



**BRUNNA PEREIRA MOREIRA MENDES**

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO  
DO FERRO ATRAVÉS DA TÉCNICA DE GELIFICAÇÃO  
IÔNICA UTILIZANDO DIFERENTES BLENDS  
POLIMÉRICAS**

**LAVRAS-MG  
2022**

**BRUNNA PEREIRA MOREIRA MENDES**

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO DO FERRO  
ATRAVÉS DA TÉCNICA DE GELIFICAÇÃO IÔNICA UTILIZANDO  
DIFERENTES BLENDS POLIMÉRICAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Engenharia de Biomateriais, para  
obtenção de título de Mestre.

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel

Orientador

**LAVRAS-MG  
2022**

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

Mendes, Brunna Pereira Moreira.

avaliação do processo de microencapsulação do ferro através da  
técnica de gelificação iônica utilizando diferentes blendas  
poliméricas / Brunna Pereira Moreira Mendes. - 2022.

55 p. : il.

Orientador(a): Diego Alvarenga Botrel.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Microencapsulação. 2. Gelificação Iônica. 3. Ferro. I. Botrel,  
Diego Alvarenga. II. Título.

**BRUNNA PEREIRA MOREIRA MENDES**

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO DO FERRO  
ATRAVÉS DA TÉCNICA DE GELIFICAÇÃO IÔNICA UTILIZANDO DIFERENTES  
BLENDAS POLIMÉRICAS**

**EVALUATION OF THE IRON MICROENCAPSULATION PROCESS THROUGH  
THE IONIC GELIFICATION TECHNIQUE USING DIFFERENT POLYMERIC  
BLENDS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, para obtenção de título de Mestre.

APROVADA em 03 de Agosto de 2022

Dr. Diego Alvarenga Botrel	UFLA
Dra. Soraia Vilela Borges	UFLA
Dr. Paulo Sérgio Monteiro	UFV

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel  
Orientador

**LAVRAS - MG  
2022**

*“Dedico esta dissertação à minha mãe Cláudia , meu pai Adelmo, a minha querida irmã  
Gabriela, meu esposo Luan e meu amado filho Bernardo!”*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me guiar e confiar tarefas na certeza de que eu seria capaz de realizá-las.

Aos meus pais Cláudia e Adelmo, pelo exemplo de dedicação, honestidade e incentivo, por todo seu amor e motivação.

A minha irmã Gabriela por todo incentivo e sempre acreditar que eu conseguiria vencer essa etapa.

Ao meu esposo Luan por sempre me apoiar, incentivar e cuidar do nosso bebê nos vários dias que estive no laboratório.

Aos membros que compõem esta banca pela credibilidade, companheirismo, disponibilidade e por ter aceitado o convite.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel por toda a sua paciência, disponibilidade, pela confiança e atenção, pelas oportunidades oferecidas e pela excelente orientação deste projeto.

Ao Laboratório de Embalagens e Encapsulação, por me receber de braços abertos. Agradeço pela atenção e tempo disponibilizado por cada um de vocês para me ensinar cada técnica e pela paciência e apoio ao longo de cada dificuldade que surgia.

Agradeço também toda a ajuda das meninas do Laboratório de Análise Foliar, durante as análises.

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais e Biomateriais, por ter me proporcionado não somente a oportunidade de aprendizado, mas também pelo crescimento pessoal e profissional.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Agradeço a UFLA, pela grande oportunidade.

Por fim, a todos que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho e torceram pelo seu sucesso, o meu muito obrigada.

## RESUMO

O ferro é um nutriente essencial que pode ser facilmente oxidado pela mudança das condições ambientais. A fortificação, pela adição de compostos de ferro diretamente aos alimentos, vinhasendo estudada como um método para superar a deficiência de ferro. No entanto, esta fortificação introduz problemas como impactos no sabor e na aparência dos produtos. O objetivo do presentetrabalho foi avaliar o processo de encapsulação de ferro por meio da técnica de gelificação iônica, utilizando o alginato como matriz encapsulante, adicionando maltodextrina e amido modificado. Para definir as melhores condições de microencapsulação do ferro o trabalho foi realizado em etapas. Foram produzidas soluções utilizando o alginato combinado com outros biopolímeros. Essas soluções foram caracterizadas e analisadas por análise de absorção atômica, eficiência de encapsulação, morfologia, distribuição de tamanho e perfil de liberação. Foi determinada a eficiência de encapsulação, a retenção do ativo ao longo do tempo e o processo de liberação controlada em diferentes ambientes simulados. Os valores de eficiência de encapsulação para o ferro nos tratamentos produzidos com o uso de arpressurizado variaram entre 93,60% e 94,04%. Esses altos valores de eficiência de encapsulação mostram que os sistemas alginato, Alginato e Maltodextrina, Alginato e Amido modificado são matrizes compatíveis que podem ser usadas para encapsular emulsões contendo Ferro ( $Fe^{2+}$ ). Para definir as melhores condições de microencapsulação do ferro o trabalho foi realizado em etapas. Foram produzidas soluções utilizando o alginato combinado com outros biopolímeros. Todas as formulações apresentaram boa eficiência de encapsulação e apresentaram boa homogeneidade e dispersão de tamanho. Em relação ao perfil de liberação, houve diferença quanto à estabilidade das microesferas produzidas pelos diferentes métodos. Com relação aos resultados de digestibilidade *in vitro* é possível observar maiores valores de liberação do ferro no sistema gástrico quando comparado ao sistema intestinal. Com isso, podemos concluir que é possível desenvolver um sistema de liberação controlada contendo ferro, eficiente e estável, utilizando o alginato e biopolímeros complementares como amido e maltodextrina.

**Palavras-chave:** Alginato. Sulfato ferroso. Maltodextrina. Liberação controlada.

## ABSTRACT

Iron is an essential nutrient that can be easily oxidized by changing environmental conditions. Fortification, by adding iron compounds directly to foods, had been studied as a method of overcoming iron deficiency. However, this fortification introduces problems such as impacts on the taste and appearance of the products. The objective of the present work was to evaluate the process of encapsulation of iron through the technique of ionic gelation, using alginate as an encapsulating matrix, adding maltodextrin and modified starch. To define the best conditions for microencapsulation of iron, the work was carried out in stages. Solutions were produced using the alginate combined with other biopolymers. These solutions were characterized and analyzed by analysis of atomic absorption, encapsulation efficiency, morphology, size distribution and release profile. The encapsulation efficiency, asset retention over time and the controlled release process were determined in different simulated environments. The encapsulation efficiency values for iron in the treatments produced with the use of pressurized air varied between 93.60% and 94.04%. These high values of encapsulation efficiency show that alginate, alginate and maltodextrin, alginate and modified starch systems are compatible matrices that can be used to encapsulate emulsions containing iron ( $\text{Fe}^{2+}$ ). in stages. All formulations showed good encapsulation efficiency and showed good homogeneity and size dispersion. Regarding the release profile, there was a difference regarding the stability of the microspheres produced by the different methods. Regarding the in vitro digestibility results, it is possible to observe higher values of iron release in the gastric system when compared to the intestinal system. With this, we can conclude that it is possible to develop a controlled release system containing iron, efficient and stable, using alginate and complementary biopolymers such as starch and maltodextrin.

**Keywords:** Alginate. Ferrous sulfate. Maltodextrin. Controlled release.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema ilustrativo diferenciando os tipos de micropartículas.....	16
Figura 2 – Diferentes estágios de preparação de cápsulas de alginato pelo método de gelificação iônica externa.....	19
Figura 3 – Diferentes estágios de preparação de cápsulas de alginato pelo método de gelificação iônica interna. ....	19
Figura 4 – Características estruturais do alginato: (a) monômeros do alginato; (b) conformação da cadeia.....	23
Figura 5 – Fórmula estrutural da maltodextrina.....	24
Figura 6 – Esquema de reação de esterificação de moléculas de amido com OSA(Anidrido Octenil Succínico).....	26
Figura 7 – Fluxograma das etapas realizadas no estudo .....	29
Figura 8 – Montagem do sistema de bico atomizador duplo fluido adaptado para produção das microesferas.....	31
Figura 9 – Microscopia óptica das microesferas de alginato produzidas nos diferentes tratamentos: (A) Alginato; (B) Alginato Maltodextrina; (C) Alginato Amido. ....	36
Figura 10 – Eletromicrografias obtidas em aumentos de 50X (Alginato, Amido e Maltodextrina) para todos os tratamentos Alginato, Alginato-Amido e Alginato Maltodextrina. alginato amido; (B) alginato; (c) alginato maltodextrina.....	37
Figura 11 – Mapeamento EDS dos tratamentos estudados. Sendo (A) Alginato; (B) Alginato Maltodextrina; (C) Alginato Amido. (1) Área sem o mapeamento do EDS (2) Área mapeada, indicando qual o elemento pela cor. ....	38
Figura 12 – Liberação controlada do Ferro nos tratamentos em temperatura constante de 10,25 e 40°C no intervalo de 5 horas.....	44
Figura 13 – Valores de teor de ferro liberado das microesferas, nos diferentes tratamentos, durante os testes de Digestibilidade in vitro.....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tratamento avaliados para microencapsulação do Ferro através degelificação iônica utilizando o alginato.....	30
Tabela 2 – Concentração elementar das estruturas formadas nos 3 tratamentos contendoferro microencapsulado.....	39
Tabela 3 – Valores dos diâmetros de Sauter (D32) e span das cápsulas para cada formulação. ....	40
Tabela 4 – Valores da porcentagem de eficiência de encapsulação obtidos para cada tratamento realizado na produção das microesferas.....	43

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>A importância do ferro e sua suplementação.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b>Microencapsulação.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3</b>	<b>Gelificação iônica .....</b>	<b>18</b>
2.3.1	Alginato de Sódio .....	22
2.3.2	Materiais carreadores complementares.....	24
2.3.2.1	Maltodextrinas .....	24
2.3.2.2	Amido modificado.....	25
<b>2.4</b>	<b>Mecanismos de liberação .....</b>	<b>27</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
<b>3.1</b>	<b>Materiais .....</b>	<b>29</b>
<b>3.2</b>	<b>Métodos.....</b>	<b>29</b>
<b>3.3</b>	<b>Preparo das soluções.....</b>	<b>30</b>
<b>3.4</b>	<b>Produção das microesferas de alginato.....</b>	<b>30</b>
<b>3.5</b>	<b>Caracterização das micropartículas.....</b>	<b>31</b>
3.5.1	Microscopia ótica (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) .....	31
3.5.2	Distribuição de tamanho.....	32
3.5.3	Eficiência de retenção .....	32
3.5.4	Liberação controlada em meio simulado .....	33
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>4.1</b>	<b>Caracterização das partículas.....</b>	<b>35</b>
4.1.1	Morfologia.....	35
4.1.2	Distribuição de tamanho.....	40
<b>4.2</b>	<b>Eficiência de Encapsulação.....</b>	<b>42</b>
<b>4.3</b>	<b>Perfil de liberação .....</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>48</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos estuda diferentes tecnologias com o objetivo de otimizar processos, aumentar a vida útil dos produtos e melhorar as características nutricionais e sensoriais de um alimento.

A deficiência de ferro afeta cerca de 30% da população mundial, sendo os grupos mais vulneráveis as mulheres em idade reprodutiva e as crianças em geral, onde a diminuição na capacidade de aprendizagem e anormalidades na resposta de imunização são algumas das consequências causadas por esta carência. Assim, estratégias de prevenção têm sido utilizadas, como, por exemplo, a fortificação de alimentos. Contudo, a adição de ferro livre a esses produtos torna-se, na maioria das vezes limitante e, até mesmo, inviável, devido a características como reatividade, sabor, odor e cor que o metal confere.

Nesse cenário de inovações, a aplicação de técnicas de microencapsulação apresenta um papel importante na área de alimentos, revestindo e protegendo compostos sensíveis do meio externo. Com isso, o uso da microencapsulação para carrear o ferro é muito interessante pois caracteriza-se como uma alternativa para tornar a adição deste elemento em matrizes alimentícias mais viável pois tem algumas funções como diminuir a reatividade do componente de núcleo com o meio externo, facilitar a manipulação do material encapsulado, promover a liberação controlada, promover a diluição do material encapsulado em uma formulação melhorando, assim, as condições de armazenamento. Uma das principais vantagens do método é a formação de uma barreira entre o composto ativo e o ambiente externo. A barreira é formada, em razão dos polímeros de matriz, que criam redes, por meio das propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas. Com o propósito de proteger o material desejado, são utilizadas diversas substâncias com a finalidade de recobrir e agir como barreira. Essas substâncias são chamadas de material de parede, sendo majoritariamente biopolímeros tais como carboidratos e proteínas.

Neste contexto o objetivo do presente trabalho foi avaliar o processo de encapsulação de ferro por meio da técnica de gelificação iônica, utilizando o alginato como matriz encapsulante, adicionado de maltodextrina e amido modificado. Para isso, foi determinado a eficiência de encapsulação, a retenção do ativo ao longo do tempo, e o processo de liberação controlada em diferentes ambientes simulados.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A importância do ferro e sua suplementação em alimentos

O ferro é um elemento importante para a saúde do organismo, consistindo em um nutriente indispensável ao homem, sendo o quarto elemento mais abundante do planeta, sua obtenção desempenha uma função importante no desenvolvimento da civilização atual, sendo um nutriente indispensável para vida. Distingue-se como um elemento que está envolvido em vários processos do organismo, como para o transporte de oxigênio no sangue (hemoglobina); para o armazenamento de oxigênio no tecido muscular do corpo (mioglobina); para a síntese de DNA e para o metabolismo energético, ajudando na defesa do organismo, sem ele, a vida não seria possível. A maior quantidade de ferro do organismo está na hemoglobina, logo uma pessoa adulta tem no seu organismo de 4 a 5 g de ferro, ficando estocado em suas células do fígado, baço e medula óssea no formato de ferritina e hemossiderina, como afirma Paiva et al. (2000) e Grotto (2008).

Conforme Gigliotti (2012) e Moura (2006), quase 40% da população mundial, cerca de 2 a 3 bilhões de pessoas apresentam deficiência de ferro e essa ausência ocorre principalmente em países que estão em desenvolvimento, como é o caso do Brasil, acontecendo com maior frequência nas regiões mais carentes do país, como o nordeste e a Amazônica. A deficiência de ferro causa consequências para todo o organismo, sendo a anemia a manifestação mais grave, originando implicações como fraqueza, diminuição da capacidade respiratória e tontura, podendo levar a morte. Segundo Moreira (2011), o ferro é considerado elemento de transição mais atuante no meio biológico, mas de acordo com Lemos (2010), no organismo é necessário que exista um completo equilíbrio no metabolismo do ferro de maneira que não exista falta ou excesso, pois o excesso de ferro no organismo não é benéfico, causa toxicidade.

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

1997).

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

A fortificação com ferro é um método complexo, pois as formas biodisponíveis são quimicamente reativas e produzem, na maioria das vezes, efeitos indesejáveis quando adicionadas aos alimentos. A complexidade na fortificação do ferro consiste na seleção de um composto que seja discreto e bem absorvido, ressaltando que os compostos solúveis são mais bem absorvidos e quimicamente mais reativos, enquanto os compostos com fosfato são pouco reativos e apresentam baixa biodisponibilidade em seres humanos (CARDOSO; PENTEADO, 1994). Os nutrientes essenciais para a manutenção da saúde no ser humano são fornecidos em grande parte pela alimentação. As fontes podem ser naturais ou industrializadas. Dentre os alimentos processados pode-se diferenciar os produtos de acordo com a seguinte classificação:

Alimento fortificado ou enriquecido de nutrientes todo alimento ao qual foi adicionado ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo e/ou prevenir ou corrigir deficiências demonstradas em um ou mais nutrientes, na alimentação da população ou em grupos específicos, de acordo com a Portaria n° 31, de 13 de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998a).

Suplemento alimentar: “Suplementos vitamínicos e/ou de minerais são alimentos que servem para contemplar com estes nutrientes a dieta diária de uma pessoa saudável, em casos onde sua ingestão a partir da alimentação, seja insuficiente ou quando a dieta requerer suplementação”. Devem conter um mínimo de 25%, e no máximo até 100% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitaminas e ou minerais, na porção diária indicada pelo fabricante, não podendo substituir os alimentos, nem serem considerados como dieta exclusiva, de acordo com a Portaria n° 32, de 13 de janeiro de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 1998b).

Vitaminas e minerais são adicionadas em misturas nutricionais secas para fortificar grande variedade de alimentos, como cereais matinais, laticínios, alimentos infantis, etc. Tanto as vitaminas solúveis em óleo quanto em água, assim como os minerais, podem ser encapsulados com uma variedade de encapsulantes. A encapsulação reduz odores e aromas indesejáveis gerados por certas vitaminas e minerais, permite a liberação gradual dos nutrientes, aumenta a estabilidade à temperatura e umidade, e diminui reações possíveis de certos nutrientes com outros ingredientes.

A fortificação de alimentos de amplo consumo, regular e frequentemente é uma

estratégia adotada em muitos países, para melhorar os estoques de micronutrientes, como o Fe e assim reduzir o risco de múltiplas deficiências (FAO/WHO, 2007). Vários produtos se apresentam fortificados com ferro, como por exemplo os cereais matinais, leite, bebidas à base de soja, condimentos e café. Contudo, a utilização deste mineral em matrizes alimentares apresenta alguns desafios, que precisam ser superados, tais como, variações na biodisponibilidade do ferro, alterações sensoriais e indesejáveis de cor, formação de sedimentos e seu efeito sobre a oxidação lipídica (SUGIARTO; YE; SINGH, 2009; ARCANJO, AMANCIO, BRAGA, 2009).

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

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

No Brasil, o sulfato ferroso é o sal de escolha utilizado na reposição de ferro, sendo desenvolvidas ações de suplementação profilática desde 2005, através do Programa Nacional de Suplementação de Ferro (PNSF).

Conforme estabelecido a recomendação de suplementação de ferro para tratamento da anemia ferropriva em crianças menores de dois anos é de 3mg de ferro/Kg/dia, não devendo ultrapassar a 60 mg por dia e para adultos é de 120 mg de ferro elementar/dia por três meses (BRASIL, 2013).

A microencapsulação do ferro é motivada por alguns fatores, por exemplo, (ZIMMERMANN, WINDHAB, 2010; DURAN et al., 2020):

- Proteção do Fe de fatores ambientais adversos e reduzir as interações de Fe com componentes de alimentos que causam alterações de cor e menor biodisponibilidade de ferro, como taninos, polifenóis e fitatos;
- Mascaram o sabor metálico do Fe quando incorporado aos alimentos, uma vez que os materiais encapsulados atuam como barreira, impedindo o contato direto entre os receptores de ferro e gosto;
- Reduzir o efeito catalítico do ferro sobre a oxidação das gorduras;
- Diminuir os efeitos adversos gastrointestinais e outros efeitos secundários, como:

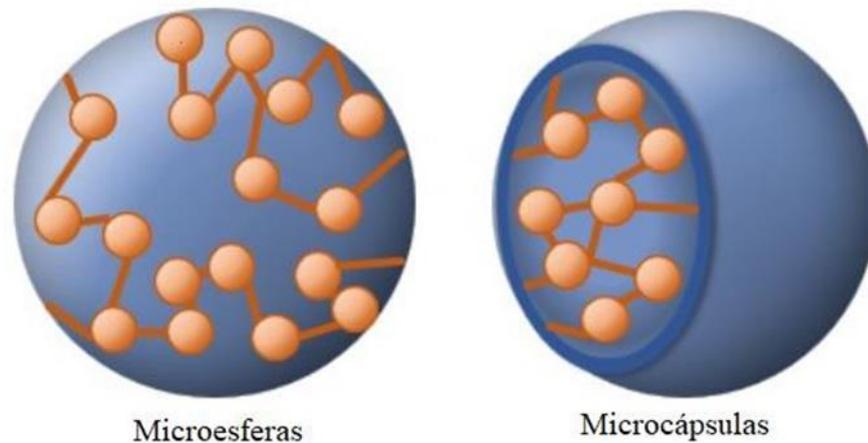
escurecimento dos dentes, dor abdominal, azia, náusea, diarreia, constipação e fezes negras;

- Permitir a possibilidade de mistura de minerais também compostos que promovam sua absorção, por exemplo o ácido ascórbico. Gupta e colaboradores (2015) microencapsularam o ferro com uma técnica de evaporação de solvente modificada, utilizando como material de parede misturas de goma arábica, maltodextrina e amido modificado. As micropartículas contendo ferro foram adicionadas ao leite e tiveram suas características sensoriais e estabilidade oxidativa avaliadas. Os resultados adquiridos do trabalho permitiram que os pesquisadores concluíssem que os materiais de parede utilizados se destacaram como superiores e convenientes para microencapsulação de ferro. Churio e Valenzuela (2018) utilizaram a técnica de gelificação iônica para microencapsulação com sais de ferro não heme como sulfatoferroso, sulfato de amônio ferroso, citrato férrico, fumarato ferroso e quelato de bis-glicinato ferroso em diferentes concentrações como fonte de ferro e como material de parede o alginato foi escolhido. Os resultados mostraram elevada eficiência de encapsulamento e resistência a condição de incubação gástrica, sendo que a maioria dos teores de ferro foi liberado em condições de incubação intestinal, que é o local alvo para a absorção dos diferentes tipos de ferro utilizados no experimento.

## 2.2 Microencapsulação

Microencapsulação é um processo no qual ingredientes bioativos são envolvidos por um revestimento para formação de partículas, chamadas de microesferas ou microcápsulas e que possuem diversas propriedades funcionais (CASTRO-ROSAS et al., 2017). As micropartículas são partículas cujo diâmetro pertencem à escala micrométrica (1 a 1000  $\mu\text{m}$ ), e são obtidas pelo processo de microencapsulação, que consiste em revestir ou incorporar materiais ativos em camadas poliméricas. Conforme descrito por Matté e Rosa (2013), este processo resulta em estruturas que podem ser classificadas em duas subdivisões de acordo com suas morfologias: microcápsula, formada quando o material ativo compõe um núcleo que é revestido por uma membrana composta pelo agente de parede; ou microesfera, formada quando o material ativo está disperso por toda a matriz polimérica composta por uma matriz homogênea, na qual o material encapsulado pode ser incorporado, como mostra a Figura 1.

Figura 1 – Esquema ilustrativo diferenciando os tipos de micropartículas.



Fonte: adaptado de Nascimento et al. (2021).

Esse processo tem sido amplamente utilizado para melhorar a aceitação de produtos pelos consumidores, adicionando aromas solúveis em alimentos aquosos, mascarando substâncias com aromas e sabores incompatíveis (SÍRO et al., 2008). A microencapsulação também pode proteger um componente ativo dos efeitos adversos das interações com a umidade, ácido, calor, oxigênio, luz e ingredientes, melhorando assim a estabilidade do componente ativo (NOH et al., 2018). Outro benefício da microencapsulação é o controle do ponto de liberação ou dos parâmetros de liberação (FATTAHI; BORHAN; ABIDIAN, 2013). Através de sistemas microencapsulados de liberação controlada, é possível promover com mais precisão quando o componente ativo será disponibilizado para o seu destino.

A microencapsulação permite o revestimento fino de partículas sólidas, gotas de líquidos e dispersões em pequenas cápsulas, formando um filme protetor que libera seu conteúdo sob condições controladas. Na indústria alimentícia, essa técnica tem solucionado limitações no emprego de ingredientes, visto que pode suprimir ou atenuar sabores indesejáveis, reduzir a volatilidade e a reatividade e aumentar a estabilidade destes em condições ambientais adversas, como na presença de luz, oxigênio e pH extremos. Tem sido utilizada para manter a estabilidade de probióticos durante o processamento e estocagem dos alimentos, além de aumentar a resistência no decorrer do trato digestório, possibilitando que estes cheguem ao intestino grosso com condições de sobrevivência e colonização.

Existem diversas técnicas de microencapsulação que podem ser classificadas em: métodos físico-químicos, como coacervação, gelificação e técnicas envolvendo emulsificação; métodos químicos, como a polimerização interfacial; e métodos físicos, como liofilização, atomização e extrusão (OLIVEIRA et al., 2006). A seleção de um método depende de fatores econômicos, da sensibilidade do núcleo, do tamanho da microcápsula desejada, das

propriedades físico-químicas do núcleo e do material de parede, bem como do mecanismo de liberação e da aplicação desejada (JACKSON; LEE, 1991).

Durante o processo de microencapsulação, a escolha do material encapsulante é uma etapa de grande importância e deve se basear nas características do composto bioativo, na aplicação pretendida e no método de formação das partículas. Existem diversas técnicas que têm sido empregadas na elaboração de microcápsulas e a seleção do método mais adequado deve ser realizada com base nas propriedades físicas e químicas do material que será encapsulado e do agente encapsulante, analisando-se a finalidade de aplicação do ingrediente alimentício.

O processo de encapsulamento deve desempenhar diferentes funções como: encapsular eficientemente e em quantidades apreciáveis o componente em questão na forma em que seja facilmente incorporado ao alimento, proteger o componente de degradação química (oxidação e hidrólise, por exemplo) para que este permaneça ativo e deve ser compatível com a matriz específica do alimento onde é incorporado (MCCLEMENTS, 2005). O desafio para o encapsulamento de ingredientes envolve principalmente a seleção do material apropriado de revestimento. A modificação ativa de componentes da matriz pode fornecer melhoras na funcionalidade da matriz com respeito ao processo de encapsulamento bem como a estabilidade do material (DRUSCH et al., 2006).

### **2.3 Gelificação iônica**

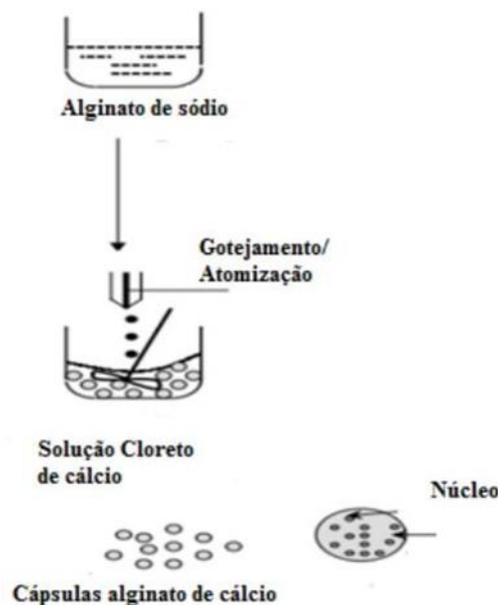
A gelificação iônica é uma técnica de microencapsulação baseada na capacidade de polissacarídeos aniônicos, como a pectina, alginato, goma carragena e goma gelana de formar gel na presença de íons como o cálcio (BUREY et al., 2008; SILVA et al., 2006). Os mecanismos de gelificação iônica para a formação de partículas têm sido realizados principalmente por dois processos, sendo estes a gelificação interna e a externa.

A gelificação iônica interna conforme pode ser visto na figura 02, produz partículas por meio da adição de sais de cálcio insolúveis em uma solução polimérica contendo material de núcleo, com posterior dispersão desta mistura em uma fase oleosa contendo surfactante. Para que a gelificação ocorra, adiciona-se uma solução ácida para a redução do pH, a fim de liberar os íons cálcio, permitindo sua complexação com os grupos carboxílicos do alginato. Já a gelificação iônica externa conforme pode ser visto na figura 03 é uma técnica onde partículas são produzidas pelo gotejamento de uma solução polimérica, geralmente negativamente carregada, em uma solução catiônica, normalmente contendo cálcio, com agelificação

ocorrendo através difusão de cátions para dentro da solução de hidrocoloide (SCHOUBBEN et al., 2010). O método de gelificação externa além de simples, não necessita a utilização de solventes orgânicos, apresentando grande potencial para a aplicação nas áreas farmacêuticas, biomédicas e alimentícia (PATIL et al., 2010).

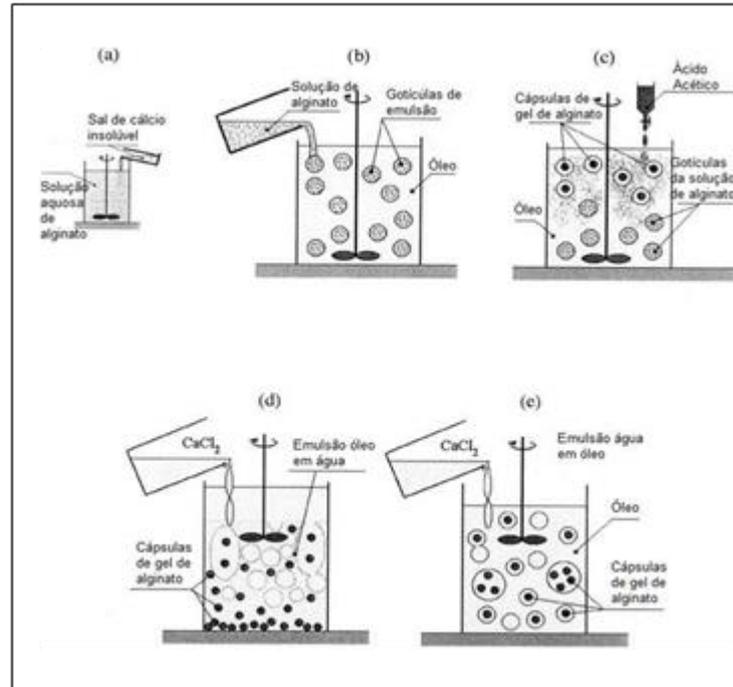
Como pode ser visto na Figura 2, o contato de gotas de uma solução de alginato de sódio na presença dos íons de cálcio, por exemplo, resulta na formação instantânea de estruturas de hidrogéis insolúveis em água. O composto ativo fica uniformemente disperso por toda a matriz de proteção (BENAVIDES et al., 2016). A interação de íons multivalentes com grupos carboxílicos das cadeias poliméricas resulta na formação de gel insolúvel, tornando possível obter microesferas de diferentes formas e tamanhos (NAZARENO et al., 2016). Em alguns casos é necessário ainda, uma etapa de estabilização das microesferas que pode ser obtida por retificação, obtida pela formação de ligações cruzadas (*cross-linking*) na matriz, ou ainda por redução do teor de umidade.

Figura 2 – Diferentes estágios de preparação de cápsulas de alginato pelo método de gelificação iônica externa.



Fonte: Adaptado de Holkem et al. (2015).

Figura 3 – Diferentes estágios de preparação de cápsulas de alginato pelo método de gelificação iônica interna.



Fonte: Adaptado de Poncelet et al. (1999).

Partículas de gelificação iônica podem ser preparadas por extrusão ou atomização. No processo de extrusão, a solução, com o material de parede e recheio, é gotejada em uma solução iônica por meio de uma agulha, com ou sem velocidade controlada. Na atomização, o ar comprimido mistura-se à solução a ser encapsulada, pressionando a passagem da solução por um orifício de tamanho controlado (BUREY et al., 2008; PATIL et al., 2010). O uso de ar forçado no auxílio à produção destas micropartículas tem sido estudado e avaliado pois proporciona a formação de estruturas de tamanhos reduzidos, as quais apresentam melhores possibilidades de aplicações em matrizes alimentícias.

A gelificação iônica é um processo simples, que não requer o uso de solventes orgânicos nem de temperatura ou pH extremos, tornando-se de baixo custo em comparação com outras técnicas (PATIL et al., 2010). Além disso, a gelificação iônica permite encapsular substâncias hidrofílicas ou hidrofóbicas (MCCLEMENTS, 2005). Por outro lado, apesar das partículas de gelificação iônica serem adequadas para a encapsulação, estas são sensíveis a valores de pH extremos. Além disso, seu principal diferencial é a porosidade da matriz, a qual determina a liberação da substância encapsulada. Para superar essa limitação pode-se modificar a estrutura do gel, a partir da combinação de diferentes tipos de biopolímeros, de forma a garantir o aproveitamento das vantagens da composição química de cada composto ou pela interação com polieletrólitos como proteínas (PATIL et al., 2010).

Partículas formadas por gelificação iônica apresentam alta porosidade, e consequente

elevado índice de difusão, podendo acelerar a liberação do material de recheio (SEZER; AKBUGA, 1999). Por esta razão, tem sido proposta a formação de complexos estáveis de polissacarídeos com proteínas, baseada principalmente na interação eletrostática entre dois polímeros de cargas opostas, resultando na formação de um complexo sobre a superfície da partícula de gelificação iônica (THU; SMIDSRØD; SKJAK-BRICK, 1996), ou até mesmo a mistura de biopolímeros para tentar garantir uma melhor compactação, com redução da porosidade, da estrutura polimérica formada. Quando uma mistura física de dois ou mais polímeros é realizada, sem a formação de reação química intencional entre seus componentes, obtém-se uma mistura mecânica ou blenda polimérica (JACOB, 2006). As blendas poliméricas podem apresentar várias vantagens em relação aos seus componentes puros (LIMA, 2006). A produção de blendas, formadas a partir de polímeros biodegradáveis, tem a finalidade de melhorar propriedades físicas, químicas e mecânicas, aumentar a taxa de biodegradação (ISHIAKU et al., 2002) e reduzir o custo de obtenção de um novo material, quando comparado com a síntese de um novo polímero (LIMA, 2006).

Por meio da gelificação iônica, é possível a produção de dietas proteicas ricas em carboidratos, além de incorporar partículas insolúveis em água na sua composição com o uso de hidrocoloides, atuando com eficiência como uma matriz impermeável para oxigênio, certos compostos orgânicos e acidez. As propriedades das partículas formadas pela gelificação como o volume, índice de difusão dos solutos para dentro ou fora da matriz, cinética de formação do gel e também porosidade e estabilidade das cápsulas são influenciadas precisamente pela força iônica, concentração dos cátions e do polissacarídeo e pelo pH (MUKAI-CORRÊA et al., 2004; PONCELET et al., 1999).

Na área de alimentos os hidrocoloides mais utilizados são o alginato e a pectina. São polieletrólitos naturais e com grande capacidade de formação de hidrogéis possuindo uma característica vantajosa de biocompatibilidade com membranas e ausência de tensão interfacial com fluidos (VOS et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2014; CHAN et al., 2006). A principal desvantagem desse método é sua alta permeabilidade.

O uso de ar comprimido para atomizar as soluções no banho de gelificação é uma alternativa viável para produzir partículas em tamanhos reduzidos, quando comparado ao processo que utiliza gotejamento por ação apenas da gravidade. A atomização é a desintegração do líquido em pequenas gotas. O controle do tamanho das gotas está relacionado ao estudo do mecanismo usado para quebrar as lâminas de líquido. Processos convencionais de atomização, como atomização por pressurização, usam a energia mecânica para pressurizar a lâmina de líquido, aumentando sua energia cinética para uma possível desintegração para formação das

microcápsulas, porém esses processos requerem mais energia (RAMISETTY; PANDIT; GOGATE, 2013).

### 2.3.1 Alginato de Sódio

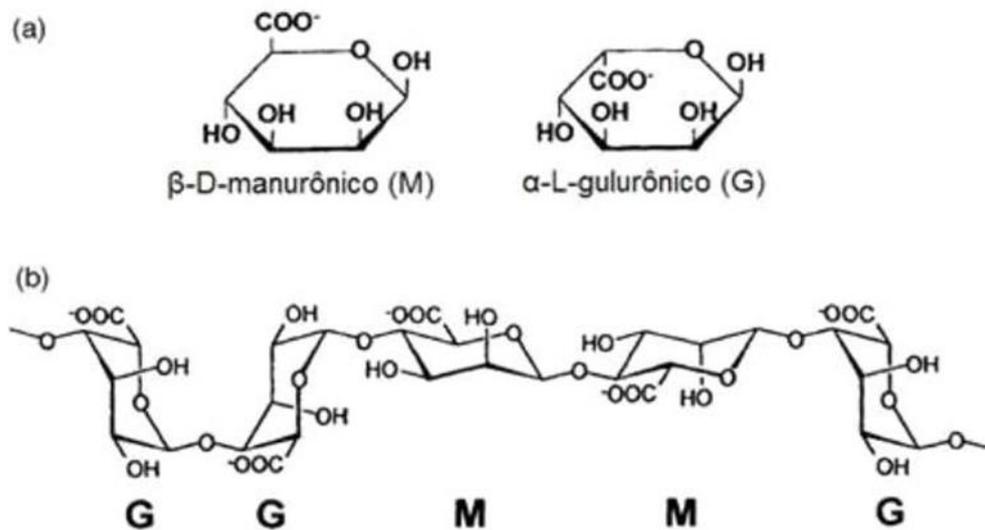
O Alginato é um polissacarídeo encontrado tanto na matriz intercelular de algas marrons quanto recobrando, extracelularmente, algumas espécies de bactérias (DRAGET et al., 2006). Esses polímeros pertencem a uma família de polissacarídeos lineares não ramificados, e são constituídos por duas unidades monoméricas, o ácido  $\beta$ -D-manurônico e o ácido  $\alpha$ -L-gulurônico, cujas as estruturas estão apresentadas na Figura 4. A proporção e o tamanho desses seguimentos variam com a espécie e interferem nas propriedades e funções dos polímeros (DRAGET et al., 2006). As unidades G são as moléculas do alginato que formam reticulação com íons divalentes e, portanto, é a principal característica estrutural que contribui para a formação de gel (STRÖM et al., 2009). Em geral, alginatos com elevado teor de unidades G formam géis estáveis, com permeabilidade elevada quando comparada com alginatos com um alto teor de unidades M (MARTINSEN, SKJÅK-BRÆK, SMIDSRØD, 1989). Em geral, alginatos formam géis segundo o modelo “caixa de ovos” (GRANT et al., 1973) e apresentam valor de pKa entre 3,20 – 3,38 (MARTINSEN, STORRØ, SKJÅRK-BRÆK, 1992).

O uso do alginato é favorável porque esse reagente é mais barato, mais simples e de maior biocompatibilidade em comparação com outros polímeros (KLEIN; STOCK; VORLOP, 1983; KRASAEKOOPT; BHANDARI; DEETH, 2003). No entanto, o gel de alginato é suscetível à desintegração na presença de excesso de agentes quelantes e ambiente químico severo, como pH muito baixo (KRASAEKOOPT; BHANDARI; DEETH, 2003). Policátions, tais como proteínas do soro de leite, além de reduzirem a porosidade do gel, formam um complexo forte com alginatos que são estáveis na presença de agentes quelantes (GOMBOTZ; WEE, 1998; SMIDSRØD et al., 1990). Recentemente, matrizes de alginato têm sido utilizadas na viabilização da encapsulação de probióticos para a alimentação de humanos (ZHANG et al., 2011). Partículas de alginato obtidas por gelificação iônica recobertas com proteínas do soro de leite sem desnaturação térmica têm sido elaboradas para encapsulação de probióticos com objetivo específico de produzir proteção gástrica aos microorganismos (GBASSI et al., 2011). Estas partículas podem, ainda, ser utilizadas para melhorar as propriedades qualitativas de vários lipídios funcionais, como óleos de peixes e azeite de oliva (SUN-WATERHOUSE et al., 2012).

O uso do Alginato como material encapsulante é muito importante, por ser um polímero

natural de relativo baixo custo, de fácil obtenção, biocompatível, atóxico e biodegradável, que não necessita utilização de solventes orgânicos e nem condições rigorosas de temperatura para a formação das partículas (FUJIWARA et al., 2013). No processo de microencapsulação, o tamanho das micropartículas obtidas com o alginato como material de parede está diretamente relacionado com a concentração e a viscosidade da solução de alginato empregada, observando-se que baixas concentrações favorecem a redução do tamanho das partículas. Entretanto, concentrações reduzidas diminuem também a resistência mecânica e a estabilidade das micropartículas (SACCHETIN et al., 2010).

Figura 4 – Características estruturais do alginato: (a) monômeros do alginato; (b) conformação da cadeia.



Fonte: Draget et al. (2006).

O processo de gelificação para microencapsulação de compostos bioativos utilizando alginato é promovido pela gelificação externa, ou seja, uso do cloreto de cálcio como fonte de cálcio da solução de reticulação. Os materiais formados, devido ao seu grau de reticulação iônica e funcionalidade, permitem o controle de entrada de água e então a liberação do composto bioativo. A liberação controlada é realizada através de mudanças no pH.

Basicamente, para um componente bioativo hidrofóbico é feita uma solução em solução de alginato e a formação das esferas se dá, de forma mais simples, pelo gotejamento da solução polimérica e ativo em uma solução de cálcio, onde a gelificação ocorre na superfície da gota até a completa formação das microesferas (gelificação externa) (DIAS; FERREIRA; BARREIRO, 2015). Além disso, o alginato apresenta alta viscosidade em baixas concentrações, o que ocasiona a formação de uma rede de gel de baixa densidade, que apresenta pouca

propriedade de barreira. Para reduzir essa porosidade e melhorar a eficiência do efeito de barreira, o alginato tem sido combinado a outros materiais poliméricos naturais, que aumentam as propriedades mecânicas do gel e reduzem a permeabilidade (BELŠČAK-CVITANOVIĆ *et al.*, 2015).

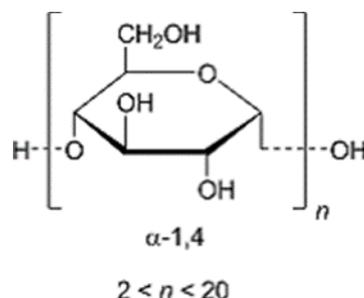
## 2.3.2 Materiais carreadores complementares

### 2.3.2.1 Maltodextrinas

A maltodextrina ou amidos hidrolisados são amplamente utilizados em processos de microencapsulação, principalmente, pelo método de *spray drying*. Esses carboidratos são formados pela hidrólise parcial, por ação de ácidos ou enzimas, do amido de milho e estão disponíveis em diferentes dextroses equivalentes (DE), que indicam o nível de hidrólise do polímero de amido (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007)

Por definição, as maltodextrina (Figura 5) são obtidas por hidrólise do amido e constituídas de unidades de  $\alpha$ -D-glicose unidas principalmente por ligações glicosídicas (1 $\rightarrow$ 4). Também ocorrem ramificações à estrutura linear por ligações  $\alpha$ -1,6. Apresentam uma fórmula geral igual a  $[(C_6H_{10}O_5)_nH_2O]$  com valor energético aproximadamente de 4 kcal/g, (KENNEDY; KNILL; TAYLOR *et al.*, 1995).

Figura 5 – Fórmula estrutural da maltodextrina.



Fonte: Gupta *et al.* (2015).

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

GHARSALLAOUI et al, 2007).

Para ser classificado como maltodextrina, o produto deve apresentar um valor de dextrose equivalente (DE) menor que 20. Se o DE é maior que 20, são chamados de xarope de Glicose (SHAHIDI; PEGG, 1991). Os diferentes valores de DE apresentam diferentes propriedades físico-químicas, incluindo solubilidade, temperatura de congelamento e viscosidade (KLINKESORN et al., 2004). As maltodextrinas (DE < 20) são produtos pouco higroscópicos, não apresentam doçura e são amplamente usadas como agentes de corpo de produtos alimentícios. Enquanto que os hidrolisados com DE maiores de 20, os xaropes de milho, apresentam uma leve doçura e maior capacidade de absorver umidade (BE MILLER, WHISTLER, 1996).

### **2.3.2.2 Amido modificado**

Amido e ingredientes à base de amido (amidos modificados, maltodextrinas,  $\beta$ -ciclodextrinas) são amplamente utilizados na indústria de alimentos, com a funcionalidade de reter e proteger compostos voláteis. Estes materiais podem agir como veículos para encapsulamento de aroma, substitutos de gordura e também como estabilizadores de solução (MADENE et al., 2006)

É uma substância relativamente barata, sendo uma alternativa para o uso de materiais mais onerosos, como gomas e isolados proteicos. O amido é a principal substância de reserva nas plantas superiores, fornecendo de 70% a 80% das calorias consumidas pelo homem. Os depósitos permanentes de amido nas plantas ocorrem tanto nos órgãos de reserva quanto em grãos de cereais, como milho, arroz e trigo e em tubérculos e raízes, como batata e mandioca (LEONEL; CEREDA, 2002).

O mercado de amidos vem crescendo e se aperfeiçoando nos últimos anos, levando à busca de produtos com características específicas que atendam

às exigências da indústria. A produção de amidos modificados é uma alternativa que vem sendo desenvolvida há algum tempo com o objetivo de superar uma ou mais limitações dos amidos e, assim, aumentar a utilidade deste polímero nas aplicações industriais (LEONEL; JACKEY; CEREDA, 1998).

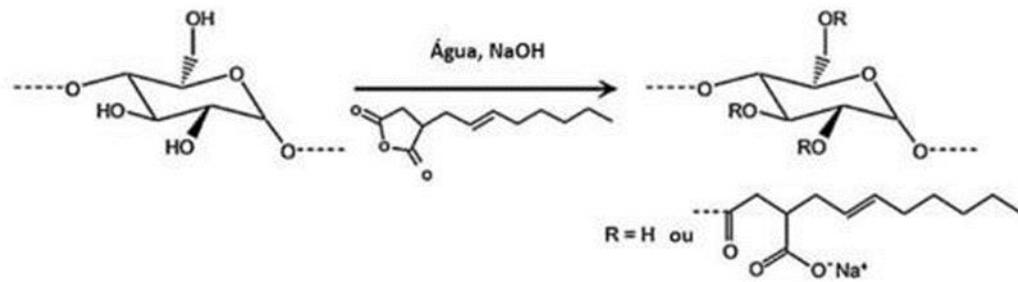
Algumas das razões que levam à modificação do amido incluem modificar as características de gelatinização, diminuir a retrogradação e a tendência das pastas em formarem géis; aumentar a estabilidade das pastas ao resfriamento e descongelamento, a transparência das pastas ou géis e a adesividade; melhorar a textura das pastas ou géis e a formação de filmes; adicionar grupamentos hidrofóbicos e introduzir poder emulsificante (SILVA et al., 2006).

O amido modificado Capsul®, por exemplo, é um tipo de amido amplamente utilizado na microencapsulação de aditivos alimentícios. Trata-se de um amido de milho quimicamente modificado por incorporação de um componente lipofílico (grupos octenil succinato). Esse amido atende, geralmente, a todos os requisitos para os agentes carreadores requeridos para a microencapsulação por spray drying. Além de emulsificante, possui propriedades estabilizadoras e capacidade de formação de película. Assim, o amido modificado por inclusão de um grupo lipofílico ou Capsul® (nome comercial) tem capacidade de oferecer excelente propriedade emulsificante para uma grande variedade de mistura com voláteis, como ácidos graxos de cadeia curta, óleos essenciais cítricos, óleos vegetais e outros ativos, com a função estabilizadora para o processo de secagem por atomização. O amido de milho modificado por inclusão de grupamento lipofílico tem se tornado um substituto de proteínas e da goma arábica, por custar, em média, três vezes menos, ser usado em menor quantidade (em peso), além de estar prontamente disponível (ABURTO; TAVARES; MARTUCCI, 1998; FINOTELLI, 2002).

O amido modificado Capsul® também tem a capacidade de formar emulsões finas, com a formação de película envolvente, proporcionando boa estabilidade para as mesmas. Estas características tornam o Capsul® útil na maximização da retenção de materiais ativos no núcleo e na minimização da retenção destes na superfície das microcápsulas na secagem por atomização. Dessa forma, a associação de polímeros hidrofílicos e/ou hidrofóbicos torna-se vantajosa e, portanto, é amplamente utilizada em muitos produtos farmacêuticos e alimentares para a produção de micropartículas (DALMORO et al., 2012).

Figura 6 – Esquema de reação de esterificação de moléculas de amido com OSA (Anidrido Octenil

Succínico).



Fonte: Sweedman et al. (2013).

## 2.4 Mecanismos de liberação

É importante ressaltar que além da proteção do material encapsulado, a técnica de microencapsulação objetiva também ótimas condições de liberação do material ativo nos locais e tempos apropriados a fim de obter melhor eficácia e disponibilidade do composto de interesse. É importante ressaltar que a liberação de alguns compostos deve ser evitada durante o processamento e armazenamento dos produtos alimentícios, ocorrendo no corpo do consumidor (COMUNIAN; FAVAROTRINDADE, 2016).

A liberação de um agente ativo pode ser baseada em um ou em uma combinação de mecanismos de liberação e esses podem ser: estímulo específico, tempo específico, sítio específico. O mecanismo de liberação pode ser classificado de acordo com o fenômeno físico-químico associado com a substância ativa liberada: difusão controlada, barreira controlada, ativada por pressão, ativada por solvente, controle osmótico, controle por pH, sensibilidade à temperatura, ativada por fusão e sistemas combinados (ESTEVINHO et al., 2013).

Qualquer tipo de interação molecular que ocorre durante o processo de encapsulação (spray drying, coacervação complexa, gelificação iônica ou complexação) pode ser desfeita com adição de solventes ou pela variação de pH. Os valores de pH determinam a liberação dos compostos encapsulados já que a variação desses valores alteram a solubilidade dos materiais de parede (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). Em sistemas de microencapsulação que utilizam o alginato o pH do meio tem influência direta na liberação do composto. Em meio ácido a presença de íons H<sup>+</sup> está associada ao mecanismo de diminuição da repulsão eletrostática do gel formado, permitindo ou não a liberação do composto. Soluções de pH neutro podem alterar a estabilidade da parede devido à competição pelos sítios de ligação do Ca<sup>2+</sup>, que é excluído e então a densidade do gel reticulado

diminui, permitindo a liberação do composto encapsulado. Nesses sistemas de encapsulação, a liberação dos compostos em meios com valores de pH mais elevados está associada à taxa de degradação do alginato que aumenta devido ao aumento da taxa de  $\beta$ - eliminação (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2015; HARIYADI et al., 2010).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

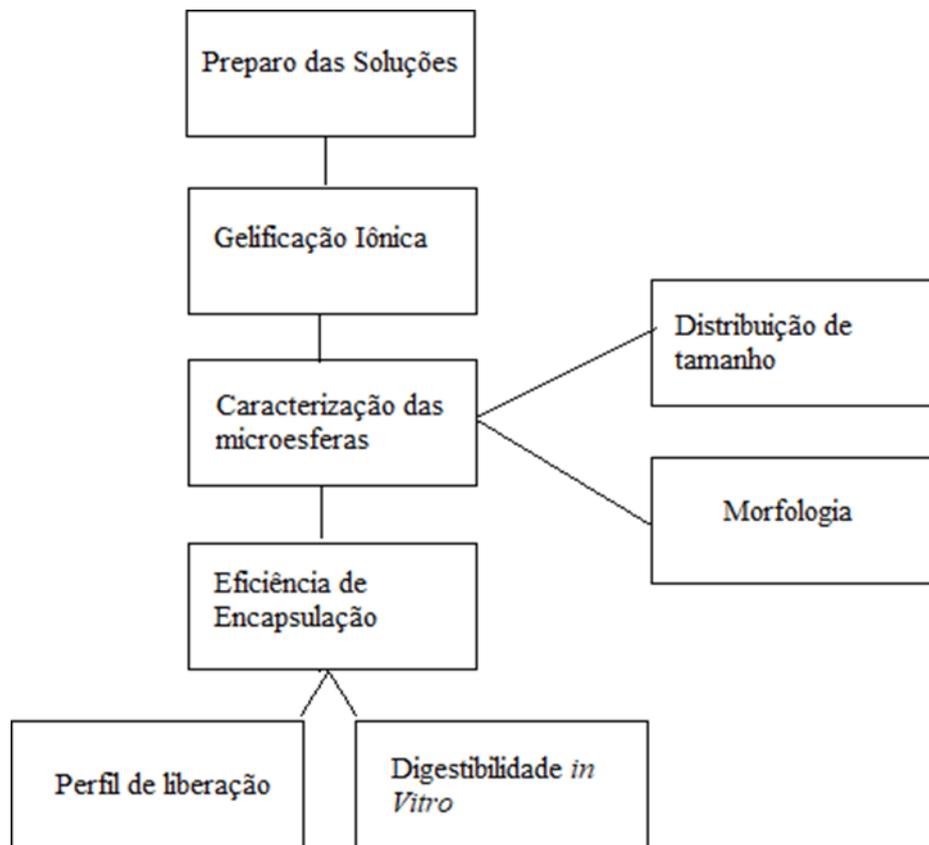
#### 3.1 Materiais

Para a formação das microesferas foi utilizado alginato de sódio (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) e cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA). O composto bioativo encapsulado foi Sulfato ferroso  $\text{Fe}^{2+}$  (SULFATO DE FERRO II  $\text{OSO } 7\text{H}_2\text{O}$  PA Êxodo Científica PM:278,02). Os materiais de parede complementares utilizados foram, maltodextrina (MD) Neomalt (DE 9 -12) (Cassava S/A, Rio do Sul, Brasil), amido Capsul (CornProducts BRASIL).

#### 3.2 Métodos

A Figura 7 apresenta o fluxograma das etapas realizadas no estudo.

Figura 7 – Fluxograma das etapas realizadas no estudo.



Fonte: Da autora (2022).

### 3.3 Preparo das soluções

Para o preparo das soluções, inicialmente o alginato de sódio foi hidratado em água destilada por aproximadamente 12 horas à temperatura ambiente, para o preparo de uma solução com concentração de 1,75% (m/v). Para preparo da solução de Sulfato de Ferro (FeSO<sub>4</sub>) (1% m/v) foi pesado 1g de FeSO<sub>4</sub> e diluído em 100 mL de água destilada. Para preparo da solução estoque de Cloreto de Cálcio (CaCl<sub>2</sub>) (1,5% m/v) foi pesado 1,5 g de CaCl<sub>2</sub> e diluído em 100 mL de água destilada. Foram realizados tratamentos preliminares para determinar quais concentrações seriam utilizadas.

Após a etapa de hidratação, adicionou-se à solução de encapsulação 0,5% (m/v) do material complementar (quando presente no tratamento) 0,1% (m/v) de ferro e Ácido Áscorbico (0,02% (m/v) Os tratamentos avaliados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Tratamento avaliados para microencapsulação do Ferro através de gelificação iônica utilizando o alginato.

TRATAMENTOS	Material complementar (%m/v)		
	Alginatos	MDX	Amido modificado CAPSUL®
1	1,75	-	-
2	1,75	P,5	-
3	1,75	-	0,5

MDX:maltodextrina

Fonte: Da autora (2022).

### 3.4 Produção das microesferas de alginato

Foi realizada para produção das microesferas a montagem do bico atomizador duplo fluido para a aspersão das microcápsulas de solução encapsulante, conforme pode ser observada na figura 08. A vazão de ar do equipamento foi de 40 L/ min. As microesferas formadas, assim que atomizadas entraram em contato com uma solução de cloreto de cálcio com concentração 1,5 g/100 mL de água destilada, a uma distância de 15 centímetros. Posteriormente a solução foi mantida em agitação por 30 minutos.

Figura 8 – Montagem do sistema de bico atomizador duplo fluido adaptado para produção das microesferas.



Fonte: Da autora (2022).

### 3.5 Caracterização das micropartículas

#### 3.5.1 Microscopia ótica (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS)

A morfologia das microesferas foi avaliada com auxílio de microscopia ótica. As suspensões foram levadas ao microscópio ótico de luz invertido Zeiss observer Z.1 motorizado com sistema Apotome e software Zeiss Axion Vision para captura de imagem, do Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (UFLA).

A morfologia das partículas também foi analisada usando Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), com distância de trabalho de 7 mm. Os particulados foram imobilizados em stubs com fita adesiva dupla face de diâmetro e altura de 1 cm. As amostras foram cobertas com ouro, por meio de uma câmara a vácuo e, posteriormente, avaliadas no microscópio (MEV1430 VP- LEO Electron Microscopy Ltd., Cambridge, Reino Unido). O MEV foi operado a 20kV com magnitude de aumento entre 500 a 1000 vezes para cálculo do tamanho das partículas. Foi realizada também a análise de espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS,

também abreviada EDX ou XEDS) para a caracterização química/análise elementar de materiais.

Para realização das análises, as microcápsulas foram filtradas em papel filtro ( $\text{Ø}12\mu\text{m}$ ) com auxílio de bomba a vácuo. Em seguida, o pó obtido foi fixado em stubs de alumínio com fita dupla-face de carbono, metalizadas em aparelho evaporador de ouro (SCD 050) e observadas no equipamento localizado no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC MINAS). As imagens foram obtidas nas magnitudes de 50x, 100x e 200x.

### 3.5.2 Distribuição de tamanho

A determinação do tamanho médio e da distribuição de tamanho as microesferas foi feita utilizando-se as imagens obtidas na microscopia ótica e medidas com o auxílio do software IMAGE J®. Foram utilizadas, pelo menos, 50 unidades amostrais para a determinação dos valores. O diâmetro médio das cápsulas foi expresso segundo o diâmetro médio de Sauter ( $D_{32}$ ) (Equação 1) e a homogeneidade da distribuição dos tamanhos das partículas foi avaliado pelo *span*, conforme equações já apresentadas (Equação 2).

$$D_{32} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (1)$$

Onde  $d_i$  é o diâmetro da gota,  $n_i$  é o número de gotas entre dois diâmetros consecutivos. O *Span* foi calculado através da Equação 2.

$$\text{span} = \frac{[d(0,9) - d(0,1)]}{d(0,5)} \quad (2)$$

Onde,  $d(0,1)$ ,  $d(0,5)$  e  $d(0,9)$  são diâmetros médios de partículas a 10%, 50% e 90% de distribuição acumulada, respectivamente.

### 3.5.3 Eficiência de retenção

Para confirmar a eficiências de retenção de ferro nas matrizes encapsulantes estudadas,

foi realizada a determinação de ferro, após o rompimento das microesferas, por meio da espectroscopia de Absorção Atômica. A eficiência de retenção (EE%) foi definida pela porcentagem de ativo presente na micropartícula após o processamento em relação ao teor de ferro na solução inicial, conforme a equação 3:

$$ER (\%) = \frac{\text{Concentração de Ferro na microesfera}}{\text{Concentração de Ferro na solução Inicial}} \quad (3)$$

A concentração de ferro encapsulado foi determinado a partir daliberação do Ferro da matriz encapsulante pelo rompimento da estrutura. 0,5 g de microesfera foi adicionada em 5,0 mL de solução de citrato de sódio 3,0% (m/v) (pH~8,9), mantidas em banho ultrassônico por 1 hora e após esse tempo foram mantidas em repouso por 12 h. Em seguida, foi adicionado 5 mL de etanol à solução e essa foi agitada vigorosamente em vórtex por 2 minutos, em seguida a solução foi centrifugada por 15 minutos a 3000 rpm. Realizada a centrifugação, foram realizadas lavagens no sobrenadante com etanol (Metodologia adaptada de FENG *et al.*, 2018; YOO *et al.*, 2006). A quantificação do ferro foi realizada através da Espectofotometria de absorção atômica. Foram utilizadas soluções padrão de ferro a partir de solução-estoque em concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 e 15 ppm de Fe para a construção da curva analítica.

#### **3.5.4 Liberação controlada em meio simulado**

Para avaliar o comportamento, a estabilidade das microesferas e a liberação do ferro ao longo do tempo, foi conduzida a avaliação a liberação de ferro em meio aquoso sob diferentes temperaturas, onde as microesferas foram mantidas sendo elas 10 °C, 25°C e 40 °C .A condução do experimento foi realizada utilizando-se uma suspensão de 2,0 g de microesfera em 20,0 mL de meio por 6 horas. Foram coletadas alíquotas de 1 ml no intervalo de tempo de 60 minutos.

#### **3.5.5 Digestibilidade *in vitro***

As microesferas filtradas foram submetidas às condições simuladas de digestibilidade *in vitro* e então caracterizadas em relação ao conteúdo de ferro liberado. O suco gástrico simulado consistia de uma solução isotônica de NaCl (0,9%) contendo 3 mg de pepsina/g de amostra e pH ajustado para valor entre 1,8 e 2,0 com HCl 1M. Um grama de

microesferas foi misturado em 9,0 mL do suco gástrico e incubado por 2 horas à 37 °C em banho com agitação de 130 rpm. Após o tempo de digestão gástrica o conteúdo foi transferido para 40,0 mL da solução de suco intestinal simulado. O suco intestinal simulado foi preparado com solução isotônica de NaCl (0,9%) adicionada de 4 mg de pancreatina/g de amostra e 25 mg de sais biliares/g de amostra com pH ajustado entre 6,5 e 7,0 com NaOH 1M. Após a transferência do conteúdo da digestão gástrica para a solução de suco gástrico intestinal simulado, esse foi mantido por mais 2h em banho-maria à 37 °C com agitação de 45 rpm e então foi retirada uma alíquota de 1,0 mL (produto da digestão), o sobrenadante foi filtrado e foi realizada a análise do ferro liberado através da técnica de leitura de absorção atômica (Metodologia adaptada de FREDES et al., 2018; LIAO et al., 2017). Esta análise de digestibilidade informa sobre a quantidade de ferro liberado no intestino e no estômago.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

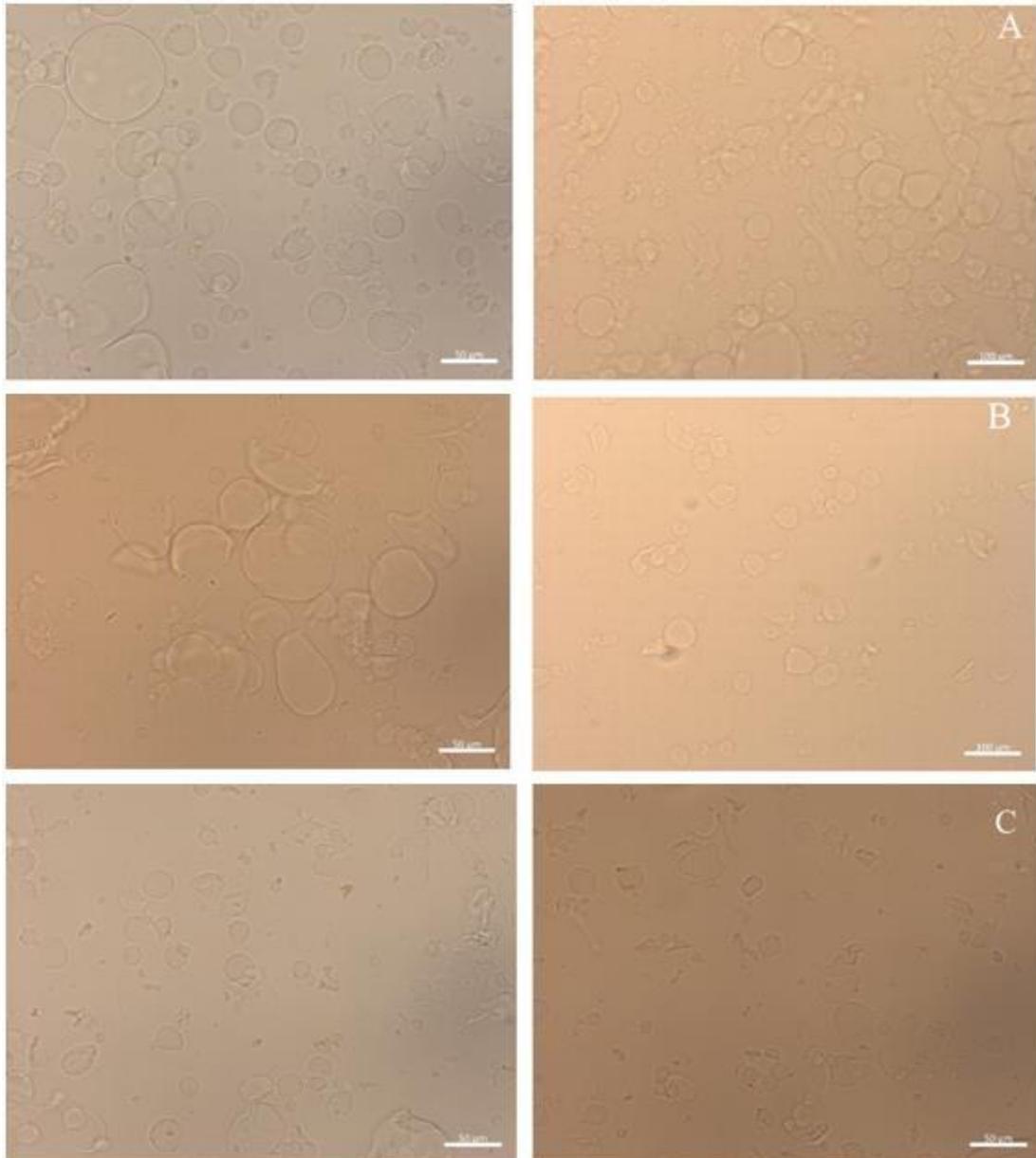
### 4.1 Caracterização das partículas

#### 4.1.1 Morfologia

A Figura 9 apresenta as microscopias ópticas das microesferas obtidas com o uso dos diferentes materiais complementares. Nota-se que há uma homogeneidade em duas das amostras e uma boa distribuição das microesferas, somente na solução produzida com alginato e amido capsul que não foi possível observar essa homogeneidade, apresentando microesferas com características morfológicas mais irregulares

A obtenção de microesferas de forma irregular ocorre porque a reação de reticulação do alginato é muito rápida, as quais tomam forma imediatamente depois do impacto entre a gota de alginato e o banho de gelificação  $CaCl_2$ . Com isso, devido ao impacto, a gota esférica se deforma assumindo uma forma irregular, e se a reticulação for rápida o suficiente a microesfera mantém a forma de pingente uma vez solidificada (BARBA et al., 2009). A irregularidade das microesferas também pode estar relacionada a maior ou menor compatibilidade entre os materiais utilizados.

Figura 9 – Microscopia óptica das microesferas de alginato produzidas nos diferentes tratamentos: (A) Alginato; (B) Alginato Maltodextrina; (C) Alginato Amido.

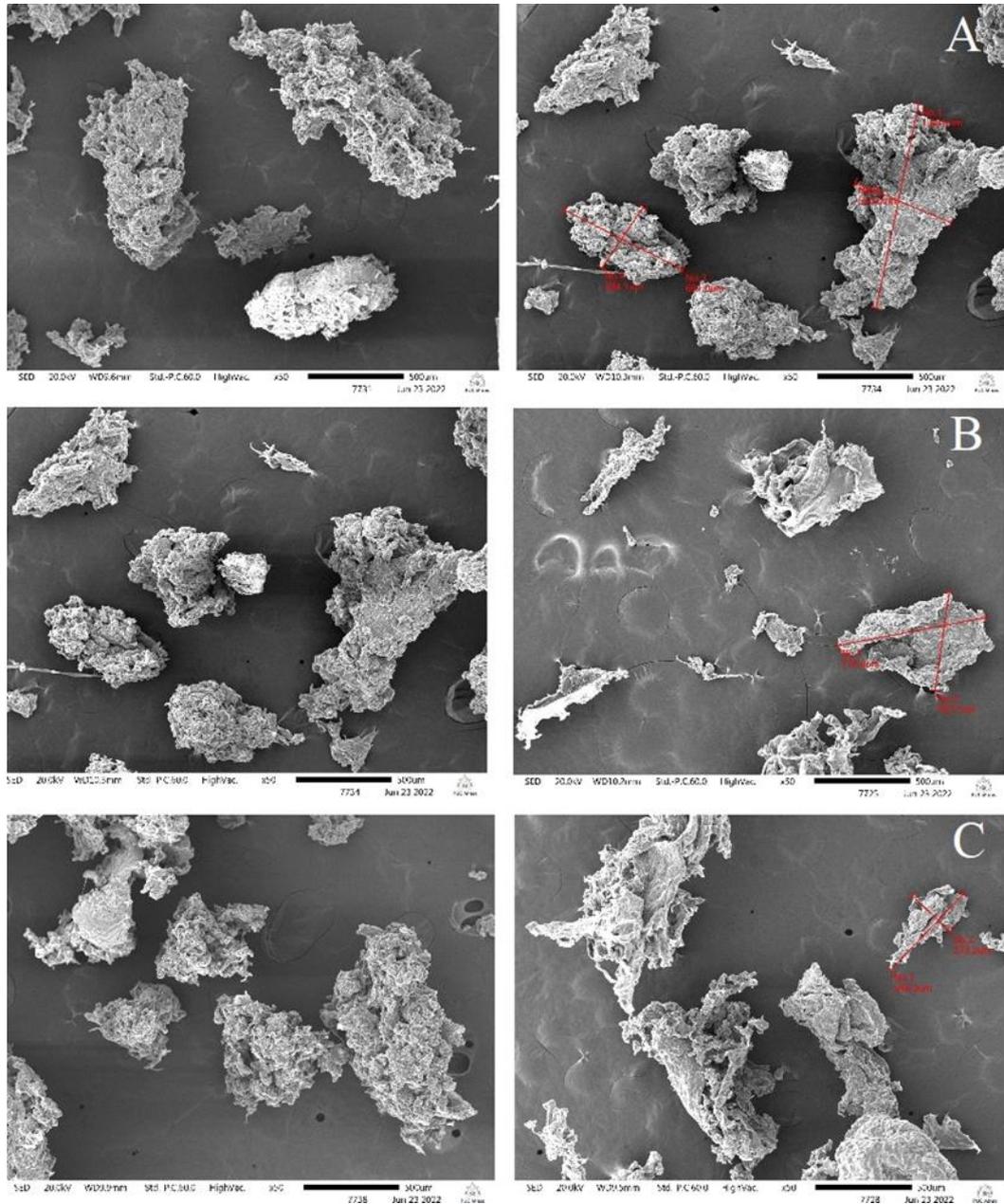


Fonte: Da autora (2022).

A morfologia das microesferas formadas, como estrutura e superfície, de cada tratamento foi investigada em Microscopia Eletrônica de Varredura. Em conjunto, a composição elementar também foi avaliada por meio da Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDS), de modo à verificar as concentrações de Ferro, elemento encapsulado, como também, Cálcio, elemento base no processo de gelificação do alginato.

Todos os tratamentos apresentaram estruturas irregulares e aglomeradas nas micrografias em função do preparo das amostras.

Figura 10 – Eletromicrografias obtidas em aumentos de 50X (Alginato, Amido e Maltodextrina) para todos os tratamentos Alginato, Alginato-Amido e Alginato Maltodextrina. (A) alginato-amido; (B) alginato; (C) alginato maltodextrina

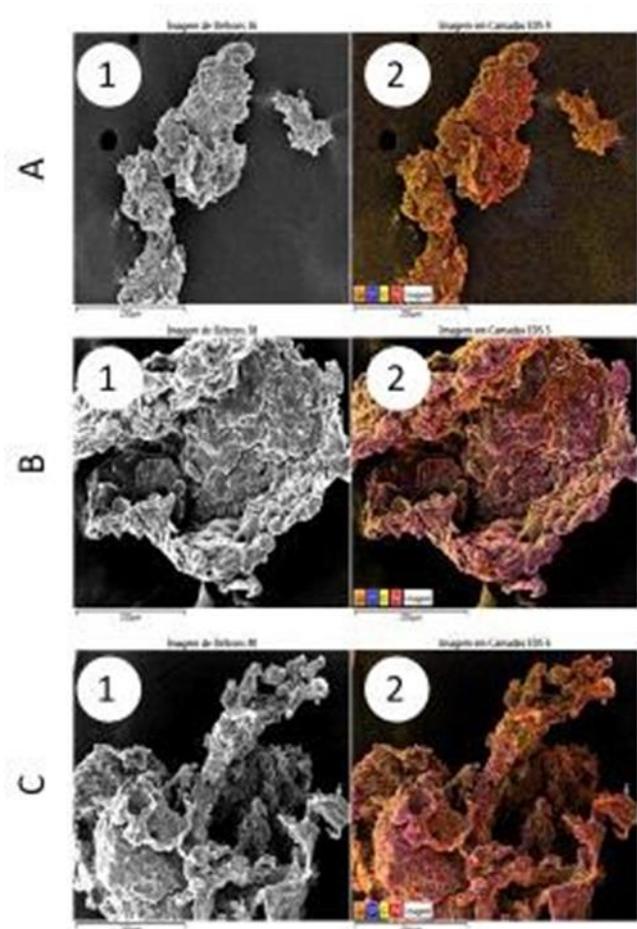


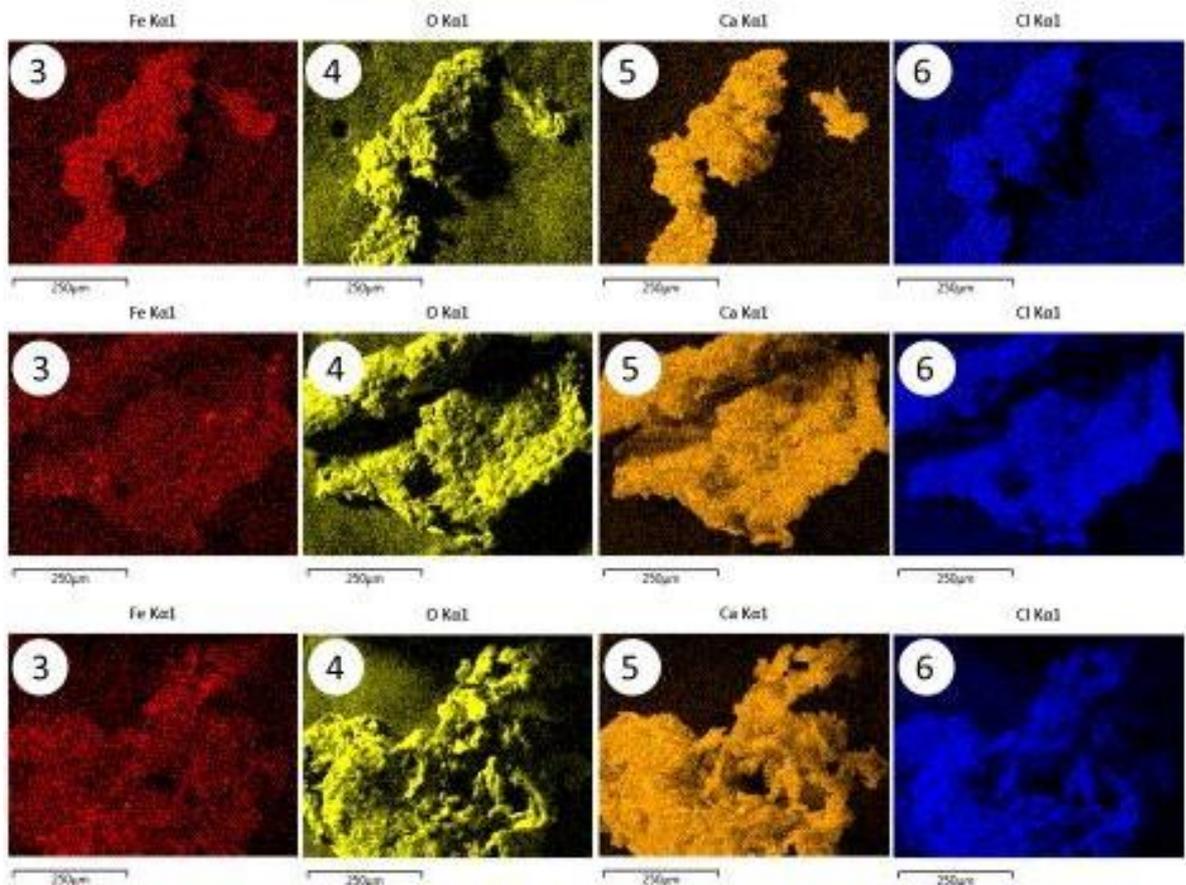
Fonte: Da autora (2022).

A Figura 11 e tabela 02 exibem o mapeamento EDS e a concentração elementar dos 3 tratamentos para microencapsulação do ferro, respectivamente. As imagens A1, B1 e C1, representam a imagem do MEV com magnitude de 200x, enquanto as imagens A2, B2 e C2, representam a sobreposição de todos os mapas de detecção elementar. Os diferentes pontos de cores representam a distribuição dos diferentes elementos ao longo da amostra, como Ferro (vermelho), Oxigênio (amarelo), Calcio (laranja) e Cloro (azul). Os íons de Sódio também

foram analisados, porém não foi possível quantificá-los, devido à baixa concentração na superfície, o que confirma a troca iônica efetiva na matriz durante o processo de gelificação.

Figura 11 – Mapeamento EDS dos tratamentos estudados. Sendo (A) Alginato; (B) Alginato Maltodextrina; (C) Alginato Amido. (1) Área sem o mapeamento do EDS (2) Área mapeada, indicando qual o elemento pela cor.





Fonte: Da autora (2022).

Tabela 2 – Concentração elementar das estruturas formadas nos 3 tratamentos contendo ferro microencapsulado.

Distribuição elementar em % de massa				
	Fe	O	Ca	Cl
<b>1</b>	6,2	31,9	22,3	1,8
<b>2</b>	2,8	37,0	23,9	3,4
<b>3</b>	1,6	39,6	17,2	3,8

(1) Alginato ; (2) Alginato Maltodextrina; (3) Alginato Amido

Fonte: Da autora (2022).

Conforme observado na figura, a concentração de ferro na superfície foi maior na matriz de alginato (6,2%), quando comparado as blendas com maltodextrina (2,8%) ou amido (1,6%), confirmado pela porcentagem semi-quantitativa (Tabela 3).

A presença de outro material gerou uma instabilidade no sistema de gelificação iônica do alginato, dificultando o aprisionamento do ferro na matriz. Como vemos mais ferro na superfície do alginato, isto pode ter ocorrido pela maior porosidade, justamente por não ter os materiais complementares.

Analisando outro elemento como o Cálcio que participa da reação de gelificação do alginato e consequente encapsulação do ferro, a presença de amido pode ter favorecido difusão de íons de cálcio para o interior da rede de alginato, permitindo desta forma uma gelificação interna mais pronunciada e conseqüentemente menos ferro na superfície externa.

A análise de EDS é uma análise superficial devido ao seu baixo poder de penetração, sendo uma análise semi-quantitativa permite analisar a distribuição dos elementos ao longo da superfície. Uma menor concentração de ferro na superfície pode ser um indicativo interessante, visto que ele pode estar mais no interior da microcápsula. Logo a mistura de outros polímeros pode ter permitido uma manutenção mais interna do ferro.

#### 4.1.2 Distribuição de tamanho

As soluções foram caracterizadas segundo a distribuição de tamanho das cápsulas das imagens acima, em suspensão através da medição do diâmetro das microesferas vistos através do microscópio óptico com o auxílio do software IMAGE J. O diâmetro médio das microcápsulas foi expresso como diâmetro médio de Sauter (D32). Para o diâmetro de Sauter os valores variaram entre 7,15 e 18,76  $\mu\text{m}$ , A distribuição de tamanho das microesferas foram consideradas homogêneas baseado nos baixos valores de *span* (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores dos diâmetros de Sauter (D32) e *span* das cápsulas para cada formulação.

TRATAMENTOS	D32 ( $\mu\text{m}$ )	Span
1	18,76	1,27
2	14,20	0,68
3	7,15	1,24

(1): Alginato; (2): Alginato Maltodextrina; (3): Alginato Amido.

Fonte: Da autora (2022).

Alguns estudos relatam que pode ocorrer encolhimento das partículas de alginato quando este entra em contato com os íons de  $\text{Ca}^{2+}$ , devido a formação da rede do gel durante a reticulação, o que pode ocasionar perda de água e, portanto, redução do volume das partículas (CHRASIL; 1991; VELINGS; MESTDAGH, 1995).

Microesferas de alginato de cálcio com tamanho superior a 1 milímetro podem causar alteração na textura nos alimentos em que forem aplicados e, por sua vez, pequenas esferas, de tamanho inferior a 100 micrômetros, podem não proteger significativamente os compostos sensíveis (MENEZES et al., 2013). Assim, partículas de tamanho intermediário apresentam maior estabilidade durante o processamento e armazenamento, maior facilidade de transporte,

além de permitir uma gama maior de possibilidades de aplicação e enriquecimento de alimentos com compostos bioativos.

O menor diâmetro das microesferas obtidas pela incorporação de outros materiais de parede, juntamente com o alginato de sódio, pode ser explicado com base no processo de gotejamento na solução de cloreto de cálcio e no momento de formação das microesferas. Para que a queda da gota ocorra, é necessário uma massa mínima capaz de quebrar a tensão superficial da solução de cloreto (BENAVIDES et al., 2016).

Comunian et al. (2017) microencapsularam, por gelificação iônica, óleo de echium utilizando alginato de sódio e quercentina, e também obtiveram tamanho pequeno /médio de partículas menor para tratamentos com a combinação dos materiais.

Aguilar et al. (2015), também produziram microesferas de alginato através de bico duplo fluido, utilizando ar pressurizado para atomização da solução, com uma pressão do ar de 0,125 kgf/cm<sup>2</sup> (0,123 bar) e vazão de 555 mL/h (0,00925 L/min) e obtiveram microesferas de alginato medindo entre  $259 \pm 22$  e  $287 \pm 10$   $\mu\text{m}$ . A obtenção de microesferas menores pode ser explicada pela maior pressão de ar utilizada 6 bar e vazão de ar também mais alta (15 L/min), isso porque no processo de gelificação iônica o tamanho das partículas é influenciado por fatores envolvidos no processo, como vazão e pressão do ar, distância entre o bico e a solução gelificante e outros (YANG et al., 2015).

Embora seja possível a obtenção de materiais encapsulados na escala macro ( $>5000$   $\mu\text{m}$ ) os estudos se concentram mais nos tamanhos micro (0,2-5000  $\mu\text{m}$ ) e nano ( $<0,2$   $\mu\text{m}$  uma vez que quando se encontram nas escalas mais reduzidas podem apresentar comportamentos biológicos, físicos e químicos diferentes, atribuindo novas funcionalidades e aplicações em consequência do seu tamanho reduzido, além do aumento da biodisponibilidade, solubilidade e aspectos sensoriais da partícula formada (AZEREDO, 2008; SOUZA SIMÕES, et al., 2017)

O tamanho das cápsulas também pode ser influenciado pelas interligações das cadeias do polímero, principalmente, obtidas pela troca dos íons cálcio do cloreto de cálcio por cátions bivalentes (ligações cruzadas iônicas) e pelo empilhamento destes grupos para formar a estrutura característica. Dessa maneira, esferas de alginato de cálcio adsorvem, posteriormente, os íons férrico ou ferroso, através de um processo de troca iônica. De uma forma geral as microesferas produzidas por meio de gotejamento utilizando-se energia ultrassônica apresentaram diâmetros menores quando comparado ao uso do ar comprimido e também aos vários estudos reportados em literatura. A utilização de algum tipo de energia ou força externa para atomização (ou gotejamento) da emulsão/solução e, conseqüente, formação de gotas produz microesferas com diâmetros menores, quando comparadas com microesferas por

gotejamento simples (gravidade), nesse processo as microesferas geralmente apresentam tamanho maior que 1000  $\mu\text{m}$  (LEE; RAVINDRA; CHAN, 2013). A aplicação do ar pressurizado (força externa) e a vazão em que esse ar é aplicado na solução tem efeito direto no diâmetro da microesfera formada, quanto maior a taxa de ar pressurizado, menor diâmetro médio de Sauter ( $\mu\text{m}$ ) as microesferas apresentam.

Verificou-se neste trabalho, que a presença de materiais complementares pode ter proporcionado melhor compactação da matriz de alginato produzindo microesferas de menor tamanho quando comparado às microesferas produzidas apenas com o alginato.

#### **4.2 Eficiência de Encapsulação**

Os valores de eficiência de encapsulação para o Ferro nos tratamentos produzidos com o uso de ar pressurizado no Spray Drying variaram entre 93,6% e 94,04%. Foram utilizadas as mesmas concentrações de Alginato, Ferro, Cloreto de Cálcio e Ácido Áscorbico nas soluções, variando apenas a concentração de Maltodextrina e Amido.

Esses altos valores de eficiência de encapsulação mostram que os sistemas alginato, Alginato e MD, Alginato e Amido são matrizes compatíveis que podem ser usadas para encapsular emulsões contendo Ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Além disso, o aumento da viscosidade de soluções de alginato pela adição de outros biopolímeros (Amido ou maltodextrina) induz uma maior eficiência de encapsulação, isso porque o alginato passa a ter uma rede mais concentrada com uma parede menos porosa (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2015; CUJIC et al., 2016). Vale ressaltar que a capacidade de formar um gel é uma propriedade importante do alginato, particularmente quando é usado para encapsulamento por gelificação. Alginato aumentando a capacidade de formar um gel e reter mais ferro (KATUWAVILA et al., 2016). A eficiência de encapsulação determinada neste trabalho não leva em conta a separação do ferro interno daquele localizado na superfície, ou seja, o teor de ferro determinado foi a somatório do ferro interno e externo.

Tabela 4 – Valores da porcentagem de eficiência de encapsulação obtidos para cada tratamento realizado na produção das microesferas.

TRATAMENTOS	Eficiência de Encapsulação (%)
Alginato	93,6
Alginato + Maltodextrina	93,7
Alginato + Amido	94,0

Fonte: Da autora (2022).

### 4.3 Perfil de liberação

A liberação controlada de compostos bioativos encapsulados é uma boa ferramenta para se prever a disponibilidade do material de núcleo ao longo do tempo de processo ou armazenamento. A Figura 13 mostra o perfil de liberação controlada dos diferentes tratamentos estudados quando submetidos a diferentes temperaturas do meio de 10, 25 e 40°C. Observa-se que para temperatura de 10°C e 25°C o tratamento Alginato foi o que apresentou os maiores teores de liberação do ferro, acompanhado pelo tratamento Alginato+Maltodextrina na temperatura de 25°C. Para a temperatura de 40°C percebeu-se uma liberação semelhante em todos os tratamentos. Com relação a liberação contínua do Alginato, esta se deve à alta porosidade do alginato amplamente discutida na literatura (BOATENG et al., 2008; SHU; ZHU; SONG, 2001; TAQIEDDIN; AMIJI, 2004).

É possível observar também com a liberação ao longo do tempo, independente da temperatura a combinação de alginato e outros biopolímeros, como a maltodextrina e o amido pode causar um retardo na liberação do ferro, isso porque esses materiais podem fazer ligações específicas com o alginato protegendo-o da degradação e tornando-o mais estável, além de promover redução no inchamento das microesferas de alginato, a depender das características químicas dos materiais complementares utilizados. A maltodextrina e o Amido podem causar um aumento da densidade da rede de gel das microesferas de alginato limitando a penetração de água e diminuindo a difusão do ferro (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2016; WANG et al., 2019).

A diferença de temperatura dos meios de liberação também influenciou o perfil de liberação de ferro das microesferas. No geral, percebe-se que o aumento da temperatura favoreceu menor intensidade e liberação do ferro em todos os tratamentos.

O alginato é um polissacarídeo autodegradável quando aquecido por tempo prolongado. É formado por unidades de ácidos D-manurônico e L-glucurônico ligadas em 1-4, formando o ácido algínico. É muito solúvel em água e forma soluções viscosas com propriedades que

dependem da massa molar, dos componentes e dos íons presentes. A viscosidade da solução diminui com o aumento da temperatura, formando gel estável em pH de 5,0 a 10,0. A matriz de alginato é muito higroscópica, um fator crítico que afeta a estabilidade em certas temperaturas (BENAVIDES et al., 2016).

Lin et al. (2017) estudaram a estabilidade da astaxantina encapsulada sob diferentes condições de armazenamento e verificaram que a temperatura é o fator mais influente na degradação da astaxantina. A análise de estabilidade mostrou que astaxantina encapsulada em microesferas de alginato, juntamente com o Tween 20, foi significativamente maior do que controle (somente alginato de sódio). Otálora et al. (2016), obtiveram os mesmos resultados na microencapsulação de betalaína por gelificação iônica, onde os níveis do pigmento diminuíram com o aumento da temperatura de armazenamento. Calvo, Busch e Santagapita (2017) analisaram a estabilidade do licopeno presente em toranjas e concluíram que a composição das microesferas afeta fortemente a liberação e estabilidade do licopeno.

Figura 12 – Liberação controlada do Ferro nos tratamentos em temperatura constante de 10,25 e 40°C no intervalo de 5 horas.

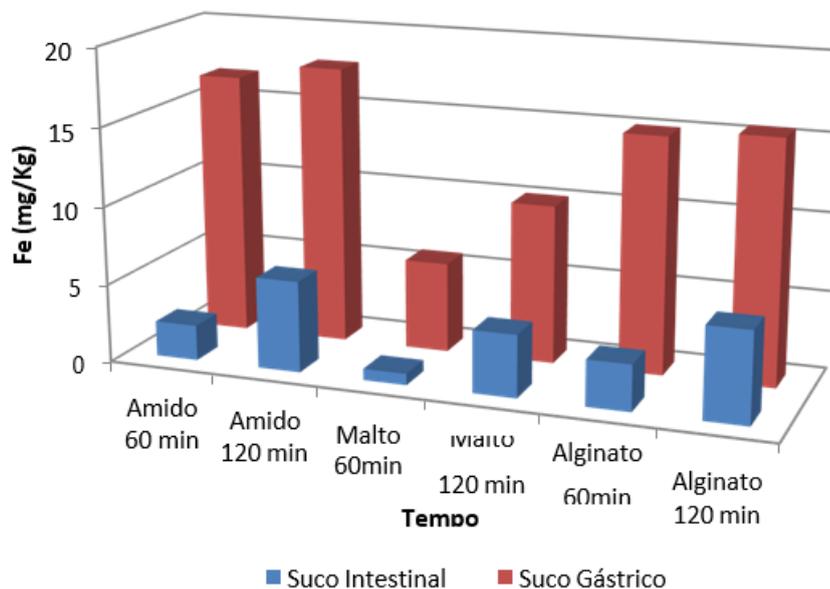


Fonte: Da autora (2022).

#### 4.4 Digestibilidade *in vitro*

As amostras foram submetidas às condições simuladas de digestibilidade *in vitro* para avaliar sua estabilidade pela passagem no trato gástrico e intestinal humano. A quantificação foi feita da concentração de ferro liberado no meio ao longo do tempo de digestão de 2 horas, trazendo o resultado inicial e final de liberação. A figura 13 apresenta os resultados das amostras ao longo do tempo.

Figura 13 – Valores de teor de ferro liberado das microesferas, nos diferentes tratamentos, durante os testes de Digestibilidade *in vitro*.



Fonte: Da autora (2022).

Com estes resultados é possível observar maiores valores de liberação do ferro no sistema gástrico comparado com sistema intestinal. Isto sugere que a microencapsulação seja de fato protetora destes compostos contra a degradação causada por variações de pH pelas quais estes compostos foram submetidos durante a simulação da digestão.

Durante a digestão, peptídeos e aminoácidos quelam ferro e seus complexos protegemos íons de ferro de inibidores e condições no fluido do intestino delgado (LIN et al., 2017).

Katuwavila et al. (2016) investigaram a liberação de ferro *in vitro* de nanopartículas de alginato contendo ferro em diferentes condições de pH (pH 7.4, 6 e 2) durante 96 h. Eles relataram que 25-30% do ferro encapsulado total foi liberado após a incubação em pH 7,4 e 6 durante 7-8h. Seguiu-se uma liberação mais gradual e sustentada para o próximo 78h. Ao final

de 96 h, 65% do ferro total foi liberado em pH 7,4 enquanto que foi em torno de 70% em pH 7,0. Em outro estudo, a maltodextrina micropartícula contendo sulfato ferroso encapsulado heptahidratado foi caracterizada em termos de liberação de ferro em condições gastrointestinais (CHURIO; VALENZUELA, 2018). Os autores relataram que uma série de 31,8%–37,4% do ferro foi liberado após incubação em condições gástricas e cerca de 100% do ferro foi liberado após condições intestinais. Singh et al. (2018) investigaram a cinética de liberação de ferro de microcápsulas em três valores de pH (pH 1, 4 e 7). Aproximadamente todo o ferro foi liberado em 2 h em pH 1, enquanto 67-94% e 10-18% do ferro foi liberado em condições de pH 4 e pH 7, respectivamente.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Através dos resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que o alginato apresenta boa compatibilidade com maltodextrina e amido modificado, onde foi observado a formação de microesferas com boa distribuição de tamanho quando adicionado o ferro à sistemas contendo somente alginato como polímero e no sistema formado por alginato e maltodextrina. Pode-se confirmar a formação das cápsulas com o ferro encapsulado através das análises realizadas. As micropartículas apresentaram tamanho médio de aproximadamente 13,37  $\mu\text{m}$  e formato irregular, conforme esperado, devido a a reação de reticulação do alginato ser muito rápida, as quais tomam forma imediatamente depois do impacto entre a gota de alginato e o banho de gelificação.

Foi possível observar que a adição de materiais complementares ao alginato melhoram a sua propriedade de barreira, auxiliando na proteção do composto bioativo quando as microesferas são submetidas à diferentes valores de temperatura. Através das análises de caracterização e estabilidade das microesferas de ferro pode-se inferir que é possível produzir sistemas de liberação controlada de alginato combinado aos biopolímeros maltodextrina e amido pois obtiveram resultados eficazes que protegem o composto bioativo e que potencialmente permitem a utilização dessas microesferas em matrizes alimentícias com potencial atividade funcional, com melhora na liberação do ferro no sistema digestório humano, e porque mostraram ter boa compatibilidade, estabilidade e eficiência.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e bolsa de pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- ABURTO, L. C.; TAVARES, D. Q.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, p. 45- 48, 1998.
- AGUILAR, K. C. et al. Protein adsorption onto alginate-pectin microparticles and films produced by ionic gelation. **Journal of Food Engineering**, v. 154, p. 17-24, 2015.
- ARCANJO, F. P. N.; AMANCIO, O. M. S.; BRAGA, J. A. P. Fortificação alimentar com ferro. **O mundo da saúde**, v. 33, n.3, p. 279-285, São Paulo, 2009.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2008.
- BARBA, A. A. et al. Intensification of biopolymeric microparticles production by ultrasonic assisted atomization. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 48, n. 10, p. 1477-1483, 2009.
- BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A. et al. Improving the controlled delivery formulations of caffeine in alginate hydrogel beads combined with pectin, carrageenan, chitosan and psyllium. **Food chemistry**, v. 167, p. 378-386, 2015.
- BE MILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 3 ed., 1996. p. 157-224.
- BENAVIDES, S. et al. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food chemistry**, v. 204, p. 77-83, 2016.
- BOATENG, J. S. et al. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 8, p. 2892–2923, 2008.
- BRASIL. **Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998**. Aprova o “Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimentos adicionados de nutrientes essenciais”. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 1998a.
- BRASIL. **Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998**. Aprova o “Regulamento Técnico para Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais”. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Brasília, 1998b.
- BRASIL. **Resolução nº 269, de 22 de setembro de 2005**. Adota valores como níveis de IDR para as vitaminas, minerais e proteínas. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005.
- BRASIL. **Programa Nacional de Suplementação de Ferro: manual de condutas gerais**. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Brasília, 2013.
- BUREY, P. et al. Hydrocolloid Gel Particles: Formation, Characterization, and Application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 5, p. 361-377, 2008.

CALVO T. R. A.; BUSCH V. M.; SANTAGAPITA P. R. Stability and release of an encapsulated solvent-free lycopene extract in alginate-based beads. **LWT – Food Science and Technology**, v. 77, p. 406–412, Oxford, 2017

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

CANO-CHAUCA, M. et al. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 6, n. 4, p. 420-428, 2005.

CARDOSO, M. A.; PENTEADO, M. V. C. Intervenções nutricionais na anemia ferropriva. **Caderno de Saúde Pública**, v. 10, n. 2, p. 231-240, Rio de Janeiro, 1994.

CASTRO-ROSAS, J. et al. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food - A review. **Food Research International**, v. 102, p. 575-587, 2017.

CHAN, L. W.; LEE, H. Y.; HENG, P. W. S. Mechanisms of external and internal gelation and their impact on the functions of alginate as a coat and delivery system. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 2, p. 176-187, 2006.

CHRASIL, J. Gelation of calcium alginate. Influence of rice starch or rice flour on the gelation kinetics and on the final gel structure. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 39, n. 5, p. 874-876, 1991.

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

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

ĆUJIĆ, N. et al. Chokeberry (*Aronia melanocarpa L.*) extract loaded in alginate and alginate/inulin system. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 120-131, 2016.

DALMORO, A. et al. Intensifying the microencapsulation process: Ultrasonic atomization as an innovative approach. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, n. 3, p. 471-477, 2012.

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

DRAGET, K. I. et al. Food polysaccharides and their applications. **CRC Press, Boca Raton**, p. 289-234, 2006.

DRUSCH, S. et al. Physicochemical characterization and oxidative stability of fish oil

encapsulated in an amorphous matrix containing trehalose. **Food Research International**, v.39, n.7, p.807-815, 2006.

DURAN, E. et al. Preparation and characterization of novel edible matrices based on alginate and whey for oral delivery of iron. **Food Hydrocolloids**, v. 98, p. 105277, 2020.

ESTEVINHO, B. N. et al. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications—A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p. 138-155, 2013.

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

FATTAHI, P.; BORHAN, A.; ABIDIAN, M. R. Microencapsulation: Microencapsulation of Chemotherapeutics into Monodisperse and Tunable Biodegradable Polymers via Electrified Liquid Jets: Control of Size, Shape, and Drug Release (Adv. Mater. 33/2013). **Advanced Materials**, v. 25, n. 33, p. 4529-4529, 2013.

FREDES, C. et al. Stability and bioaccessibility of anthocyanins from maqui (*Aristotelia chilensis* [Mol.] Stuntz) juice microparticles. **LWT – Food Science and Technology**, v. 91, p. 549-556, 2018.

FUJIWARA, G. M. et al. Freeze-drying simulation framework coupling product attributes and equipment capability: Toward accelerating process by equipment modifications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Heidelberg, v. 85, n. 2, p. 223–235, 2013.

GBASSI, G. K. et al. In vitro effects of pH, bile salts and enzymes on the release and viability of encapsulated *Lactobacillus plantarum* strains in a gastrointestinal tract model. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 2, p. 97-102, 2011.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food research international**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GIGLIOTTI, P. Estudo do metabolismo do ferro. **AC&T Científica**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2012.

GOMBOTZ, W. R.; WEE, S. Protein release from alginate matrices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 31, n. 3, p. 267-285, 1998.

GROTTO, H. Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Revista Brasileira de Hematologia e hemoterapia**, v. 30, p. 390-397, 2008.

GROTTO, H. Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira Hematologia Hemoterapia**, v. 32, n. 2, p.08-17, 2010.

GULEC, S.; ANDERSON, G. J.; COLLINS, J. F. Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 307, n. 4, p. G397-G409, 2014.

GUPTA, C. et al. Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method—Milk fortification. **Food Hydrocolloids**, v.

43, p. 622-628, 2015.

HARIYADI, D. M. et al. Diffusion loading and drug delivery characteristics of alginate gel microparticles produced by a novel impinging aerosols method. **Journal of drug targeting**, v. 18, n. 10, p. 831-841, 2010.

HOLKEM, A. T.; CODEVILLA, C. F.; DE MENEZES, C. R. Emulsificação/gelificação iônica interna: Alternativa para microencapsulação de compostos bioativos. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 116-124, 2015.

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

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensm. Wiss. Technol.**, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.

JACOB, R. F. **Estudo das Propriedades das Blendas de Amido Termoplástico e Látex Natural**. 2006. 137 f. Tese (Doutor em Ciências – Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

KATUWAVILA, N. P. et al. Improved delivery of caffeic acid through liposomal encapsulation. **Journal of nanomaterials**, v. 2016, p. 7, 2016.

KLEIN, J.; STOCK, J.; VORLOP, K. D. Pore size and properties of spherical Ca-alginate biocatalysts. **European journal of applied microbiology and biotechnology**, v. 18, n. 2, p.86-91, 1983.

KENNEDY, J. F.; KNILL, C. J.; TAYLOR, D. W. Maltodextrins. In: **Handbook of starch hydrolysis products and their derivatives**. Springer, Boston, MA, 1995. p. 65-82.

KLINKESORN, U. et al. Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Food Chemistry**, v. 87, n. 3, p. 415-421, 2004.

KRASAEEKOOPT, W.; BHANDARI, B.; DEETH, H. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yogurt. **Internacional Dairy Journal**, v. 13, n. 1, p. 3-13, 2003.

LEE, B. B.; RAVINDRA, P.; CHAN, E. S. Size and shape of calcium alginate beads produced by extrusion dripping. **Chemical Engineering & Technology**, v. 36, n. 10, p. 1627-1642, 2013.

LEMOS, A. R. et al. A hepcidina como parâmetro bioquímico na avaliação da anemia por deficiência de ferro. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, p. 596-599, 2010.

LEONEL, M.; JACKEY, S.; CEREDA, M. P. Processamento industrial de fécula de mandioca e batata doce um estudo de caso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 343-345, 1998.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 65-69, 2002.

LIAO, L. K. et al. Microencapsulation of *Lactobacillus casei* LK-1 by spray drying related to

its stability and in vitro digestion. **LWT- Food Science and Technology**, v. 82, p. 82-89, 2017.

LIMA, A. M. F. **Estudo de propriedades físico-químicas de alginato de sódio, pectina e blendas em solução e no estado sólido com aplicação em sistema de liberação de fármacos**. 2006. 204 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

LIN, S. F.; CHEN; Y. C.; CHEN, R. N.; CHEN, L. C.; HSIU-O, HO; TSUNG, Y.H.; SHEU, M.T.; DER-ZEN. L. Improving the Stability of Astaxanthin by Microencapsulation in Calcium Alginate Beads. **Plos one Tenth Anniversary**, p. 1–6, San Francisco, 2017.

MADENE, A. et al. Flavour encapsulation and controlled release—a review. **International journal of food science & technology**, v. 41, n. 1, p. 1-21, 2006.

MATTÉ, G. M.; ROSA, S. A tecnologia da microencapsulação através das microesferas de quitosana. **Revista Iberoamericana de polímeros**, v. 14, n. 5, p. 206-218, 2013.

MARTINSEN, A., SKJÅK-BRÆK, G., SMIDSRØD, O. Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate beads. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 33, n. 1, p. 79-89, 1989.

MARTINSEN, A.; STORRØ, I.; SKJÅRK-BRÆK, G. Alginate as immobilization material: III. Diffusional properties. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 39, n. 2, p. 186- 194, 1992.

MCCLEMENTS, D. J. Theoretical Analysis of Factors Affecting the Formation and Stability of Multilayered Colloidal Dispersions. **Langmuir**, v. 21, n. 21, p. 9777-9785, 2005.

MENEZES, C. R. et al. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, p. 1309-1316, 2013

MOREIRA, L. M. et al. Hemoglobina extracelular gigante de *Glossoscolex paulistus*: um extraordinário sistema supramolecular hemoproteico. **Química Nova**, v. 34, p. 119-130, 2011.

MOURA, N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 270-276, 2006.

MUKAI-CORRÊA, R. et al. Controlled release of protein from hydrocolloid gel microbeads before and after drying. **Current Drug Delivery**, v. 1, p. 265-273, 2004.

NASCIMENTO, I. F. et al. Desenvolvimento de micropartículas magnéticas associadas à quitosana reticulada para recuperação de íons Ni<sup>2+</sup> de efluentes industriais. **Scientia Prima**, v. 7, p. e43-e43, 2021.

NAZARENO, L. Et al. Encapsulating betalains from *Opuntia ficus-indica* fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. **Food Chemistry**, Barking, v. 202, p. 373–382, 2016.

NOH, J. et al. Microencapsulation by pectin for multi-components carriers bearing both hydrophobic and hydrophilic active agents. **Carbohydrate polymers**, v. 182, p. 172-179, 2018.

- OLIVEIRA, A. F. et al. Estudos cinéticos de degradação térmica de blendas formadas por carboximetilcelulose/goma guar ou hidroxipropilmetilcelulose”. In: **Anais 17º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Foz do Iguaçu-PR**. 2006. p. 8191- 8200.
- OTÁLORA, M. C.; CARRIAZO, J. G.; ITURRIAGA, L.; OSORIO, C.; NAZARENO, M. A. Encapsulating betalains from *Opuntia ficus-indica* fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. **Food Chemistry**, v. 202, p. 373–382, 2016.
- PAIVA, A. A.; RONDÓ, P. H. C.; GUERRA-SHINOHARA, E. M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 421-426, 2000.
- PATIL, J. S. et al. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: The novel techniques to design hydrogel particulate sustained, modulated drug delivery system: A review. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 241-248, 2010.
- PONCELET, D., BABAK, V., DULIEU, C., PICOT, A. A physico-chemical approach to production of alginate beads by emulsification-internal ionotropic gelation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 155, n. 2–3, p. 171-176, 1999.
- RAMISETTY, K. A.; PANDIT, A. B.; GOGATE, P. R. Investigations into ultrasound induced atomization. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 254–264, Amsterdam, 2013.
- REINECCIUS, G. A. Flavor encapsulation. **Food Review International**, v. 5, n. 2, p. 146- 176, 1989.
- REINECCIUS, G.A. Multiple-core encapsulation: the spray drying of food ingredients. In: VILSTRUP, P. **Microencapsulation of food ingredients**. Surrey: Leatherhead Publishing, 2001. p. 151-185.
- SACCHETIN, P. S. C.; MORAES, A. M.; LEAL, C. A. G.; FIGUEIREDO, H. C. P. Produção de micropartículas de alginato contendo *Flavobacterium columnare* inativada pelo método de emulsão para vacinação de peixes por via oral. **Química Nova**, p. 263– 268, São Paulo, 2010.
- SHAHIDI, F.; PEGG, R. B. Encapsulation of the pre-formed cooked cured-meat pigment. **Journal of food science**, v. 56, n. 6, p. 1500-1504, 1991.
- SINGH, R. S.; SAINI, G. K.; KENNEDY, J. F. Pullulan: microbial sources, production and applications. **Carbohydrate polymers**, v. 73, n. 4, p. 515-531, 2008.
- SCHOUBBEN, A. et al. Development of a scalable procedure for fine calcium alginate particle preparation. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 1, p. 363-369, 2010.
- SEZER, A. D.; AKBUGA, J. Release characteristics of chitosan treated alginate beads: I.Sustained release of a macromolecular drug from chitosan treated alginate beads. **Journal of Microencapsulation**, v. 16, n. 2, 1999.
- SHU, X. Z.; ZHU, K. J.; SONG, W. Novel pH-sensitive citrate cross-linked chitosan film for drug controlled release. **International journal of pharmaceutics**, v. 212, n. 1, p. 19-28, 2001.
- SILVA, G. D. O. da et al. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 26,

n. 1, p. 188–197, 2006.

SÍRO, I. et al. Functional food. Product development, marketing, and consumer acceptance—A review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 456-467, 2008.

SMIDSRØD, Olav et al. Alginate as immobilization matrix for cells. **Trends in biotechnology**, v. 8, p. 71-78, 1990.

SOUZA SIMÕES, L. et al. Micro-and nano bio-based delivery systems for food applications: In vitro behavior. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 243, p. 23-45, 2017.

STRÖM, A. et al. Physico-chemical properties of hydrocolloids determine their appetite effects. **Gums and stabilisers for the food industry**, v. 15, p. 341, 2009.

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

SUN-WATERHOUSE, D. et al. Storage stability of phenolic-fortified avocado oil encapsulated using different polymer formulations and co-extrusion technology. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 8, p. 3090-3102, 2012.

SWEEDMAN, M. C. et al. Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 1, p. 905-920, 2013.

TAQIEDDIN, E.; AMIJI, M. Enzyme immobilization in novel alginate–chitosan core-shell microcapsules. **Biomaterials**, v. 25, n. 10, p. 1937-1945, 2004.

TEIXEIRA, V. F. T. et al. Ion exchange kinetics of magnetic alginate ferrogel beads produced by external gelation. **Carbohydrate polymers**, v. 111, p. 198-205, 2014.

THU, B.; SMIDSRØD, O.; SKJAK-BRÅK, G. Alginate gels - Some structure-function correlations relevant to their use as immobilization matrix for cells. In: WIJFFELS, R. H.; TRAMPER, J. R. M. B. C. B. (Ed.). **Progress in Biotechnology: Elsevier**, v. 11, p.19- 30, 1996.

VELINGS, N. M.; MESTDAGH, M. M. Physico-chemical properties of alginate gel beads. **Polymer Gels and Networks**, v. 3, n. 3, p. 311-330, 1995.

VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, n. 4, p. 292-302, 2010.

WANG, H. et al. Characterization, release, and antioxidant activity of curcumin-loaded sodium alginate/ZnO hydrogel beads. **International journal of biological macromolecules**, v. 121, p. 1118-1125, 2019.

YANG, J. et al. Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. **Carbohydrate polymers**, v. 123, p. 53-66, 2015.

ZHANG, F. et al. Encapsulation of *Bifidobacterium bifidum* in improved alginate

microcapsules to prolonging viability. **Advanced Materials Research**, v. 183-185, p. 1481-1485, 2011.

ZIMMERMANN, M. B.; WINDHAB, E. J. Encapsulation of iron and other micronutrients for food fortification. In: **Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing**. Springer, New York, NY, 2010. p. 187-209.