad (7)$$

$$C_T = C_B + C_{V-I} \quad (8)$$

Em que, C_B é a concentração de betanina, C_{V-I} é a concentração de vulgaxantina-I e C_T é a concentração total de betalaínas, todas expressas em $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ d.b. Os valores de 1,095, 0,258 e 0,742 correspondem aos fatores de correção, e A_{476} , A_{538} e A_{600} correspondem a absorvância da amostra em 476, 538 e 600 nm, respectivamente. O termo f_d representa o fator de diluição e a conversão entre gramas e miligramas serão incluídos. Além disso, 1120 e 750 são os valores de absorvidade ($A^{1\%}$) para betanina e vulgaxantina-I nos comprimentos de onda de 538 e 476 nm, respectivamente. Para obter os resultados em base seca, a concentração de pigmento foi dividida pelo teor total de sólidos (TSC), calculado para cada tratamento. A partir dos dados obtidos, a porcentagem de retenção de betalaínas (RB%) nas micropartículas foi calculada conforme apresentado pela Equação 9:

$$RB(\%) = \frac{C_{T, \text{micropartículas}}}{C_{T, \text{extrato}}} \times 100 \quad (10)$$

Em que $C_{T, \text{micropartículas}}$ e $C_{T, \text{extrato}}$ correspondem à concentração total (em base seca) de betalaínas no pó e na solução antes da microencapsulação, respectivamente.

2.7 Estabilidade das microesferas ao longo do armazenamento

O estudo da estabilidade das micropartículas lipídicas sólidas foi realizado ao longo do armazenamento de 28 dias (0; 7; 14; 21 e 28 dias) sob três diferentes temperaturas (5 °C; 25 °C e 45 °C). Primeiramente, 1,5 g de cada tratamento foram acondicionados em sacos plásticos transparente de polipropileno devidamente selados (dimensões 55 × 55 mm), e envolvidos em papel alumínio para ausência de luz. Em seguida, foram armazenados em incubadora B.O.D. (CA705, Caltech Lab, Uberlândia, MG, Brasil) nas três temperaturas (VERGARA *et al.*, 2014). Os resultados para a quantificação de betalaínas em cada tratamento, de acordo com o tempo e temperatura de armazenamento, foram expressos em termos de retenção de betalaínas, definida como a razão entre a concentração do composto ativo em um determinado tempo (C_t , mg·100 g⁻¹) e sua concentração logo após a obtenção das microesferas – tempo zero (C_0 , mg·100 g⁻¹). Em complemento, considerando que a degradação das betalaínas segue uma cinética de primeira ordem (POPA; MOLDOVAN; DAVID, 2015), a meia-vida ($t_{1/2}$) do composto ativo foi determinado de acordo com as Equações 11 e 12 (CARMO *et al.*, 2018).

$$kt = -\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right) \quad (11)$$

$$t_{1/2} = \left(\frac{\ln 2}{k}\right) \quad (12)$$

Em que k (dias⁻¹) é a constante da taxa de primeira ordem, t (dias) é o período de armazenamento e $t_{1/2}$ (dias) é a quantidade de tempo necessário para degradar 50% da concentração inicial de betalaínas.

2.7.1 Atributos de cor

A coloração de cada tratamento, acondicionados em placas de petri, foi determinada em três pontos distintos por meio do colorímetro (NIX Pro Color Sensor, Hamilton, Canadá) com iluminante D50 e ângulo de observação 2°, para obtenção dos parâmetros CIELab. Como os parâmetros de cor avaliados em conjunto possibilitam uma correlação direta com o aspecto visual de produtos alimentícios (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013; PATRAS *et al.*, 2011;

VEGA-GALVEZ *et al.*, 2014;), a diferença total de cor (ΔE) foi calculada a partir da Equação 13 (MASKAN, 2001):

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (13)$$

Em que ΔE^* indica a magnitude da diferença de cor entre as amostras ao longo do tempo de armazenamento e podem ser analiticamente classificados como: muito diferentes ($\Delta E > 3$); diferente ($1,5 > \Delta E < 3$); e pouco diferente ($\Delta E < 1,5$) (PATRAS *et al.*, 2011).

2.8 Análise estatística

A metodologia de superfície de resposta (MSR) foi escolhida para avaliar os padrões de resposta e determinar a combinação ótima das variáveis (tempo de sonicação e amplitude de potência do equipamento). Uma equação de regressão polinomial (Equação 14) foi ajustada de forma generalizada aos dados para avaliar cada parâmetro testado.

$$\hat{Y} = a + bx + cz + dw + exz + fxw + gzw + hxzw + ix^2 + jz^2 + kw^2 \quad (14)$$

Em que, \hat{Y} corresponde aos parâmetros analisados, x é a proporção de ácido esteárico em relação ao ácido oleico (%), z é o tempo de sonicação (min), w é a amplitude (%) do equipamento e $a, b, c, d, e, f, g, h, i, j$ e k são os coeficientes do modelo. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para examinar a significância estatística dos termos na equação de regressão utilizando o software estatístico Statistical Analysis System (SAS University Edition, Cary, USA, 2016).

Os efeitos dos diferentes tratamentos foram avaliados por análise de ANOVA e teste de médias (*Tukey*, $p < 0,05$) com o auxílio do SAS. As curvas ajustadas e os parâmetros reológicos dos modelos ajustados foram obtidos utilizando o SAS. Os gráficos foram plotados usando o programa SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., Califórnia, EUA, 2008). O experimento foi realizado em três repetições e para cada repetição foram realizadas análises em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeitos da proporção dos agentes carreadores lipídicos e dos parâmetros operacionais do processo sobre a formação da emulsão

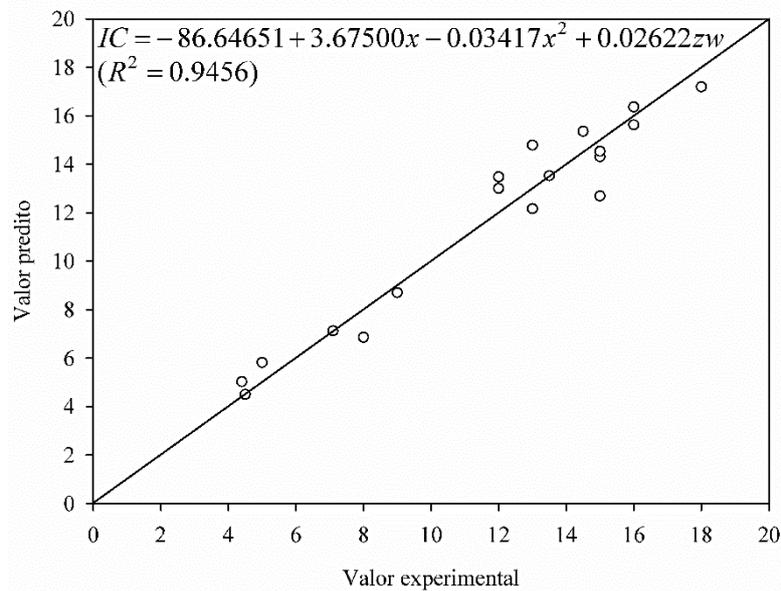
A análise inicial das variáveis independentes (agentes carreadores lipídicos, tempo e amplitude de potência do sonicador) foi avaliada por meio das variáveis respostas: IC (índice de cremeação, %) e k (índice de consistência, Pa·sⁿ). O planejamento fatorial do experimento com cada variável independente, bem como os valores médios e desvio padrão encontrados para IC e k de cada tratamento, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Delineamento experimental aplicado para os efeitos da proporção dos agentes carreadores lipídicos e dos parâmetros operacionais do processo sobre a formação da emulsão.

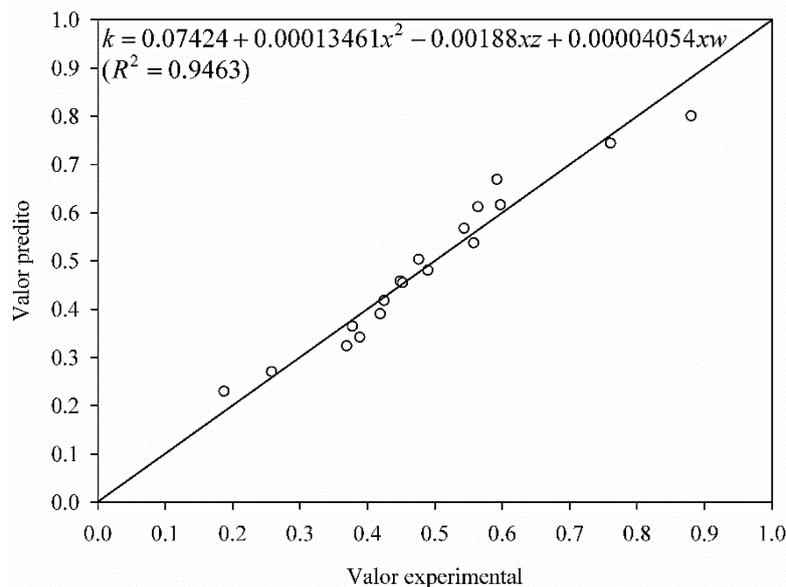
Tratamento	Variáveis Independentes				Variáveis Respostas	
	AE	AO	Tempo (min)	Amplitude (%)	IC* (%)	k (Pa·s ⁿ)
1	50	50	1	50	14,00 (±0,01)	0,425 (±0,098)
2	50	50	2	50	15,00 (±1,63)	0,369 (±0,045)
3	50	50	3	50	16,00 (±0,82)	0,187 (±0,012)
4	50	50	1	70	13,50 (±1,25)	0,448 (±0,095)
5	50	50	2	70	14,50 (±0,67)	0,378 (±0,014)
6	50	50	3	70	18,00 (±0,89)	0,258 (±0,039)
7	60	40	1	50	13,00 (±0,78)	0,543 (±0,110)
8	60	40	2	50	12,00 (±1,23)	0,452 (±0,001)
9	60	40	3	50	13,00 (±1,76)	0,389 (±0,130)
10	60	40	1	70	15,00 (±1,91)	0,597 (±0,182)
11	60	40	2	70	15,00 (±0,97)	0,476 (±0,123)
12	60	40	3	70	16,00 (±1,54)	0,419 (±0,045)
13	70	30	1	50	4,50 (±0,11)	0,760 (±0,310)
14	70	30	2	50	5,00 (±0,27)	0,564 (±0,205)
15	70	30	3	50	7,10 (±1,02)	0,490 (±0,037)
16	70	30	1	70	4,40 (±0,32)	0,880 (±0,618)
17	70	30	2	70	8,00 (±0,15)	0,592 (±0,306)
18	70	30	3	70	9,00 (±0,29)	0,558 (±0,201)

Valores médios ± desvio padrão; n = 3; AE = ácido esteárico, AO = ácido oleico, IC = índice de cremeação, k = índice de consistência. *As médias englobam as medições no tempo de 30 min e 60 min. Fonte: Do autor (2021).

O intervalo experimental obtido para o IC variou de 4,40% a 18,00%, assim como o k variou de 0,187 Pa·sⁿ a 0,880 Pa·sⁿ; portanto, houve influência da proporção dos agentes carreadores lipídicos (ácido esteárico e ácido oleico) e dos parâmetros operacionais (sonicador) sobre a formação da emulsão. A equação de ajuste do modelo para estas variáveis respostas é apresentada na parte superior da Figura 2, que demonstra o comportamento dos valores experimentais em comparação aos valores preditos. O modelo de otimização sugerido foi um polinômio quadrático ($p < 0,0001$), que apresentou bom coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9456$ e $R^2 = 0,9463$) para IC e k , respectivamente.



(A)



(B)

Figura 2 – Comparação dos valores preditos e experimentais para: (A) índice de cremação – IC (%) e (B) índice de consistência – k (Pa·sⁿ) das emulsões preparadas. x = proporção do ácido esteárico (%), z = tempo (min) e w = amplitude (%) do homogeneizador ultrassônico, R^2 = coeficiente de determinação.

Fonte: Do autor (2021).

As equações do modelo revelam que individualmente o tempo (z) e a amplitude (w) de sonicação não influenciaram significativamente ($p > 0,05$) os valores de IC (Figura 2A) e k (Figura 2B), neste sentido, ocorreu apenas a dependência dessas variáveis respostas em relação aos efeitos isolados da proporção dos agentes carreadores (x). Para IC , a interação entre as variáveis tempo e amplitude de sonicação (zw) teve efeito positivo; enquanto para k , a interação da proporção do agente carreador com o tempo (xz) e com a amplitude (xw) do sonicador apresenta magnitude negativa e positiva, respectivamente. Em resumo, com base nos valores numéricos dos coeficientes das equações e nas constatações apresentadas sobre os efeitos isolados de cada variável e das interações entre elas, é possível inferir que o aumento na proporção de ácido esteárico resultou em valores maiores de k com consequente diminuição do IC . Já o aumento na proporção do agente carreador, juntamente com um alto tempo de sonicação ou com uma baixa amplitude, culmina em menores valores de k ; enquanto o aumento do tempo, juntamente com uma alta amplitude, proporciona maiores valores de IC . Tal comportamento pode ser visualmente entendido por meio das superfícies de resposta para IC e k , apresentadas na Figura 3 e Figura 4, nesta ordem.

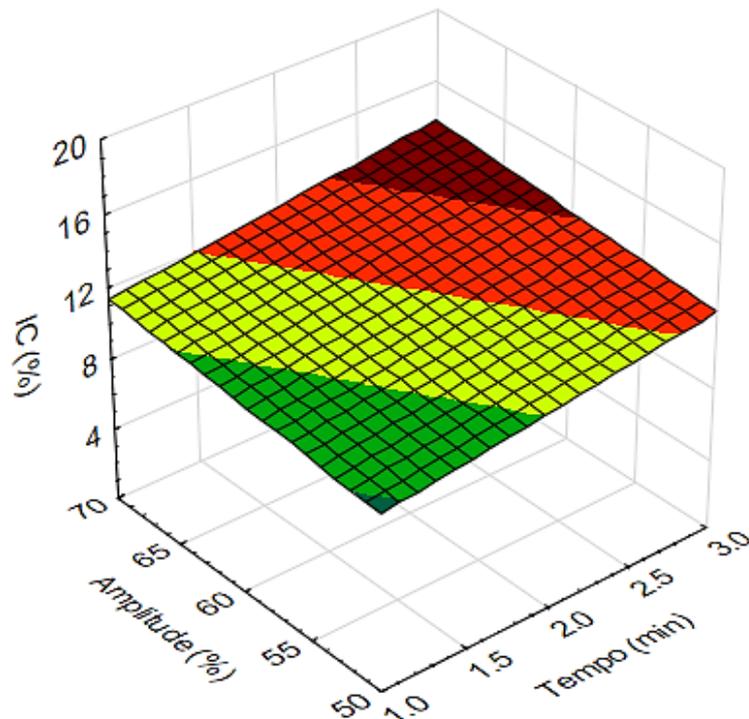


Figura 3 – Superfície de resposta para o índice de cremeação (IC) das emulsões em função da interação entre as variáveis independentes tempo \times amplitude.

Fonte: Do autor (2021).

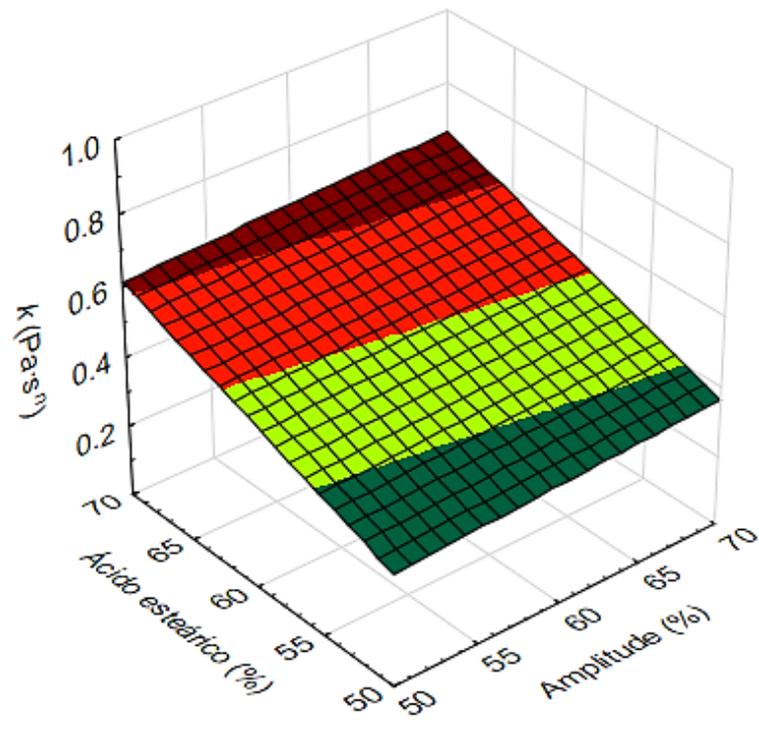
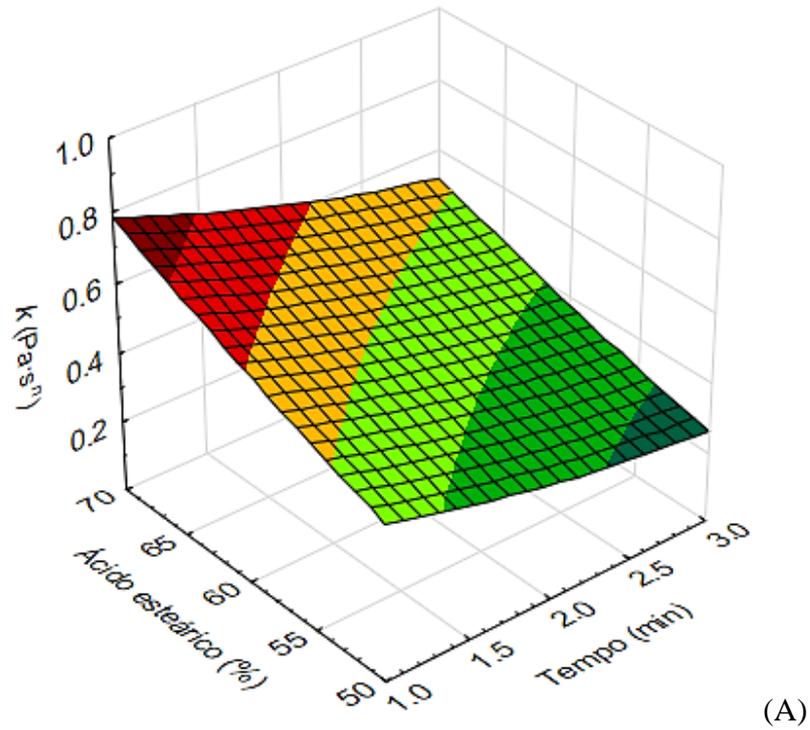


Figura 4 – Superfícies de resposta para o índice de consistência (k) das emulsões em função da interação entre as variáveis independentes (A) concentração de ácido esteárico \times tempo, e (B) concentração de ácido esteárico \times amplitude.

Fonte: Do autor (2021).

Desta forma, as curvas das Figuras 3 e 4 indicam que para as proporções estudadas de ácido esteárico e ácido oleico (50/50, 60/40 e 70/30), os parâmetros operacionais do sonicador devem ser fixados no limite de 2,75 min (tempo) e em 50% (amplitude).

3.1.1 Índice de cremeação (*Creaming stability*)

De acordo com os resultados de índice de cremeação (Tabela 3), a maioria das emulsões apresentou separação de fases, com a formação de uma fase inferior aquosa (suspensão de extrato de beterraba) e uma fase superior contendo ácido esteárico e ácido oleico. Em relação ao tempo de observação, de maneira geral, as emulsões produzidas com a amplitude da sonda de 70%, especialmente em 3 minutos de permanência no ultrassom, apresentaram maior separação de fases, do que as produzidas com amplitude de 50%. Isso significa que, a medida que se aumenta a amplitude do sonificador, maior o índice de cremeação, o que indica maior agregação das gotas de óleo, logo resulta em um sistema mais instável. Em adição, observa-se que, os tratamentos preparados com a amplitude de 50%, e permanência até 2,75 min no sonificador tendem a apresentar maior estabilidade (Figura 3).

Geralmente, existe uma relação inversa entre o tempo de sonicação e o tamanho da gota da emulsão. Com mais tempo de sonicação, a quantidade de energia ultrassônica na amostra sobe para aumentar o número de gotas interrompidas. Consequentemente, o tamanho das gotículas de emulsão diminui (SHANMUGAM; ASHOKKUMAR, 2014). Resultados similares foram encontrados por Gharsallaoui *et al.* (2012) com isolado proteico de ervilha e xarope de glicose: para uma concentração fixa de óleo e proteína, em uma homogeneização contínua, o tamanho das gotículas de óleo diminuiu e a área interfacial aumentou. Uma vez que as gotas caem abaixo de um certo tamanho, não há emulsificante presente para cobrir completamente sua superfície, e assim eles tendem a se aglutinar com seus vizinhos.

Esta ocorrência provavelmente se deve a um excesso de processamento, onde uma homogeneização muito intensa promove o choque entre as gotas e aumento da temperatura, levando à sua re-coalescência. Silva *et al.* (2016), obteve resultados parecidos no encapsulamento assistido por ultrassom de óleo de semente de urucum. Os resultados sugeriram que a taxa de adsorção do emulsificante era menor do que a velocidades de ruptura das gotículas sob as condições de processamento mais intensas, ou seja, quanto maior a energia fornecida ao sistema, mais rápido as gotas se rompem; com isso, a taxa de adsorção dos biopolímeros na superfície da gota é menor do que a taxa de ruptura. Assim, junto com a turbulência promovidas pela homogeneização, essas características resultam na coalescência das gotículas quando colidem.

O aquecimento do sistema gerado pelo aumento do tempo de permanência e amplitude aplicada do ultrassom, pode causar maior desestabilização e maior colisão das gotas (*over-processing*). Ralla *et al.* (2017; 2018) observaram que, ao examinar as propriedades interfaciais

e a formação de emulsões contendo extrato de beterraba e farelo de aveia, a instabilidade das emulsões estava associada ao aumento de temperatura (≥ 50 °C), atribuída à degradação da beterraba vermelha. Isto ocorreu porque o extrato de beterraba contém quantidades consideráveis de saponinas tensoativas, bem como a desnaturação de proteínas, que em altas temperaturas pode levar a um rearranjo estrutural e formar agregados solúveis e insolúveis. A combinação de ambos os efeitos pode levar a uma atividade de superfície alterada por causa da hidrofobicidade destas moléculas tensoativas, que eventualmente podem levar a uma pior estabilização da emulsão.

A concentração de emulsificante utilizada é inferior ao valor ideal de 10 g PGPR por 100 g de lipídeo encontrado por Benichou, Aserin e Garti (2001), que avaliou a produção de emulsões A/O compostas por 30% de fase aquosa, com diferentes fases oleosas. No presente trabalho, a presença do extrato de beterraba na fase aquosa provavelmente influenciou na obtenção de emulsões cineticamente estáveis com menor concentração de PGPR. Esses componentes podem ter agido como co-tensoativos no sistema estudado, ou seja, exerceram atividade de superfície na interface das gotículas, o que sugere a necessidade do aumento de emulsificante para este sistema.

A coalescência das gotas foi evitada pela viscoelasticidade da interface, que é atribuída à capacidade das cadeias hidrofóbicas do PGPR de ancorar-se às cadeias alifáticas de ácidos graxos que compõem o material lipídico (MARQUEZ, *et al.*, 2010; SCHERZE; KNOTH; MUSCHIOLIK, 2006). A porção hidrofílica do PGPR, constituída por poliglicerol, é responsável por contribuir para que os grupos hidroxila tenham se ligado às moléculas de água através da formação de ligações de hidrogênio, que interage com as unidades de glicerídeos do material lipídico e fortalece a interação complementar na interface óleo-água, resultando em uma interface bem estruturada. (RAVIADARAN *et al.*, 2019). Nos glicerídeos líquidos, como os ácidos oléico e linoléico, predominam os ésteres de ácidos graxos insaturados, já nos glicerídeos sólidos como os ácidos esteárico e palmítico, predominam os ésteres de ácidos graxos saturados.

Em um estudo adicional, realizado por Raviadaran *et al.* (2019) e fundamentado por Ushikubo e Cunha (2014) para avaliar a interação de caudas hidrofóbicas entre óleos e PGPR na interface óleo-água, os autores concluíram que uma cadeia linear saturada, como a cadeia de hidrocarbonetos da parafina líquida, não promove forte ancoragem entre as cadeias de ácidos graxos de PGPR e, portanto, não formam uma emulsão A/O estável com PGPR. Enquanto, as cadeias de ácidos graxos do óleo de palma, ramificadas com insaturação promovem emulsões mais estáveis.

Estes resultados refletem as diferenças encontradas em cada tratamento das emulsões desenvolvidas neste experimento. É possível notar que, a influência do aumento da razão AE/AO sobre a obtenção de emulsões pode estar relacionada à estabilidade das emulsões a serem atomizadas, bem como o aspecto visual mais satisfatório. Na prática, os tratamentos com 70% de AE se mostraram visualmente mais pastosas e espessas, sugerindo uma emulsão mais viscosa e homogênea, o que justifica sua maior estabilidade em relação aos demais tratamentos.

Em complemento, a presença de uma camada de óleo no topo de cada amostra foi observada em todos os tratamentos, indicativo de perda de óleo, o que corresponde às gotículas maiores verificadas nas imagens microscópicas (Figura 5). Observou-se também a presença de bolhas de ar dentro da matriz lipídica devido à incorporação de ar durante o processo de homogeneização da emulsão a partir da sonda ultrassônica.

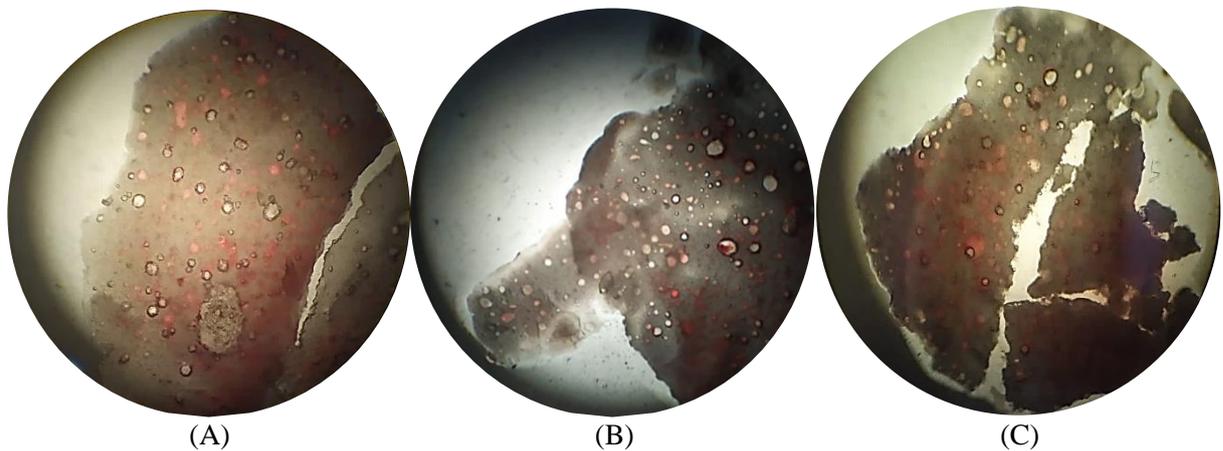


Figura 5 – Imagens microscópicas das emulsões otimizadas preparadas por meio do homogeneizador ultrassônico (amplitude e o tempo ótimos 50% e 2,75 min): (A) 50/50, (B) 60/40 e (C) 70/30 de ácido esteárico e ácido oleico, respectivamente.

Fonte: Do autor (2021).

Mohammed, Ishwarya e Nisha (2021), ao analisarem os efeitos das condições de processamento e homogeneização sobre a estabilidade de microemulsão contendo extrato de beterraba, também observaram que emulsões formadas com maior proporção de óleo apresentaram uma consistência mais espessa ou pastosa. Os autores relacionam tal resultado à viscosidade desses óleos, uma vez que quanto maior a viscosidade do óleo maior é sua resistência ao movimento de água dentro da fase de óleo contínua, o que reduz a taxa de sedimentação e resulta em um menor índice de cremação, como observado para o tratamento elaborado com 70/30 (AE/AO).

Com base nas discussões acima, especialmente sobre os efeitos da interação entre o emulsificante e óleo, viscosidade do óleo e índice de sedimentação, fica evidente que

composições contendo maior teor de ácido esteárico e concentração igual a 4% de emulsificante, quando processado por um tempo de homogeneização mais longo que 2,75 min, resulta em emulsões menos estáveis, juntamente com uma amplitude da sonda ultrassônica superior a 60%.

3.1.2 Comportamento reológico

Dentre os modelos empregados para descrever o comportamento reológico dos tratamentos, o modelo Lei da Potência apresentou os melhores ajustes aos dados experimentais, com altos valores de coeficiente de determinação ($0,9823 \leq R^2 \leq 0,9980$) e baixos valores do erro do quadrado médio (RMSE), sendo $0,3108 \leq RMSE \leq 0,9156$. Os parâmetros reológicos determinados por meio do modelo utilizado foram o índice de consistência (k , Pa·s^{*n*}) e o índice de comportamento do fluido (n , adimensional). Em geral, todas as emulsões apresentaram valores de n menores que uma unidade ($0,711 \leq n \leq 0,847$), o que aponta o comportamento não Newtoniano dos tratamentos, sendo caracterizados com típico comportamento pseudoplástico ($n < 1$). Conforme descrito por Seth *et al.* (2017), quanto mais distante do valor unitário mais o fluido se desvia do comportamento newtoniano.

Os valores de k estão diretamente relacionados com a natureza viscosa de um fluido, uma vez que geralmente aumentam com a concentração de sólidos solúveis (Saeidy *et al.*, 2019). Como observado (Tabela 3, Figura 2B equação do modelo e Figura 4), o comportamento reológico das emulsões foi influenciado pelo agente carreador, em que a maior presença de ácido esteárico em relação ao ácido oleico aumentou a viscosidade do fluido ($0,187 \leq k \leq 0,880$) e, conseqüentemente, sua estabilidade. Com isso, os resultados apontam que o ácido esteárico tem desempenho intrinsecamente melhor na atomização e ultrassom do que o ácido oleico. No entanto, a maior viscosidade do meio prejudica a sonicação, em razão dos homogeneizadores ultrassônicos serem particularmente mais adequados para sistemas menos viscosos, o que implica na formação de maiores diâmetros após a emulsificação do sistema que reflete diretamente na formação das micropartículas sólidas (MCCLEMENTS, 2015).

A entrada de energia (força de cisalhamento) é alcançada pelo produto da amplitude aplicada e o tempo de permanência no sonificador (LEONG *et al.*, 2009; SIVAKUMAR; TANG; TAN, 2014). Na prática foi observado que o aumento do tempo, juntamente com maiores valores de amplitude, forneceu uma energia excessiva ao sistema o que provocou o aquecimento do equipamento e, conseqüentemente, aumentou a temperatura da emulsão sendo formada, contribuindo para uma menor estabilidade do sistema (Figura 3). Vale salientar que o efeito da

amplitude é influenciado pelo tipo e concentração de emulsificante e de óleo adicionados para a formação da emulsão (CAVAZOS-GARDUÑO *et al.*, 2015). Neste contexto, a Figura 4B aponta que quanto maior a concentração do ácido esteárico juntamente com uma maior amplitude da sonda ultrassônica, maior o índice de consistência da emulsão.

Matos-Jr *et al.* (2017), alertam que o tamanho das partículas produzidas pela técnica de *spray chilling* é fortemente influenciada pela viscosidade do fluido de alimentação (emulsão). Assim, as emulsões com maiores viscosidades acarretam na obtenção de microesferas com maiores tamanhos de partículas. Como observado (Figura 4A), o aumento na concentração do ácido esteárico em conjunto com maiores valores de tempo de sonicação, favoreceu a formação de emulsões menos viscosas (menores valores de k). Portanto, faz-se necessário a fixação de uma menor amplitude (50%) e um maior tempo de sonicação (2,75 min) para que se obtenha emulsões consideráveis estáveis (com índices de cremeação aceitáveis) e menos viscosas, para a continuação da pesquisa: obtenção das microesferas sólidas lipídicas contendo extrato de beterraba por meio de *spray chilling*.

3.1.3 Ponto de fusão

As propriedades de fusão das micropartículas sólidas lipídicas são de grande importância, uma vez que comandam a liberação dos ativos. Para garantir a estabilidade térmica até a aplicação em um produto alimentício, é desejável que a formulação da matriz lipídica não derreta à temperatura ambiente (próxima a 25 °C), ao passo que em um ambiente especial (temperatura ou afinidade química), proporcione uma distribuição direcionada dos ativos (CIFTCI; TEMELLI, 2016; YANG; CIFTCI, 2016), o que torna essencial a análise do ponto de fusão das emulsões.

Todas as formulações apresentaram picos de fusão superiores a 40 °C. A temperatura de fusão das emulsões com proporções de AE/AO com 50/50 e 60/40, respectivamente, foi de 50 °C, enquanto a emulsão com 70/30 apresentou um valor de 55 °C. Conforme apontado por Alvim *et al.* (2013) e Yang e Ciftci (2017), o perfil de fusão de micropartículas lipídicas sólidas é um ponto crítico, em razão de ser uma das variáveis que garante um pó seco de fluxo livre, quando correspondente a um ponto de fusão acima de 40 °C. Os autores ainda afirmam que o pó de fluxo livre é desejável para um fácil manuseio, armazenamento e consumo. Tal comportamento se deve a composição da matriz, ou seja, quanto maior a concentração de lipídeos saturados (como o AE), lipídio responsável por garantir o estado sólido, maior o ponto de fusão da mistura. Conforme Wong, Heng e Chan (2015), a composição da mistura física

influencia o ponto de fusão da matriz de forma coligativa, conseqüentemente, o ponto de fusão é proporcional ao aumento ou diminuição de algum componente específico.

Procopio *et al.* (2018), complementam que a diminuição no ponto de fusão do material da parede lipídica leva a uma aglomeração das micropartículas (FADINI *et al.*, 2019). Na prática, as micropartículas lipídicas obtidas em nosso estudo justificaram tal comportamento. O aspecto visual das microesferas produzidas por cada mistura lipídica é apresentado por meio da Figura 6.

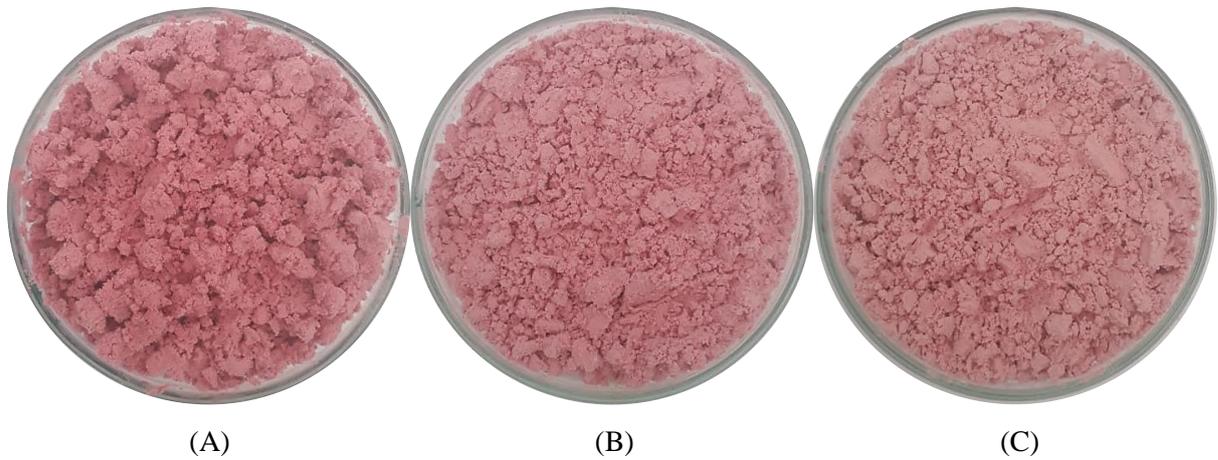


Figura 6 – Micropartículas lipídicas sólidas produzidas por meio do *spray chilling*. Da esquerda para a direita: (A) 50/50, (B) 60/40 e (C) 70/30 de ácido esteárico e ácido oleico, respectivamente. Fonte: Do autor (2021).

A matriz lipídica com maior teor de lipídios insaturados (AO), principalmente a com 50% deste componente (Figura 6A), apresentou maior aglomeração das partículas, demonstrando uma consistência pastosa e pegajosa (como observado na Figura 7A), o que dificultou o manuseio. A convergência das microesferas formadas teve influência notória no rendimento global da atomização.

3.2 Rendimento de processo (*spray chilling*)

O rendimento de processo diz respeito às micropartículas coletadas, após o processo de microencapsulação em *spray chilling*, em comparação com a quantidade da emulsão atomizada. Em geral, notou-se que a elevação da concentração de ácido esteárico na mistura contribuiu para a redução do rendimento de produção de micropartículas, levando ao acréscimo da quantidade de produto coletada em todas as partes do equipamento (câmara, fundo da câmara, ciclone e coletor). Tal comportamento influenciou no rendimento global, mas principalmente

no rendimento no coletor, que corresponde à trajetória final das micropartículas no equipamento. A consistência parcialmente líquida das microesferas lipídicas, com maior proporção de ácido esteárico em comparação ao ácido oleico (AE/AO), contribuiu para que ficassem aderidas e aglomeradas na superfície da câmara de resfriamento, o que justifica os valores mais baixos de rendimento no coletor e de rendimento global, respectivamente: (1) 50/50 – 23,30% e 58,83%; (2) 60/40 – 16,57% e 57,94%; e (3) 6,70% e 53,60%. Contudo, as porcentagens do rendimento global encontradas neste trabalho foram superiores aos valores encontrados por Consoli *et al.* (2016), entre 34,5% e 40,9%, e próximos aos valores encontrados por Sartori *et al.* (2015) que produziram micropartículas lipídicas a partir de emulsões constituídas do ácido graxo láurico e oleico para microencapsular ácido ascórbico por *spray chilling*. Os autores encontram valores de rendimento global entre 64% e 73% e atribuíram os menores valores de rendimentos a aderência das partículas na superfície do equipamento.

Alvim *et al.* (2013) e Consoli *et al.* (2016) observaram efeito contrário ao encontrado no presente estudo. Os autores observaram o aumento do rendimento de produção de micropartículas lipídicas produzidas por *spray chilling* em função do aumento da concentração de ácido esteárico no material de parede, que teve uma influência positiva no rendimento global da produção. No entanto, de acordo com Meng *et al.* (2011), a combinação de lipídios de diferentes composições químicas pode resultar em diferentes comportamentos de fase. Para verificar a compatibilidade entre os diferentes lipídios, é necessário estudar o comportamento de fase por meio de diagramas de fases. Os diagramas mostram o teor de gordura sólida em diferentes temperaturas *versus* mistura de composições e, quando as misturas são compatíveis, os diagramas sólidos isotérmicos são lineares (para comportamento ideal). Oriani *et al.* (2018), no encapsulamento de óleo de resina de gengibre por *spray chilling*, constatararam que as misturas dos sistemas (ácido esteárico e oleorresina de gengibre; ácido esteárico, ácido oleico e oleorresina de gengibre) são qualificadas como não ideais. Essa incompatibilidade foi explicada pela composição química complexa da fração resinosa da oleorresina de gengibre, que não interagiu com moléculas apolares dos triacilgliceróis da gordura da palma.

As diferentes proporções de ácido esteárico e ácido oleico apresentaram maior efeito sobre o rendimento no coletor em relação ao rendimento global. Nota-se que o aumento do teor de AE na mistura tende a reduzir o rendimento no coletor. A tendência no aumento no valor do diâmetro médio das partículas em função do aumento da concentração de AE na mistura lipídica pode estar relacionada a este fato, visto que as partículas de menor diâmetro são mais facilmente arrastadas pela corrente de ar. Isto já era esperado, visto que a adição do extrato de beterraba e do emulsificante à mistura lipídica pode contribuir para o aumento da massa específica da

formulação, o que dificulta o arraste das partículas formadas. Embora os maiores rendimentos médios (no coletor e global) tenham sido atingidos pelo tratamento de proporção lipídica 50/50 (AE/AO), observou-se que a diferença do rendimento global obtido entre as misturas com proporção 60/40 (AE/AO) e 50/50 (AE/AO) não chega a 1%. Isso indica que, levando em consideração o melhor aspecto visual e a obtenção de partículas mais dispersas e de fácil manuseio, utilizando-se a mistura com 60% de AE, o rendimento de proporção também tende a antigir altos valores, porém com variação maior nos resultados.

3.3 Microesferas produzidas por meio do *spray chilling*

3.3.1 Morfologia

A Figura 7 apresenta as fotomicrografias das microesferas produzidas por meio do *spray chilling*, obtidas com o auxílio do microscópio eletrônico de varredura (MEV). As imagens fornecem uma avaliação qualitativa das microestruturas, nas quais é possível observar diferenças morfológicas entre os tratamentos.

Na Figura 7A existem algumas partículas não esféricas com superfícies ásperas e rugosas; enquanto as Figuras 7B e 7C apresentam uma forma principalmente esférica com aglomerações, bem como diâmetros variáveis e algumas rachaduras, o que indica que o aumento na proporção de ácido esteárico influenciou no formato esférico e na superfície lisa das microesferas produzidas. Além da aglomeração de partículas inteiras, em que as partículas de diâmetros menores foram aderidas à superfície daquelas com tamanhos maiores, micropartículas fundidas também foram observadas.

A adição de ligações duplas à cadeia de hidrocarbonetos dos ácidos graxos aumenta suas propriedades hidrofílicas em comparação aos ácidos graxos saturados (ONAL; LANGDON, 2004), o que torna as partículas com maiores concentrações de AO mais hidrofílicas em comparação às misturas com maiores concentrações de AE. Assim, foi levantada a hipótese de que a maior liberação observada nas partículas elaboradas com a mistura 50/50 de AE/AO (estado amorfo – Figura 7A) pode ter ocorrido devido a algum efeito de repulsão, causado pela presença do ácido oleico mais hidrofílico associado à presença da beterraba hidrossolúvel, tornando a saída desses materiais do núcleo encapsulado mais fácil.

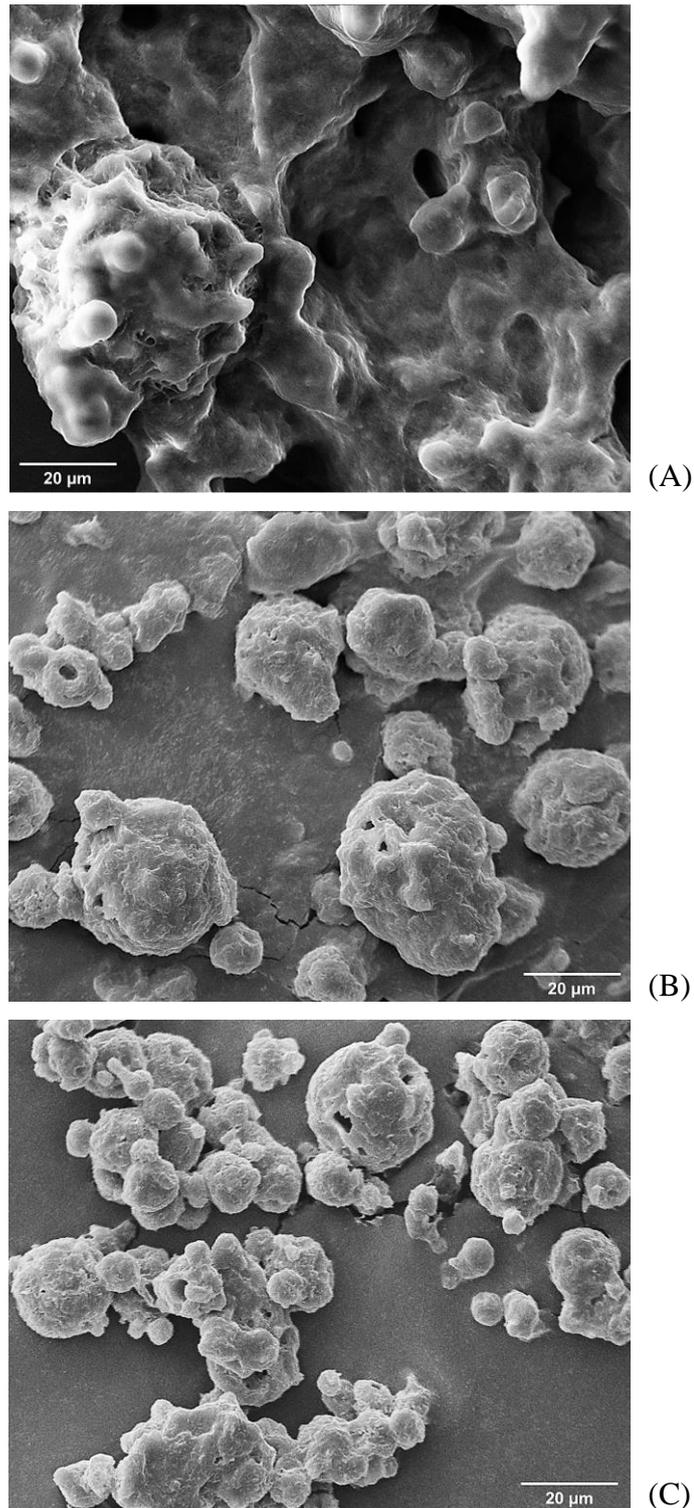


Figura 7 – Micrografias das microesferas lipídicas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*: (A) 50/50; (B) 60/40; (C) 70/30.

Fonte: Do autor (2021).

Uma segunda hipótese levantada por Hu *et al.* (2005), foi que durante o processo de resfriamento (*spray chilling*) do ácido esteárico, devido ao seu maior ponto de fusão, fator que favorece sua cristalização antes dos outros componentes, o lipídio líquido (ácido oleico) passa

a ser mais livre ou pouco incorporado, e se localiza na parte mais externa das partículas, produzindo um enriquecimento do material do núcleo próximo à superfície e, conseqüentemente, facilitando sua liberação. Este efeito também foi observado por Chambi *et al.* (2008), ao notar o ácido oleico como fator determinante para induzir maior repulsão hidrofóbica, aumentando a expulsão do material proteico encapsulado por *spray chilling*. Assim, como foi observado por Consoli *et al.* (2016), em microesferas produzidas com óleo de soja, gordura hidrogenada e PGPR como emulsificante, apesar de sua casca contínua pôde-se notar a presença de orifícios na superfície de todas as formulações, possivelmente causada pela formação de bolhas de ar dentro da matriz lipídica, devido à incorporação do ar durante a homogeneização da emulsão. Resultado semelhante foi observado nas imagens microscópicas das emulsões otimizadas (Figura 5).

O mesmo foi observado por Ribeiro (2010), que utilizou a técnica de *spray cooling* para produzir micropartículas contendo solução de glicose, empregando como materiais de parede misturas de ácido oléico com OSTH (óleo de soja totalmente hidrogenado) ou ácido esteárico. Foram obtidas micropartículas esféricas de superfície lisa e contínua porém, com alguns orifícios, o que foi associado à presença de microbolhas na emulsão. A autora observou que o aumento do teor de OSTH nas formulações conduziu à formação de micropartículas com superfície mais lisa.

Wegmüller *et al.* (2006), em seus estudos, empregaram a técnica de *spray chilling* para a microencapsulação de vitamina A, iodo e ferro para uso em fortificação alimentar. Os autores ao utilizarem o óleo de palma como material de parede, observaram a produção de micropartículas no formato esférico e superfície lisa. Foi registrada a presença de aglomerados que, de acordo com os autores, são formados devido a micropartículas que ainda não foram totalmente solidificadas quando chegaram ao fundo da câmara. A análise por MEV mostrou, assim como neste trabalho, o aparecimento de cristais da gordura de palma na superfície das micropartículas, sendo isto menos frequente naquelas de menor diâmetro, devido a necessidade de um tempo mais curto para serem totalmente solidificadas.

Oriani *et al.* (2016) e Lopes *et al.* (2015) atribuíram essa alteração no comportamento morfológico ao ponto de fusão das micropartículas sólidas lipídicas durante sua solidificação no processo de atomização. Os autores relatam que o *hard fat* de palma formou partículas esféricas com superfície irregular. Esse fato foi comprovado por meio da análise do comportamento térmico das partículas na qual as microesferas com elevadas concentrações de óleo de palma exibiram menor ponto de fusão. Em complemento, Leonel *et al.* (2010) estudaram a microencapsulação de glicose por *spray chilling* utilizando como material de

parede os ácidos graxos: esteárico, oleico e gordura vegetal parcialmente hidrogenada. Através da análise de MEV foram identificadas micropartículas esféricas, com superfície rugosa e contínua, não apresentando nenhum tipo de fenda ou furo. A rugosidade observada nas paredes nas micropartículas foi atribuída a presença do ácido graxo esteárico.

De acordo com Pelissari *et al.* (2016), é importante produzir partículas com formato esférico para favorecer as propriedades de fluxo do pó e para facilitar a aplicação do pó. Da mesma forma, partículas com aglomeração também podem contribuir positivamente para a aplicação de pó, pela redução de sua formação. No entanto, partículas com superfícies rugosas podem ter um fluxo reduzido, e isso também pode indicar a ocorrência de uma matriz lipídica heterogênea. Além disso, os poros nas micropartículas podem expor a betalaína ao oxigênio, que é um fator pró-oxidante, reduzindo assim a funcionalidade das partículas.

3.3.2 Diâmetro médio das partículas, índice de polidispersão e potencial zeta

Na Tabela 4 são demonstrados os resultados obtidos após a redispersão das microesferas lipídicas em solução aquosa de Tween 80 – surfactante empregado como agente molhante. As partículas apresentaram diâmetro hidrodinâmico médio dentro da faixa nanométrica, variando entre 664 e 949 nm. Observou-se que o aumento na proporção do lipídeo sólido (ácido esteárico) na composição da matriz lipídica resultou em aumento no diâmetro médio das nanopartículas ($p < 0,05$). De acordo com Alvim *et al.* (2013), Consoli *et al.* (2016), Sartori *et al.* (2015) e Ribeiro, Arellano e Grosso (2012), uma concentração mais alta de lipídios saturados tem se mostrado relacionada à ocorrência de menores diâmetros médios em microesferas sólidas lipídicas produzidas por *spray chilling*.

Sartori *et al.* (2015) constatou que, em uma mistura de ácido oleico e ácido láurico, à medida que a concentração de ácido oleico (insaturado) na mistura aumenta, maior a presença de partículas aglomeradas e, em consequência, menor a faixa de distribuição de tamanho. O mesmo efeito foi notado por Alvim *et al.* (2013) ao produzirem micropartículas lipídicas, contendo fitosteróis, utilizando como material de parede misturas contendo o ácido esteárico (saturado). No entanto, as maiores concentrações de ácido esteárico proporcionaram um aumento da viscosidade da matriz lipídica (emulsão), como demonstrado na Tabela 3, o que prejudica a sonicação. McClements (2015) explica que a maior viscosidade do meio dificulta a geração de força de impacto necessária para romper as gotículas lipídicas, implicando na formação de maiores diâmetros após a emulsificação do sistema, o que reflete na formação das micropartículas sólidas.

Tabela 4 – Diâmetros médio, índice de polidispersão, potencial zeta e distribuição do tamanho das partículas das microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*.

Parâmetros	Tratamentos		
	50/50	60/40	70/30
Diâmetro médio (nm)	664 (± 17) ^c	822 (± 9) ^b	949 (± 26) ^a
Índice de polidispersão	0,50 ($\pm 0,03$) ^a	0,45 ($\pm 0,09$) ^a	0,48 ($\pm 0,01$) ^a
Potencial Zeta (mV)	-21,60 ($\pm 0,6$) ^a	-18,90 ($\pm 0,4$) ^b	-22,00 ($\pm 1,3$) ^a
Distribuição do tamanho			
< 100 nm	0,0	0,0	0,1
100–200 nm	0,2	0,4	0,4
200–500 nm	4,1	2,5	2,5
500–1000 nm	61,2	70,1	61,6
> 1 μ m	34,5	26,8	35,1

Valores médios \pm desvio padrão; n = 5. Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p > 0,05$).

Fonte: Do autor (2021).

Em adição, assim como foi observada que o rendimento global do processo está relacionado a tendência no aumento no valor do diâmetro médio em função do aumento da concentração de AE no tratamento; a mesma observação se estende a determinação do tamanho das partículas produzidas por *spray chilling*. Para Oriani *et al.* (2018), os parâmetros relacionados aos tamanho médio das partículas podem ser desfavorecidos pela incompatibilidade da mistura do sistema, portanto, o extrato da beterraba também pode ter apresentado efeito sobre os resultados. Leonel *et al.* (2008) e Savolainen *et al.* (2002), em condições operacionais semelhantes, encontraram uma faixa de tamanho médio entre 25 e 32 μ m, valores superiores ao encontrado no presente estudo. Os autores justificam os dados a característica hidrofóbica do recheio utilizado para diferentes matrizes lipídicas produzidas.

Numerosos fatores têm influência no tamanho médio das partículas, tais como a composição lipídica, o processo de formulação, a composição do recheio, os parâmetros do processo (temperatura, equipamento de homogeneização, entre outros), a presença de tensoativo e as condições de estocagem. Estes fatores apresentam efeito no processo de cristalização lipídica e, portanto, no aumento do tamanho médio das partículas (HEURTAULT *et al.*, 2003). Em complemento, além dos parâmetros de processo, o tipo de material ativo e carreador lipídico, bem como o design do atomizador, também podem provocar variações consideráveis no tamanho, o que dificulta a comparações entre trabalhos. Dessa forma, embora

a literatura relate a obtenção de micropartículas com tamanho médio na faixa de 13-50 μm (ALVIM *et al.*, 2013; CHAMBI *et al.*, 2008; LEONEL *et al.*, 2010; RIBEIRO; ARELLANO; GROSSO, 2012) e 50-300 μm (ALBERTINI *et al.*, 2008; DI SABATINO *et al.*, 2012; ILIC *et al.*, 2009; MASCHKE *et al.*, 2007; OKURO *et al.*, 2013; RODRIGUEZ *et al.*, 1999); os valores encontrados neste trabalho permaneceram abaixo da faixa citada na literatura para micropartículas produzidas por *spray chilling*.

Por outro lado, a distribuição de tamanho apresentou populações em diversas faixas, o que resultou em valores elevados de índice de dispersão, na faixa de 0,45–0,50, indicando uma distribuição mais polidispersa. Ainda que o tamanho médio esteja incluído na faixa nanométrica, acima de 60–70% das partículas apresentam tamanho acima de 1 μm , caracterizando-se, portanto, como micropartículas e também evidenciando a polidispersão da distribuição do tamanho. Pode-se observar que apenas 0,2–0,5% das partículas estão abaixo de 200 nm, porém uma fração considerável das nanopartículas se encontram na faixa de 500–1000 nm. Albertini *et al.* (2008), relatam que a técnica de *spray chilling* é capaz de produzir micropartículas com extensa variação de tamanho, entre 50 a 600 μm , e tal fato está diretamente relacionado com a viscosidade da mistura lipídica utilizada. O tamanho máximo observado foi cerca de 6,5 μm para todos os tratamentos, o que também pode estar relacionado à aglomeração de partículas, considerando a limitada redispersão aquosa do material analisado.

Durante a cristalização de partículas, maior concentração de lipídios saturados está associada a uma estrutura cristalina mais compacta. A cristalização de lipídios líquidos resulta em uma contração de volume das moléculas de lipídios, enquanto o derretimento dos lipídios sólidos levam à expansão do volume (TAN; CHE MAN, 2002). Portanto, a faixa de diâmetros médios maiores nas formulações com 50/50 (AE/AO) podem ser explicados por sua diminuição na cristalinidade (estado amorfo verificado na morfologia – Figura 6A). O mesmo efeito foi verificado por Oriani *et al.* (2018), em que a predominância de lipídios saturados na matriz (ácido palmítico), resultaram em uma estrutura cristalina mais organizada e, conseqüentemente, em tamanho de partícula menor em comparação com a formulação que leva lipídios insaturados (ácido oleico).

Grande parte das partículas em contato com um líquido adquirem uma carga em sua superfície e o potencial elétrico no plano externo da partícula é denominado de potencial zeta. O potencial zeta é um indicador importante e útil de mudanças na carga da partícula, que pode ser usado para prever e prever a sua estabilidade, por estar relacionado à geração de forças elétricas repulsivas entre as gotículas de fase dispersa dificultando, assim, a coalescência. Dessa forma, a mensuração do potencial zeta é importante para o entendimento dos processos de

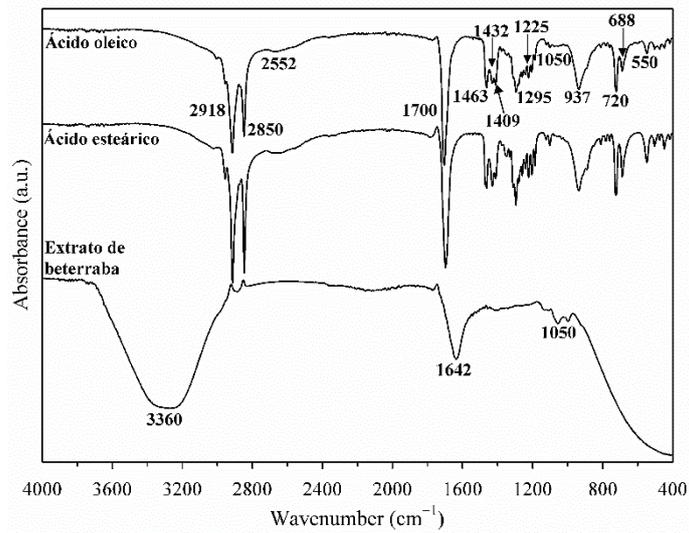
dispersão e agregação nas aplicações das nanopartículas (CHEONG *et al.*, 2016; ZHANG; MCCLEMENTS, 2018). De forma geral, alto valor de potencial zeta (> 30 mV) apresentam pouca ou nenhuma aglomeração, e vice versa, isso porque quanto maior o valor do potencial maior a carga da partícula e maior a força de repulsão.

Os valores de potencial zeta se apresentaram negativos e dentro da mesma faixa, em torno de -20 mV. Os valores negativos de potencial zeta são atribuídos à ionização do ácido esteárico presente na interface que, ainda que fraca, é considerável para a geração de cargas negativas do carboxilato na superfície da partícula. Considerando que o pKa do ácido esteárico é estimado ser em torno de 4,75–4,95 (DRUGBANK, 2021; PUBCHEM, 2021); no pH neutro do dispersante, o ácido esteárico se encontra em grande parte na sua forma ionizada, gerando a carga negativa observada. Partículas com potencial zeta maior que ± 30 mV são requeridas para uma excelente estabilização eletrostática. A diminuição desse potencial e, conseqüentemente, na repulsão eletrostática, facilita a agregação das partículas, sendo por isto utilizado como indicativo da instabilidade de uma dispersão (BYRN; ZOGRAFI; CHEN, 2017). Nestas condições, é válido afirmar que as microesferas contendo extrato de beterraba obtidas, independente do tratamento empregado, apresentam um limiar de aglomeração.

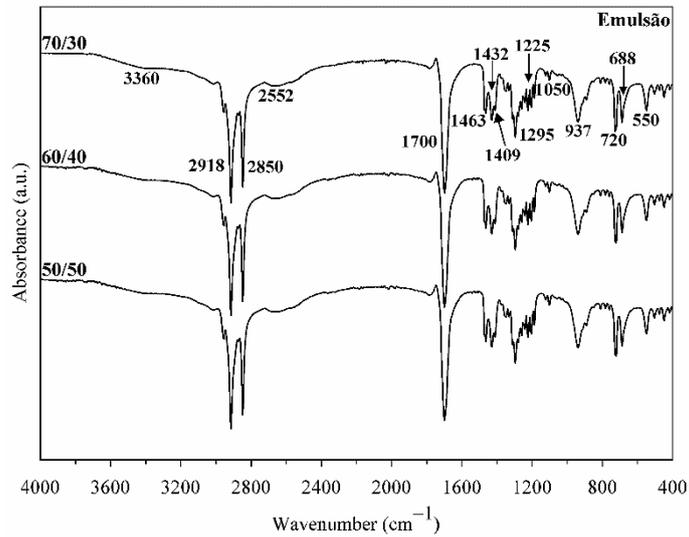
Por fim, ressalta-se a difícil redispersão das microesferas sólidas lipídicas, ainda que utilizando uma solução aquosa contendo um surfactante atuando como agente molhante, o que pode ser considerado como uma limitação para as análises por espalhamento dinâmico da luz (DLS) para este tipo de amostra.

3.3.3 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

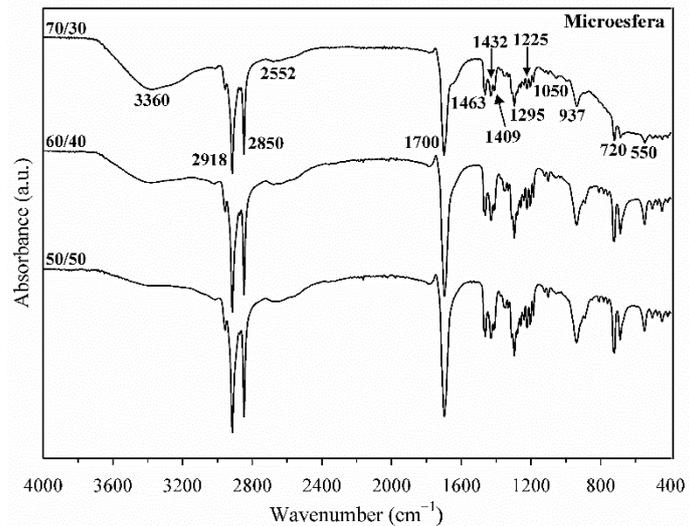
O espectro de FTIR na Figura 8 foi empregado para identificar possíveis interações entre os agentes carreadores e o material de núcleo, bem como o grupo funcional nas emulsões e nas microesferas sólidas lipídicas contendo extrato de beterraba. As amostras das microesferas (Figura 8C) apresentaram um perfil de infravermelho semelhante aos materiais de parede lipídicos (Figura 8A) e às emulsões (Figura 8B), demonstrando que a técnica de *spray chilling* não destruiu as estruturas preliminares. Em complemento, é possível verificar que o extrato de beterraba foi incorporado à matriz lipídica, uma vez que o pico predominante 3360 cm^{-1} , verificado no extrato, foi identificado tanto nas emulsões quanto nas microesferas.



(A)



(B)



(C)

Figura 8 – Espectro de FTIR: (A) Extrato de beterraba e agentes carreadores (ácido esteárico e ácido oleico); (B) Emulsão contendo o extrato de beterraba e diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico preparadas por meio do homogeneizador ultrassônico; (C) Microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*.

Fonte: Do autor (2021).

Com exceção dos agentes carreadores, os espectros mostraram uma ampla faixa de deformação axial a 3360 cm^{-1} , característica da ligação intermolecular de hidrogênio O–H (vibrações de alongamento assimétrico e simétrico), o que indica a presença de água, decorrente principalmente do grau de umidade do extrato de beterraba, e de proteínas e carboidratos (NESAKUMAR *et al.*, 2018). Enquanto que, à 2918 e 2850 cm^{-1} , foram observados intensos picos que correspondem ao alongamento da ligação C–H sp^3 e, provavelmente, fragmentos CH_2 dos ácidos graxos, que estão relacionadas à presença do grupo carboxila, mais especificamente, ácidos carboxílicos.

O pico em 1700 cm^{-1} está atrelado ao C=O de ésteres, agrupamento presente no ácido oleico e ácido esteárico (JUMINA *et al.*, 2019; MATOS-JR *et al.*, 2017; NOSAL *et al.*, 2020). A banda em 1463 cm^{-1} é a deformação $-\text{CH}_2$, 1409 cm^{-1} tem sua origem na vibração de alongamento simétrico C=C, 1295 cm^{-1} representa a torção e balanço $-\text{CH}_2$ e a banda em 937 cm^{-1} responde à deformação C=C decorrentes dos ácidos graxos sintetizados. Já a vibração de balanço e flexão $-\text{CH}_2$ está associada a uma banda a 720 cm^{-1} (GALLART-SIRVENT *et al.*, 2017; NOSAL *et al.*, 2021). Os picos em 1432 , 1225 e 688 cm^{-1} estão relacionados à curvatura de $-\text{CH}_2$, alongamento de $-\text{COO}-$, alongamento de vibrações C–C e deformação por flexão do anel $-\text{CH}$ (NEVES *et al.*, 2020).

Também foi verificado em torno de 1050 cm^{-1} (vibração do esqueleto envolvendo o alongamento C–O), bandas característica da estrutura de carboidratos. E, próximo de 550 cm^{-1} aparecem os alongamentos C–Cl (DARRA *et al.*, 2017). Por fim, constatou-se que a banda em 1642 cm^{-1} , identificado na amostra de extrato de beterraba (Figura 7A), corresponde a vibrações de flexão H–O–H decorrentes também do grau de umidade presente na amostra e da ligação C=N, característica da betalaínas (MOHAMMED *et al.*, 2021; NESAKUMAR *et al.*, 2018).

3.4 Propriedades físico-químicas

Os valores para as análises químicas e físico-químicas de cada microesfera lipídica contendo extrato de beterraba, bem como a porcentagem de retenção de betalaínas, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Retenção de betalaínas e propriedades químicas e físico-químicas das microesferas lipídicas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*.

Parâmetros	Tratamentos		
	50/50	60/40	70/30
Umidade (%)	14,52 ($\pm 0,28$) ^a	11,83 ($\pm 0,70$) ^b	11,54 ($\pm 0,42$) ^b
Atividade de água (aw)	0,98 ($\pm 0,01$) ^a	0,97 ($\pm 0,01$) ^b	0,97 ($\pm 0,01$) ^b
pH	6,35 ($\pm 0,02$) ^a	6,36 ($\pm 0,02$) ^a	6,33 ($\pm 0,01$) ^a
Vulgaxantina-I (mg·100 g ⁻¹ s.s.)	17,26 ($\pm 0,13$) ^a	16,96 ($\pm 0,18$) ^a	15,1 ($\pm 0,87$) ^b
Betanina (mg·100 g ⁻¹ s.s.)	14,44 ($\pm 0,01$) ^b	15,18 ($\pm 0,34$) ^a	12,88 ($\pm 0,16$) ^c
Betalaínas (mg·100 g ⁻¹ s.s.)	31,70 ($\pm 0,02$) ^a	32,13 ($\pm 0,49$) ^a	28,31 ($\pm 0,87$) ^b
Retenção (%)	85,63 ($\pm 0,05$) ^a	86,79 ($\pm 0,96$) ^a	76,47 ($\pm 1,73$) ^b
Índice de peróxido (meq·kg ⁻¹)	3,63 ($\pm 0,20$) ^a	3,61 ($\pm 0,11$) ^a	3,64 ($\pm 0,13$) ^a

Valores médios \pm desvio padrão; n = 3. Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p > 0,05$). s.s. (sólidos secos).

Fonte: Do autor (2021).

Em geral, para boa estabilidade durante o armazenamento e menor tendência de aglomeração, o teor de umidade para os extratos encapsulados deve ser até 4 % , faixa considerada segura para produtos desidratados. (GOYAL *et al.*, 2015). E pós de qualidade alimentar deve ter um teor de umidade abaixo de 3 g / 100 g (THIRUNDAS; GADHE; SYED, 2014) e uma aw entre 0,1 e 0,4, dependendo do tipo de produto seco, sendo o valor máximo aceito de 0,6 (TONTUL; TOPUZ, 2014). Os tratamentos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para os valores de atividade de água e grau de umidade. Os valores obtidos para estes parâmetros foram superiores a faixa ideal; portanto podem sofrer alterações microbianas e químicas. No entanto, o crescimento microbiano nestas partículas não serão suportadas devido à falta de nutrientes, porque de acordo com Bhat, Alias e Paliyath (2012), relativamente poucos tipos de microrganismos são capazes de metabolizar lipídios. Isto pode ser explicado pela maior capacidade das proteínas em manter umidade aprisionada nas partículas (JAYASUNDERA *et al.*, 2009). A beterraba contém um teor notável de proteínas (3%) e de carboidratos (4%) (TACO, 2011). Os carboidratos, em geral, apresentam alta capacidade de adsorção de água na superfície, principalmente pela presença de muitos grupos hidrofílicos nas cadeias desses hidratos de carbono (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014). Outro fator a ser considerado é que a beterraba crua e cozida possui um alto teor de umidade de 86 e 90,6%, por 100 g de parte comestível, respectivamente (TACO, 2011).

Em complemento, levando em consideração que, a umidade inicial do extrato era de 88,13%, e a técnica de *spray chilling* não faz a evaporação de água, é possível teores de umidade

e atividade de água elevados em comparação aos demais autores. Em contrapartida, a ideia original da técnica de *spray chilling* menciona a produção de micropartículas a partir da atomização da mistura entre carreador e material ativo, ressaltando inclusive que não há nenhum tipo de solvente envolvido no processo. Na literatura, trabalhos realizados por Chambi *et al.* (2008), Leonel *et al.* (2010) e Ribeiro, Arellano e Grosso (2012), como o presente, atomizaram emulsões, ou seja, o material ativo foi misturado ao carreador lipídico em solução aquosa e também perceberam resultados influenciados pela a_w , impactando sobretudo na aglomeração das partículas. Faz-se adequado julgar, se possíveis adaptações da técnica não contrariariam as vantagens associadas a ela.

Contudo, valores muito altos de umidade e a_w influenciam diretamente na temperatura de transição vítrea (T_g), provocando pegajosidade no pó, condição em que a partícula se comporta de uma forma coesa e adesiva, enquanto em condições de temperatura e umidade menores, as partículas apresentam livre fluidez (KRISHNAIAH; NITHYANANDAM; SARBATLY, 2014; FONGIN *et al.*, 2017). Janiszewska-Turak *et al.* (2017), ainda complementam que esta tendência à aglomeração acentua à medida que o açúcar, presente na beterraba no estado amorfo, se transforma em açúcar, no estado cristalino, mediante a adsorção de pequenas quantidades de água, causada possivelmente durante a manipulação do pó.

Inclusive, a presença do elevado teor de açúcares, junto às proteínas e ao aquecimento, necessário para fusão dos lipídeos, do extrato da beterraba durante o preparo das emulsões, pode ter resultado na ocorrência da reação de Maillard, que, geralmente, ocorre durante o processamento de alimentos a elevadas temperaturas ou durante o armazenamento do produto alimentício por um longo período de tempo (GU *et al.*, 2009; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010), e quase sempre interage com outras vias, como caramelização e oxidação lipídica (HIDALGO; ALAIZ; ZAMORA, 1999), prejudicando o aspecto final desse pó (LEE *et al.*, 2020). Esse aspecto pôde ser confirmado nas características físico-químicas e visualmente das micropartículas desenvolvidas. Quanto maior o valor da umidade, maior sua tendência a tornar-se pegajoso e formar aglomerados de alta consistência, como o tratamento com 50/50 (ácido esteárico/ácido oleico). Os agentes encapsulantes são responsáveis por aumentar a temperatura de transição vítrea (T_g) e reduzir a higroscopicidade do pó (capacidade do material em absorver a umidade do meio). Percebe-se que a presença de ácido esteárico reduziu a mobilidade proteica do extrato, que formou um pó menos viscoelástico na interface lipídio-água, diminuindo a difusividade da água através da proteína interfacial, promovendo um menor valor de umidade e atividade de água. Além disso, o aumento das cadeias de ácidos graxos a porção apolar de cada

molécula também aumenta, resultando em um aumento da hidrofobicidade (OTÁLORA *et al.*, 2016).

Para o pH do extrato de beterraba *in natura* obteve-se o valor de 5,88, semelhante aos resultados encontrados reportados nos trabalhos de Ramos *et al.* (2014) e Ferreira (2018), que foram de 5,87 e 5,92, respectivamente. Os dados médios encontrados de pH para os pós inicialmente foram 6,35; 6,36; 6,33 para os tratamentos 50/50, 60/40 e 70/30 respectivamente. Antecipando as observações, após os 28 dias, a variância foi pequena, com valores de 6,33; 6,38 e 6,39 para as microesferas. A constância do pH é de extrema importância para estabilidade da betalaína, visto que a manutenção de suas características depende da faixa de pH (excelente estabilidade entre pH 4 e 5 na ausência de oxigênio, e entre pH 5 e 6 na presença de oxigênio) (SCHIOZER; BARATA, 2013; VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009). Antigo, Bergamasco e Madrona (2018), em seu estudo sobre o efeito do pH na estabilidade de micropartículas obtidas do extrato de beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.) por meio de secagem por liofilização, observaram que as micropartículas com pH com faixa entre de 6 a 8 obtiveram maiores porcentagens em relação a estabilidade das betalaínas.

A elevada capacidade de retenção de compostos bioativos por parte dos agentes carreadores é uma característica de interesse do ponto de vista industrial, uma vez que possibilita o uso de uma quantidade considerável desses compostos comparado àquela presente no vegetal *in natura*, em uma forma mais estável, para aplicação em matrizes alimentícias. O extrato de beterraba presente nas emulsões apresentou valores de 17,68 mg (vulgaxantina-I) e 19,32 mg (betanina), totalizando 37,02 mg (betalaínas). Dessa forma, entre as misturas lipídicas, a menor retenção de betalaínas, consequência dos menores teores de vulgaxantina- I e betanina, foi obtida para o tratamento 70/30 de AE/AO com 76,47% de retenção dos pigmentos, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos demais, que não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$).

Percebe-se que o menor teor de betalaínas pertence ao tratamento com maior proporção de ácido esteárico, o mesmo que foi submetido a uma temperatura mais elevada durante o processo de formação da emulsão, devido ao ponto de fusão da mistura. A temperatura afeta a estabilidade das betalaínas e o aumento da temperatura resulta em sua degradação, bem como na degradação das enzimas PPO (polifenol oxidase). No entanto, a degradação térmica também é afetada pela faixa de temperatura, extensão de aquecimento, presença de oxigênio e concentração de pigmentos (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006). Em condições de processamento de elevadas temperaturas ou meio excessivamente ácidos, pode ocasionar a degradação por glicólise, na qual a ligação da betanina com a glicose é quebrada, resultando

em um deslocamento batocrômico (STINTZING; CARLE, 2004). Outro tipo de reação que pode levar à degradação de betalaínas é a hidrólise. Essa é uma reação de comum ocorrência durante tratamentos térmicos e provoca a quebra da ligação aldimina do pigmento. Essa quebra acarreta na separação da betanina em ácido betalâmico, com coloração amarela, e ciclodopa-5-Oglicosídeo (incolor), levando a uma redução no poder tintorial do corante e um deslocamento da cor para o amarelo ou marrom (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006). Processo esse justificado em maiores concentrações de vulgaxantina-I (pigmento amarelo) em todos os tratamentos.

Todas as misturas apresentaram altas porcentagens de retenção (acima de 76%), o que representam concentrações de betalaínas superiores a $28 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, as quais são consideradas elevadas, quando comparadas a outros estudos que relatam concentrações de $16,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e $15,2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de betalaínas encapsuladas com maltodextrina (MOBHAMMER; STINTZING; CARLE, 2006) e $12,0 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de betalaínas encapsuladas com goma arábica em *spray dryer* (PITALUA *et al.*, 2010). Kshirsagar *et al.* (2009), encapsularam oleoresina de cúrcuma com goma arábica e maltodextrina por *spray dryer* e obtiveram uma retenção de 48,0% utilizando maltodextrina. Zuanon *et al.* (2019) encontraram 40 e 46% de retenção de betalaínas nos pós secos por pulverização, correspondendo à concentração total de betalaína entre 17,85 e $24,7 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ nos pós. Todos resultados inferiores a esse trabalho, destacando a importância da técnica de *spray chilling*.

No entanto, em relação à técnica, ao associar os resultados obtidos para a retenção de betalaínas com os de tamanho de partícula, bem como com o tipo de partículas produzidas por *spray chilling* – que não são do tipo reservatório, em que o material fica perfeitamente na porção central recoberto pelo material de parede, e sim do tipo matriz, no qual o material ativo está disperso no carreador solidificado, ou seja, presente em todo volume da partícula e não apenas no seu centro (OKURO *et al.*, 2013) – correlacioná-se que o aumento da concentração de material lipídico (AE) em relação a concentração fixa de material ativo, ainda que teoricamente, sugere uma maior possibilidade de obter micropartículas com maior quantidade de betalaínas efetivamente encapsuladas e menores tamanhos das partículas. Entretanto, os resultados obtidos não corroboraram tal teoria.

Albertini *et al.* (2008), no estudo de obtenção de micropartículas lipídicas, observou que os valores das viscosidades das suspensões estão relacionados diretamente com o tamanho de partícula, assim como que viscosidades menores resultam em menor tamanho de partícula. Matos-Jr *et al.* (2017) observaram que se não houvesse diferença no tamanho, a área de

superfície das partículas não era alterada, o que poderia permitir uma presença maior ou menor de material ativo na superfície na partícula, ou seja, quanto menor a partícula, maior é sua área superficial, conseqüentemente, maior a possibilidade de presença de material ativo na superfície. Tal relação explica a menor retenção de betalaínas para o tratamento 70/30, uma vez que apresentou maior diâmetro e tamanho de partícula.

Ribeiro, Arellano e Grosso (2012), ao encapsular solução de glicose em mistura de ácido esteárico e ácido oleico, também alcançaram uma eficiência de encapsulamento acima de 75%. Os autores mostraram que a adição de um lipídio líquido (AO) a um sólido lipídico (AE) foi um fator determinante na modificação da cristalização padrão da mistura de lipídios, bem como que esse aumento da concentração de AO, em relação ao material ativo, influenciou positivamente na eficiência de encapsulação. Assim, a eficiência de encapsulamento mostrou-se diretamente proporcional à concentração de ácido oleico nas misturas e inversamente proporcional à quantidade de glicose superficial. No estudo supracitado, a porcentagem de retenção esteve entre 75,1% para o tratamento constituído somente do ácido graxo esteárico a 96,9% para os tratamentos com diferentes proporções do ácido graxo oleico. Portanto, é possível concluir que a presença e a quantidade de ácido oleico (AO) nestas misturas, devido a sua forma líquida e insaturações, auxiliou a retenção do recheio ao modificar a cristalização e alterar a forma polimórfica da fase lipídica, evitando a expulsão das substâncias ativas.

Müller *et al.* (2002) estudaram nanopartículas de lipídios com o objetivo de modificar a estrutura da matriz lipídica sólida adicionando um lipídeo incompatível para facilitar a acomodação do núcleo durante a cristalização. Uma alta incompatibilidade foi obtida pela mistura de lipídios sólidos com lipídios líquidos diferentes quimicamente. Esta técnica possibilitou uma maior estabilidade durante o armazenamento da nanopartícula. Hu *et al.* (2005) estudaram a adição de ácido oleico em matrizes lipídicas compostas por ácido esteárico e obtiveram um aumento de eficiência de encapsulação do propionato de clobetasol de 40 para 70% com a adição de 30% de ácido oleico, justificada pela mudança do processo de cristalização da matriz lipídica, obtendo maior imperfeição no cristal e eficiência de encapsulação do recheio. A mistura de ácidos graxos saturados e insaturados provenientes do AE e do AO promovem diferentes rearranjos moleculares da estrutura lipídica, originando espaçamentos entre as cadeias carbônicas capazes de acomodar adequadamente o ativo. Imperfeições na estrutura lipídica são provenientes da diversidade dos tamanhos de cadeias, que levam a formação de uma estrutura desordenada com grande capacidade de incorporação do ativo e maiores eficiências de encapsulação (MÜLLER *et al.*, 2002).

Por essa razão, os tratamentos com relação AE/AO de 50/50 e 60/40 apresentaram melhor retenção das betalaínas, visto que, menores concentrações do material ativo na superfície das micropartículas resultam em maior capacidade de retenção do ativo no interior das micropartículas. Ademais, devido a maiores quantidades de água no sistema; e a forma como o extrato de beterraba foi incorporado na emulsão, a presença e a quantidade de AO nas misturas, devido à sua forma líquida e insaturação, associadas a interações com o AE, modificou o padrão de cristalização proporcionando maior imperfeição no cristal. Em compensação, o tratamento com maior concentração de AE (70/30), de acordo com as análises de morfologia, apresentaram melhor desempenho no aprisionamento do material ativo, formando microesferas mais uniformes, com pouca aglomeração e estáveis em temperatura ambiente.

Com isso, levanta-se a hipótese, se as micropartículas apresentarem elevada quantidade de material ativo na superfície, ou seja, desprovida de proteção, durante a “lavagem” das partículas, todo conteúdo de betalaínas que não está perfeitamente encapsulado (má formação das micropartículas), que seria o caso do tratamento 50/50, durante a “lavagem” das partículas o “arraste” dos cristais de material ativo é consideravelmente favorecido, influenciando diretamente e positivamente nos valores de retenção de betalaínas e eficiência de encapsulação, o que comprometeria os resultados finais. Este fato pode ser explicado pela expulsão do recheio durante a cristalização da matriz lipídica, devido ao rápido resfriamento obtido pelo processo de *spray chilling* (cinética de cristalização). Pode-se concluir que o processo de nucleação é muito rápido. No super resfriamento para formação das micropartículas, as moléculas de lipídios têm pouco tempo para se reorganizar e não podem adotar sua conformação mais favorável termodinamicamente. Isto proporciona a formação de um sólido menos ordenado, dependendo da viscosidade da massa, a transferência de calor é limitada, dificultando assim a forma mais estável do cristal (MARANGONI, 2005). No entanto, independente dos tratamentos, todos apresentaram comportamento satisfatório quanto a retenção dos pigmentos, e o método de encapsulamento de corantes ainda é uma alternativa para prolongar a estabilidade de betalaínas, devido sua alta sensibilidade a fatores externos (LABUSCHAGNE, 2018).

Por fim, os valores experimentais encontrados para os índices de peróxido estão de acordo com o limite estabelecido pela legislação (inferior a $15,0 \text{ meq}\cdot\text{kg}^{-1}$ de óleo) (BRASIL, 2005) e indicam um bom estado de conservação das microesferas e, conseqüentemente, das betalaínas. Além disso, esses valores demonstram que o processo de formação da emulsão e atomização não causaram danos oxidativos, classificando, desta forma, os pós como adequados para consumo humano. Os materiais lipídicos empregados apresentaram valores de $2,41 (\pm 0,01)$

e 4,42 ($\pm 0,10$) meq·kg⁻¹ para o ácido esteárico e ácido oleico, respectivamente. Segundo Serfert, Drusch e Schawarz (2009), a preparação, homogeneização e atomização da emulsão são parâmetros que influenciam diretamente na oxidação lipídica logo após o encapsulamento. Por meio da intensa agitação mecânica sofrida durante o preparo da emulsão pelo uso do ultrassom, ocorre incorporação de ar e maior contato dos lipídios com o oxigênio. Nesse caso, a estabilidade oxidativa pode ter sido melhorada em virtude da própria betalaína, que além da sua natureza hidrossolúvel, por ter características antioxidantes, mantém ou reduz os valores de peróxidos, que são reações causadas por radicais livres, que por sua vez, são responsáveis pela oxidação dos lipídios (MARINELI *et al.*, 2014).

3.5 Estabilidade acelerada

Entrever a estabilidade das betalaínas proporcionam informações importantes e inovadoras para o uso como corante natural em alimentos (HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006). Dentre os fatores que afetam a estabilidade das betalaínas, a temperatura é considerada o mais importante ao longo do processamento e estocagem do produto final (AZEREDO, 2009). A Tabela 6 corresponde aos parâmetros de retenção/eficiência de encapsulação das microesferas durante 28 dias de armazenamento em embalagens devidamente seladas. Em complemento, a Figuras 9 representa os valores de ΔE^* (diferença total de cor) calculados para cada tratamento, parâmetro que indica a magnitude da diferença de cor entre as amostras, e as Figuras 10 a 12, os teores dos pigmentos betanina e vulgaxantina-I, ao longo do armazenamento nas temperaturas de 5 °C, 25 °C e 45 °C.

Tabela 6 – Retenção de betalaínas (%) das microesferas lipídicas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*, armazenadas à 5 °C, 25 °C e 45 °C durante 28 dias.

Tratamento	Temperatura (°C)	Tempo (dias)				
		0	7	14	21	28
50/50	5		99,70	93,00	92,20	92,80
60/40		100	100,0	88,83	92,37	58,42
70/30			99,29	98,02	82,80	70,65
50/50	25		67,54	56,94	52,49	28,36
60/40		100	97,85	85,62	60,47	66,08
70/30			58,42	96,43	38,89	41,12
50/50	45		74,92	71,61	41,99	22,15
60/40		100	51,85	81,23	50,20	28,01
70/30			53,73	63,58	57,54	34,16

Fonte: Do autor (2021).

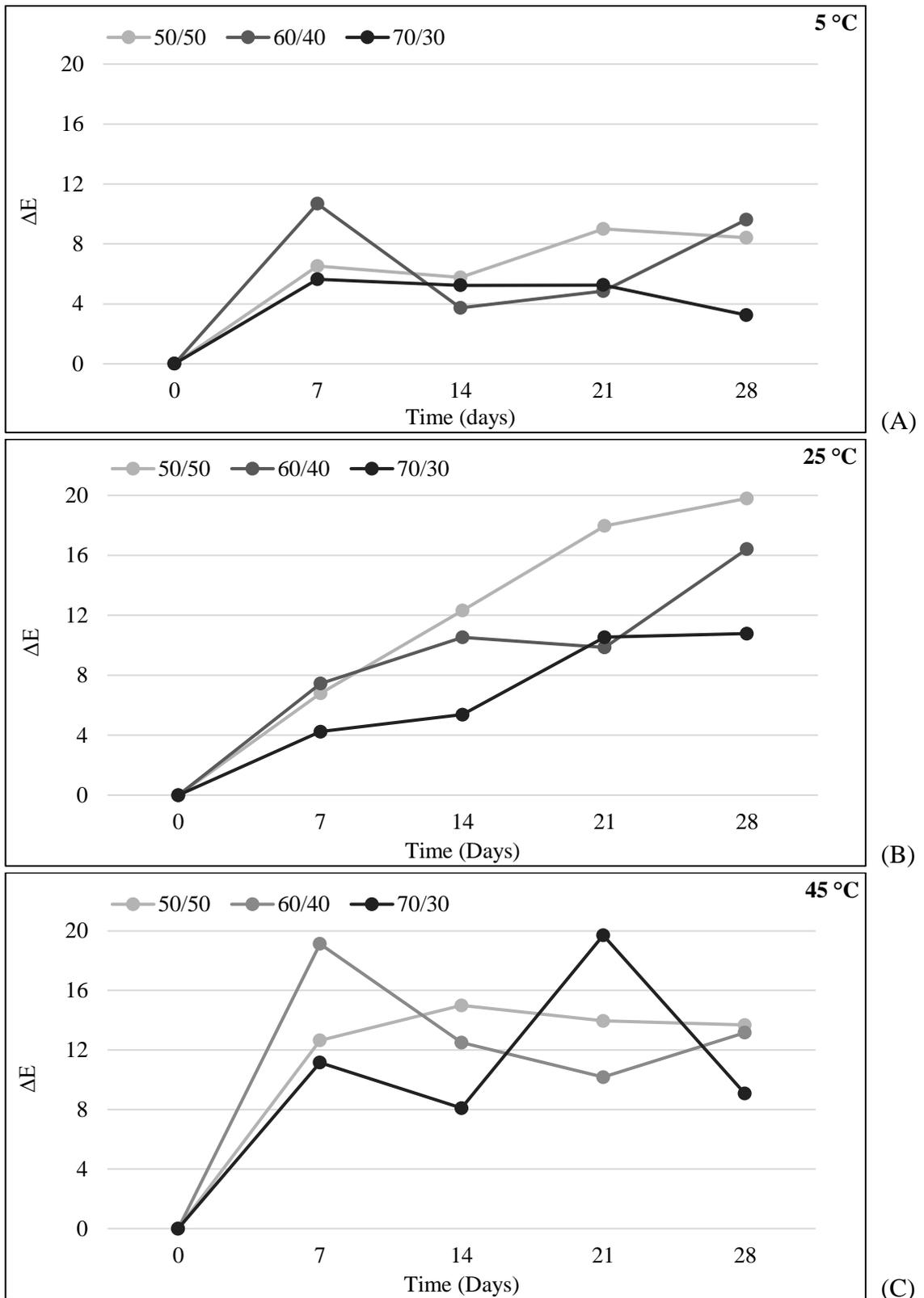


Figura 9 – Valores de ΔE^* calculados para as microsferas lipídicas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*, ao longo do armazenamento à: (A) 5 °C, (B) 25 °C e (C) 45 °C.

Fonte: Do autor (2021).

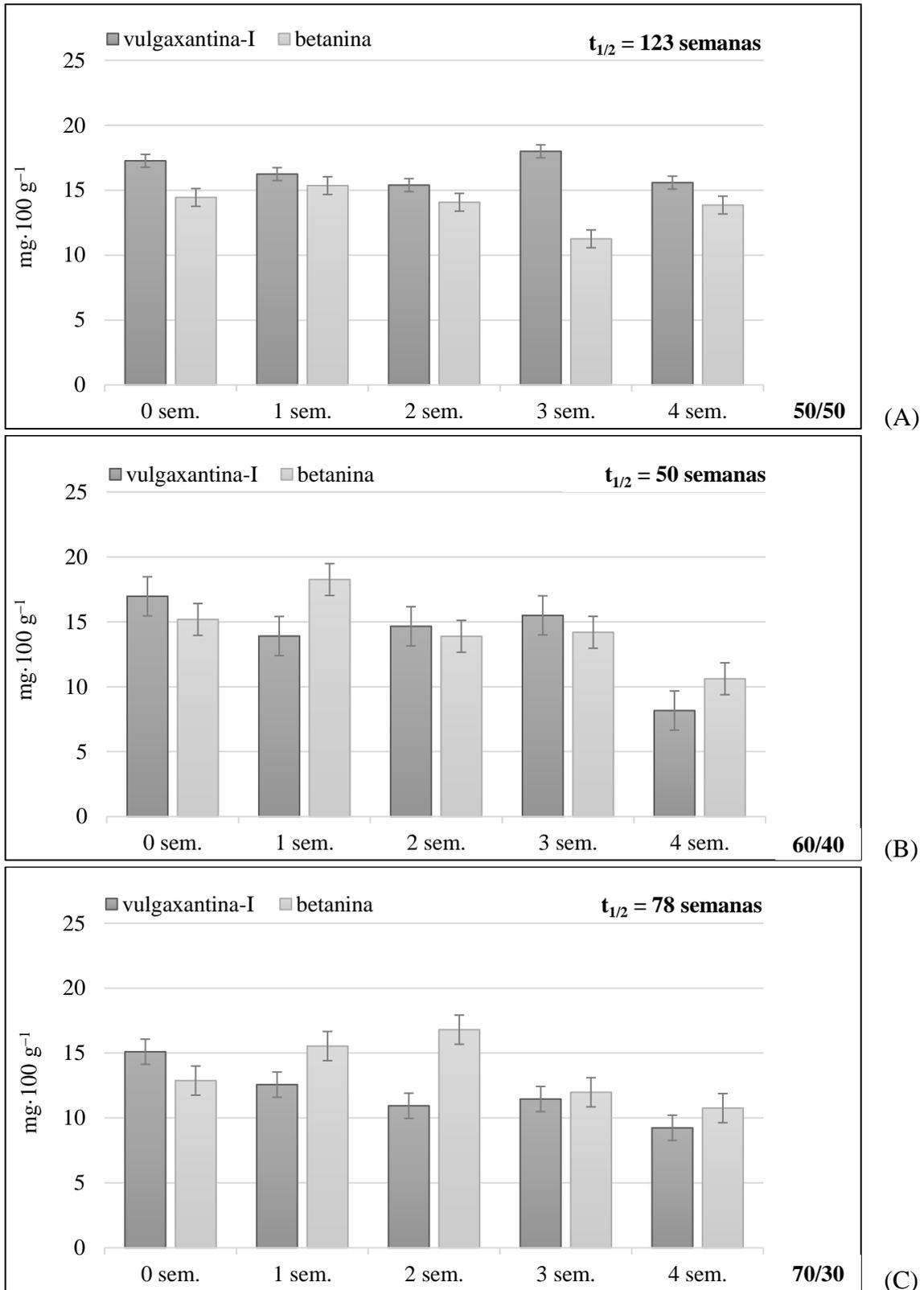


Figura 10 – Teores de betanina e vulgaxantina-I (mg·100 g⁻¹ s.s.) e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*, armazenadas a 5 °C durante 28 dias.

Fonte: Do autor (2021).

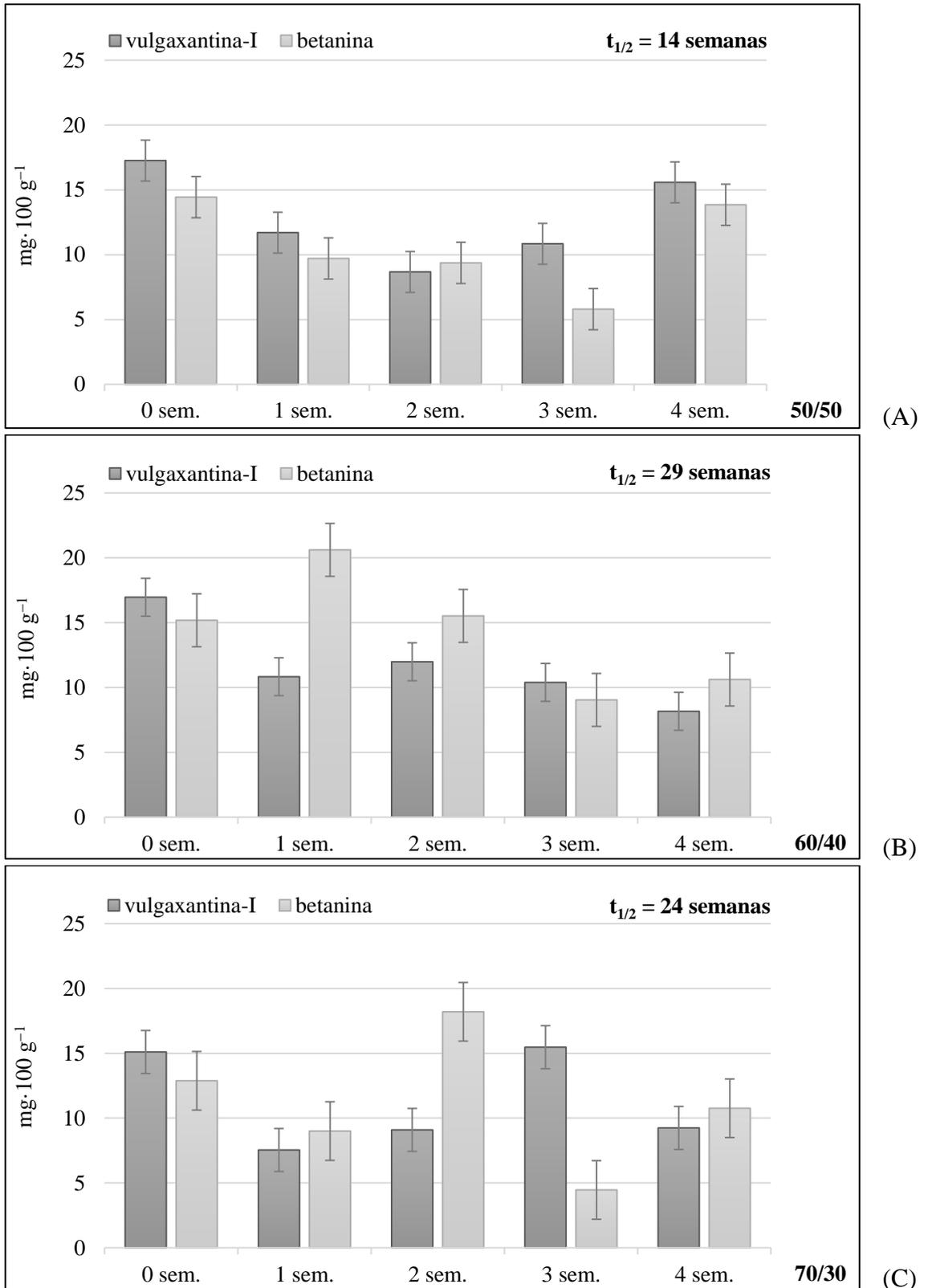


Figura 11 – Teores de betanina e vulgaxantina-I (mg·100 g⁻¹ s.s.) e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*, armazenadas a 25 °C durante 28 dias.

Fonte: Do autor (2021).

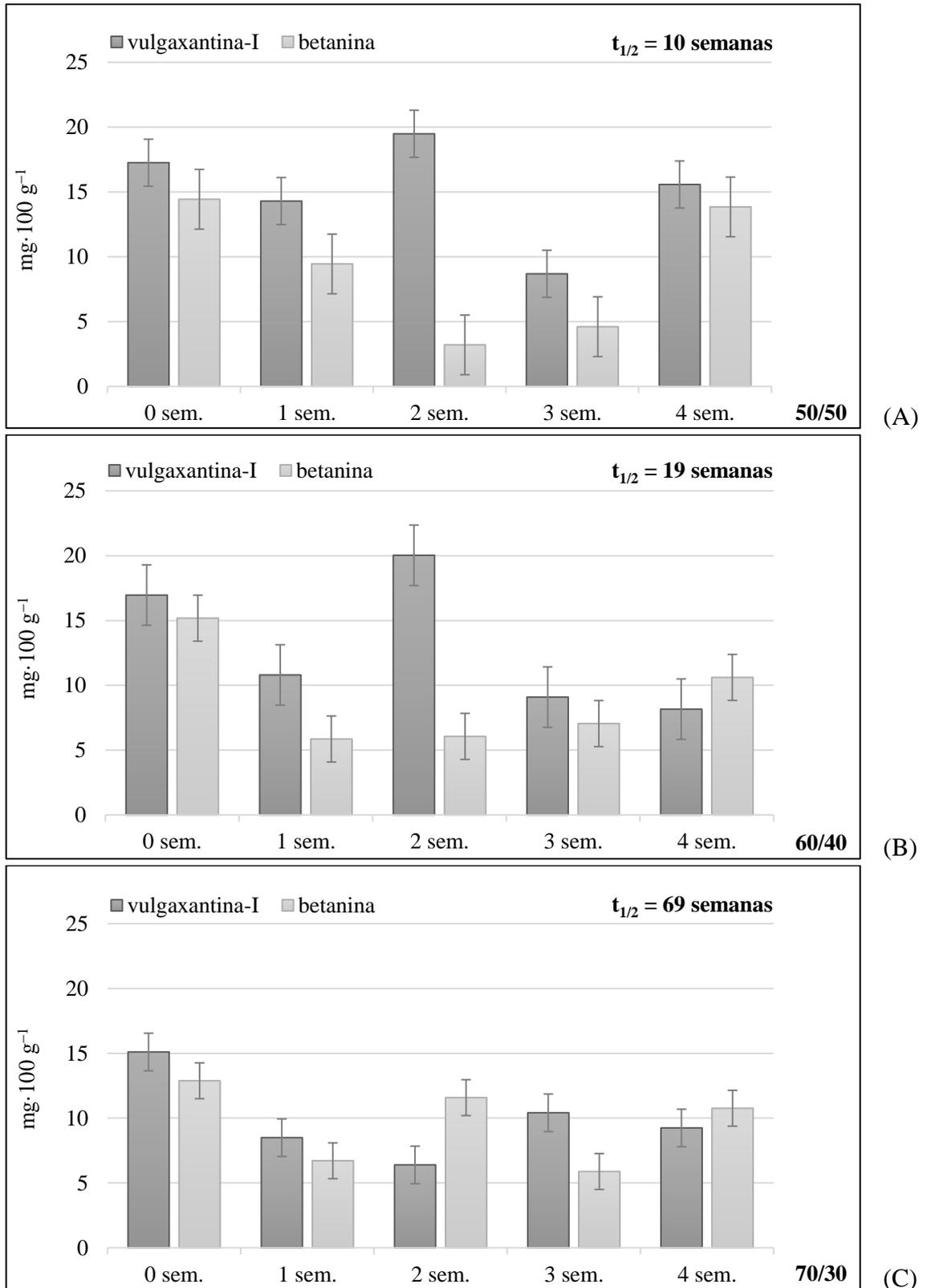


Figura 12 – Teores de betanina e vulgaxantina-I (mg·100 g⁻¹ s.s.) e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) das microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*, armazenadas a 45 °C durante 28 dias.

Fonte: Do autor (2021).

Em relação ao armazenamento na temperatura de 5 °C, embora no geral, dentre os três tratamentos, aquele em que se utilizou 70% de AE como agente carreador tenha apresentado menores valores de ΔE^* ; todos os tratamentos, com exceção do 60/40 na primeira semana, não atingiram o valor máximo de 10 (Figura 9). Observou-se, ainda, que ao término do tempo de estocagem, o tratamento com 50/50 foi o mais estável comparado aos demais, em virtude da maior porcentagem de retenção de betalaínas, 92,80% (Tabela 6), o que refletiu diretamente em seu tempo de meia vida para betanina ($t_{1/2}$) = 123 semanas. Além disso, foi o único a apresentar teor de vulgaxantina-I superior ao teor de betanina (Figura 10), sendo o principal pico na 3ª semana de armazenamento, indicando possível conversão de betanina (pigmento violeta) para vulgaxantina-I (pigmento amarelo).

Quanto às microesferas armazenadas nas temperaturas de 25 °C e 45 °C, os resultados apresentaram oscilações dos valores de ΔE^* (Figura 9) em razão das possíveis ocorrências de reações nos pigmentos da beterraba (Figura 11 e 12), que são capazes de serem regenerados continuamente, uma vez que algumas rotas são reversíveis (HAN *et al.*, 1998; HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006). Entretanto, após um certo tempo de armazenamento, as reações são irreversíveis, e o aumento dos valores de ΔE^* é observado. Percebe-se ainda que, ao término de estocagem, no tratamento 50/50, predomina em maior concentração a vulgaxantina-I, em ambas temperaturas (Figura 11 e 12). Comportamento semelhante ao tratamento exposto a temperatura de 5° (Figura 10). Resultado que justifica, também o maior valor de ΔE^* , que chegou a apresentar valor máximo de 10, observado para este tratamento. Este resultado está de acordo com Herbach, Stintzing e Carle (2006), que observaram a formação de betaxantinas a partir de betacianinas em produtos alimentícios. A diminuição da regeneração de betacianinas é observada à medida que o ácido betalâmico é consumido na formação de betaxantinas. Dependendo do grupo que estiver ligado à estrutura básica das betalaínas (ácido betalâmico), podem ser obtidas as betacianinas, de colocação vermelho-violeta ($\lambda \sim 540$) e as betaxantinas, de coloração amarelada ($\lambda \sim 480$) (ESATBEYOGLU *et al.*, 2015).

Como complemento da discussão, em relação às vias de biossintética dos pigmentos presentes na beterraba, Wang *et al.* (2017) descrevem que os pigmentos betalaínas, betacianinas vermelhas e betaxantinas amarelas, são produzidos a partir da L-tirosina derivada da via do shiquimato. A tirosina é primeiro oxidada a L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) por três enzimas redundantes do citocromo, sendo posteriormente convertido para ácido betalâmico e ciclo-DOPA, ambos são necessários para a produção de betacianina (pigmento vermelho); enquanto apenas o ácido betalâmico, junto com algumas aminas, é necessário para a produção de betaxantina (pigmento amarelo).

Ao mesmo tempo, nos tratamentos 60/40 e 70/30 houve o domínio da presença das betanina a maior parte do tempo. Sendo que, para o 60/40, ocorreu maiores picos de betanina a 25 °C na primeira e segunda semana influenciando possivelmente em sua capacidade de retenção de betalaínas (66,08%), maior que os demais tratamentos (Tabela 6). Para a temperatura de 45 °C, os resultados mostraram expressiva queda da capacidade em reter o material ativo para todas as microesferas após 21 dias. Com destaque para os tratamentos 50/50 e 60/40, que tiveram uma queda relevante em seu tempo de meia vida para 10 e 19 semanas, respectivamente, decorrentes da degradação dos pigmentos (Figura 12). Com tempo de meia vida de 69 semanas e retenção de 34,16%, (Figura 12 e Tabela 6), é possível perceber que, com o aumento de temperatura o tratamento 70/30 suporta melhor as condições, ou seja, proporções maiores de AE podem auxiliar na retenção do material ativo.

Quando submetida a temperaturas mais elevadas, a degradação das betacianinas é geralmente acompanhada de mudança de cor como resultado da formação de produtos de degradação de cor amarela, que são ácido betalâmico, neobetacianinas e betaxantinas (AZEREDO, 2009; HERBACH; STINTZING; CARLE, 2006). No estudo realizado por Huang e Von Elbe (1985), foi demonstrada a regeneração de betalaínas em soluções de pH 5, no qual as soluções passaram por tratamento térmico em diferentes temperaturas, sendo observado um aumento na concentração de pigmento 20 horas após o tratamento. A regeneração foi observada, em particular, após curtos períodos de aquecimento, favorecida pelo armazenamento a baixas temperaturas após o tratamento e com baixa exposição a oxigênio. A solução que foi exposta à maior temperatura de tratamento apresentou os melhores resultados de regeneração pois a quantidade de pigmento degradado foi maior, logo, havia mais ácido betalâmico e ciclodopa-5-O-glicosídeo disponível para a reação inversa, aumentando a taxa de regeneração. Por analogia, ao comparar o presente estudo com os autores, é possível explicar o comportamento do tratamento 50/50. O processo de regeneração cessou à medida que as concentrações de produtos de hidrólise eram superiores à de ácido betalâmico e ciclodopa-5-O-glicosídeo disponível para a reação inversa, tornando o processo irreversível.

É importante destacar a importância e eficiência do material lipídico, com ênfase ao ácido esteárico, na obtenção das microesferas lipídicas contendo extrato de beterraba. Nota-se que, no geral, os tratamentos com maior concentração de AE tiveram melhor desempenho tanto para menores valores de ΔE^* como para maiores concentrações de betanina. Dessa forma, ao analisar as micropartículas durante as 4 semanas (imagens representadas na Tabela 7), pode-se observar maior degradação dos pigmentos presentes nas microesferas com 50/50 e 60/40 de AE/AO, e conseqüente maior alteração visual da cor, quando comparado ao tratamento 70/30.

Tabela 7 – Microesferas contendo extrato de beterraba elaboradas com diferentes proporções de ácido esteárico/ácido oleico obtidas por *spray chilling*, armazenadas nas temperaturas de 5 °C; 25 °C e 45 °C durante 28 dias.

Temperatura	Tratamentos	Tempos			
		7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
5 °C	50/50				
	60/40				
	70/30				
25 °C	50/50				
	60/40				
	70/30				
45 °C	50/50				
	60/40				
	70/30				

Fonte: Do autor (2021).

Carmo *et al.* (2018), destacam a importância do uso de agentes carreadores, na obtenção de extrato de beterraba microencapsulado, independentemente do processo utilizado. Os autores reforçam a eficiência do uso de agentes carreadores ao comparar a estabilidade do suco de beterraba liofilizado, com extrato de beterraba em pó obtido por intermédio da secagem por *spray drying*, utilizando maltodextrina (MD), inulina (IN) e isolado proteico de soro (IPS) como agentes carreadores, isolados ou em combinação (MD:IN, MD:IPS e IN:IPS). Os autores encontraram teor de vulgaxantina-I maior que betanina logo na quinta semana de armazenamento, tempo de meia vida para betanina de apenas 15 semanas e o ΔE^* com valor máximo de 16,5 para o tratamento liofilizado. Portanto, houve uma maior degradação de pigmentos do suco liofilizado e, conseqüentemente, uma maior alteração da cor, quando comparado aos tratamentos em que se utilizou agente carreador. É interessante observar que, assim como o processo de liofilização, a microencapsulação por *spray chilling* é conduzida em temperatura menor que a secagem por atomização. Em uma comparação breve entre as técnicas os resultados do presente estudo são satisfatórios.

4 CONCLUSÃO

O uso de agentes encapsulantes melhorou a estabilidade do extrato de beterraba. Ao avaliar as características das emulsões elaboradas, os tratamentos com 70% de AE apresentaram melhor condição para cremeação, uma vez que se mostraram visualmente mais pastosas e espessas, sugerindo uma emulsão mais viscosa e homogênea, o que justifica sua maior estabilidade em relação aos demais tratamentos. Em relação aos parâmetros operacionais do ultrassom, os tratamentos preparados com a amplitude de 50%, e permanência até 2,75 min no sonificador tendem a apresentar maior estabilidade.

A maior retenção dos compostos bioativos dos extratos em pó antes do armazenamento foi obtida no tratamento com 60% de ácido esteárico e 40% ácido oleico (86,79%). Em relação à estabilidade das microesferas ao armazenamento, o aumento da temperatura e umidade relativa foram fatores que a afetaram negativamente. Os tratamentos com maior concentração de AE tiveram melhor desempenho tanto para menores valores de ΔE^* (diferença total de cor) como para maiores concentrações de betanina. Ao longo do tempo de armazenamento, pode-se observar maior degradação dos pigmentos presentes nas microesferas com 50/50 e 60/40 de AE/AO e, conseqüente, maior alteração visual da cor, quando comparado ao tratamento 70/30. Com alto potencial para uma liberação antecipada e maior tempo de meia vida (123 semanas) quando expostas a uma temperatura de 5°C, as microesferas elaboradas com menor

concentração de AE mostram-se viáveis para a aplicação em alimentos refrigerados, como iogurtes, geleias, gelatinas e sorvetes. Enquanto que o aumento do AE, além de promover maior tamanho de partículas, em temperaturas mais altas teve melhor aspecto visual, sendo ideal para alimentos que pode vir a ter boas propriedades de fusão na boca, como chocolates, leites aromatizados e massas para bolo.

Em estudos futuros faz-se necessário avaliar a aplicação das micropartículas lipídicas sólidas carregadas com extrato de beterraba em alguma matriz alimentícia, visando avaliar tanto a estabilidade das betalaínas, como a sua liberação. Importantes contribuições foram dadas a arte de construção e operação de opções de processamento e de substâncias naturais com propriedades corante e antioxidante para a indústria de alimentos. A totalidade dos resultados alcançados com este trabalho possibilitou a comprovação da tese que é possível desenvolver microesferas de compostos hidrossolúveis com diferentes concentrações lipídicas a partir da caracterização e elaboração adequada das emulsões. Destaca-se aqui que a ênfase deste estudo não consistiu na aplicação das microesferas obtidas, mas sim na otimização do processo e metodologia utilizada. Neste escopo, novos desenvolvimentos poderão ser implementados, visando, por exemplo, o uso de produtos encapsulados mais indicados do ponto de vista tecnológico, econômico e ambiental. Ainda, outras implementações poderão incorporar as microesferas como aditivo alimentar, como corante natural ou para enriquecer os alimentos. Enfim, novas tecnologias e muitas outras aplicações estarão, a partir de agora, abertas aos trabalhos vindouros.

REFERÊNCIAS

ABBAS, S. *et al.* Process optimization of ultrasound- assisted curcumin nanoemulsions stabilized by OSA-modified starch. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 21, n. 4, p. 1265–1274, 2014.

ALBERTINI, B. *et al.* New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Regensburg, v. 69, n. 1, p. 348–357, 2008.

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**, Amsterdam, v. 65, n. 1, p. 689–694, 2016.

ALVIM, I.D. *et al.* Use of the spray chilling method to deliver hydrophobic components: physical characterization of microparticles. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2013.

ANTIGO, J. L. D.; BERGAMASCO, R. C.; MADRONA, G. S. Effect of pH on the stability of red beet extract (*Beta vulgaris* L.) microcapsules produced by spray drying or freeze drying. **Food Science and Technology**, Cambridge, v. 38, p. 72-77, 2018.

AOCS - American oil Chemists' Society. **Official methods and recommended practices of the AOCS**. 5. ed. Champaign: AOCS, p. 1200, 2004.

AZEREDO, H. M. C. Betalains: properties, sources, applications, and stability: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 44, n. 12, p. 2365-2376, 2009.

BENICHO, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. Polyols, high pressure, and refractive indices equalization for improved stability of W/O emulsions for food applications. **Journal of Dispersion Science and Technology**, Marcel Dekker Inc., USA, v. 22, n. 2-3, p. 269-280, 2001.

BHAT, R.; ALIAS, A. K.; PALIYATH, G. **Progress in food preservation**. Oxford: Wiley Blackwell, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. a Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para óleos e vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2005.

BYRN, S.R.; ZOGRAFI, G.; CHEN, X. **Solid-State Properties of Pharmaceutical Materials**. Hoboken: John Wiley & Sons Inc., 2017.

CARMO, E. L. *et al.* Stability of spray-dried beetroot extract using oligosaccharides and whey proteins. **Food Chemistry**, Norwich, v. 249, n. 1, p. 51-59, 2018.

CALVO, T. R. A.; PERULLINI, M.; SANTAGAPITA, P. R. Encapsulation of betacyanins and polyphenols extracted from leaves and stems of beetroot in Ca(II)-alginate beads: A structural study. **Journal of Food Engineering**, Califórnia, v. 235, p. 32-40, 2018.

CAVAZOS-GARDUÑO, A. *et al.* Preparation of betulinic acid nanoemulsions stabilized by ω -3 enriched phosphatidylcholine. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 24, p. 204-213, 2015.

CIFTCI, O.N.; TEMELLI, F. Formation of solid lipid microparticles from fully hydrogenated canola oil using supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, Califórnia, v. 178, p. 137-144, 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**, Essex, v. 41, n. 3, p. 229-236, 2008.

CHEONG, A. M. *et al.* Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil-in-water Pickering nanoemulsions stabilised by mixture of sodium caseinate, Tween 20 and β -cyclodextrin. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 52, p. 934-941, 2016.

CHHIKARA, N. *et al.* Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. **Food Chemistry**, Norwich, v. 272, p. 192–200, 2019.

CONSOLI, L. *et al.* Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: Production and characterization. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 65, n. 1, p. 79-87, 2016.

DARRA, El. N. *et al.* Food fraud detection in commercial pomegranate molasses syrups by UV–VIS spectroscopy, ATR-FTIR spectroscopy and HPLC methods. **Food Control**, v. 78, p. 132–137, 2017.

DI SABATINO, M. *et al.* Spray congealed lipid microparticles with high protein loading: Preparation and solid state characterization. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Lawrence, v. 46, n. 5, p. 346–356, 2012.

DRUGBANK. **Stearic acid**. 2021. Disponível em: <<https://go.drugbank.com/drugs/DB03193>>. Acesso em: 05 mar. 2021.

ELBE, J. H. von. Betalains. In: _____. **Current protocols in food analytical chemistry**. Madison: University of Wisconsin, p. F3.1.1-F3.1.7, 2001.

ESATBEYOGLU, T. *et al.* Betanin: a food colorant with biological activity. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 59, n. 1, p. 36-47, 2015.

FADINI, A. L. *et al.* Optimization of the production of double-shell microparticles containing fish oil. **Food Science and Technology International**, Espanha, 2019.

FDA – Food and Drug Administration. **Subchapter B--Food For Human Consumption**, 2016.

FERREIRA, L. P. C. **Microencapsulação de extrato de beterraba pelo processo de gelificação iônica**. 2018. (Dissertação) Mestrado em Ciência da Nutrição - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2018.

FERNANDES, R. V. DE B. *et al.* Study of ultrasound-assisted emulsions on microencapsulation of ginger essential oil by spray drying. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 94, p. 413–423, 2016.

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

FONGIN, S. *et al.* Effects of water and maltodextrin on the glass transition temperature of freeze-dried mango pulp and an empirical model to predict plasticizing effect of water on dried fruits. **Journal of Food Engineering**, Califórnia, v. 210, p. 91–97, 2017.

GALLART-SIRVENT, P. *et al.* Fatty acid eutectic mixtures and derivatives from non-edible animal fat as phase change materials. **RSC Advances**, Alemanha, v. 7, n. 39, p. 24133–24139, 2017.

GASSARA, C. F. *et al.* Encapsulation of ligninolytic enzymes and its application in clarification of juice. **Food Chemistry**, Norwich, v. 137, n. 1-4, p. 18–24, 2013.

GHARSALLAOUI, A. *et al.* Pea (*Pisum sativum*, L.) Protein Isolate Stabilized Emulsions: A Novel System for Microencapsulation of Lipophilic Ingredients by Spray Drying. **Food and Bioprocess Technology**, Irlanda, v. 5, n. 6, p. 2211–2221, 2012.

GOYAL, A. *et al.* Development and physico-chemical characterization of microencapsulated flaxseed oil powder: A functional ingredient for omega-3 fortification. **Powder Technology**, Ohio, v. 286, p. 527–537, 2015.

GU, F. *et al.* Characteristics and antioxidant activity of ultrafiltrated Maillard reaction products from a casein-glucose model system. **Food Chemistry**, Norwich, v. 117, n. 1, p. 48-54, Nov. 2009.

HAN, D. *et al.* Repeated regeneration of degraded red beet juice pigments in the presence of antioxidants. **Journal of Food Science**, Illinois, v. 63, n. 1, p. 69- 72, 1998.

HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalain stability and degradation - structural and chromatic aspects. **Journal of Food Science**, Illinois, v. 71, p. R41-R50, 2006.

HEURTAULT, B. *et al.* Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. **Biomaterials**, Amsterdam, n. 24, p. 4283- 4300, 2003.

HIDALGO, F. J.; ALAIZ, M.; ZAMORA, R. Effect of pH and temperature on comparative nonenzymatic browning of proteins produced by oxidized lipids and carbohydrates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 47, n. 2, p. 742–747, 1999.

HU, F. Q. *et al.* Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 45, n. 3–4, p. 167–173, 2005.

HUANG, A. S.; VON ELBE, J. H. Effect of pH on the Degradation and Regeneration of Betanine. **Journal of Food Science**, Illinois, v. 52, n. 6, p. 1689–1693, 1987.

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

ISHWARYA, S. P.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; STAPLEY, A. G. F. Spray-freeze-drying: a novel process for the drying of foods and bioproducts. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 41, n. 2, p. 161-181, 2015.

JANISZEWSKA-TURAK, E. *et al.* The influence of carrier material on some physical and structural properties of carrot juice microcapsules. **Food Chemistry**, Norwich, v. 236, p. 134–141, 2017

JAYASUNDERA, M. *et al.* Surface modification of spray dried food and emulsion powders with surface-active proteins: A review. **Journal of Food Engineering**, California, v. 93, p. 266–277, 2009.

JUMINA, J. *et al.* Preparation of Monoacylglycerol Derivatives from Indonesian Edible Oil and Their Antimicrobial Assay against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Scientific Reports**, London, v. 9, n. 1, p. 10941, 2019.

KAL TSA, O. *et al.* Ultrasonic energy input influence on the production of sub-micron o/w emulsions containing whey protein and common stabilizers. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 20, n. 3, p. 881–891, 2013.

KRISHNAIAH, D.; NITHYANANDAM, R.; SARBATLY, R. A critical review on the spray drying of fruit extract: effect of additives on physicochemical properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Olsztyn, v. 54, n. 4, p. 449–473, 2014.

KSHIRSAGAR, A. C. *et al.* Efficacy of pullulan in emulsification of turmeric oleoresin and its subsequent microencapsulation. **Food Chemistry**, Norwich, v. 113, n. 4, p. 1139–1145, 2009.

KUMORKIEWICZ *et al.* Thermal Decarboxylation of Betacyanins in Red Beet Betalain-Rich Extract. **Pol. J. Food Science and Nutrition**, Olsztyn, v. 70, n. 1, p. 7–14, 2020.

LABUSCHAGNE, P. Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. **Food Research International**, Essex, v. 107, p. 227–247, 2018.

LEE, J. *et al.* Potential of model cakes to study reaction kinetics through the dynamic on-line extraction of volatile markers and TD-GC-MS analysis. **Food Research International**, Essex, v. 132, p. 109087, 2020.

LEONEL, A. J. *et al.* Production and characterization of lipid microparticles produced by spray cooling encapsulating a low molar mass hydrophilic compound. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 30, n. 1, p. 276–281, 2010.

LEONEL, A. J. **Produção e caracterização de partículas lipídicas constituídas por ácidos graxos, gordura vegetal hidrogenada e lecitina na encapsulação de um composto hidrofílico de baixa massa molar**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

LEONG, T. S. H. *et al.* Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 16, n. 6, p. 721–727, 2009.

LOPES, J. D. Solid lipid microparticles of hardfats produced by spray cooling as promising crystallization modifiers in lipid systems. **European Journal of Lipid Science and Technology**, London, v. 117, n. 11, p. 1733–1744, 2015.

MARANGONI, A. G. Crystallization kinetics. In: Marangoni, A. G. (Ed.), **Fat Crystal Networks**. New York: Marcel Dekker, p. 21–82, 2005.

MARINELI, S. R. *et al.* Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 1304–1310, 2014.

MARQUEZ, A. L. *et al.* Effect of calcium salts and surfactant concentration on the stability of water-in-oil (w/o) emulsions prepared with polyglycerol polyricinoleate. **Journal of Colloid and Interface Science**, Kobenhavn, v. 34, n. 1, p. 101–108, 2010.

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**, Regensburg, v. 65, n. 2, p. 175–187, 2007.

MASKAN, M. Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. **Journal of Food Engineering**, Califórnia, v. 48, n. 2, p. 169–175, 2001.

MATOS-JR, F. E. *et al.* Effect of feed preparation on the properties and stability of ascorbic acid microparticles produced by spray chilling. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 75, p. 251–260, 2017.

MCCLEMENTS, D. J. *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques*, 3rd ed. Florida: **CRC Press**, 2015.

MENG, Z. *et al.* Comparative analysis of lipid composition and thermal, polymorphic, and crystallization behaviors of granular crystals formed in beef tallow and palm oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 59, n. 4, p. 1432–1441, 2011.

MOßHAMMER, M. R.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Evaluation of different methods for the production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 7, n. 4, p. 275–287, 2006.

MOCANU, G.-D. *et al.* Tailoring the Functional Potential of Red Beet Purées by Inoculation with Lactic Acid Bacteria and Drying. **Foods**, Chester, v. 9, n. 11, p. 1611, 2020.

MOHAMMED, A.N.; ISHWARYA, S.P.; NISHA, P. Nanoemulsion Versus Microemulsion Systems for the Encapsulation of Beetroot Extract: Comparison of Physicochemical Characteristics and Betalain Stability. **Food and Bioprocess Technology**, New York, v. 14, p. 133–150, 2021.

MÜLLER, R.H.; RADTKE, M.; WISSING, A. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, Lille, vol. 241, p. 121–128, 2002.

NEMZER, B. *et al.* Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. **Food Chemistry**, Norwich, v. 127, p. 42–53, 2011.

NESAKUMAR, N. *et al.* of Moisture Content in Beetroot using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and by Principal Component Analysis. **Scientific Reports**, London, v. 8, p. 7996, 2018.

NEVES, I. C. O. *et al.* Effect of carrier oil on α -TOCOPHEROL encapsulation in ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) mucilage-whey protein isolate microparticles. **Food Hydrocolloids**, Oxford, p. 105716, 2020.

NOSAL, H. *et al.* Selected Fatty Acids Esters as Potential PHB-V Bioplasticizers: Effect on Mechanical Properties of the Polymer. **Journal of Polymers and the Environment**, New York, v. 29, p. 38–53, 2021.

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

ÖNAL, U.; LANGDON, C. Characterization of lipid spray beads for delivery of glycine and tyrosine to early marine fish larvae. **Aquaculture**, Texas, v. 233, n. 1–4, p. 495–511, 2004.

ORIANI, V. B. *et al.* Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention. **Food Research International**, Essex, v. 80, n. 1, p. 41–49, 2016.

ORIANI, V. B. *et al.* The influence of the storage temperature on the stability of lipid microparticles containing ginger oleoresin. **Food Research International**, Essex, v. 109, n. 1, p. 472–480, 2018.

OTÁLORA, M. C. *et al.* Encapsulating betalains from *Opuntia ficus-indica* fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. **Food Chemistry**, Norwich, v. 202, p. 373–382, 2016.

OXLEY, J. D. Spray cooling and spray chilling for food ingredient and nutraceutical encapsulation. In: GARTI, N.; MCCLEMENTS, D. J. (Editores.). *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals*, Amsterdam, p. 110–130, 2012.

PATHARE, P.B.; OPARA, U.L.; AL-SAID, F.AJ. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, New York, v. 6, p. 36–60, 2013.

PATRAS, A. *et al.* Application of principal component and hierarchical cluster analysis to classify fruits and vegetables commonly consumed in Ireland based on in vitro antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, London, v. 24, n. 2, p. 250–256, 2011.

PELLICER, J. A. *et al.* Stability of microencapsulated strawberry flavour by spray drying, freeze drying and fluid bed. **Powder Technology**, Columbus, v. 347, n. 1, p. 179–185, 2019.

PELISSARI, 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**, Monterrey, v. 98, p. 86–94, 2016.

PITALUA, E. *et al.* Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. **Food and Bioproducts Processing**, Amsterdam, v. 88, n. 2, p. 253–258, 2010.

POPA, A.; MOLDOVAN, B.; DAVID, L. Betanin from red beet (*Beta vulgaris* L.) extraction conditions and evaluation of the thermal stability. **Journal of Chemistry**, New York, v. 66, n. 3, p. 413–416, 2015.

PROCOPIO, F.R. *et al.* Solid lipid microparticles loaded with cinnamon oleoresin: Characterization, stability and antimicrobial activity. **Food Research International**, Essex, v. 113, p. 351-361, 2018.

PUBCHEM. **Compound Summary**: Stearic acid. 2021. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Stearic-acid#section=EPA-DSSTox-Classification>>. Acesso em: 5 mar. 2021.

RALLA, T. *et al.* Sugar Beet Extract (Beta vulgaris L.) as a New Natural Emulsifier: Emulsion Formation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 65, n. 20, p. 4153–4160, 2017.

RALLA, T. *et al.* Value addition of red beet (Beta vulgaris L.) by-products: Emulsion formation and stability. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 54, n. 3, p. 619-625, 2018.

RAMOS, J. A. *et al.* Modificação da composição físico-química de beterrabas submetidas a diferentes tipos de corte e métodos de cocção. **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 29, n. 1, p. 108–120, 2014.

RAVICHANDRAN, K. *et al.* Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. **Food Research International**, Essex, v. 50, n. 2, p. 670–675, 2013.

RAVIADARAN, R. *et al.* Ultrasound-assisted water-in-palm oil nano-emulsion: Influence of polyglycerol polyricinoleate and NaCl on its stability. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 52, p. 353-363, 2019.

RIBEIRO, M. D. M. M.; ARELLANO, D. B.; GROSSO, C. R. F. The effect of adding oleic acid in the production of stearic acid lipid microparticles with a hydrophilic core by a spray-cooling process. **Food Research International**, Essex, v. 47, n. 1, p. 38–44, 2012.

RIBEIRO, M. D. M. M. **Comportamento de misturas binárias lipídicas na produção de micropartículas por spray chilling e sua influência na liberação de recheio hidrofílico**. 2010. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

RODRIGUEZ, L. Description and preliminary evaluation of a new ultrasonic atomizer for spray-congealing processes. **International Journal of Pharmaceutics**, Lille, v. 183, n. 2, p. 133–143, 1999.

ROSA, M. T. M. G. *et al.* Obtaining annatto seed oil miniemulsions by ultrasonication using aqueous extract from Brazilian ginseng roots as biosurfactant. **Journal of Food Engineering**, Califórnia, v. 168, p. 68–78, 2016.

SAEIDY, S. *et al.* Emulsion properties of Asafoetida gum: Effect of oil concentration on stability and rheological properties. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 560, p. 114-121, 2019.

- SARTORI, T. *et al.* Ascorbic acid microencapsulation by spray chilling: Production and characterization. **LWT- Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 63, n. 1, p. 353-360, 2015.
- SAVOLAINEN, M. *et al.* Evaluation of controlled release polar lipid microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, Lille, v. 244, n. 1–2, p. 151–161, 2002.
- SCHERZE, I.; KNOTH, A.; MUSCHIOLIK, G. Effect of Emulsification Method on the Properties of Lecithin- and PGPR-Stabilized Water-in-Oil-Emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, Marcel Dekker Inc., USA, v. 27, n. 4, p. 427–434, 2006.
- SCHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S. Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal. **Revista Fitos**, Jacarepaguá, v. 3, n. 2, p. 6-24, 2013.
- SERFERT, Y.; DRUSCH, S.; SCHWARZ, K. Chemical stabilisation of oils rich in longchain polyunsaturated fatty acids during homogenisation, microencapsulation and storage. **Food Chemistry**, Norwich, v. 113, n. 4, p. 1106-1112, 2009.
- SETH, D.; MISHRA, H. N.; DEKA, S. C. Effect of hydrocolloids on the physico-chemical and rheological properties of reconstituted sweetened yoghurt powder. **Journal of the Science of Food Agriculture**, Hoboken, v. 98, n. 5, p. 1696-1702, 2017.
- SHANMUGAM, A.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonic preparation of stable flax seed oil emulsions in dairy systems—physicochemical characterization. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 39, p. 151–162, 2014.
- SILVA, E. K. *et al.* Coupling of high-intensity ultrasound and mechanical stirring for producing food emulsions at low-energy densities. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 47, p. 114–121, 2018.
- SILVA, E. K. *et al.* Ultrasound-assisted formation of annatto seed oil emulsions stabilized by biopolymers. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 47, n. 1, p. 1–13, 2015.
- SILVA, E. K. *et al.* Ultrasound-assisted encapsulation of annatto seed oil: Whey protein isolate versus modified starch. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 56, p. 71–83, 2016.
- SILVA, E. K.; ROSA, M. T. M.; MEIRELES, M. A. A. Ultrasound-assisted formation of emulsions stabilized by biopolymers. **Current Opinion in Food Science**, Illinois, v. 5, p. 50–59, 2015.
- STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, Norwich, v. 15, n. 1, p. 19–38, 2004.
- SIVAKUMAR, M.; TANG, S. Y.; TAN, K. W. Cavitation technology – A greener processing technique for the generation of pharmaceutical nanoemulsions. **Ultrasonics Sonochemistry**, Melbourne, v. 21, n. 6, p. 2069–2083, 2014.

SOBEL, R.; VERSIC, R.; GAONKAR, A. G. Introduction to microencapsulation and controlled delivery in foods Microencapsulation in food industry: **A practical implementation guide**. p. 3–11, 2014.

TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4. ed. Campinas: Núcleo de Estudos e pesquisas em Alimentação - UNICAMP, p. 161, 2011.

TAN, C. P.; MAN, Y. B. C. Comparative differential scanning calorimetric analysis of vegetable oils: I. Effects of heating rate variation. **Phytochemical Analysis**, Hoboken, v. 13, n. 3, p. 129-141, 2002.

TANG, C. B. *et al.* Identification and quantification of adducts between oxidized rosmarinic acid and thiol compounds by UHPLC-LTQ--Orbitrap and MALDI TOF/TOF tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 63, p. 902–911, 2015.

THIRUNDAS, R.; GADHE, K. S.; SYED, I. H. Optimization of wall material concentration in preparation of flaxseed oil powder using response surface methodology. **Journal of Food Processing and Preservation**, Hokoben, v. 38, n. 3, p. 889–895, 2014.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, Essex, v. 43, n. 3, p. 907-914, Apr. 2010.

TONTUL, I.; TOPUZ, A. Influence of emulsion composition and ultrasonication time on flaxseed oil powder properties. **Powder Technology**, Ohio, v. 264, p. 54–60, 2014.

USHIKUBO, F. Y.; CUNHA, R. L. Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 34, p. 145–153, 2014.

VEGA-GÁLVEZ, A. *et al.* Thermodynamic properties, sorption isotherms and glass transition temperature of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L.). **Food Technology and Biotechnology**, Zagrebe, v. 52, n. 1, p. 83–92, 2014.

VERGARA, C. *et al.* Microencapsulation of pulp and ultrafiltered cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) extracts and betanin stability during storage. **Food Chemistry**, Norwich, v. 157, n. 1, p. 246-251, 2014.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos Naturais Bioativos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 157-166, 2009.

YANG, J.; CIFTCI, O.N. Formation of hollow solid lipid micro- and nanoparticles using supercritical carbon dioxide. **Food and Bioproducts Processing**, Monterrey, v. 98, p. 151-160, 2016.

YANG, J.; CIFTCI, O.N. Encapsulation of fish oil into hollow solid lipid micro- and nanoparticles using carbon dioxide **Food Chemistry**, Norwich, v. 231, p. 105-113, 2017.

WANG, M., *et al.* Limited Tyrosine Utilization Explains Lower Betalain Contents in Yellow than in Red Table Beet Genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Munique, v. 65, n. 21, p. 4305–4313, 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**, Illinois, v. 71, n. 2, p. S181–S187, 2006.

WONG, P.C.H.; HENG, P.W.; CHAN, L.W. Determination of Solid State Characteristics of Spray-Congeaed Ibuprofen Solid Lipid Microparticles and Their Impact on Sustaining Drug Release. **Molecular Pharmaceutics**, Washington, v. 12, p. 1592-1604, 2015.

ZHANG, Z.; MCCLEMENTS, D.J. Overview of nanoemulsion properties: stability, rheology, and appearance. In: JAFARI, S. M.; MCCLEMENTS, D.J. (Eds.). **Nanoemulsions and Their Potential Applications in Food Industry**. Londres: Academic Press, p. 20-46, 2018.

ZHONG, T. *et al.* Effects of ultrasound treatment on lipid self-association and properties of methylcellulose/stearic acid blending films. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 131, n. 1, p. 415–423, 2015.

ZUANON, L. A. C. *et al.* Production and Storage Properties of Spray-Dried Red Beet Extract Using Polysaccharide-Based Carrier Systems. **International Journal of Food Engineering**, Califórnia, v. 15, n. 7, p. 1-15, 2019.