



## USO DO AMIDO DE PINHÃO COMO AGENTE ENCAPSULANTE

Jordana Corralo Spada<sup>1</sup>, Lígia D. F. Marczak<sup>1</sup>, Isabel C. Tessaro<sup>1</sup>, Caciano Zapata Pelayo Noreña<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos - LATEPA  
Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)  
R. Eng. Luis Englert, s/n. Campus Central. CEP: 90040-040 - Porto Alegre - RS - BRASIL,  
E-MAIL: [jcs, ligia, isabel@enq.ufrgs.br](mailto:jcs,ligia,isabel@enq.ufrgs.br)

<sup>2</sup> Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos  
Departamento de Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)  
Av. Bento Gonçalves, 9500 - Prédio 43.212. Campus do Vale. CEP: 91540-000 - Bairro Agronomia -  
Porto Alegre - RS – BRASIL, E-MAIL: [czapatan@ufrgs.br](mailto:czapatan@ufrgs.br)

**Resumo:** O presente trabalho tem por objetivo verificar a possibilidade de utilizar o amido nativo e modificado de pinhão como um agente encapsulante. Para tanto foi empregada a técnica da liofilização para microencapsular o  $\beta$ -caroteno. As amostras obtidas foram caracterizadas quanto à estrutura, através da microscopia eletrônica, granulometria, temperatura de transição vítrea, umidade, solubilidade em água fria e conteúdo superficial de carotenóide. Os resultados mostraram diferenças entre os pós preparados com amido nativo e hidrolisado, visto que o amido modificado apresentou menor formação de aglomerados, maior solubilidade, menor tamanho de partícula e menor conteúdo superficial de carotenóide. O acréscimo da gelatina como material de parede também ocasionou diferenças entre os pós.

**Palavras-chave:** amido, pinhão, microencapsulação,  $\beta$ -caroteno

### 1. Introdução

Antigamente, o Pinheiro do Paraná (*Araucaria angustifolia*) estava distribuído no sul do Brasil em florestas nativas que representavam cerca de 5-8% da área original (Wosiacki e Cereda, 1985). Na atualidade, sua área remanescente reduziu bastante, para cerca de 1%, comparativamente aos 200 000 km<sup>2</sup> de área original estimada (Embrapa, 2001).

A semente do Pinheiro do Paraná, conhecida como pinhão é a um produto bastante consumido no sul do Brasil. Ela possui excelentes propriedades nutritivas, sobretudo pelo seu alto teor de amido, porém apresenta grandes perdas ao final da safra (Cordenunsi *et al.*, 2004). Existem poucos trabalhos que tentam dar ao pinhão outras utilizações visando o aumento de seu consumo, sendo uma perspectiva promissora a utilização do seu amido.

A utilização do amido nativo é limitada em função das condições de processamento empregadas e das características esperadas no produto final. Essas limitações podem ser solucionadas com a modificação química, física ou enzimática do amido e também através de processos combinados (Van De Bij, 1976, citado por Cereda, 1996).

Um novo emprego do amido corresponde à área da microencapsulação, onde compostos sensíveis são envoltos por um revestimento ou material de parede. Os

materiais de parede protegem o núcleo ou material encapsulado contra reações adversas, previnem a perda de compostos voláteis, controlam a liberação dos ingredientes e até mesmo mascaram sabores indesejáveis (Shahidi e Han, 1993). Desta forma, a microencapsulação apresenta importantes aplicações na indústria de alimentos, como, revestir corantes, aromas, vitaminas, e outros ingredientes alimentares sensíveis (Dziezak, 1988; Shahidi e Han, 1993).

O processo de encapsulação pode ser realizado por várias técnicas, dentre elas a liofilização, que corresponde a uma tecnologia de secagem baseada na desidratação via sublimação do produto congelado (Jackson e Lee, 1991). Este método consiste de duas etapas, (a) congelamento rápido do produto e (b) sublimação do gelo sob vácuo (Fellows, 2006).

Diversos materiais de parede ou agentes encapsulantes são usados na indústria de alimentos (Jackson e Lee, 1991). Shahidi & Han (1993) citaram a goma arábica, os amidos hidrolisados e os amidos emulsificantes, como materiais de parede de vasta aplicação. Para Cardello e Celestino (1996) os agentes encapsulantes mais utilizados são amidos modificados por ação de ácidos ou enzimas específicas, originando dextrinas ou ciclodextrinas, por inclusão de grupamentos lipófilos ou pela oxidação do amido através de periodato de sódio.

Algumas proteínas como as do soro, (Sheu e Rosenberge, 1995), caseinato de sódio (Hogan *et al.*, 2001), e gelatina (Bruschi *et al.*, 2003) também são usadas como materiais de parede.

A goma arábica corresponde a um material de parede bem conhecido há muitos anos, sendo ainda considerado um bom agente encapsulante, pois produz emulsões estáveis com boas propriedades de retenção de voláteis. Porém existem limitações associadas com o uso desta goma como o alto custo e oferta limitada (Trubiani e Lacourse, 1988 apud Azeredo, 2005).

Amidos emulsificantes são derivados de reações com grupos lipofílicos como 1-octenil succinato. Estes materiais de parede têm excelentes propriedades emulsificantes, porém exibem pobre proteção de *flavors* contra oxidação (Reineccius, 1988 apud Azeredo, 2005). Os amidos hidrolisados são produzidos por hidrólise parcial através de ácidos ou enzimas e apresentam a vantagem de ter um baixo custo e boa proteção contra oxidação (Wagner & Warthesen, 1995); entretanto há um problema associado a sua utilização que corresponde à perda de propriedades emulsificantes (Reineccius, 1988 apud Azeredo, 2005).

Muitas pesquisas têm usado misturas de materiais de parede ou agentes emulsificantes a fim de conferir uma melhor estabilidade ao núcleo. Misturas de maltodextrinas com proteínas do soro foram reportadas como materiais de parede efetivos para microencapsular caprilato de etila (Sheu e Rosenberge, 1995). Barbosa, Borsarelli, & Mercadante (2005) afirmaram que a maltodextrina com emulsificante Tween 80 tem a habilidade de encapsular uma maior quantidade de bixina do que somente com maltodextrina.

Ascheri *et al.* (2003) encapsularam óleo essencial de laranja pela técnica de spray drying, comparando agentes microencapsulantes contendo diferentes concentrações de Capsul (amido modificado comercial), goma arábica e maltodextrina. As cápsulas preparadas com 10% de capsul e 0% de goma apresentaram melhores resultados, visto que a retenção do óleo foi maior.

Krishnan *et al.* (2005) avaliaram misturas binárias e ternárias de amido de milho comercial modificado (octenil succinato), goma arábica e maltodextrina para encapsular óleo de cardamomo. Após seis semanas, a mistura contendo goma arábica: maltodextrina: amido modificado (4/6: 1/6: 1/6) ofereceu melhor proteção ao óleo, além disso a esfericidade e ausência de dentes na superfície das amostras confirmaram a eficiência da mistura para encapsulação.

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial do amido nativo e ácido modificado como material de parede para encapsulação do  $\beta$ -caroteno, através da técnica da liofilização. Para tanto, propriedades físico-químicas e microestruturais dos pós foram investigadas.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Matéria-Prima

A matéria-prima utilizada neste trabalho foi pinhão da safra 2009, adquirido em mercado local de Porto Alegre (RS). O pinhão foi, primeiramente, lavado com água corrente, seco à temperatura ambiente durante 24 horas e selecionado para posterior congelamento em sacos de polietileno, até o seu uso.

### 2.2 Extração do Amido de Pinhão

O protocolo de extração seguiu a metodologia empregada por Bello-pérez *et al.* (2006) com algumas modificações. As sementes de pinhão foram descascadas manualmente com faca, sendo também retirada a película interna que recobre superficialmente o endosperma; em seguida o pinhão foi triturado em liquidificador doméstico com adição de água fria na proporção 1,5 L de água para cada 1 kg de pinhão. O material obtido na trituração foi filtrado através de uma peneira de aço (Mesh Tyler 100). O permeado contendo o amido foi deixado em refrigerador ( $\sim 4^{\circ}\text{C}$ ) para decantação. O amido precipitado foi lavado/decantado três vezes em água fria a cada 50 minutos e seco em estufa ( $\sim 40^{\circ}\text{C}$ ) por 48 horas. O amido seco foi triturado em liquidificador doméstico e peneirado (Mesh Tyler 100) para obter um pó refinado.

### 2.3 Modificação do Amido de Pinhão

A hidrólise ácida foi executada conforme Mun & Shin (2006) com algumas modificações, onde 10 g de amido nativo foram dispersas em 40 mL de ácido, sob forte agitação mecânica (225 rpm) e temperatura controlada durante 12 horas.

A concentração de ácido e temperatura de hidrólise, estabelecidos como variáveis independentes, foram estudados em 3 níveis, codificados como -1, 0, +1, de acordo com um delineamento da Metodologia de Superfícies de Resposta (MSR) do tipo fatorial  $2^2$  com repetição no ponto central, representado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Planejamento fatorial  $2^2$  com repetição no ponto central referente à hidrólise ácida do amido de pinhão.

Exp.	Valores codificados		Valores reais	
	$x_1$	$x_2$	T ( $^{\circ}\text{C}$ )	Conc. HCl (mol.L <sup>-1</sup> )
1	-1	-1	30	3
2	+1	-1	44	3
3	-1	+1	30	5
4	+1	+1	44	5
5	0	0	37	4

Após a hidrólise, o pH da dispersão foi ajustado para  $7,0 \pm 0,2$ , com uma solução de NaOH 1M. O amido foi recuperado por meio de centrifugação (2000 rpm/10 min /25  $^{\circ}\text{C}$ ), lavagem com água destilada e decantação. A seguir, o amido foi seco em estufa a vácuo (Tecnal, modelo TE-395, Brasil) a  $70^{\circ}\text{C}$  e pressão de -600 mmHg.

Os amidos hidrolisados obtidos neste trabalho foram avaliados através dos seguintes parâmetros: glicose, expressa como dextrose equivalente (DE) conforme Miller

(1959) e porcentagem de hidrólise (Robin *et al.*, 1975 apud Mun e Shin, 2006). Para a avaliação destes parâmetros os testes foram feitos em triplicata.

#### 2.4 Obtenção das microcápsulas

O amido hidrolisado, seco e triturado foi suspenso em água destilada (29 % p/p) e aquecido em banho termostático a 100°C para obter uma pasta de amido gelatinizado, utilizada para englobar o composto ativo. O  $\beta$ -caroteno (*Sigma Alderisch*, pureza 90%) foi adicionado à pasta de amido gelatinizado resfriada através de agitação mecânica até completa homogeneização. Para evitar oxidação e isomerização do composto ativo, a homogeneização ocorreu em banho de gelo em ambiente com pouca luminosidade. Após o preparo das suspensões, as amostras foram congeladas a -40°C em ultrafreezer (*Coldlab*, modelo CL 120-40, Brasil) e liofilizadas durante 30 horas (*Terroni Equipamentos*, modelo LS 6000, Brasil).

A habilidade dos amidos hidrolisados protegerem materiais encapsulados contra oxidação é atribuída à sua capacidade de formar filme, às suas propriedades plásticas, e ao seu poder redutor (Qi e Xu, 1999). A fim de avaliar se ocorrem diferenças consideráveis entre as cápsulas formadas com amido não-hidrolisado e modificado, diferentes amostras foram elaboradas com amidos nativo e hidrolisado, acrescidos ou não de gelatina, conforme Tabela 2.

**Tabela 2.** Composição do material de parede utilizado na microencapsulação

Amostras	Composição
A	Amido nativo
AG	Amido nativo + gelatina (5 % p/p)
B	Amido 6 DE
BG	Amido 6 DE + gelatina (5 % p/p)
C	Amido 12 DE
CG	Amido 12 DE +gelatina (5 % p/p)

#### 2.5 Caracterização das microcápsulas

As cápsulas foram analisadas quanto à morfologia através da Microscopia Ótica e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), distribuição granulométrica, temperatura de transição vítrea, umidade, solubilidade em água fria, e conteúdo total e superficial de carotenóide após a liofilização.

##### 2.5.1 Microscopia Ótica

A microscopia ótica (*Opton*, modelo TNB- 04D, Brasil) foi usada para observar os pós liofilizados, a fim de detectar a formação das microcápsulas.

##### 2.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para estudar as propriedades estruturais dos pós liofilizados foi empregada a técnica da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para tanto, as partículas dos pós foram anexadas em stubs de 1” de diâmetro usando uma fita dupla face de carbono, em seguida, as amostras foram recobertas com ouro e examinadas em magnitudes de 1500 x. Foi usada aceleração potencial de 5 kV durante as micrografias.

##### 2.5.3 Distribuição granulométrica

A distribuição granulométrica foi feita em equipamento analisador de tamanho de partícula (*Cilas*, modelo 1180, França).

##### 2.5.4 Temperatura de transição vítrea

A temperatura de transição vítrea foi medida por DSC (*TA Instruments*, modelo Q20, EUA) conforme metodologia empregada por Thys (2009). A faixa de temperatura estudada foi de 20°C a 100°C com uma taxa de aquecimento de 5°C/min. A entalpia foi calculada pela integração da área do pico endotérmico sob a curva do fluxo de calor através do software da *TA Instruments*.

##### 2.5.5 Conteúdo de umidade

O conteúdo de umidade das amostras foi medido de acordo com os métodos padrões de análises AOAC (1990), para tanto as amostras permaneceram em estufa a 105°C durante 20 horas.

##### 2.5.6 Determinação do conteúdo total e superficial

Para determinação do conteúdo total e superficial de carotenóide, as amostras foram analisadas dentro de 24 horas após a secagem, contando como tempo zero.

**Conteúdo total:** O  $\beta$ -caroteno foi extraído do pó conforme Desobry, Netto & Labuza (1997) com algumas modificações, onde 50 mg do pó foram dispersos em 2,5 mL de água e 25 mL de hexano em um tubo falcon. O tubo foi selado e agitado a 2000 rpm, por 15 minutos a temperatura ambiente em um vortex. O conteúdo de carotenóide foi analisado em espectrofotômetro a 454 nm.

**Conteúdo superficial:** 50 mg do pó foram pesados dentro de erlenmeyer com 25 ml hexano. As amostras foram colocadas em shaker a 100 rpm por 15s, e após foram centrifugadas a 1000 g por 1 min (Wagner & Warthesen, 1995). A absorbância do sobrenadante foi medido em espectrofotômetro a 454 nm, sendo a porcentagem de caroteno superficial determinada pela razão entre a concentração superficial e concentração total.

##### 2.5.7 Determinação da solubilidade

O método de Eastman & Moore (1984) citado por Cano-Chauca *et al.* (2005) com algumas modificações foi usado para analisar a solubilidade em água fria dos pós liofilizados. Um grama do pó foi misturado em 100 ml de água através de agitação magnética durante 30 min. Uma alíquota de 30 ml da solução foi centrifugada a 2600rpm por 5 min. Após a centrifugação, 10 ml do sobrenadante foram evaporados em estufa a 105°C, até massa constante.

##### 2.5.8 Análise estatística

A variável de resposta (DE) obtida nos experimentos foi avaliada estatisticamente através do *software* Statistica versão 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

A Equação 1 representa o modelo polinomial utilizado para modelagem dos dados experimentais:

$$y_i = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_1x_2 \quad (1)$$

onde  $\alpha_n$  são os coeficientes de regressão;  $y_i$  é a variável de resposta e  $x_1$  e  $x_2$  são as variáveis independentes, temperatura e concentração de ácido, respectivamente. O ajuste do modelo ocorreu por mínimos quadrados, e a análise de variância (ANOVA) foi realizada para testar a significância do modelo para cada parâmetro. Inicialmente, foi observada a significância da regressão e da falta de ajuste pelo teste F (95% de confiança), e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) que indica o ajuste do modelo.

Através da metodologia de superfície de resposta, foi avaliada a influência da temperatura e da concentração de ácido sobre o equivalente de dextrose. Foram calculados os efeitos dos fatores lineares e da interação sobre a variável de resposta, assim como o erro puro, o coeficiente  $t$  e a significância estatística ( $p$ ).

Os dados de solubilidade, granulometria e conteúdo superficial, apresentados a seguir, correspondem à média de três determinações. A análise destes dados foi efetuada usando ANOVA e as diferenças entre as médias foram testadas usando o teste de Tukey com  $p < 0.05$ .

### 3. Resultados e Discussões

#### 3.1 Hidrólise ácida

Os resultados encontrados no planejamento fatorial  $2^2$  (Tabela 1) estão expostos na Tabela 3, assim como a porcentagem de hidrólise (%) obtida.

**Tabela 3.** Valores de dextrose equivalente (DE) e porcentagem de hidrólise para os 6 experimentos do planejamento fatorial.

Exp.	DE (mg glicose/ml de solução)	Porcentagem de hidrólise (%)
1	0,86 ± 0,035	0,31
2	6,53 ± 0,071	2,35
3	0,95 ± 0,036	0,34
4	12,37 ± 0,049	4,45
5	5,61 ± 0,056	2,02
6	5,58 ± 0,091	2,01

Através da metodologia de superfície de resposta, constatou-se que os efeitos dos fatores lineares e da interação dos mesmos sobre a variável de resposta foram significativos. Dentre os fatores, a temperatura apresentou o menor valor de  $p$  e o maior valor  $t$ , mostrando ser a variável que mais influencia no valor de DE.

O modelo codificado proposto para apresentar a dextrose equivalente, dentro dos limites de temperatura e concentração de ácido estudados, é representado pela Equação 2:

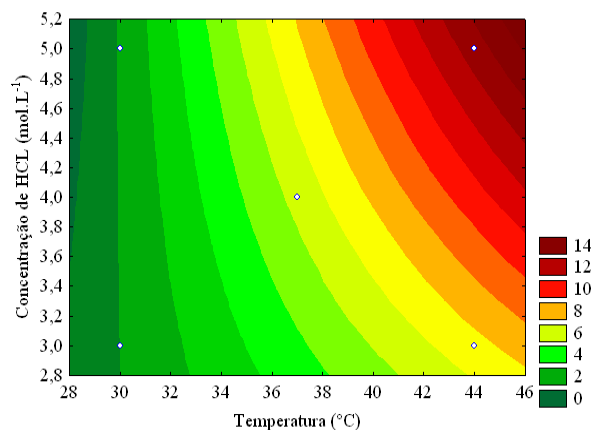
$$DE = 5,32 + 4,27x_1 + 1,48x_2 + 1,44x_1x_2 \quad (2)$$

onde DE é a variável de resposta,  $x_1$  e  $x_2$  são as variáveis independentes, temperatura e concentração de ácido, respectivamente.

Através do teste F, verificou-se que o modelo apresentou regressão significativa ( $F_{\text{calculado}}$  superior ao  $F_{\text{tabelado}}$ ). O coeficiente de correlação ( $R^2$ ) obtido para o modelo foi 0,9987, indicando que o modelo explicou

99,87% da variação dos dados observados, ou seja, o modelo de primeira ordem mostrou um ótimo ajuste.

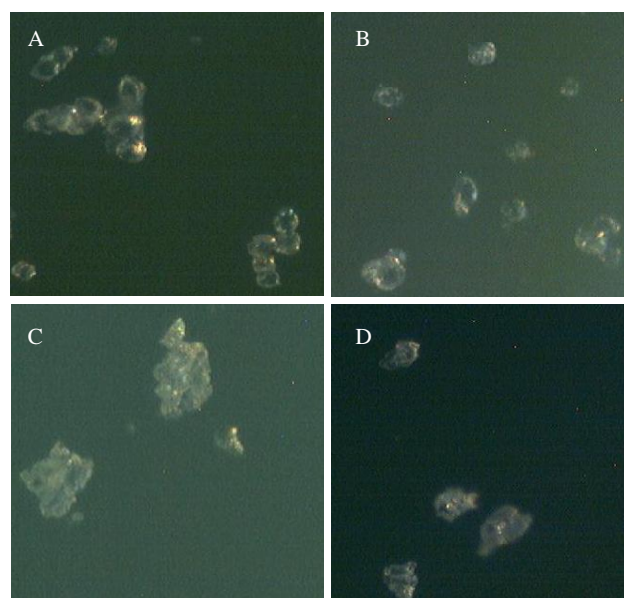
A Figura 1 mostra a superfície de contorno da variação do DE em função da temperatura e da concentração de ácido clorídrico, válida para temperatura variando de 30 a 44 °C e concentração de ácido variando de 3 a 5 mol.L<sup>-1</sup>.



**Figura 1.** Superfície de contorno da interação entre a temperatura e concentração de ácido clorídrico sobre a dextrose equivalente (DE) do amido de pinhão.

#### 2.5.9 Microscopia Ótica

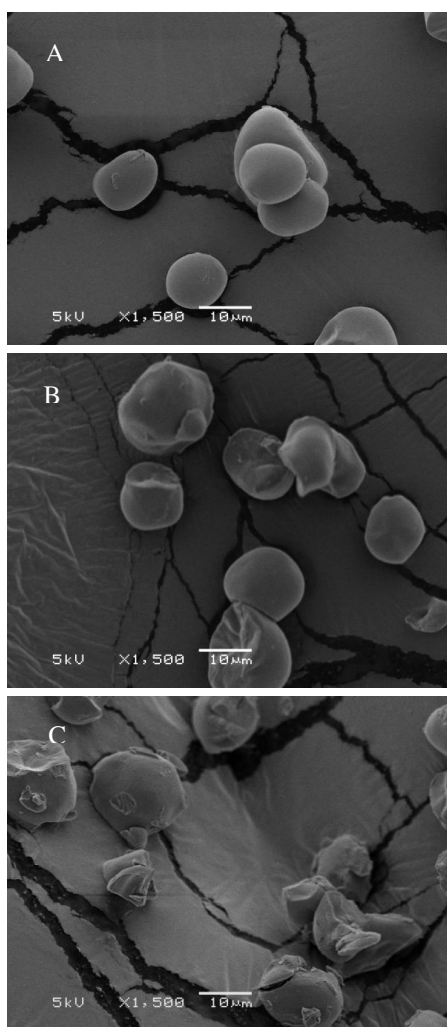
A Microscopia Ótica se mostrou uma importante ferramenta de análise preliminar para verificar a formação das microcápsulas. A Figura 2 apresenta fotomicrografias de cápsulas formadas com diferentes materiais de parede. Observa-se que há a formação de microcápsulas de diferentes formas, porém sem riqueza de detalhes. As fotomicrografias feitas no Microscópio Eletrônico de Varredura, mostradas logo a seguir, apresentarão detalhes referentes à forma e superfície das microcápsulas.



**Figura 2.** Fotomicrografias obtidas pela microscopia ótica (100x) das cápsulas obtidas com o amido nativo (A), amido hidrolisado 12 DE (B), amido nativo e gelatina (C) e amido hidrolisado 12 DE e gelatina (D).

### 2.5.10 Microscopia Eletrônica de Varredura

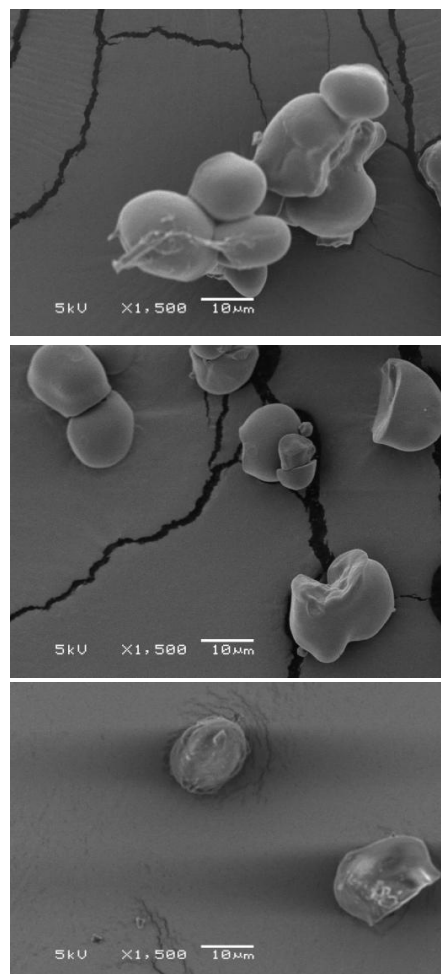
As fotomicrografias correspondentes aos amidos nativo e hidrolisado mostraram diferenças consideráveis, visto que o amido nativo apresentou superfície lisa sem poros, já o amido hidrolisado apresentou irregularidades e fissuras em sua superfície. Além disso, é possível constatar que a hidrólise não foi uniforme, pois há grânulos mais afetados que outros. O amido hidrolisado 12 DE apresentou, claramente, maior rompimento granular do que o amido 6 DE. Essas diferenças entre o amido nativo e modificado podem ser facilmente visualizadas na Figura 3.



**Figura 3.** Fotomicrografias obtidas pela MEV (x1500) do amido nativo (A), hidrolisado 6 DE (B) e hidrolisado 12 DE (C).

As fotomicrografias dos pós liofilizados preparados com amido nativo e modificado de pinhão estão apresentadas na Figura 4. As imagens mostraram diferenças na disposição e forma das cápsulas, visto que as microcápsulas de amido nativo apresentaram aglomeramento de partículas, diferente do amido hidrolisado. Este fato pode ser atribuído a maior viscosidade aparente apresentada pelas suspensões preparadas com o amido nativo, visto que a hidrólise ácida promove a redução das cadeias de amido, diminuindo a viscosidade e aumentando a estabilidade à agitação

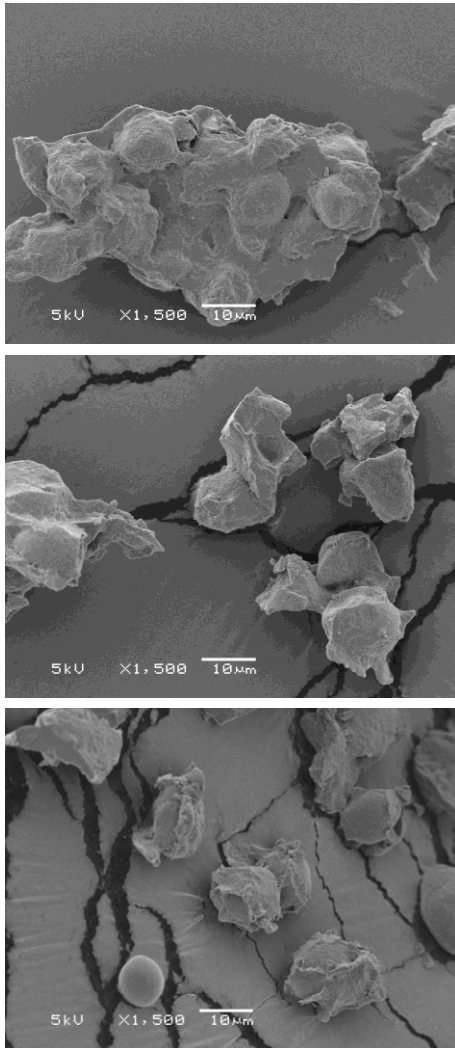
(Whistler & Daniel, 1990). Quanto à forma, as microcápsulas mostraram-se aproximadamente esféricas, com ausência de fissuras, porém com algumas protuberâncias.



**Figura 4.** Fotomicrografias obtidas pela MEV (x1500) das cápsulas preparadas com amido nativo, amido hidrolisado (6DE) e amido hidrolisado (12DE).

Na Figura 5 estão apresentadas as fotomicrografias das cápsulas preparadas com amido nativo, amido hidrolisado (6 DE) e amido hidrolisado (12 DE) com gelatina. Nestas imagens é possível observar que a presença da gelatina ocasionou a formação de cápsulas com superfícies irregulares.

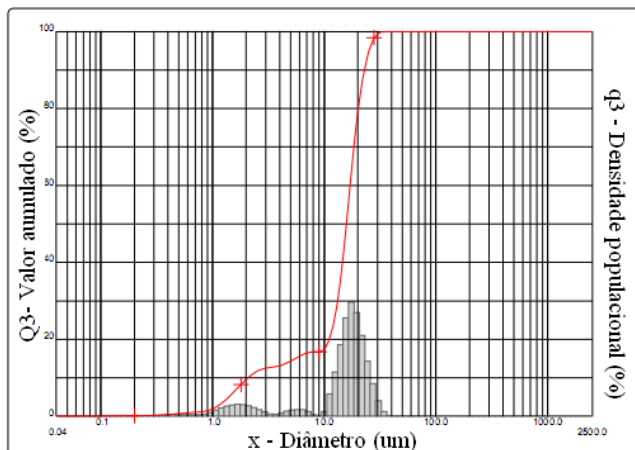
Bruschi *et al.* (2003) também observaram a formação de cápsulas irregulares quando empregaram gelatina para encapsular propólis por spray drying. As cápsulas tornaram-se mais esféricas utilizando manitol, pois açúcares de baixa massa molar atuam como plastificantes. .



**Figura 5.** Fotomicrografias obtidas através da MEV (x1500) das cápsulas preparadas com amido nativo, amido hidrolisado (6 DE) e amido hidrolisado (12 DE), com gelatina.

### 2.5.11 Distribuição granulométrica

A porcentagem para cada tamanho de partícula e a porcentagem acumulada foram plotadas contra o diâmetro da partícula em microns conforme Figura 6.



**Figura 6.** Distribuição granulométrica do amido de pinhão nativo.

Na Tabela 4 estão expostos os resultados da análise granulométrica dos amidos e microcápsulas. Observa-se que o amido modificado de pinhão tem tamanho de partícula médio maior que o amido nativo; o diâmetro médio para o amido nativo foi  $15,01 \pm 0,03 \mu\text{m}$  e para o amido modificado foi  $18,37 \pm 0,23 \mu\text{m}$ . As cápsulas preparadas com amido nativo, por sua vez, apresentaram diâmetro médio mais elevado do que as preparadas com amido modificado, este fato pode ser explicado devido à elevada viscosidade apresentada pelas emulsões contendo amido nativo o que permitiu a formação de aglomerados.

As amostras contendo gelatina apresentaram um diâmetro médio maior, fato que também pode ser explicado pelo aglomeramento de partículas visualizado pela Microscopia Eletrônica de Varredura.

**Tabela 4.** Análise granulométrica dos amidos nativo e hidrolisado, e microcápsulas.

Amostra	Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro ( $\mu\text{m}$ )- Ac. (10%)	Diâmetro ( $\mu\text{m}$ )- Ac. (50%)	Diâmetro ( $\mu\text{m}$ ) - Ac. (90%)
AN	$15,01 \pm 0,03$	$2,10 \pm 0,03$	$15,86 \pm 0,02$	$23,02 \pm 0,07$
AH	$18,37 \pm 0,23$	$2,46 \pm 0,19$	$17,90 \pm 0,23$	$31,53 \pm 0,45$
A	$24,70 \pm 1,69$	$5,37 \pm 0,89$	$21,38 \pm 0,89$	$46,85 \pm 4,67$
AG	$30,04 \pm 0,96$	$7,68 \pm 0,03$	$26,67 \pm 0,48$	$55,84 \pm 2,54$
B	$22,73 \pm 0,19$	$5,74 \pm 0,01$	$21,90 \pm 0,12$	$38,35 \pm 0,50$
BG	$26,78 \pm 0,17$	$7,40 \pm 0,11$	$25,38 \pm 0,11$	$46,19 \pm 0,37$
C	$21,31 \pm 0,20$	$5,28 \pm 0,06$	$19,81 \pm 0,09$	$36,95 \pm 0,70$
CG	$26,91 \pm 0,82$	$7,45 \pm 0,14$	$25,49 \pm 0,46$	$46,53 \pm 1,98$

AN: amido nativo

AH12: amido hidrolisado 12 DE

A: cápsulas preparadas com amido nativo

AG: cápsulas preparadas com amido nativo + gelatina (5 % p/p)

B: cápsulas preparadas com amido 6 DE

BG: cápsulas preparadas com amido 6 DE + gelatina (5 % p/p)

C: cápsulas preparadas com amido 12 DE

CG: cápsulas preparadas com amido 12 DE +gelatina (5 % p/p)

Através da análise estatística apresentada na Tabela 5, observa-se que as cápsulas feitas com amido nativo e gelatina apresentaram maior diâmetro médio, apresentando diferença significativa quando comparada às outras amostras. Já os pós preparados com amido hidrolisado de 6 e 12 DE não diferiram de forma significativa diante do diâmetro médio de partícula. A presença da gelatina também não diferiu significativamente entre estas amostras contendo amido hidrolisado.

**Tabela 5.** Análise estatística da distribuição granulométrica diante do diâmetro médio encontrado.

Amostra	Diâmetro médio (um)
AG	30,04±0,96 <sup>a</sup>
CG	26,91±0,82 <sup>b</sup>
BG	26,78±0,17 <sup>bc</sup>
A	24,70±1,69 <sup>cd</sup>
B	22,73±0,19 <sup>de</sup>
C	21,31±0,20 <sup>e</sup>
AH	18,37±0,23 <sup>f</sup>
AN	15,01±0,03 <sup>g</sup>

\*Média de três repetições ± desvio padrão. Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 2.5.12 Temperatura de transição vítrea

Na Tabela 6 estão apresentadas as propriedades térmicas e termodinâmicas dos amidos nativo e hidrolisado e dos pós liofilizados. Pode-se perceber que a faixa de temperatura estudada permitiu encontrar a temperatura do pico endotérmico dos amidos nativo e hidrolisado, e dos pós liofilizados preparados com amido nativo. Para detectar a temperatura de transição vítrea das outras amostras será necessário aumentar a faixa de temperatura.

**Tabela 6.** Propriedades térmicas e termodinâmicas dos amidos nativo e hidrolisado e dos pós liofilizados.

Amostra	T <sub>0</sub> (°C)	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>f</sub> (°C)	ΔH <sub>g</sub> (J.g <sup>-1</sup> )
AN	52,48	65,54	80,44	8,89
AH12	50,11	69,64	95,56	8,50
A	56,74	66,85	75,23	3,64
AG	59,94	66,59	74,16	4,19
B	----	----	----	----
BG	----	----	----	----
C	----	----	----	----
CG	----	----	----	----

T<sub>g</sub> - temperatura de pico endotérmico

T<sub>0</sub> - temperatura inicial da gelatinização

T<sub>f</sub> - temperatura final da gelatinização

ΔH<sub>g</sub> - entalpia de gelatinização

O valor da T<sub>g</sub> para o amido de pinhão se aproximou muito ao valor reportado por Bello-pérez *et al.* (2006) de 63,4°C±0,4; já Thys (2009) encontrou um valor de 47, 64°C para a T<sub>g</sub> do amido de pinhão.

Diferenças de valores de T<sub>g</sub> dentro da mesma espécie botânica podem ocorrer devido às condições do meio que afetam diretamente as características da planta como composição e distribuição de tamanhos de grânulos (Ellis *et al.*, 1998). Os grânulos menores apresentam maiores temperaturas de gelatinização (inicial, de pico e final) que os grânulos grandes (Yonemoto, 2006).

A T<sub>g</sub> encontrada para o amido modificado foi mais elevada, visto que a temperatura de gelatinização é atribuída à hidrólise da lamela amorfa (amilose), que desestabiliza a lamela cristalina (amilopectina) aumentando a hidratação e o inchamento dos cristais; quando a modificação é feita, conseqüentemente, a lamela amorfa é degradada, e as temperaturas relacionadas à gelatinização são deslocadas para temperatura mais altas (Garcia *et al.*, 1999).

A T<sub>0</sub> encontrada para o amido hidrolisado 12 DE foi menor do que a encontrada no amido nativo, assim como uma ampla faixa de gelatinização, este fato pode ser atribuído a grande quantidade de formas irregulares presentes no amido hidrolisado (Yonemoto, 2006).

A entalpia de gelatinização foi próxima a encontrada por Bello-pérez *et al.* (2006) referente a 8, 06 ± 0,50 J.g<sup>-1</sup>.

As cápsulas preparadas com amido nativo sofreram um decréscimo na entalpia devido ao aquecimento sofrido anteriormente, durante o preparo da suspensão. Quando uma suspensão aquosa de amido é aquecida acima de uma determinada temperatura, ligações intermoleculares são rompidas, e pontes de hidrogênio com a água são estabelecidas, juntamente com o inchamento granular e decréscimo do número e tamanho das regiões cristalinas. Se o tratamento é prolongado, os grânulos exercem forte pressão uns contra os outros, ocorrendo rompimento granular (Ordóñez *et al.*, 2005).

Nas amostras com gelatina ocorreu a formação de dois picos endotérmicos, sendo o primeiro a 66,59 °C, conforme apresentado na Tabela 6, e o segundo a 90,53 °C. Acredita-se que o segundo pico refere-se à gelatina, visto que o primeiro se aproximou muito ao encontrado nas amostras contendo apenas o amido.

### 2.5.13 Conteúdo de umidade

A umidade dos pós liofilizados tanto com amido nativo como hidrolisado permaneceram entre 5 e 10 % (b.u.), o que permitiu a obtenção de um pó sem *caking*.

### 2.5.14 Determinação do conteúdo total e superficial

Os resultados apresentados na Tabela 7 mostraram diferenças significativas entre todas as amostras quanto ao conteúdo superficial de carotenóides, sendo que as cápsulas contendo amido nativo mostraram um maior conteúdo superficial, possuindo menor poder de retenção de carotenóides. Já os pós preparados com amido de maior porcentagem de hidrólise mostraram menor conteúdo superficial.

As amostras contendo gelatina diminuíram de forma significativa o conteúdo superficial de β-caroteno; em um estudo feito por Yoshii *et al.* (2001), foi constatado que a adição de gelatina à uma solução encapsulante, à base de maltodextrina e goma arábica, promoveu um aumento da retenção de etilbutirato durante a atomização, além de melhorar o controle das taxas de liberação desse volátil. Os autores sugeriram, como explicação, a formação de uma crosta na superfície das partículas.

**Tabela 7.** Conteúdo superficial de carotenóide apresentado pelas microcápsulas.

Amostras	Conteúdo superficial (%)
A	43,11±1,06 <sup>a</sup>
AG	30,28±0,62 <sup>b</sup>
B	24,16±0,65 <sup>c</sup>
BG	14,79±0,80 <sup>d</sup>
C	18,64±0,50 <sup>e</sup>
CG	12,72±0,65 <sup>f</sup>

\*Média de três repetições ± desvio padrão. Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 2.5.15 Determinação da solubilidade

Os resultados de solubilidade estão expostos na Tabela 8. Os pós feitos com amido hidrolisado apresentaram maior solubilidade do que os feitos com amido nativo. Os resultados encontrados podem ser atribuídos às diferenças na estrutura e composição dos amidos. O amido ácido modificado possui uma maior quantidade de compostos de menor peso molecular resultantes da depolimerização do amido nativo, aumentando a solubilidade do pó. A presença da gelatina diminuiu a solubilidade das partículas, este resultado pode ser atribuído à formação de um revestimento, que dificultou a lixiviação de compostos de baixo peso molecular.

**Tabela 8.** Solubilidade em água fria (20°C) apresentada pelas microcápsulas.

Amostras	Solubilidade (%)
A	4,28±0,24 <sup>a</sup>
AG	2,63±0,10 <sup>b</sup>
B	14,67±0,85 <sup>c</sup>
BG	10,73±0,45 <sup>d</sup>
C	24,1±0,07 <sup>e</sup>
CG	22,13±0,68 <sup>f</sup>

\*Média de três repetições ± desvio padrão. Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4. Conclusão

A partir da técnica de modificação escolhida para o amido foi possível avaliar a influência da temperatura e concentração de ácido na hidrólise do amido de pinhão. Constatou-se que os dois parâmetros foram significativos, nas faixas de temperatura e concentração de ácido estudadas e que os dados experimentais foram bem ajustados a uma equação de primeira ordem. A partir do planejamento experimental, verificou-se que os valores de dextrose equivalente são maiores em temperaturas mais elevadas e em concentrações mais elevadas, porém em faixas de temperaturas mais baixas, a concentração de ácido não influencia tanto no valor de DE.

A microscopia ótica mostrou-se uma importante ferramenta, como análise preliminar, para visualizar a formação das microcápsulas.

Quanto à caracterização das microcápsulas por MEV, foi possível observar pelas fotomicrografias que as cápsulas preparadas apenas com amido de pinhão como material de parede formaram cápsulas aproximadamente esféricas. Por sua vez, as cápsulas preparadas com gelatina, apresentaram superfícies e formas irregulares, o que representou um fator negativo.

As amostras contendo gelatina mostraram maior distribuição granulométrica devido à formação de aglomerados, e uma solubilidade menor, porém apresentaram uma redução significativa no conteúdo superficial das cápsulas.

A solubilidade apresentada por todas as amostras mostrou-se baixa, o que limita a aplicação na indústria de alimentos, tornando-se importante verificar a solubilidade das mesmas em outros meios e também em água quente.

A princípio, as cápsulas formadas apenas com amido apresentaram melhores características, visto que as mesmas mostraram superfícies lisas e formas mais esféricas quando visualizadas na MEV e maior solubilidade em água. O amido nativo apresentou conteúdo superficial mais elevado e formação de aglomerados que podem permitir a formação de caking, logo os amidos hidrolisados parecem ser agentes encapsulantes mais viáveis.

A solubilidade apresentada por todas as amostras mostrou-se baixa, o que limita a aplicação na indústria de alimentos, tornando-se importante verificar a solubilidade das mesmas em outros meios e também em água quente.

Para confirmar a possibilidade do amido de pinhão ser utilizado como agente encapsulante, assim como a avaliar a interferência da gelatina na formação das microcápsulas, testes de estabilidade e isotermas de sorção estão sendo conduzidos.

#### 5. Referências

- AOAC. Official methods of Analysis 16<sup>th</sup> ed. *Association of Official Analytical Chemists*, Washington, DC. 1990
- ASCHERI, D. P. R., M. O. M. MARQUEZ, *et al.* Microencapsulação de óleo essencial de laranja: seleção de material de parede. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, p.1-6. 2003.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. *Alimentos e Nutrição - Brazilian Journal of Food and Nutrition*, v.16, n.1, p.89-97. 2005.
- BARBOSA, M. I. M. J., C. D. BORSARELLI, *et al.* Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, v. 8, p. 989-994. 2005.



- BELLO-PÉREZ, L. A.; GARCIA SUAREZ, F.J.; MENDEZ-MONTEALVO, G.; NASCIMENTO J. R. O.; LAJOLO, F.M.;CORDENUNSI, B.R. Isolation and Characterization of starch from seeds of Araucária brasiliensis: A novel starch for application in food industry. *Starch/Stärke*, v. 58, n.6, p. 283-291, 2006
- BRUSCHI, M. L., M. L. C. CARDOSO, *et al.* Gelatin microparticles containing propolis obtained by spraydrying technique preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, v.264, p.45-55. 2003.
- CANO-CHAUCA, M.; SRINGHETA, P.C.; RAMOS, A.M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v.6, n.4, p 420-428, 2005.
- CARDELLO, H. M. A. B. E CELESTINO, E. M. Encapsulação de aromas e sabores: utilização de amidos como agentes encapsulantes. *Boletim SBCTA*, v.30, n.2, p.166-171. 1996.
- CEREDA, M. P. Amidos modificados. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, n. 1, p. 31-36, 1996.
- CHATTOPADHYAYA, S., R. S. SINGHAL, *et al.* Oxidised starch as gum arabic substitute for encapsulation of flavours. *Carbohydrate Polymers*, v.37, p.143-144. 1998.
- DESOBRY,S.A.,NETTO, F.M., & LABUZA,T.P. Comparison of spray-drying,drum-dryingandfreeze-dryinfor b-carotene encapsulation and preservation. *Journal of Food Science*, v.62, n. 6, p.1158–1162.1997
- DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technology*, v.42, n.4, p.136–151. 1988.
- ELLIS, R.P.;COCHRANE, M.P.; DALE, M.F.B.; DUFFUS, C.M.; LYNN, A.; MORRISON, I. M.; PRENTICE, R.D.M.; SWANSTON, J.S.; TYLLER, S.A.Starch production and industrial use. *Journal Science of Food Agricultural*. n.77, p.289-311.1998
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. EMBRAPA. Cultivo do pinheiro-do-paraná. 2001. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pinheiro-do-paraná>
- FELLOWS, P. J. *Tecnologia do processamento de alimentos: Princípios e Prática*. Porto Alegre: Artmed. 2006
- GARCIA-ALONSO, A.;JIMÉNEZ-ESCRIG, A.;MARTÍN-CARRÓN, N.;BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Assesment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch. *Food Chemistry*, n.66, p.181-187. 1999.
- HOGAN, S. A., B. F. MCNAMEE, *et al.* Microencapsulating properties of sodium caseinate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, n.4, p.1934–1938. 2001.
- KRISHNAN, S., R. BHOSALE, *et al.* Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers*, v.61, p.95-102. 2005.
- MILLER, L.G. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analitycal Chemistry*. v. 31, n.3, p 426-428, 1959.
- MUN, S.; SHIN, M. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. *Food Chemistry*., v.96, n.1, p. 115-121, 2006.
- ORDONEZ, J. A.; CAMBERO, M.I.R.; FERNANDEZ, L.A.; GARCIA SANZ, M.L.; MINGUILLÓN, G.D.G.; HOZ PERALES, L.; Cortecer, M.D.S. *Tecnologia de Alimentos*. Porto Alegre: Artmed. 2005.
- QI, Z. & XU, A. Starch-based ingredients for flavor encapsulation. *Cereal Foods World*, v. 44, n. 7, p. 460 – 465, 1999.
- SHAHIDI, F. E X. Q. HAN. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.33, n.6, p.501-547. 1993.
- SHEU, T. Y. E M. ROSENBERGE. Microencapsulation by spray drying ethyl caprylate in whey protein and carbohydrate wall systems. *Journal of Food Science*, v. 60, n.1, p. 98–103. 1995.
- THYS, R.C.S. Caracterização e avaliação de amido nativo e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas. Tese de doutorado, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, 2009.
- WAGNER, L. A. & WARTHESEN, J.J. Stability of spray dried encapsulated carrot carotenes. *Journal of Food Science*, v.60, n.5, p.1048-1053. 1995.
- WOSIACKI, G. & CEREDA, M. P.. Characterization of Pinhão Starch. Part I. Extraction and Properties of the Starch Granules. *Starch - Stärke*, v.37, n.7, p.224-227. 1985.
- YONEMOTO, P. G. Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, Brasil, 2006.
- YOSHII, H.; SCOTITANTAWAT, A.; LIU, S.D.; ATARASHI, T.; FURUTA, T.;AISHIMA, S.; OHGAWARA, M.; LINKO, P . Flavor release from spray-dried maltodextrin/gum arabic or soy matrices as a function of storage relative humidity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v.2, n.1, p.55-61, 2001.