



GERSON REGINALDO MARQUES

**MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING*
DE ÁCIDO BENZOICO E ÓLEO ESSENCIAL DE
TOMILHO**

LAVRAS – MG

2017

GERSON REGINALDO MARQUES

**MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING* DE ÁCIDO
BENZOICO E ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Profa. Dra. Soraia Vilela Borges

Orientadora

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel

Dra. Regiane Victória de Barros Fernandes

Coorientadores

LAVRAS - MG

2017

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

Marques, Gerson Reginaldo.

Microencapsulação por *Spray drying* de ácido benzoico e óleo
essencial de tomilho / Gerson Reginaldo Marques. - 2016.

132 p.

Orientadora: Soraia Vilela Borges.

Coorientadores: Diego Alvarenga Botrel, Regiane Victória de
Barros Fernandes

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2016.

Bibliografia.

1. Ácido benzoico. 2. Óleo essencial. 3. Microencapsulação. I.
Borges, Soraia Vilela. II. Botrel, Diego Alvarenga. III. Fernandes,
Regiane Victória de Barros. IV. Título.

GERSON REGINALDO MARQUES

**MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING* DE ÁCIDO
BENZOICO E ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO**

***MICROENCAPSULATION OF BENZOIC ACID AND THYME
ESSENTIAL OIL BY SPRAY DRYING***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 22 de agosto de 2016.

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel UFLA

Profa. Dra. Joyce Maria Gomes da Costa UFVJM

Dra. Mônica Elisabeth Torres Prado UFLA

Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci UFLA

Profa. Dra. Soraia Vilela Borges
Orientadora

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel
Dra. Regiane Victória de Barros Fernandes
Coorientadores

LAVRAS - MG

2017

Ao meu pai, Geraldo Marques, pelo carinho, amor, força e determinação.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, presença constante, por sempre guiar o meu caminho concedendo oportunidades e força no momento de dificuldade.

À minha querida saudosa mãe, Maria da Conceição C. Marques, pela constância de seus ensinamentos deixados, carinho e incentivo. Mesmo ausente, alimenta a minha fé e esperança nesta conquista.

À orientadora Soraia, pelo apoio, disponibilidade, paciência e amizade demonstrados em todo o momento. Sempre esteve disposta a me ajudar, transmitindo conhecimento e, de certa forma, contribuíram para meu crescimento humano e profissional.

Ao coorientador Diego, pelo apoio e gentileza ao dividir comigo seus conhecimentos. Certamente, esta tese não seria a mesma sem a sua ajuda e percepções brilhantes.

À coorientadora Regiane pela amizade, pelas correções minuciosas e por sua incomparável gentileza.

À professora Suzan por ter aberto espaço em seu laboratório para a realização da análise cromatográfica. E à técnica Annete, por toda a ajuda na execução das análises.

Ao professor Luiz Fernando Barca e ao técnico Elias, da Universidade Federal de Itajubá, na realização da análise de tamanho de micropartículas.

À professora Maria Irene Yoshida, da Universidade Federal de Minas Gerais, na realização da análises térmicas.

Às alunas de iniciação científica, Eloá e Jayne, meu muito obrigado pela ajuda e amizade.

Às amigas que fiz, durante a pós-graduação, as quais levarei comigo por toda vida. Obrigado, Bárbara, Cristina, Eric, Evandro, Hugo, Isis, Joyce,

Pedro, Raíssa, Rhana, Tamara e Viviane, que foram muito importantes nos momentos de alegria e de trabalho.

Aos técnicos Tina, Creusa e Tales, profissionais excelentes, mais que colegas, amigos que me apoiaram e estiveram dispostos a sanar dúvidas durante a realização dos experimentos.

Aos membros da banca examinadora pelas valiosas sugestões, importantes para finalização deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras e ao departamento de Ciência dos alimentos pela oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

A todos os demais que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência das condições de secagem e materiais encapsulantes nas características físicas e físico-químicas das micropartículas de ácido benzoico e óleo essencial de tomilho. Na microencapsulação de ácido benzoico utilizou-se delineamento composto central rotacional (DCCR), tendo como variáveis independentes: temperatura de entrada do ar de secagem (145 °C – 180 °C) e concentração de ácido benzoico (2% - 10% (m/m)). A temperatura de secagem e a concentração de ácido benzoico influenciaram significativamente os parâmetros físicos e morfológicos das micropartículas. Os parâmetros da secagem por atomização de ácido benzoico indicou que a temperatura de 169 °C e a concentração de 6% (m/m) de ácido benzoico foram as melhores condições do processo para a obtenção de ácido benzoico microencapsulado, utilizando-se como matriz encapsulante o amido modificado e a maltodextrina. Um segundo experimento foi aplicado utilizando um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, sendo os tratamentos amido modificado (AM), maltodextrina (M) e blenda de amido modificado e maltodextrina (AM/M). A aplicação da mistura desses materiais encapsulantes (AM/M) resultou em uma alta eficiência de encapsulação (82,65 g/100 g). A morfologia do tratamento AM/M apresentou micropartícula parcialmente rugosa, e os tratamentos AM e M resultaram em uma formação de maior quantidade de micropartículas quebradiças. Já o diâmetro da micropartícula desse pó AM/M resultou em um valor de 19,15µm e o *span* o que indica uma boa homogeneidade das micropartículas variou de 1,94 a 2,15. A isoterma apresentou comportamento do Tipo III para o tratamento AM/M e o modelo matemático de GAB foi o que melhor ajustou aos dados experimentais para o comportamento de sorção de umidade da micropartícula. A viscosidade da emulsão de óleo essencial de tomilho foi avaliada para todos os tratamentos (IP - Isolado proteico; IPM - Isolado proteico e maltodextrina; IPM1Q - Isolado proteico, maltodextrina e 1% de quitosana e IPM2Q - Isolado proteico, maltodextrina e 2% de quitosana) pelo ajuste do modelo Herschel Bulkley. Um terceiro experimento foi feito para avaliar o material IP em diferentes misturas de encapsulantes (IPM, IPM1C e IPM2C). Na microencapsulação do óleo essencial de tomilho o tratamento com IPM apresentou melhores características para o produto resultante: 9,24 g/100 g para higroscopicidade, 60,62 g/100 g para solubilidade e a sua morfologia apresentou superfícies esféricas. Verificou-se que a eficiência do processo de microencapsulação do tratamento IPM apresentou alta retenção de óleo (29,50%), quando comparado com os tratamentos IP de (28,62%) e IPM1Q (23,75%). Os estudos de avaliação dos componentes principais indicaram, que o timol caracterizou-se como o constituinte majoritário do óleo essencial de tomilho, com teores acima de 40% da área normalizada, sendo essa importante característica para exercer atividade antioxidante.

Palavra chave: Ácido benzoico. Óleo essencial. Microencapsulação. Isoterma. Morfologia.

ABSTRACT

The objective of this work was to verify the influence of the drying conditions and encapsulating materials over the physical and physical-chemical characteristics of the microparticles of benzoic acid and thyme essential oil. In the microencapsulation of benzoic acid, we used a central rotational composite design, using the independent variables: drying air entry temperature (145°C – 180°C) and concentration of the benzoic acid (2% - 10% (m/m)). The drying temperature and concentration of benzoic acid significantly influenced the physical and morphological parameters of the microparticles. The parameters for atomization drying of benzoic acid indicated that the temperature of 169°C and the concentration of 6% (m/m) of benzoic acid were the best processing conditions for obtaining microencapsulated benzoic acid, using as encapsulating matrix modified starch and maltodextrin. A second experiment was conducted using a completely randomized design with three replicated, with the treatments modified starch (MS), maltodextrin (M) and a mixture of modified starch and maltodextrin (MS/M). The application of the mixture of these encapsulating materials (MS/M) resulted in high encapsulating efficiency (82.65 g/100g). The morphology of the MS/M treatment presented partially rough microparticle, and treatments MS and M resulted in the formation of a larger amount of brittle microparticles. The diameter of the microparticle of the MS/M powder resulted in a value of 19.15 µm and the span, which indicates good homogeneity of the microparticles ranged from 1.94 to 2.15. The isotherm presented Type III behavior for the MS/M treatment and the GAB mathematical model was the best adjusted to the experimental data for microparticle moisture sorption behavior. The viscosity of the thyme essential oil emulsion was evaluated in all treatments (WPI – Whey protein isolate; WPIM – Whey protein isolate and maltodextrin; WPIM1C – Whey protein isolate, maltodextrin and 1% chitosan and WPIM2C – Whey protein isolate, maltodextrin and 2% chitosan) using the Herschel Bulkley model. A third experiment was done to evaluate the WIP material in different blends of encapsulants (WIPM, WIPM1C and WIPM2C). In the microencapsulation of the thyme essential oil, the treatment with WIPM presented better characteristics for the resulting product: 9.24 g/100g for hygroscopicity, 60.62 g/100g for solubility and its morphology presented spherical surfaces. We verified that the efficiency of the microencapsulation process of treatment WIPM presented high oil retention (29.50%), when compared to treatment WIP (28.62%) and WIPM1Q (23.75%). The evaluation studied for the principal components indicated that thymol was characterized as major constituent of the thyme essential oil, with contents above 40% of the normalized area, being this important characteristic to exert antioxidant activity.

Keywords: Benzoic acid. Essential oi. Microencapsulation. Isotherm. Morphology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química de monoterpenos presentes no óleo essencial de tomilho	17
Figura 2 - Esquema de secagem por <i>spray drying</i>	19
Figura 3 - Representação esquemática de micropartículas.	21
Figura 4 - Representação da estrutura das micropartículas.....	23
Figura 5 - Estrutura do amido modificado	28
Figura 6 - Estrutura química da quitosana	31

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	11
1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Aditivo alimentar	13
2.1.1	Ácido benzoico	14
2.1.2	<i>Thymus vulgaris</i>	16
2.2	Microencapsulação por <i>spray drying</i>	18
2.3	Aplicação dos encapsulantes na técnica de microencapsulação	22
2.3.1	Maltodextrina	26
2.3.2	Amido modificado	27
2.3.3	Isolado proteico de soro de leite	28
2.3.4	Quitosana	30
3	PARÂMETROS DE QUALIDADE DAS MICROPARTÍCULAS ...	32
	REFERÊNCIAS	34
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	44
	ARTIGO 1 - INFLUENCE OF SPRAY-DRYING CONDITIONS ON PHYSICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MICROENCAPSULATED BENZOIC ACID	44
	ARTIGO 2 - AVALIAÇÃO DE DIFERENTES AGENTES ENCAPSULANTES NAS PROPRIEDADES DO ÁCIDO BENZOICO ENCAPSULADO POR SECAGEM POR <i>SPRAY DRYING</i>	74
	ARTIGO 3 - MICROENCAPSULATION OF THYME ESSENTIAL OIL IN POLYMERIC MATRICES BY SPRAY- DRYING: EVALUATION OF PHYSICAL AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS	104

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Os aditivos alimentares são substâncias adicionadas aos alimentos e têm como objetivos principais a manutenção ou modificação do sabor, a melhora da aparência, a adição de componentes funcionais agregando valor, além de estender a vida útil do produto como os agentes conservantes (antimicrobianos, antioxidantes dentre outros).

Do ponto de vista tecnológico, os ácidos orgânicos são essenciais para os produtos industrializados na conservação dos alimentos. Porém, muitas das indústrias alimentícias têm preferido utilizar produtos naturais de plantas que possuem ação conservante e, com isso, fins tecnológicos para a indústria de alimentos. Esses produtos necessitam de condições específicas de processamento, visando manter a estabilidade do produto, além de maiores cuidados durante o transporte e armazenamento. Os óleos essenciais, substâncias quimicamente instáveis e com alta volatilidade e por meio do processo de microencapsulação por *spray drying*, podem ser protegidos, terem a vida útil prolongada, além de serem transformados em pó, facilitando a adição desses produtos em matrizes alimentícias.

A microencapsulação por *spray drying* vem se destacando, há décadas, em razão da sua eficiência no processo de secagem e nas adequadas características do produto. É tradicionalmente utilizada na obtenção de produtos particulados, na indústria de alimentos, química, bioquímica e farmacêutica. O processo de microencapsulação consiste no envolvimento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos, em um material encapsulante, formando micropartículas que podem liberar o seu conteúdo em condições específicas. As características e a qualidade das micropartículas, geradas no processo de encapsulação, são determinadas pela escolha do material encapsulante. Este deve ser capaz de

formar uma cobertura de alta barreira para os compostos encapsulados, promovendo boa retenção de substâncias voláteis, proteção do núcleo contra a ação do oxigênio atmosférico e das condições adversas do meio externo. Os materiais de parede podem ser selecionados dentre uma ampla variedade de polímeros naturais ou sintéticos. As propriedades físicas e físico-químicas destes materiais são importantes, na caracterização dos produtos alimentícios em pó, tais como a morfologia da micropartícula, densidade, características de superfície, diâmetro, molhabilidade, solubilidade, além de outras propriedades.

Por outro lado, as propriedades químicas estão relacionadas com a composição da alimentação (composto ativo e encapsulantes) e, dependentes das condições de secagem, afetam a qualidade do produto desidratado. O presente trabalho tem como objetivo verificar a influência das condições de secagem e diferentes formulações de materiais encapsulantes nas características físicas e físico-químicas das micropartículas de ácido benzoico e óleo essencial de tomilho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aditivo alimentar

Os produtos industrializados ocupam uma parcela cada vez maior no mercado em decorrência de sua praticidade e facilidade de aquisição. A engenharia de alimentos está focada em estabelecer uma extensão do prazo de validade de alimentos empregando técnicas de preservação e manutenção da sua qualidade (EVERT-ARRIAGADA et al., 2014; NAKONIECZNA et al., 2014). Os aditivos são substâncias adicionadas aos alimentos que têm a função de inibir o crescimento microbiano do produto, o que pode assegurar suas características originais e sua segurança alimentar, tornando-os atrativos e mantendo o seu valor nutritivo (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). Os ácidos orgânicos como os ácidos acético, láctico, cítrico, benzoico e outros, são agentes conservantes de amplo uso (EVANGELISTA, 2008).

No entanto muitos países têm regulamentado o controle de uso de aditivos potencialmente carcinogênicos. No Brasil, foi criada a Agência Nacional de Vigilância Sanitária e, nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration* (FDA). Em 1962, foi criado o *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA), cujo objetivo foi avaliar, sistematicamente, o potencial tóxico, a mutagenicidade e carcinogenicidade dos aditivos alimentares. O JECFA, baseado em dados experimentais, tem a missão de recomendar ou não o uso de determinado aditivo e estabelecer o valor da Ingestão Diária Aceitável (IDA) para cada aditivo. A IDA indica a quantidade diária de um aditivo alimentar, que pode ser ingerida, ao longo prazo e que não venha apresentar riscos à saúde humana (WU et al., 2013).

A maioria dos produtos de origens vegetal e animal se deteriora com facilidade, perdendo a qualidade e, conseqüentemente diminuição da vida útil. Atualmente os ácidos orgânicos e óleo essencial vêm sendo cada vez mais

utilizados pela indústria alimentícia, para aumentar o tempo de armazenamento e, assim, atender às expectativas do mercado consumidor (ASSUMPÇÃO et al., 2008; HONORATO et al., 2013).

Com intuito de agregar qualidade aos produtos alimentícios, em pesquisas recentes desenvolvem-se estratégias para o uso de aditivos naturais, nas indústrias. Com a propagação das modernas práticas de preservação, os óleos essenciais têm sido muito utilizados, no preparo de alimentos, em virtude do sabor e aroma diferenciado, o que possibilita reduzir o crescimento de microrganismo indesejável da consequente deterioração dos alimentos (TRAJANO et al., 2009).

Entretanto, é necessário que sejam desenvolvidas alternativas de utilização e manipulação desses aditivos para a aplicação em alimentos com o objetivo de conservá-los, para que, aliadas às tecnologias, seja possível disponibilizar alimentos seguros. Dentre os aditivos, o ácido benzoico e o óleo essencial de tomilho são conservantes, que vêm sendo utilizados pela indústria alimentícia.

2.1.1 Ácido benzoico

O ácido benzoico (C_6H_5COOH) é um pó cristalino, branco, praticamente inodoro de massa molecular 121,11 g/mol; ponto de fusão 122 °C e um sabor fracamente ácido (BARREIRO; FRAGA, 2008; GARRITZ; CHAMIZO, 2002). A ação desse ácido está direcionada, principalmente, contra leveduras e fungos, incluindo microrganismos produtores de aflatoxinas (LUCK; JAGER, 2000; MACHADO et al., 2007). A faixa ótima de atuação é de pH 2,5 a 4,0, portanto é apropriada, para alimentos ácidos, tais como sucos de frutas, bebidas carbonatadas e pickles (BARNABÉ; VENTURINI FILHO, 2010; MORETTO et al., 2002). É pouco solúvel em água e tem sido utilizado na forma de benzoato de sódio (LIMA; AFONSO, 2009).

A ação conservadora de ácido benzoico foi descrita, pela primeira vez, por H. Freck, no ano de 1875, quando pesquisava um substituto para o ácido salicílico. Desde então, tem sido um conservante ainda utilizado pelo seu baixo custo e boa tolerância pelo organismo humano e animal (LUCK; JAGER, 2000). Os derivados do ácido benzoico são utilizados como produtos químicos, produtos farmacêuticos, agrotóxicos e produtos alimentícios (GUO et al., 2012; ZALTARIOV et al., 2016). O ácido benzoico inibe o desenvolvimento de microrganismos e a sua utilização é muito importante, para o desenvolvimento de novos materiais, nas indústrias farmacêuticas e de alimentos (KARABACAK et al., 2012).

O ácido benzoico ocorre naturalmente em baixas concentrações, em diversos alimentos, tais como frutos, vegetais, especiarias e castanhas (OHTSUKI et al., 2012). Além disso, o ácido benzoico e seus sais apresentam uma concentração máxima permitida de $0,05 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ de peso corpóreo (TFOUNI; TOLEDO, 2002). Na utilização segura de aditivos alimentares, o Brasil, como muitos países, segue a recomendação do Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (WU et al., 2013).

Na indústria de alimentos, a microencapsulação é utilizada com objetivo de revestir um ou mais materiais ativos ou aditivos por um agente encapsulante, de forma a manter ou modificar as suas propriedades funcionais. A finalidade desse processo com o ácido benzoico está relacionada à diminuição das interações de substâncias ativas do ácido com fatores externos, à melhoria da solubilidade no meio aplicado, à facilitação da sua incorporação na matriz alimentícia, permitindo a sua liberação controlada e de forma lenta e na extensão da capacidade de armazenamento.

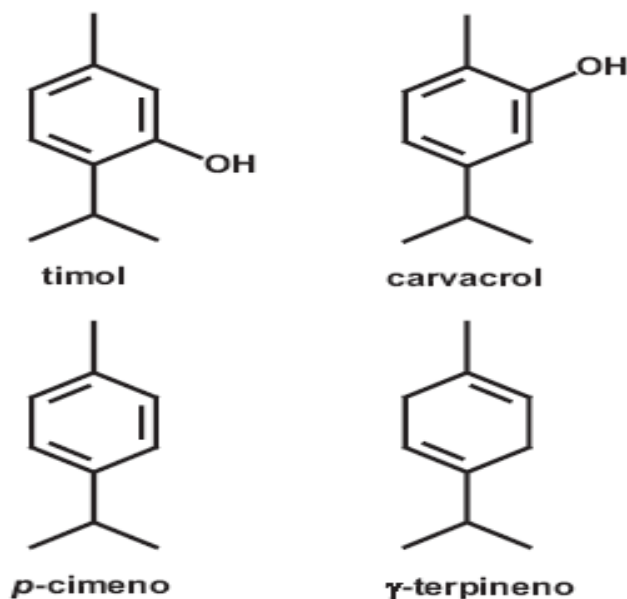
2.1.2 *Thymus vulgaris*

O tomilho (*Thymus vulgaris* L.) é um subarbusto perene, ereto, ramificado, muito aromático e apresenta de 20 a 30 cm de altura, com ramos levemente cobertos de pelos brancos e com folhas pequenas e ovais, utilizado na culinária, como condimento e na indústria de perfumes e aromatizante de licores. É uma planta medicinal, que pertence à família Lamiaceae, originária da Europa, sendo cultivado no Sul e Sudeste do Brasil. O cultivo do tomilho não demanda muitas exigências, podendo ser encontrado nas regiões secas, áridas, solos arenosos e calcária (CASTRO; CHEMALE, 1995; OKE et al., 2009). O tomilho compreende 150 gêneros, com cerca de 2800 espécies distribuídas, em todo o mundo, tendo o maior centro de dispersão a região do mediterrâneo. Dentre os gêneros cultivados da família Lamiaceae, destacam-se várias espécies, tais como a sálvia (*Salvia officinalis*), manjerição (*Ocimum basilicum*), orégano (*Origanum vulgare* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), entre outras e sua espécie e genótipo variam com a estação do ciclo vegetativo (MEWES; KRUGER; PANK, 2008).

O tomilho contém altas concentrações de fenóis, incluindo timol (12-61%), o carvacrol (0,4-20,6%), 1,8-cineol (0,2-14,2%), cimeno (9,1-22,2%), linalol (2,2-4,8%), borneol (0,6-7,5%), pineno (0,9-6,6%) e a cânfora (0-7,3%) (KOMAKI et al., 2016).

A Figura 1 representa estruturas químicas de monoterpênicos fenólicos (timol e carvacrol) e hidrocarbonetos (*p*-cimeno e γ -terpineno) presentes na composição química do óleo essencial de tomilho. Timol e carvacrol são os constituintes majoritários desse óleo essencial (JORDÁN et al., 2003; KOMAKI et al., 2016).

Figura 1 - Estrutura química de monoterpenos presentes no óleo essencial de tomilho



Fonte: Jordán et al. (2003)

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis de baixo peso molecular (OLIVEIRA; GODOY; COSTA, 2006; SIMÕES; SPITZER, 2003), cuja principal característica é a volatilidade, diferenciando-os dos óleos fixos, que são misturas de substâncias lipídicas, obtidas, normalmente, de sementes de soja, mamona e girassol (SIMÕES; SPITZER, 2003).

Existem diversas formas de extração desses óleos e entre as mais utilizadas estão a extração por arraste de vapor de água e a extração por fluido supercrítico. Esses óleos voláteis são, em sua maioria, compostos por terpenoides, aldeídos, fenóis, álcoois, cetonas entre outros em menores quantidades. Sua alta atividade biológica, também, inclui a inibição do crescimento microbiano (PARRIS; COOKE; HICKS, 2005). Desta forma, tem sido estabelecido, cientificamente, que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas

(BHAVANANI; BALLOW, 1992). A atividade antifúngica de óleos essenciais tem sido relatada, para diversas espécies, envolvendo, principalmente, as famílias Lamiaceae, Asteraceae, Verbenaceae, Rutaceae, Lauraceae e Cupressaceae (ABAD; ANSUATEGUI; BERMEJO, 2007).

De acordo com o estudo por Dorman e Deans (2000), óleo essencial de tomilho apresenta atividade antimicrobiana contra 25 bactérias (sendo 9 Gram-positivas e 16 Gram-negativas), por meio do halo de inibição com maior atividade inibitória frente a bactérias Gram-positivas.

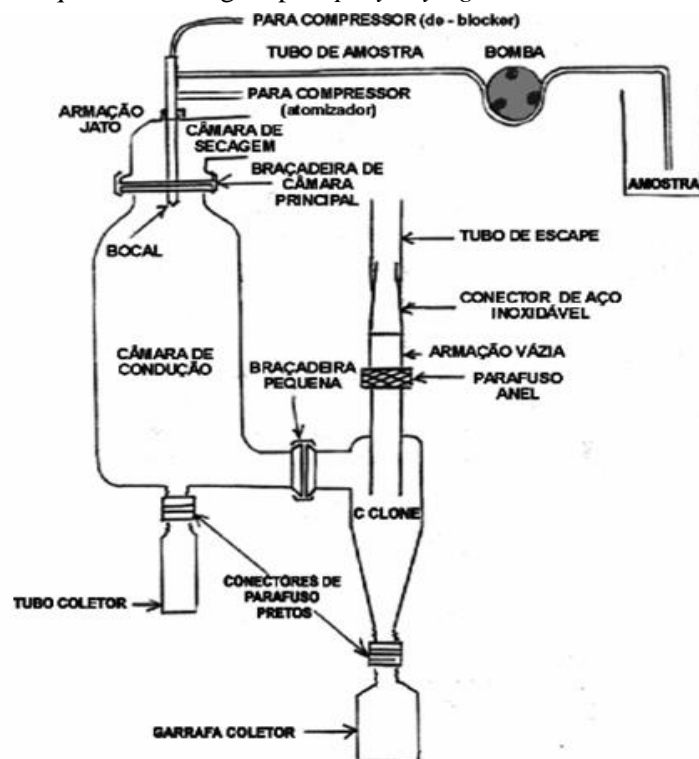
As propriedades antimicrobianas estão relacionadas ao elevado teor de timol e carvacrol, compondo 40 a 50% do óleo essencial de tomilho e que tem atribuído à sua ação antifúngica (GAYOSO et al., 2005).

Nos alimentos, os óleos essenciais podem ser adicionados para protegê-los contra o processo oxidativo e contra o crescimento microbiano. Em alguns casos, podem ser adicionados como agentes flavorizantes e que apresentam atividades antioxidantes. Nas especiarias, foram e, ainda, são utilizados óleos essenciais, durante séculos, para mascarar e atrasar a deterioração de alimentos durante o armazenamento (LIN; JAIN; YAN, 2014). O potencial antioxidante está relacionado com a presença de compostos fenólicos, flavonoides e terpenoides em sua estrutura química (OLIVEIRA; GODOY; COSTA, 2006). O óleo essencial extraído de tomilho apresenta como compostos majoritários o timol e carvacrol, sendo o timol o mais predominante (KOMAKI et al., 2016).

2.2 Microencapsulação por *spray drying*

A microencapsulação é um processo eficiente, econômico e permite o seu emprego a uma ampla variedade de agentes encapsulantes, com boa retenção dos compostos voláteis e não voláteis. A Figura 2 ilustra o esquema de secagem por *spray drying*.

Figura 2 - Esquema de secagem por *spray drying*



Fonte: Valduga, Battestin e Finzer (2003)

A técnica possibilita a utilização de soluções que constituem em um material encapsulante e substâncias bioativas, as quais, geralmente, formam uma emulsão ou solução a qual é atomizada por um bico atomizador, na forma de gotículas (spray), para dentro de uma câmara, por onde passa o fluxo de ar quente em temperaturas entre 160 °C e 230 °C. Visto que esse aquecimento, na escala laboratorial, é realizado por resistência elétrica, na indústria costuma-se utilizar queimador a gás (CAL; SOLLOHUB, 2010). A evaporação rápida do líquido (solução) ocorre em contato com ar aquecido dentro do secador, formando uma membrana, ao redor das gotas, que são transformadas em minúsculas gotículas em forma de pó (MARQUES et al., 2014;

PEIGHAMBARDOUST; TAFTI; HESARI, 2011; SUAVE et al., 2006). Com isso, o tempo de exposição do material ao calor é rápido e a temperatura do núcleo, geralmente, não ultrapassa a 100 °C, contribui, assim, para a redução de alterações degradativas indesejáveis (SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2000). Neste processo de secagem, a temperatura que ocorre dentro da câmara cai, acentuadamente, com a troca de calor, bem como a temperatura do ar de saída. Essa temperatura de saída é usualmente medida no caminho entre a câmara e o ciclone (CAL; SOLLOHUB, 2010; GHARSALLAOUI et al., 2007). O ar sai pela parte inferior do equipamento à temperatura de 60 °C a 80 °C, passando pelo ciclone, para recuperar micropartículas finas (por meio de força centrífuga) com saída para atmosfera (SILVA, 2000). A separação do pó se faz, por meio da projeção do ciclone, que é deixado no coletor. A coleta é feita em um frasco que é retirado no final da microencapsulação (CAL; SOLLOHUB, 2010; GHARSALLAOUI et al., 2007).

De acordo com Oetterer, Regitano-d'Arce e Spoto (2006), a microencapsulação por *spray drying* é um processo contínuo, caracterizado pelo curto tempo de residência dentro da câmara de secagem. A sua versatilidade é reconhecida por permitir o controle de diversas características do produto em pó, tais como densidade aparente, escoabilidade, higroscopicidade, atividade de água.

O processo de secagem por *spray drying* é influenciado por muitas variáveis, tornando complexo o seu efeito sobre as características de um produto desejado (FIGURA 3). O processo pode ser influenciado pela temperatura do ar de entrada, vazão de alimentação e heterogeneidade das substâncias a serem atomizadas. Esses parâmetros, em combinação, poderão influenciar a eficiência do processo e as propriedades físicas do produto em pó (solubilidade, tamanho de micropartículas, morfologia, entre outras) (CAL; SOLLOHUB, 2010; GHARSALLAOUI et al., 2007; MARQUES et al., 2014).

Figura 3 - Representação esquemática de micropartículas.

Aspersão do produto



Fonte: Oliveira e Petrovick (2010).

A escolha do tipo de atomizador é muito importante, nas características do produto. Quanto maior a energia fornecida ao líquido menor são as gotículas formadas e, para uma mesma quantidade de energia, o tamanho das gotículas vai depender da vazão de alimentação. Quanto maior a vazão de alimentação maior será o tamanho das gotículas e maiores serão as micropartículas formadas

(GHARSALLAOUI et al., 2007). A viscosidade é uma propriedade dependente da concentração de sólidos, temperatura da alimentação e varia, também, com a temperatura de secagem, afetando o escoamento da alimentação, rendimento do processo e tamanho da micropartícula. Alta concentração de sólido aumenta o rendimento e tamanho da micropartícula (GHARSALLAOUI et al., 2007).

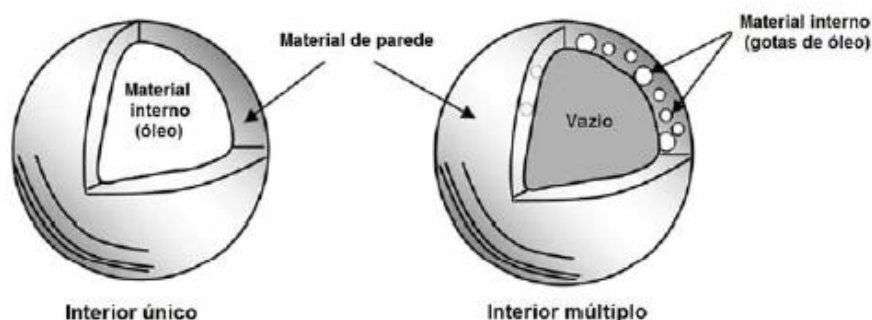
A encapsulação de aromas é uma das mais importantes aplicações na indústrias de alimentos (BARANAUSKIENE et al., 2007). A maior perda de componentes voláteis e termosensíveis, durante a microencapsulação, dá-se, na parte inicial do processo, quando, ainda, não há formação da membrana semipermeável. O método tem sido utilizado no encapsulamento de material ativo em relação ao agente encapsulante na proporção de 4:1. Na escolha do encapsulante, devem-se considerar as propriedades físico-químicas como solubilidade, peso molecular, cristalinidade, difusibilidade, propriedades de formação de filme e poder emulsificante (GHARSALLAOUI et al., 2007; SANTOS; FÁVARO-TRINDADE; GROSSO, 2005).

2.3 Aplicação dos encapsulantes na técnica de microencapsulação

Os primeiros registros de aplicação da técnica de microencapsulação datam 1930, mas o primeiro material microencapsulado surgiu em 1954. Nesse campo, houve uma contribuição importante, pois a microencapsulação permitiu o desenvolvimento de fórmulas de liberação controlada, ou seja, aquelas que têm a capacidade de liberar os agentes ativos de maneira programada. Em tais produtos, o princípio ativo protegido é liberado, gradativamente, por meio de estímulos adequados, tais como mudança de pH, rompimento físico, intumescimento e dissolução (GONSALVES et al., 2009). As micropartículas podem ser classificadas pelo tamanho de três categorias: macro (>5000 μm), micro (0,2 – 5000 μm) e nanopartículas (<0,2 μm). Quanto às suas características, as micropartículas podem ser divididas em dois grupos: aquelas

nas quais o núcleo é, nitidamente, concentrado na região central, circundado por filme definido e contínuo do encapsulante, e aquelas nas quais o núcleo é, uniformemente, disperso em uma matriz (AZEREDO, 2005). As micropartículas são caracterizadas pela sua forma esférica, sendo o interior único no qual o material ativo fica concentrado próximo ao centro, e o agente encapsulante forma a parede de micropartícula e o interior múltiplo, o agente encapsulante, forma uma rede tridimensional com vários materiais ativos que podem estar adsorvidos, incorporados com a matriz encapsulante (FIGURA 4).

Figura 4 - Representação da estrutura das micropartículas.



Fonte: Jafari et al. (2008)

A microencapsulação tem inúmeras aplicações e, no setor alimentício, os estudos foram iniciados nos anos 60 pelo Instituto de Pesquisas Southwest nos Estados Unidos, com a microencapsulação de óleos essenciais, para prevenir a oxidação e perda de substâncias voláteis no controle da liberação de aroma. A aplicação dessa tecnologia estendeu-se com a incorporação de aditivos naturais e ingredientes (corantes, temperos, acidulantes, vitaminas e minerais) os quais alteram a textura, melhoram a qualidade nutricional, aumentam a vida útil e controlam as propriedades dos alimentos microencapsulados contra perdas

nutricionais, além de preservar a cor e sabor (JYOTHI et al., 2010; MARQUES et al., 2014; PASQUALIM et al., 2010; PU; BANKSTON; SATHIVEL, 2011).

O material encapsulante é um fator muito importante nas características das micropartículas. O material pode ser selecionado, em função das propriedades físicas e químicas do agente ativo, para formar as micropartículas (FERNANDES et al., 2016; TAN et al., 2011; TONON; BRABET; HUBINGER, 2008).

No Quadro 1 são apresentados as classes e os agentes mais comumente utilizados na encapsulação de produtos alimentícios e componentes funcionais.

Quadro 1 - Agentes encapsulantes usados na utilização das micropartículas

Materiais	Encapsulantes
Carboidratos	Amido, maltodextrina, dextrinas, sacarose, xarope de milho, celulosos e quitosana.
Gomas	Goma arábica, carragena, cajueiro e alginato de sódio.
Lipídeos	Cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, monoglicerídeos e diglicerídeos, óleos e gorduras hidrogenadas.
Poliésteres naturais	poli(3-hidroxi butirato) P(3HB), poli(3-hidroxi valerato) P(3HV) e seus copolímeros.
Polímeros sintéticos	Butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA) tércio-butil-hidroxi quinona (TBHQ), tri-hidroxi-butilfenona (THBP) e propil galato (PG).
Proteínas	Glúten, caseína, gelatina, albumina.

Fonte: Fang e Bhandari (2010), Ramalho e Jorge (2006), Sarubbo et al. (2007), Shu et al. (2006) e Suave et al. (2006).

Os materiais utilizados, para encapsulação de substâncias bioativas, devem ser de grau alimentício e capazes de formar uma barreira entre a fase interna e o meio externo, a fim de proteger o material encapsulado das condições ambientais e, com isso, manter a estabilidade do produto durante o processamento e estocagem (NEDOVIC et al., 2011).

Os polímeros biodegradáveis utilizados podem ser os poliésteres poliamidas, poliaminoácidos, policarbonatos, poliuretanos, quitosanas, gelatina, gomas naturais, entre outras. Já as substâncias ativas podem ser proteínas, peptídeos, óleos voláteis, pigmentos, catalisador e pesticidas (JYOTHI et al., 2010).

Os carboidratos são muito empregados como agentes encapsulantes de aromas, em virtude de sua capacidade de reter os voláteis ao ambiente, durante o processo de secagem e apresentarem baixo custo (ASTOLFI-FILHO et al., 2005).

De acordo com Pérez-Alonso et al. (2003), a seleção do material de parede, a ser utilizado para o processo de encapsulação, geralmente, envolve a eficiência do processo de encapsulação, estabilidade, durante a estocagem, grau de proteção do núcleo e características da superfície.

Para se escolher o material encapsulante, deve-se levar em consideração as propriedades físico-químicas do material como solubilidade, peso molecular, cristalinidade, difusibilidade, propriedades de formação de filme, propriedades emulsificantes e todas elas associadas ao mecanismo de liberação controlada. Assim sendo, a eficiência de microencapsulação e a estabilidade das micropartículas, durante o armazenamento, são fortemente dependentes da composição do encapsulante (GHARSALLAOUI et al., 2007). As principais características destes encapsulantes, utilizados em processos de microencapsulação, estão descritas a seguir.

2.3.1 Maltodextrina

A maltodextrina é um produto parcialmente hidrolisado do amido formado de cadeias de D-glicose conectadas por ligações α -1,4 (SHAHIDI; HAN, 1993). É produzida por hidrólise ácida, enzimática ou pela combinação de ambos os processos sobre o amido (CHRONAKIS, 1998). O hidrolisado é descrito, em relação a sua dextrose equivalente (DE), que é uma medida do total do número de unidades de α -D-glicose anidro e está ligada ao seu grau de polimerização (DP), de forma que $DE=100/DP$ (KENNEDY; KNILL; TAYLOR, 1995). As maltodextrinas de diferentes dextroses equivalentes (DE) são, geralmente, utilizadas como material encapsulante por sua elevada solubilidade em água, baixa viscosidade, baixo teor de açúcar e suas soluções são incolores (MAHDAVI et al., 2016). Para serem chamados de maltodextrina, devem apresentar dextrose equivalente (DE) menor que 20. Se o DE é maior que 20, é chamado de xarope de amido (SHAHIDI; HAN, 1993). Maltodextrina de diferentes valores tem diferentes propriedades físico-químicas, incluindo solubilidade, temperatura de congelamento, viscosidade, entre outras (KLINKESOM et al., 2004).

No entanto, a principal desvantagem na utilização da maltodextrina é a deficiência na capacidade de emulsificação e a baixa retenção de compostos voláteis (BUFFO; REINECCIUS, 2000). De maneira geral, a maltodextrina é um produto com baixa higroscopicidade, não apresenta sabor doce e é amplamente usada para melhorar o corpo dos produtos alimentícios. Já os xaropes de milho apresentam uma leve doçura e maior capacidade de absorver umidade (BE MILLER; WHISTKER, 1996).

A maltodextrina é considerada um bom agente encapsulante, porque exibe boa solubilidade e baixa viscosidade, mesmo em alta concentração de sólidos. Além disso, fornece boa estabilidade ao óleo encapsulado, mas exibe

baixa capacidade emulsificante e estabilizante à retenção de óleos (FRASCARELI et al., 2012; GHAESALLAOULI et al., 2007).

Apesar da maltodextrina não promover boa retenção de compostos voláteis, durante a secagem por atomização (acima de 85%), ela é capaz de proteger os ingredientes encapsulantes da oxidação (RÉ, 1998).

Gharsalloui et al. (2007) mencionaram que a utilização de carboidratos de baixo peso molecular, em microencapsulação, geralmente, está associada ao problema de *caking* (estrutura aglomerada), colapso e recristalização de carboidratos amorfos durante o armazenamento. O conhecimento da formação de *caking* pode ser explicado pela formação de enlaces entre as micropartículas adjacentes quando a viscosidade da superfície atinge um valor crítico (LE MESTRE et al., 2002).

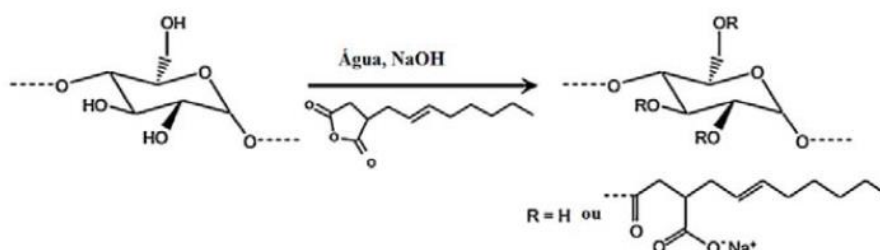
2.3.2 Amido modificado

O amido modificado é um material encapsulante muito utilizado, na microencapsulação de ingredientes alimentícios por oferecer excelente retenção de voláteis, pela estabilidade da emulsão e por apresentar baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos (KING; TRUBIANO; PERRY, 1976). Em razão da natureza anfifílico deste derivado de amido, trata-se de um material de parede ideal para a secagem por atomização (ROCHA; FÁVARO-TRINDADE; GROSSO, 2012).

A produção de amidos modificados é uma alternativa que vem sendo desenvolvida, há algum tempo, pois tem o objetivo de superar uma ou mais limitações dos amidos nativos e, assim, aumentar a utilidade e aplicabilidade desse polímero pelas indústrias. O amido pode ser modificado, quimicamente, por meio da hidrólise parcial, quando ocorre uma reação do agente hidrofóbico com o CO₂ sob condições pré-determinadas de temperatura (T) e pressão (P). Com isso, o amido é atraído, para a interface óleo/água de uma dispersão,

podendo, assim, ser utilizado com agente encapsulante. Um composto, frequentemente utilizado, para ligação ao amido, é o octenil anidrido succinato (FIGURA 5). O amido parcialmente hidrolisado ganha um elemento hidrofóbico, sob a forma de grupos de octenil, resultando em moléculas inteiras com um caráter anfifílico (SWEEDMAN et al., 2013). Esta modificação assim produzida tem boa dispersão em água e excelente retenção do material volátil de aroma após a secagem (REINECCIUS, 1991, ROCHA; FÁVARO-TRINDADE; GROSSO, 2012).

Figura 5 - Estrutura do amido modificado



Fonte: Sweedman et al. (2013).

2.3.3 Isolado proteico de soro de leite

As proteínas alimentícias possuem a vantagem de possuírem alto valor nutricional e propriedades funcionais únicas, tais como emulsificante, geleificação, formação de espuma e boa interação com polissacarídeos (BAKRY et al., 2016). O soro de leite é um subproduto da indústria de laticínios que representa a porção aquosa do leite que se separa do coágulo durante a fabricação de queijo ou da caseína. Apresenta-se como um líquido opaco e cor amarelo-esverdeada (GUIMARÃES et al., 2010). Pelo elevado conteúdo de substâncias orgânicas presentes, no soro de leite, associado, principalmente, à presença de lactose e proteínas, o seu poder poluente é considerado alto, com uma demanda bioquímica de oxigênio que varia de 27 a 60 kg.m⁻³ (PRAZERES;

CARVALHO; RIVAS, 2012). Este coproduto já foi considerado uma matéria-prima de aproveitamento para a indústria de lácteos. Entretanto, com as regulamentações ambientais rigorosas, que proíbem o descarte de produtos com alta demanda biológica de oxigênio, além das comprovações científicas com alto valor nutricional dos constituintes do soro e com o desenvolvimento de técnicas de fracionamento, esse produto é amplamente requisitado como precursor de ingredientes ou como ingrediente na indústria de alimentos (GERNIGON; SCHUCK; JEANTET, 2010).

Concentrados ou isolados proteicos de soro são ingrediente alimentar que apresenta uma alta solubilidade em ampla faixa de pH. A capacidade de produtos de proteínas do soro de absorver água e as características de gelificação permitem sua aplicação como ingredientes no processamento de alimentos (UNITED STATES DAIRY EXPORT COUNCIL - USDEC, 2016). Esses produtos, derivados de soro, comercialmente disponíveis, são concentrados proteicos de soro (*whey protein concentrate* – WPC) e são produtos obtidos pela remoção de constituintes não proteicos de soro de forma que o produto final seco contenha, em geral, entre 35% a 80% de teor proteico; e o isolado proteico de soro (*whey protein isolate* – WPI) é uma forma comercial mais pura das proteínas do soro e contém entre 80% a 95% de proteína (BRANS, 2006). Os concentrados e isolados proteicos têm grande aplicação, nas indústrias alimentícias, pela funcionalidade que podem conferir aos alimentos. A tecnologia de separação por membrana, a evaporação a vácuo e a secagem em *spray dryer* são utilizadas para obtenção de soro em pó, concentrados e isolados proteicos de soro (CARIC et al., 2009; SCHUCK; JEANTET; CARVALHO, 2010).

As proteínas de soro de leite são muito utilizadas, para encapsulação de ingredientes alimentícios, por apresentarem propriedades funcionais requeridas para a formação da parede das micropartículas (ROSENBERG; SHEU, 1996).

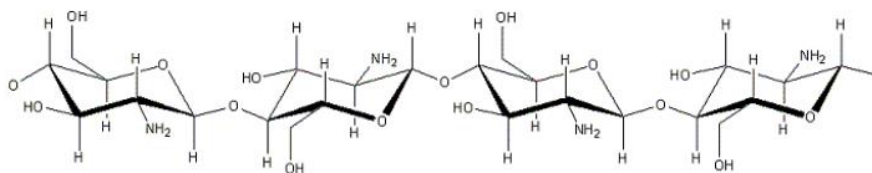
De acordo com Charve e Reineccius (2009), proteína de soro de leite atua como uma barreira na oxidação lipídica, uma vez que o material encapsulante oferece melhor proteção entre os carreadores de *flavor* tradicionais, sendo observados entre os agentes menos permeáveis ao oxigênio.

2.3.4 Quitosana

O início da história da quitosana data dos anos de 1859 quando pesquisadores relataram a forma desacetilada deste polímero. Mas, somente, nas últimas décadas é que esse polímero vem sendo explorado, em aplicações industriais, em decorrência do aumento da sua importância por ser uma fonte renovável e biodegradável (LARANJEIRA; FÁVERE, 2009). A quitosana, um polissacarídeo derivado da quitina, é um polímero biodegradável, encontrado, principalmente, em carapaças de crustáceos cujo material é considerado, economicamente viável (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). É obtida, quimicamente, por desacetilação do polímero quitina, na presença de álcalis. Apresenta solubilidade em soluções de ácidos diluídas em pH abaixo de 6,0, sendo insolúvel em água. Este polissacarídeo é uma base fraca, sendo insolúvel em água e solventes orgânicos, porém é solúvel na maior parte dos ácidos orgânicos, como, por exemplo, os ácido acético e fórmico e, também, em ácidos inorgânicos como ácido clorídrico (SHAHIDI; ARACHCHI; JEON, 1999). Em solução, apresenta comportamento pseudoplástico e a viscosidade aumenta com a redução da temperatura e com o aumento do grau de desacetilação (DASH et al., 2011).

A quitosana apresenta-se como um biopolímero catiônico obtido a partir da desacetilação da quitina (poli-N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glicopiranoose). A Figura 6 representa a estrutura química da quitosana, formada de unidades de 2-desoxi-N-acetil-D-glicosamina e 2-desoxi-D-glicosamina unidos por glicosídicas β -(1 \rightarrow 4).

Figura 6 - Estrutura química da quitosana



Fonte: Azevedo et al. (2007)

Este polímero vem sendo utilizado, no tratamento de água como agente quelante, floculante e clarificante; na medicina e biotecnologia, como antitumoral, anticoagulante, cicatrizante, fungicida e bactericida; em cosméticos, como encapsulante de fragrâncias, pigmentos e substâncias ativas; no processamento de alimentos na remoção de corantes e substâncias ácidas; como espessante e estabilizante para molhos; na clarificação de vinhos e na proteção de frutos, na forma de coberturas comestíveis (GOY; ASSIS; CAMPANA-FILHO, 2004). Por suas características, possibilita a utilização como matriz polimérica para a liberação controlada de micropartículas (JUNG; CHUNG; LEE, 2006).

A variedade dos tipos de quitosana permite a preparação de micropartículas de diferentes tamanho e formas entre seus componentes. Quando comparada a outros polímeros, a grande quantidade de orifícios/poros se mostra de maneira linear desde a superfície até seu interior, promovendo, desta maneira, uma grande difusão de substrato (AZEVEDO et al., 2007).

A escolha do material encapsulante pode ser selecionado a partir de uma grande variedade de polímeros naturais ou sintéticos. O processo de microencapsulação, utilizado com a matriz polimérico, pode influenciar na característica do produto.

3 PARÂMETROS DE QUALIDADE DAS MICROPARTÍCULAS

As características das micropartículas estão relacionadas com os parâmetros físicos do produto, sendo de grande importância de se avaliar pela sua forma, densidade, diâmetro e tamanho. As medidas de tamanho da micropartícula são muito usadas para monitorar o processos industriais. O desempenho dos produtos gerados, no processo de encapsulação, é determinado pelo rendimento do pó e tamanho das micropartículas que pode apresentar suas características de forma crítica (ETZLER; DEANNE, 1997). A descrição da distribuição do tamanho das micropartículas é utilizada, para caracterizar as propriedades de materiais particulados, pois pode estar associada à aglomeração, grau de dispersão, deposição, fluidez, granulação, permeabilidade e sedimentação. Já as propriedades físico-químicas estão relacionadas com a composição e a interação de substâncias como solventes ou estrutura do pó e, são exemplificadas pela instantaneização e pegajosidade (CHEN; PATEL, 2008; TAN et al., 2011).

As propriedades do produto em pó, normalmente, são independentes, sendo assim, a distribuição do tamanho das micropartículas ou conteúdo de umidade pode resultar em mudança simultânea da densidade e escoamento. O conteúdo de umidade das micropartículas é um aspecto muito importante para o transporte do produto (BARBOSA-CÁNOVAS; JULIANO, 2005; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010). A medida da densidade é fundamental, nas operações de estocagem, processamento, embalagem e distribuição, pois quanto maior a densidade menor é o volume da embalagem, o que representa o espaço necessário para o armazenamento (BHANDARI; HARTEL, 2005).

As isotermas de sorção são curvas que representam a relação entre o teor de água, presente em um material e a sua disponibilidade, sendo muito utilizada para prever as mudanças na estabilidade dos alimentos. A estabilidade de

alimentos em pó, também, é um parâmetro importante a ser avaliado com a temperatura de transição vítrea (BHANDARI; ADHIKARI, 2009).

REFERÊNCIAS

ABAD, M. J.; ANSUATEGUI, M.; BERMEJO, P. Active antifungal substances from natural sources. **Arkivoc**, Gainesville, v. 7, p. 116-145, 2007.

ASSUMPÇÃO, M. H. M. T. et al. Desenvolvimento de um procedimento biampométrico para determinação de sacarina em produtos dietéticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1743-1746, out. 2008.

ASTOLFI-FILHO, Z. et al. Encapsulação de suco de maracujá por co-cristalização com sacarose: cinética de cristalização e propriedades físicas. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 795-801, dez. 2005.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 1, p. 89-97, jan./mar. 2005.

AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v. 2, n. 3, p. 27-34, dez. 2007.

BAKRY, A. M. et al. Stability of tuna oil and tuna oil/peppermint oil blend microencapsulated using whey protein isolate in combination with carboxymethyl cellulose or pullulan. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 60, p. 559-571, Oct. 2016.

BARANAUSKIENE, R. et al. Flavor retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 8, p. 3027-3036, 2007.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; JULIANO, P. Compression and compaction characteristics of selected food powders. **Advances in Food Nutrition and Research**, Knudsen, v. 49, n. 6, p. 233- 307, 2005.

BARNABÉ, D.; VENTURINI FILHO, W. G. Refrigerantes: bebidas não alcoólicas. **Ciência e Tecnologia**, São Paulo, v. 2, p. 177-196, 2010.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal**: as bases moleculares da ação dos fármacos. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 243 p.

- BE MILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food chemistry**. New York: M. Dekker, 1996. chap. 4, p. 157-224.
- BHANDARI, B. R.; ADHIKARI, B. Glass-transition based approach in drying of foods. In: RATTI, C. (Ed.). **Advances in food dehydration**. Boca Raton: CRC, 2009. p. 37-62.
- BHANDARI, B. R.; HARTEL, R. W. Phase transitions during food powder production and powder stability. In: ONWULATA, C. (Ed.). **Encapsulated and powdered food**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. p. 261-292.
- BHAVANANI, S. M.; BALLOW, C. H. New agents for gram-positive bacteria. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v. 13, p. 528-534, 1992.
- BRANS, G. **Design of membrane systems for fractionation of particles suspensions**. 2006. 146 p. Thesis (Ph.D. in Food Process Engineering)-Wageningen University, Wageningen, 2006.
- BUFFO, R.; REINECCIUS, G. A. Optimization of gum acacia/modified starches/maltodextrin blends for the spray drying of flavours. **Perfumer & Flavorist**, Carol Stream, v. 25, n. 1, p. 45-53, 2000.
- CAL, K.; SOLLOHUB, K. Spray drying technique I: hardware and process parameters. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Washington, v. 99, n. 2, p. 575-586, Feb. 2010.
- CARIĆ, M. et al. Technology of evaporators, membrane processing and dryers. In: TAMIME, A. Y. (Ed.). **Dairy powders and concentrated products**. Chichester: Blackwell, 2009. chap. 3, p. 99-148.
- CASTRO, L. O.; CHEMALE, V. M. **Plantas medicinais: condimentares e aromáticas**. Guairá: Agropecuária, 1995. 194 p.
- CHARVE, J.; REINECCIUS, G. A. Encapsulation performance of proteins and traditional materials for spray dried flavors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 6, p. 2486-2492, Feb. 2009.
- CHEN, X. D.; PATEL, K. C. Manufacturing better quality food powders from spray drying and subsequent treatments. **Drying Technology**, New York, v. 26, n. 11, p. 1313-1318, 2008.

CHRONAKIS, I. S. On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: a review. **Critical Reviews in Food Science**, Boca Raton, v. 38, n. 7, p. 599-637, 1998.

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

DASH, M. et al. Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, Emsford, v. 36, n. 8, p. 981-1014, Aug. 2011.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, p. 308-316, Feb. 2000.

ETZLER, F. M.; DEANNE, R. Particle size analysis: a comparison of various methods II. **Particle & Particle System Characterization**, New York, v. 14, p. 278-282, 1997.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 652 p.

EVERT-ARRIAGADA, K. et al. Commercial application of high-pressure processing for increasing starter-free fresh cheese shelf-life. **LWT - Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 55, n. 2, p. 498-505, Mar. 2014.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 21, n. 10, p. 510-523, Oct. 2010.

FERNANDES, R. V. B. et al. Cashew gum and inulin: new alternative for ginger essential oil microencapsulation. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 153, p. 133-142, Nov. 2016.

FRASCARELI, E. C. et al. Determination of critical storage conditions of coffee oil microcapsules by coupling water sorption isotherms and glass transition temperature. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 47, n. 5, p. 1044-1054, May 2012.

GARRITZ, A.; CHAMIZO, J. A. **Química**. São Paulo: Pearson, 2002. 625 p.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 2008. 512 p.

GAYOSO, C. W. et al. Sensitivity of fungi isolated from onychomycosis to *Eugenia caryophyllata* essential oil and eugenol. **Fitoterapia**, Milano, v. 76, n. 2, p. 247-249, Mar. 2005.

GERNIGON, G.; SCHUCK, P.; JEANTET, R. Processing of mozzarella cheese wheys and stretchwaters: a preliminary review. **Dairy Science and Technology**, Les Ulis, v. 90, n. 1, p. 27-46, Jan. 2010.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**, Barking, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, Nov. 2007.

GONSALVES, J. K. M. C. et al. Microencapsulação do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck pelo método da coacervação simples. **Scientia Plena**, Aracajú, v. 5, n. 11, p. 102-111, Nov. 2009.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. A new technique for spray drying orange juice concentrate. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 11, n. 2, p. 342-351, Apr. 2010.

GOY, R. C.; ASSIS, O. B. G.; CAMPANA-FILHO, S. P. Produção de esferas de quitosana: meio para interação com metais em fase aquosa. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, n. 33, p. 30-34, jul./dez. 2004.

GUIMARÃES, A. G. et al. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, v. 107, p. 949-957, Dec. 2010.

GUO, H. B. et al. Time-dependent density functional theory assessment of UV absorption of benzoic acid derivatives. **Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v. 116, n. 48, p. 11870-11879, 2012.

HONORATO, T. C. et al. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde**, Mossoró, v. 8, n. 5, p. 1-11, dez. 2013.

JAFARI, S. M. et al. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. **Drying Technology**, New York, v. 26, n. 7, p. 816-835, June 2008.

JORDÁN, M. J. et al. Watering level effect on *Thymus hyemalis* Lange essential oil yield and composition. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 18, p. 5420-5427, Aug. 2003.

JUNG, B. O.; CHUNG, S. J.; LEE, S. B. Preparation and characterization of eugenol-grafted chitosan hydrogels and their antioxidant activities. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 99, p. 3500-3506, 2006.

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

KARABACAK, M. et al. FT-IR, FT-Raman, NMR and UV-vis spectra, vibrational assignments and DFT calculations of 4-butyl benzoic acid. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 85, n. 1, p. 179-189, Jan. 2012.

KENNEDY, J. F.; KNILL, C. J.; TAYLOR, D. W. Maltodextrins. In: KEARSLEY, M. W.; DZIEDZIC, S. Z. (Ed.). **Handbook of starch hydrolysis products and their derivatives**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 65-82.

KING, W.; TRUBIANO, E. P.; PERRY, P. Modified starch encapsulating agents offer superior emulsification, film forming and low surface oil. **Food Product Development**, Chicago, v. 10, n. 10, p. 54-57, Dec. 1976.

KLINKESOM, U. et al. Stability and rheology of corn oil-in-water emulsions containing maltodextrin. **Food Research International**, Barking, v. 37, n. 9, p. 851-859, May 2004.

KOMAKI, A. et al. Study of the effect of extract of *Thymus vulgaris* on anxiety in male rats. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, Taipei, v. 6, n. 3, p. 257-261, July 2016.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 672-678, abr. 2009.

LE MESTRE, M. et al. Glass transition and food technology: a critical appraisal. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 7, p. 2444-2458, Sept. 2002.

LIMA, A. C. S.; AFONSO, J. C. A química do refrigerante. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 210-215, ago. 2009.

LIN, Y.; JAIN, R.; YAN, Y. Microbial production of antioxidant food ingredients via metabolic engineering. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 26, p. 71-78, Apr. 2014.

LUCK, E.; JAGER, M. **Conservación química de los alimentos:** características, usos, efectos. Acribia: Ciencia y Tecnología de los Alimentos, 2000. 324 p.

MACHADO, R. M. D. et al. Presença dos ácidos benzóico e sórbico em vinhos e sidras produzidos no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 27, p. 847-850, 2007.

MAHDAVI, S. A. et al. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 85, p. 379-385, Apr. 2016.

MARQUES, G. R. et al. Application of maltodextrin in green corn extract powder production. **Powder Technology**, Lausanne, v. 263, p. 89-95, Sept. 2014.

MEWES, S.; KRUGER, H.; PANK, F. Physiological, morphological, chemical and genomic diversities of different origins of thyme (*Thymus vulgaris* L.). **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 55, n. 8, p. 1303-1311, Apr. 2008.

MORETTO, E. et al. **Introdução à ciência de alimentos**. Florianópolis: Ed. UFSC, 2002. 255 p.

NAKONIECZNA, A. et al. Electrical impedance measurements for detecting artificial chemical additives in liquid food products. **Food Control**, Guildford, v. 66, p. 116-129, Aug. 2014.

NEDOVIC, V. et al. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, New York, v. 1, p. 1806-1815, 2011.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barrueri: Manole, 2006. 6122 p.

OHTSUKI, T. et al. Absolute quantification for benzoic acid in processed foods using quantitative proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Talanta**, London, v. 15, n. 99, p. 342-348, 2012.

OKE, B. et al. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. **Food Chemistry**, London, v. 112, p. 874-879, 2009.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacologia**, Curitiba, v. 20, n. 4, p. 641-650, ago./set. 2010.

OLIVEIRA, R. B.; GODOY, S. A. P.; COSTA, F. B. **Plantas tóxicas: conhecimento para aprevenção de acidentes**. Ribeirão Preto: Holos, 2006. 64 p.

PARRIS, N.; COOKE, P. H.; HICKS, K. B. Encapsulation of essential oils in zein nanospherical particles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 4788-4792, 2005.

PASQUALIM, P. et al. Microcápsulas de alginato de cálcio e óleo vegetal pela técnica de gelificação iônica: Um estudo da capacidade de encapsulamento e aplicação dermatológica. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 23-37, jan./jun. 2010.

PEIGHAMBARDOUST, S. H.; TAFTI, A. G.; HESARI, J. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 22, n. 5, p. 215-224, May 2011.

PÉREZ-ALONSO, C. et al. Estimation of the activation energy of carbohydrate polymers blends as selection criteria for their use as wall material for spray-dried microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 53, n. 2, p. 197-203, Aug. 2003.

PRAZERES, A. R.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: a review. **Journal of Environmental Management**, New York, v. 110, n. 15, p. 48-68, Nov. 2012.

PU, J.; BANKSTON, J. D.; SATHIVEL, S. Developing microencapsulated faxseed oil containing shrimp (*Litopenaeus setiferus*) astaxanthin usig a pilot scale spray dryer. **Biosystems Engineering**, London, v. 108, n. 2, p. 121-132, Feb. 2011.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, p. 755-760, 2006.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, New York, v. 16, n. 6, p. 1195-1236, 1998.

REINECCIUS, G. A. Carbohydrates for flavor encapsulation. **Food Reviews International**, New York, v. 5, n. 222, p. 147-176, 1991.

ROCHA, G. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, Rugby, v. 90, n. 1, p. 37-42, Jan. 2012.

ROSENBERG, M.; SHEU, T. Y. Microencapsulation of volatiles by spray-drying in whey protein-based wall systems. **International Dairy Journal**, Barking, v. 6, n. 3, p. 273-284, Mar. 1996.

SANTOS, A. B.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 322-326, June 2005.

SANTOS, A. B.; FERREIRA, V. P.; GROSSO, C. R. F. Microcápsulas: uma alternativa viável: microencapsulação de produtos sensíveis à oxidação óleo-resina de páprica. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 3, n. 16, p. 26-30, 2000.

SARUBBO, L. A. et al. A goma do cajueiro (*Anacardium Occidentale*) como sistema inovador de extração líquido-líquido. **Revista Exacta**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 145-154, jan./jun. 2007.

SCHUCK, P.; JEANTET, R.; CARVALHO, A. F. **Lactose crystallization and drying of whey**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2010.

SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; JEON, Y. J. Food applications of chitin and chitosans. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 10, p. 37-51, 1999.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients: critical review. **Food Science and Nutrition**, London, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SHU, B. et al. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 76, n. 4, p. 664-669, Oct. 2006.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 227 p.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS; Florianópolis: Ed. UFSC, 2003. p. 387-416.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. **Health and Environment Journal**, Mafra, v. 7, p. 12-20, Dec. 2006.

SWEEDMAN, M. C. et al. Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, Amsterdam, v. 922, n. 1, p. 905-920, Jan. 2013.

TAN, L. W. et al. Empirical modeling for spray drying process of sticky and non-sticky products. **Procedia Food Science**, New York, v. 1, p. 690-697, Nov. 2011.

TFOUNI, S. A. V.; TOLEDO, M. C. F. Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food. **Food Control**, Guildford, v. 13, n. 2, p. 117-123, Mar. 2002.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (Euterpe oleraceae Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 88, n. 3, p. 411-418, Oct. 2008.

TRAJANO, V. N. et al. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.

UNITED STATES DAIRY EXPORT COUNCIL. **Dairy ingredients application library: WPC & WPI**. Disponível em: <<http://www.usdec.org/research-and-data/research-reports>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

VALDUGA, A. T.; BATTESTIN, V.; FINZER, J. R. D. Secagem de extratos de erva-mate em secador por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 184-189, maio/ago. 2003.

WU, L. et al. Identifying critical factors influencing the use of additives by food enterprises in China. **Food Control**, Guildford, v. 31, n. 2, p. 425-432, June 2013.

ZALTARIOV, M. F. et al. Synthesis, structural characterization and quantum chemical studies of silicon-containing benzoic acid derivatives. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1120, p. 302-316, Sept. 2016.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

**ARTIGO 1 - INFLUENCE OF SPRAY-DRYING CONDITIONS ON
PHYSICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF
MICROENCAPSULATED BENZOIC ACID**

(VERSÃO PRELIMINAR)

**Aceito para publicação na Food and Bioprocess Technology: An
International Journal**

Abstract

Benzoic acid is widely used as a preservative in the food and feed industry and microencapsulation is important in the application of this ingredient in various food products. The objective of this work was to evaluate the effect of benzoic acid concentration and drying air temperature on the physical characteristics of powders produced by spray drying, using maltodextrin and modified starch as the wall materials. A rotatable central composite design was used; the independent variables were inlet air temperature (145-180 °C) and benzoic acid concentration (2-10%, m/m). Maximum yield was obtained when higher concentrations of benzoic acid and higher inlet air temperatures were applied. The highest microencapsulation efficiency was reached at intermediate temperatures (160 °C) and low concentration of benzoic acid. The particles size ($D_{[4,3]}$) ranged from 24.99 to 29.52 μm and, in general, presented amorphous structure, spherical shape with rough surfaces and had no cracks. The optimum condition, considering all the response variables together, was drying air temperature 169 °C and benzoic acid concentration 6% (m/m). Under these conditions, the particles presented solubility of 75.96 g/100 g and wettability of 56.8 s/g. Moreover, the process showed microencapsulation efficiency of 76.77 g/100 g and yield of 40.1%. Spray drying was considered a potential process to provide microencapsulated benzoic acid.

Keywords: Benzoic acid. Drying temperature. Response surface. Physical properties. Microcapsules.

1. Introduction

Additives are widely used in the food and feed industry to increase product shelf-life and prevent undesirable changes in foods. Benzoic acid occurs naturally, at low concentrations, in various foods such as fruit, vegetables, spices, and nuts, and particularly in dairy products. Benzoic acid and its sodium salt are used as preservatives in food to prevent changes and deterioration caused by microorganisms, because they inhibit growth of fungi, yeasts, moulds, and bacteria (Ohtsuki et al. 2012). Benzoic acid is an organic acid, and has no toxic effects at the recommended concentrations (Tfouni and Toledo 2002; Yoon et al. 2003).

Control of the crystallinity of organic substances is of great importance due to better bioavailability of amorphous products compared to crystalline ones (Gorle et al. 2010, Hancock and Zografi, 1997; Yu 2001). One alternative is to develop techniques suitable for the processing and preservation of additives which will ensure that they are stable in foods, are released in foods at permitted concentrations and gradually along the storage time and also keep its bioavailability. Microencapsulation through spray drying has been used to achieve easy dosage and handling of products, low-cost transport and storage, to impart desired characteristics to the final food formulation and promote the occurrence of the amorphous state. Furthermore, this process provides a high evaporation rate in a short time, which decreases loss of sensitive compounds, and enables formation of controlled particle shapes and sizes (Leimann et al. 2009).

In spray drying, a liquid or paste active component is transformed into a powder, with formation of a barrier around the core material. The effectiveness of the encapsulated additive can be managed by its controlled release into the food (Gharsallaoui et al. 2007; Patil et al. 2014).

Products rich in organic acids, and/or low-molecular-weight sugars, such as pure acids or fruit juices, are difficult to atomize and to be transformed in an amorphous state, because they produce very hygroscopic powders, which are susceptible to agglomeration, loss of flowability and crystalline transformation. At the temperatures usually used in atomizers, such low-molecular-weight compounds tend to adhere to the drying chamber walls, and particle cohesion may result in a slurry rather than a powder. Consequently, the product stability may be impaired, and the yield may be reduced as a result of nozzle clogging (Boonyai et al. 2006; Marques et al. 2014a,b). To avoid these problems, various materials which present high glass-transition temperature, such as maltodextrin, gum arabic, modified starch, and their combinations, referred to as the wall material, are used as encapsulants (Abadio et al. 2004; Moreira et al. 2009; Pereira et al. 2009; Robert et al. 2012; Medina-Torres et al. 2013; Palm-Rodrigues et al. 2013).

It is therefore important to evaluate different process conditions for the spray-drying microencapsulation which enable production of powders with the desired physical properties, regardless of the equipment capacity and heat sensitivity. Among the conditions, the drying air inlet temperature and concentration of the target material are important (Gharsallaoui et al. 2007). The use of response surface methodology (RSM) allows predicting optimal drying conditions and interactions between variables (Amado et al. 2015). On the other hand, RSM is capable of providing adequate statistical information by performing a relatively less number of experimental runs (Bas and Boyaci 2007; Chakraborty et al. 2014). Optimisation of the spray drying conditions for encapsulated products has been successfully reported by using RSM (Bakar et al. 2013; Botrel et al. 2012; Kha et al. 2014).

There are no reports in the literature of studies of benzoic acid encapsulation by spray drying. The aim of the present work is to evaluate the

effects of the concentration of benzoic acid and the drying air temperature applying RSM, using maltodextrin and modified starch as the wall material, on the physical and morphological characteristics of the product.

2. Materials and methods

Benzoic acid (Brenntag Química Brasil Ltda, São Paulo, Brazil) was used as the material to be encapsulated. Maltodextrin (Maltogil DE 10, Gargill, São Paulo, Brazil) and modified starch (Capsul®, National Starch Food Innovation, São Paulo, Brazil) were used as wall materials, and polysorbate 80 (Emfal, Betim, Brazil) was used as an emulsifying agent.

2.1. Experimental design

The assays followed the experimental design reported by Rodrigues and Iema (2011), based on response surface methodology using a rotatable central composite design with 11 treatments, i.e. four factorial points and four axial points, with three replicates at the central point. The independent variables were drying air temperature x_1 (°C) and concentration of benzoic acid x_2 (%); the respective levels are shown in Table 1. These values were selected based on some previous studies (Botrel et al. 2012, Fernandes et al. 2013; Marques et al. 2014a,b).

Table 1. Experimental design for spray drying

Assay	Coded variables		Real variables	
	x_1	x_2	x_1 (°C)	x_2 (%)
1	-1	-1	150	3.16
2	+1	-1	175	3.16
3	-1	+1	150	8.84
4	+1	+1	175	8.84
5	-1.41	0	145	6
6	+1.41	0	180	6
7	0	-1.41	163	2
8	0	+1.41	163	10
9	0	0	163	6
10	0	0	163	6
11	0	0	163	6

x_1 : drying air temperature (°C); x_2 : and concentration of benzoic acid (%).

The results obtained in the planning phase were adjusted using the following polynomial:

$$Y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{12}x_1x_2 + \varepsilon \quad (1)$$

where β_n are the regression coefficients, Y is the response surveyed, x_1 and x_2 are the independent coded variables and ε is the experimental error. The response variables evaluated were yield, microencapsulation efficiency, moisture content, hygroscopicity, wettability, solubility, bulk tapped density, and particle size ($D_{[4,3]}$). Each experiment was repeated at least three times and the results were averaged.

The optimum conditions for spray drying of benzoic acid were determined based on the response variables, using the response desirability profiling method described by Derringer and Suich (1980) and analysing the variables which showed non-significant ($p > 0.05$) lack of fit. Analysis of variance and optimization of the drying process were performed using Statistic

8.0 software (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Validation of developed models was carried out by conducting additional experiments within the selected independent variables at the optimum conditions.

2.2. Benzoic acid and wall materials preparation

Maltodextrin and modified starch were prepared for each formulation at a ratio of 1:1 (m/m) and hydrated with distilled water for 12 h at room temperature to ensure full saturation of the polymer molecules. The wall material concentration was fixed in 40% (m/m) in the final solution. Benzoic acid was previously dissolved in 5 mL of ethanol, with the aid of a mortar and pestle. Polysorbate 80 (0.5%) was used as emulsifying agent. After that, the benzoic acid was then added to the wall material solution in concentration according to the experimental design (Table 1), ranging from 2.0 % to 10.0% (m/m). The final solution was heated at 60 °C and homogenized at 2500 rpm for 10 min (Ultraturrax homogenizer, TECNAL Piracicaba, Brazil).

2.3. Spray drying

Spray drying was performed using a workbench spray dryer (Labmaq 1.0 MSD, Ribeirão Preto, Brazil) with a double fluid nozzle system of diameter 3 mm in a drying chamber of dimensions 670 mm × 200 mm. Feeding was performed using a peristaltic pump with a airflow of 40 L/min and air pressure of 400 kPa. The outlet air temperatures ranged from 76 to 97 °C, depending on the feed concentration and inlet temperature, and the feed flow rate was maintained at 0.70 L/h. Samples of 400 mL were used as feed solution for each treatment and the drying time inside the chamber was between 2-5 seconds. The dried powder was collected and stored in opaque airtight containers at 4 °C until further analysis.

2.4. Analytical methods

The yield on a dry basis (%) for each experimental treatment was calculated using Equation (2) (adapted from Vasconcelos et al. 2005).

$$\text{Yield} = \left(\frac{M_p}{M_s} \right) \times 100 \quad (2)$$

where M_p is the mass of dry solids in the total amount of dehydrated encapsulated product, and M_s is the mass mass of dry solids in the feed.

The microencapsulation efficiency was determined using a high-performance liquid chromatography (Shimadzu, Kyoto, Japan) system consisting of a 20 LC AT pump, a CTO 20A oven, a 10A SIL automatic sampler, an SPD-20A variable-wavelength detector. Chromatography was performed on a reverse-phase column (Acclaim AO 250 mm × 40 mm, 5 μm), and assay quantifications were performed using an external standard, with detection at 228 nm. A solution of 0.005 M ammonium acetate/acetonitrile/Milli-Q water in ratios of 2:17:81, pH 4.2, flow rate 1.0 mL/min, and injection volume 25 μL was used as the mobile phase. The concentration range curve obeyed the Beer-Lambert law (Tfouni and Toledo 2002). The results were calculated using Equation (3):

$$\text{Microencapsulation efficiency} = \left(\frac{Q_{Eba}}{Q_{ba}} \right) \times 100 \quad (3)$$

where Q_{Eba} is the total amount of microencapsulated benzoic acid, and Q_{ba} is the amount of benzoic acid present in the feed.

The moisture content of the powders was determined using a gravimetric method according to AOAC (2000). 5 g of the powder samples were put in an oven at 70 °C, under pressure (< 50 mm Hg), and dried until change in weight between successive measurements at 1h intervals were < 0.002 g.

The hygroscopicity was measured using the method proposed by Cai and Corke (2000). Powder (2.0 g) on a Petri dish was placed in an airtight container with saturated NaCl solution at 75.29% relative humidity and 25 °C. After one week, the samples were weighed and the hygroscopicity values in grams of water per 100 g of dry solids were calculated.

The powder wettability was defined as the time (using a stop-watch) needed for complete dissolution of 1 g of product in 100 mL of distilled water at 25 °C in a 250 mL beaker, according to the methodology described by Fuchs et al. (2006) with some modifications.

Solubilities were determined using the method proposed by Cano-Chauca et al. (2005). A homogenized solution of powder (1 g) dissolved in 100 mL of distilled water was used. The solution was transferred to a tube and centrifuged at 2600 rpm for 5 min. An aliquot (25 mL) of the supernatant was transferred to a previously weighed Petri dish and dried in an oven at 105 °C. The amount of powder present in the supernatant was measured and considered as the soluble portion of the powder.

The bulk tapped density was determined using the method reported by Goula and Adamopoulos (2008). Powder (20 g) was poured into a 250 mL graduated cylinder. The sample was repeatedly tapped manually by lifting the cylinder and dropping it under its own weight through a vertical distance of 14 ± 2 mm, until a negligible difference in volume between successive measurements was observed. The mass and volume were determined and used to calculate the tapped density.

The particle size distribution was measured using a laser light diffraction instrument (Mastersizer 2000, Hydro 2000 MU, Malvern Instruments, Malvern, UK). Particle dispersion was performed in the dispersion unit, using a small sample of powder in 600 mL of isopropanol. The solution stirring time was 15 min, and five measurements were made at 10 s intervals. The particle size distribution was determined from the average particle diameter ($D_{[4,3]}$) using Equation (4) (adapted from Jinapong et al. 2008).

$$d_{[4,3]} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (4)$$

where d_i is the average droplet diameter; n_i is the number of drops

The particle morphology was examined using scanning electron microscopy (SEM; LEO 1430 VP-SEM, Electron Microscopy Ltd., Cambridge, UK). The powders were fixed on stubs with dual-phase tape of diameter 1 cm and length 1 cm, coated with gold. SEM was performed at 20 kV and a magnification of 900-1200 \times .

X-ray diffraction (XRD) was applied to determine the powder crystallinity. Samples of dried product were placed on a holder and aligned with the aid of a glass sheet. Measurements were performed using a Shimadzu X-ray diffractometer (DRX-6000) with Cu $K_{\alpha 1}$ radiation of wavelength 1.5406 Å at 30 kV and 30 mA. The samples were examined at 2θ 4° to 40°, with increments of 0.02° (1.2° min⁻¹).

3. Results and discussion

The experimental responses for the benzoic acid microencapsulation process are presented in Table 2. Regression coefficients and p-values for the

responses obtained for the microparticles produced are shown in Table 3. The non-significant terms were eliminated and the models were considered to be significant at 5% probability ($p < 0.05$). The surface responses generated through the models were expressed as the interactions between two variables (x_1 , drying air temperature, and x_2 , concentration of benzoic acid) after response analysis. Models presenting significant ($p < 0.05$) lack of fit were considered not well fitted and surface responses in these cases were not presented. The models in which the coefficient of determination, R^2 , reached values above 80% were considered suitable.

Maximum yield was obtained with higher concentrations of benzoic acid and higher in let air temperatures (Fig. 1A). Lower concentrations of acid at lower temperatures gave poor yields, because decreasing the drying air temperature can result in large amounts of moisture particles adhering to the dryer wall, which reduces the yield (Gharsallaoui et al. 2007). Theoretically, there are no material deposition problems if the dryer chamber is sufficiently large (Truong et al. 2005) although wall material deposition could be a serious problem in many industrial spray drying processes. However, the geometry of the workbench dryer used is not comparable to an industrial setting, and regardless of the products tested, the yields were poor (Marques et al. 2014a,b). A decrease in the acid concentration increases the wall material/core ratio, and a hard layer, which prevents water evaporation is rapidly formed, resulting in high-moisture products. Similar results have been found in studies with products of similar compositions (Moreira et al. 2009; Robert et al. 2012).

Table 2. Experimental responses to benzoic acid microencapsulation.

Assay	Yield (%)	Microencapsulation efficiency (g/100g)	Moistur e content (%)	Hygroscopicity (g/100g)	Wettability (s/g)	Solubility (g/100g)	Bulk tapped density (g/mL)	$D_{[4,3]}$ (μm)
1	27.98	79.43	2.62	12.44	71.25	74.30	0.39	28.93
2	36.01	81.64	1.65	10.23	63.59	75.29	0.35	25.82
3	32.14	59.95	2.23	12.56	70.42	75.83	0.44	29.09
4	39.54	67.76	1.38	9.36	67.17	76.02	0.42	26.06
5	26.71	66.83	2.47	12.64	72.63	75.36	0.46	29.52
6	42.38	69.67	1.36	10.48	66.22	76.14	0.45	26.85
7	34.80	87.00	1.98	10.46	71.83	74.45	0.36	25.35
8	40.62	64.40	1.47	11.34	65.79	76.38	0.59	26.74
9	38.04	78.17	1.51	9.07	55.77	75.64	0.56	24.98
10	37.83	77.50	1.53	9.65	56.42	75.88	0.57	25.23
11	39.70	74.67	1.56	9.72	54.85	76.05	0.55	24.95

Table 3. Regression coefficients and p-values for the responses obtained for the microparticles produced.

56

Source	Yield (%)		Microencapsulation Efficiency (g/100g)		Moisture content (%)		Hygroscopicity (g/100g)	
	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value
β_0	38.532	<0.001	76.819	<0.001	1.533	<0.001	9.437	<0.001
β_1	4.704	0.001	1.734	0.024	-0.424	<0.001	-0.410	0.035
β_{11}	-2.558	0.023	-4.262	0.001	0.229	0.003	0.767	0.006
β_2	1.993	0.030	-8.194	<0.001	-0.173	0.005	-0.139	0.374
β_{22}	-0.966	0.276	-0.454	0.512	0.134	0.027	0.523	0.027
β_{12}	-0.157	0.873	1.370	0.132	0.030	0.585	-0.020	0.925
Regression		<0.001		<0.001		<0.001		0.003
Lack of fit		0.214		0.636		0.044		0.029
R^2	91.321		97.036		97.245		84.298	
F-atio _(calc/tab)	5.644		17.560		11.689		2.879	

significant a 5% probability.

 x_1 : drying air temperature (°C), x_2 : concentration of benzoic acid (%).

continuação

Source	Wettability (s/g)		Solubility (g/100g)		Tapped density (g/mL)		$D_{[4.3]}$ (μm)	
	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value	Coefficient	p-Value
β_0	55.684	<0.001	75.857	<0.001	0.560	<0.001	25.052	<0.001
β_1	-2.501	0.017	0.286	0.011	-0.009	0.641	-1.242	0.001
β_{11}	6.637	<0.001	-0.110	0.262	-0.069	0.027	1.663	<0.001
β_2	-0.723	0.354	0.624	<0.001	0.056	0.031	0.296	0.160
β_{22}	6.328	0.001	-0.278	0.024	-0.059	0.046	0.587	0.041
β_{12}	1.102	0.320	-0.200	0.109	0.005	0.858	0.020	0.940
Regression		<0.001		0.001		0.007		<0.001
Lack of fit		0.104		0.416		0.033		0.058
R^2	93.463		90.414		80.423		93.349	
F-ratio _(calc/tab)	7.669		5.059		2.203		7.530	

significant a 5% probability.

x_1 : drying air temperature ($^{\circ}\text{C}$), x_2 : concentration of benzoic acid (%).

One of the most important quality parameters for product encapsulation is the microencapsulation efficiency. Fig. 1B shows that the efficiency is maximum at intermediate tested temperatures (160 °C) and low concentrations of benzoic acid. The opposite conditions lead to a decrease in the efficiency. For similar dehydrated products, ascorbic acid retention using different wall materials and temperature ranges were 60-66% (Pereira et al. 2009), and 57-98% (Palma-Rodriguez et al. 2013). Although benzoic acid sublimation could occur in temperatures above 100 °C, the encapsulation process by spray drying is able to retain the acid during the drying process because high temperatures together with the effect of the polymeric matrix produce a semi-permeable membrane which allows water loss but efficiently retains the organic molecules (Reineccius, 2004). Furthermore, the encapsulated core do not reach high temperatures because the evaporation of water occurs mostly at wet bulb temperature which is below the hot air drying temperature.

Moisture content is an important factor in product stability during storage, and, generally, the lower this is, the more stable the product is. The moisture content of the benzoic acid powders ranged from 1.36% to 2.62%. The moisture content decreased with increasing drying air temperature, as expected. Water evaporation is fast in high-temperature drying, and the resulting powders presented decreased moisture contents. This may have contributed to the increase in powder yield, because drier particles, which adhere less to the drying chamber wall, were produced. A reduction in the concentration of benzoic acid (which is very hygroscopic) and the consequent increase in the wall material concentration (which has low hygroscopicity) resulted in a decrease in moisture content; such conditions are favourable for good stability during storage. The moisture content values (g/100 g) reported in the literature for similar products (acids and fruit juices) are higher than those found in this work, using various concentrations of solids, temperatures, and wall material: 1.18 (Abadio et al.

2004), 1.49-2.78 (Quek et al. 2007), 3.5-5.3 (Moreira et al. 2009), 2.0-2.5 (Fazaeli et al. 2012), and 2.1-1.5 (Palma-Rodrigues et al. 2013).

Hygroscopicity is related to the ability to absorb humidity from the environment and therefore to the stability of the dehydrated product in storage and the ease or difficulty of powder runoff. This property is affected by the physical structure and chemical composition of the particles, which in turn are affected by the processing conditions (Basu et al. 2006). There is a minimum hygroscopicity value at the central point and maxima at the extremes of temperature and concentration. Benzoic acid has an affinity with water, and an increase in the water content of the resulting powder contributes to an increase in the hygroscopicity; high temperatures result into very dry and porous powders, which tend to absorb water more easily. Reduced hygroscopicity is caused by more hydrophobic characteristics of the wall materials, as previously reported (Goula and Adamopoulos 2008; Moreira et al. 2009).

The wettability and solubility are related to the reconstitution of powdered products. The wettability is a measure of how quickly the powder surface is wetted and submerged in water; it depends on the surface properties of both phases, and the factors which affect these properties such as particle size, density, porosity, and amphipathicity, in turn, depend on the processing conditions (Bae and Lee 2008; Cuq et al. 2011; Kim et al. 2002). In the region around the central point, the wettability is minimum, and it is maximum at the end points (Fig. 1C). High temperatures give rise to low-density products, which are more difficult to submerge in water (Goula and Adamopoulos 2008; Souza et al. 2009). A low concentration of benzoic acid requires a high concentration of encapsulating agent, which has an affinity with water lower than that of benzoic acid, and this may also result in stiffer layers, hindering water penetration (Vardin and Yasar 2012; Walton and Mumford 1999). High-humidity products favour cluster formation; this increases their wetting capacity, because liquids

easily penetrate the powders (Buffo et al. 2002). According to Lannes and Medeiros (2003), powdered dehydrated products with a wettability time of 300 s, which is a good value, give products with good wettability.

The solubility depends on the affinity of the components of the product for the solvent, and depends on water and the hydrophilic components. It also depends on the processing conditions, particularly temperature, because increases in temperature tend to degrade compounds, and this affects their solubility (Goula and Adamopoulos 2004). A maximum point above the central region and minimum points under conditions of low concentrations of benzoic acid and any temperature are found (Fig. 1D). This is because of the reduction in the concentration of the water-soluble active compound in the dehydrated product, and because high temperatures increase the drying rate, favouring formation of a hard crust, which it is difficult for water to penetrate (Fazaeli et al. 2012). Similar results were reported by Quek et al. (2007) for dehydrated melon.

The powder bulk density is related to product packing, distribution, and marketing Bhandari and Hartel (2005). There is a maximum density value for the variables (drying air temperature and concentration of benzoic acid). The maximum value estimated for packing was 0.59 g/mL, at 163 °C and a benzoic acid concentration of 6% (m/m). An increase in temperature results in low-density products, more humid products, and, at higher temperatures, denser products, because moisture promotes agglomeration (Gharsallaoui et al. 2007; Goula and Adamopoulos 2010) An increase in the acid concentration at the lowest concentration of encapsulating agent may result in moister products, contributing to an increase in the density. Similar results were reported by Abadio et al. (2004); Fazaeli et al. (2012); Marques et al. (2014b).

Control of the size of the dry particles is a very important factor, because it greatly affects the appearance, fluidity, and dispersibility of the powder

(Reineccius et al., 2004). Fig. 1E shows that a reduction in the drying air temperature and variations in the concentration of benzoic acid enable the particle size to be ranged from 29.52 to 24.95 μm . Larger particles are obtained using a drying air temperature of 145 $^{\circ}\text{C}$ and benzoic acid concentration of 6% (m/m). This can be attributed to greater expansion of these particles during drying as a result of greater flexibility of the film formed by the wall material and of the encapsulated one. The size of atomized droplets normally increases with increasing concentration of solids or when the drying temperature decreases, resulting in the formation of larger particles (Goula and Adamopoulos 2004). Small particles have greater mass and heat-transfer coefficients and smaller inner diffusion paths compared with large particles. However, these particles have a lower moisture content and dry faster, therefore it is possible for them to undergo degradation (Walton and Mumford 1999). In a spray-drying system, the size of the dry particles depends on the size of the atomized droplets, which can vary from 5 to 150 μm (Santos et al. 2005).

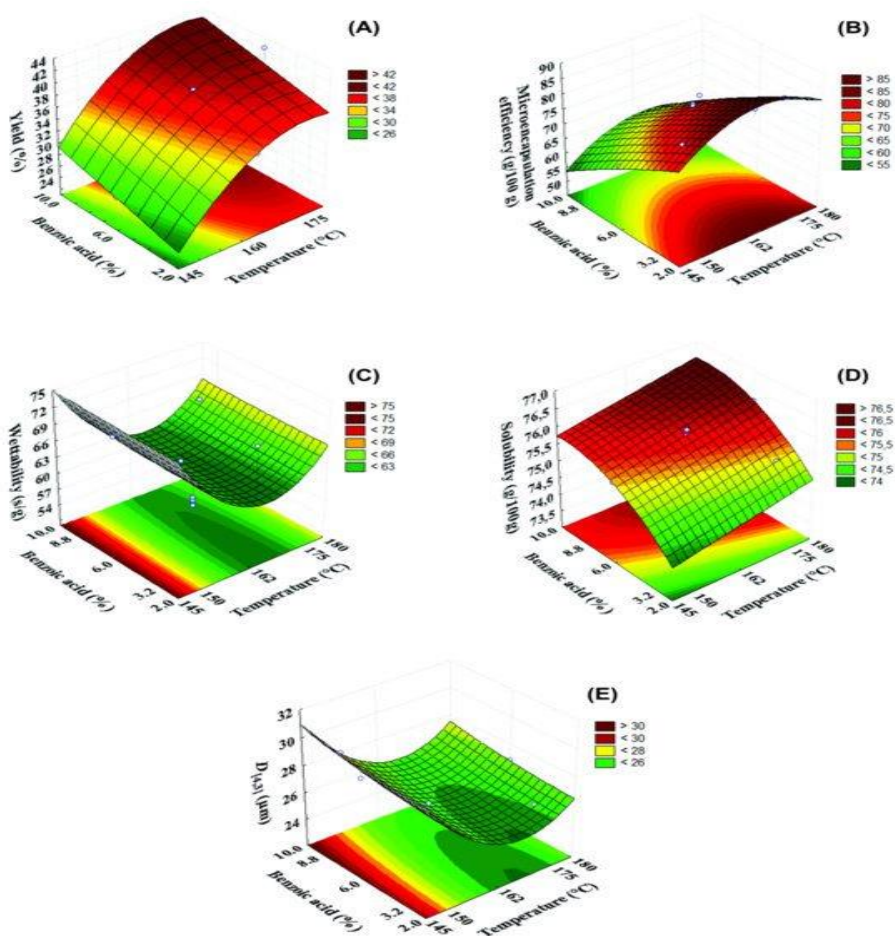


Fig. 1. Response surfaces for yield (A), microencapsulation efficiency (B), wettability (C), solubility (D), and particle size (E) based on the variation of drying temperature (x_1) (°C) and benzoic acid concentration (x_2) (%) in the spray drying process.

The aim of the optimization process was to obtain powders with maximum values of yield, microencapsulation efficiency, and solubility and minimum values of wettability. According to the results for the desirability function (Fig. 2), a combination of air drying at 169 °C and a benzoic acid concentration of 6% (m/m) gave the best predicted values for the optimized conditions in terms of yield (40.1%), microencapsulation efficiency (76.77 g/100

g), wettability (56.8 s/g), and solubility (75,96 g/100 g). In order to conduct the validation of the optimum conditions, experiments were performed under the optimized conditions and the mean values were obtained from real experiments (Table 4).

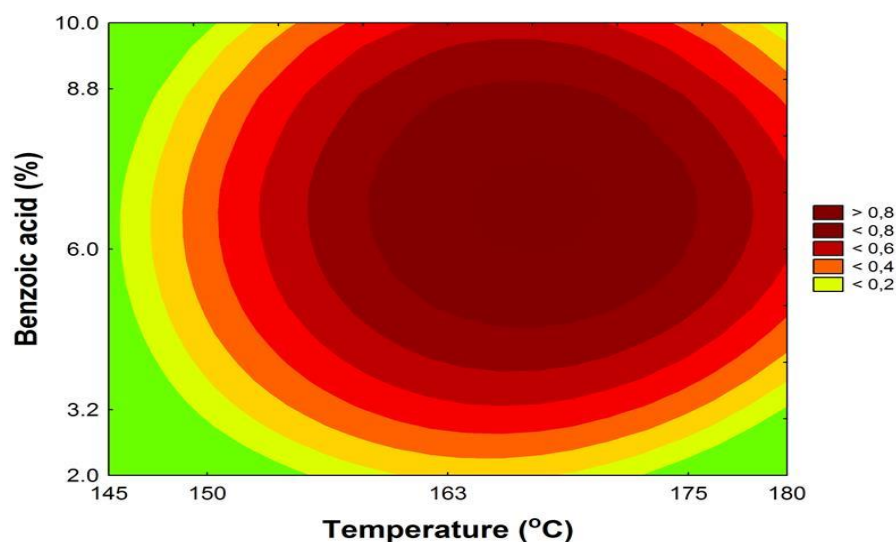


Fig. 2. Contour curve for the optimization of the process based on the variation of drying temperature (x_1) ($^{\circ}\text{C}$) and benzoic acid concentration (x_2) (%) in the spray drying process.

Table 4. Validation of the response desirability profiling method using the optimized inlet air temperature (169 $^{\circ}\text{C}$) and benzoic acid concentration (6.0%).

	Yield (%)	Microencapsulat ion efficiency (g/100 g)	Wettabilit y (s/g)	Solubility (g/100 g)
Predicted values	40.1	76.77	56.8	75.96
Experimental values	41.6 ± 6.3	78.25 ± 3.30	56.4 ± 1.7	75.56 ± 0.61
E (%)	8.37	3.17	1.97	0.59

E: relative mean error

The microparticles produced using different spray-drying processes have similar morphological characteristics, with hollow spheres and vacuoles, which may originate from shrinkage after hardening of the outer surface and expansion of air bubbles trapped inside the droplets (Teixeira et al. 2004). The formation of spherical, predominantly rough, surfaces was observed at low temperatures (Fig. 4A and B). According to Ré (1998), roughness generally occurs when film formation is slow; this is associated with the presence of surface depressions caused by collapse of droplets in the early drying stage. Fig. 3C and D shows that the drying air temperature influences the morphological characteristics of the particles, because an increase in temperature leads to the formation of brittle particles. This result is similar to that reported by Sansone et al. (2011), who assessed the morphologies produced by atomization; they observed brittle particles with porous walls.

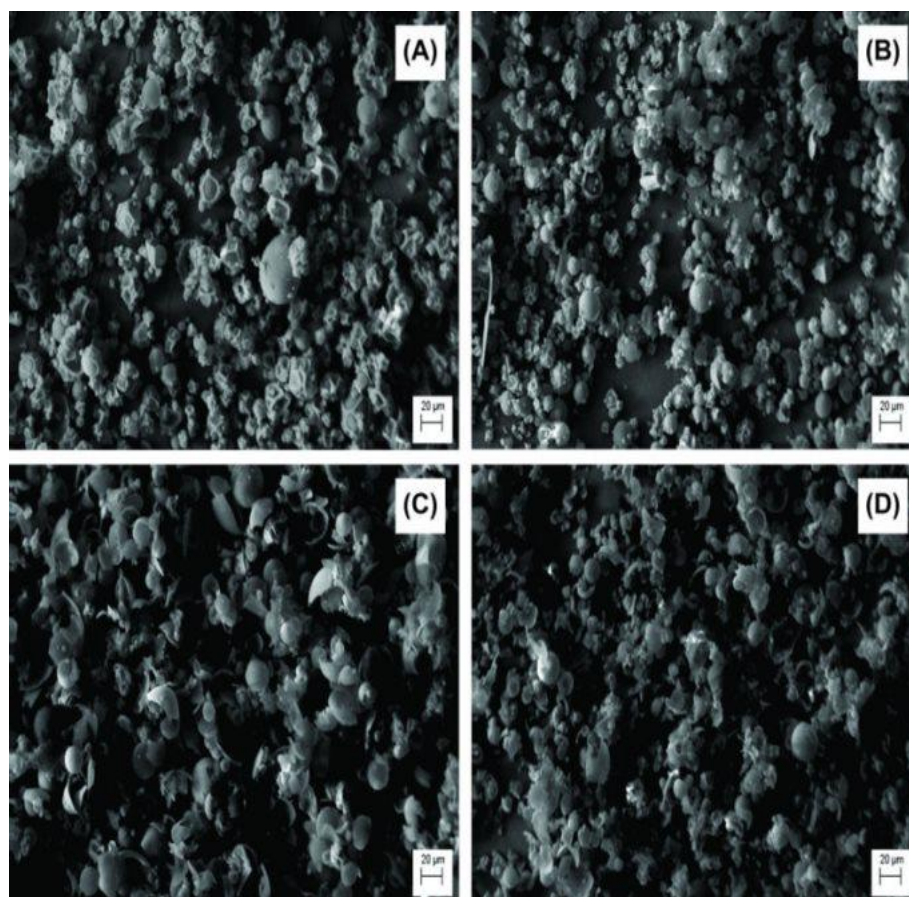


Fig. 3. Effect of temperature and concentration on the morphology of benzoic acid-encapsulated microparticles: (A) 150 °C, 3.16% - Assay 1; (B) 150 °C, 8.84% - Assay 3, (C) 163 °C, 10% - Assay 8; and (D) 175 °C, 8.84% - Assay 4.

In general, the XRD patterns of crystalline materials show sharp peaks, whereas amorphous products give a broad background pattern (Caparino et al. 2012). Fig. 4 shows that the XRD pattern of benzoic acid differed from those of the wall materials (maltodextrin and modified starch), with predominantly crystalline peaks, characteristic of this type of material. In contrast, the wall materials have patterns typical of amorphous structures. Amorphous products are more likely to be obtained during drying of complex mixtures such as

extracts of medicinal plants (Langrish and Wang 2009). Amorphous solids are, in general, more soluble (Yu, 2001), and have a negative impact on handling properties; crystallization can lead to release of the encapsulated substance from the matrix (Drusch et al. 2006). This information shows that encapsulants are suitable for spray drying allowing the retention of crystalline products in the amorphous phase of the produced particles (Fernandes et al. 2014). The encapsulated benzoic acid samples obtained in various treatments were found to have an amorphous structure after spray drying. For the benzoic acid microparticles in assays 3, 4, and 8, the XRD patterns showed some crystalline peaks; the highest concentrations of benzoic acid were used in these cases. Although these treatments give products with higher propensities to lose encapsulated products, they are still predominantly amorphous. Similar results were reported by Borrmann et al. (2013) for the encapsulation of passion-fruit juice.

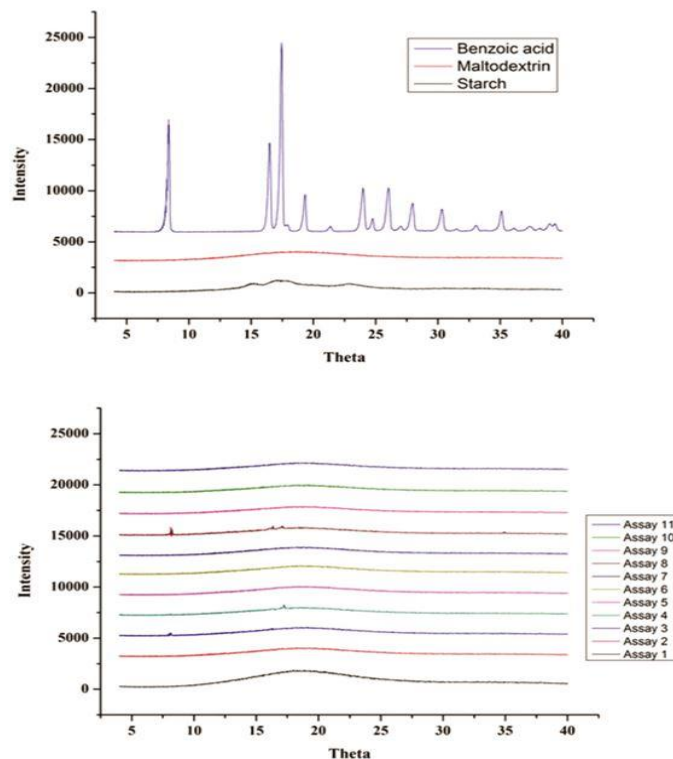


Fig. 4. X-ray diffraction patterns of the raw materials before spray drying process (A) and of benzoic acid microcapsules after spray drying process (B).

4. Conclusion

The drying temperature and benzoic acid concentration influence significantly on the physical and morphological parameters of benzoic acid powders. Our results show that a drying air temperature of 169 °C and benzoic acid concentration of 6% (m/m) provided a good microencapsulation performance. Results of the validation verified the adequacy of the corresponding response surface model employed for predicting the variation of powder properties as function of the two studied independent variables. The microparticles produced showed similar morphological characteristics, i.e.,

hollow spheres and vacuoles and the particle size ranged from 25 µm to 29,5 µm. This study showed that it is possible to produce encapsulated benzoic acid through spray drying.

5. References

Amado, I.R., Vázquez, J.A., Murado, M.A., & González, M.P. (2015). Recovery of astaxanthin from shrimp cooking wastewater: optimization of astaxanthin extraction by response surface methodology and kinetic studies. *Food Bioprocess Technol.* 8, 371–381.

AOAC. (2000). ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTRY. Official methods of analysis of the association of chemistry. 17 ed. Association of Official Analytical Chemistry, Washington.

Abadio, F.D.B., Domingues, A.M., Borges, S.V., & Oliveira, V.A. (2004). Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice-effect of maltodextrin concentration and atomization speed. *J. Food Eng.* 64(3), 285-287.

Bae, E.K., & Lee, S.J. (2008). Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *J. Microencapsul.* 25(8), 549-560.

Bakar, J., Ee, S.C., Muhammad, K., Hashim, D.M., & Adzahan, N. (2013). Spray-drying optimization for red pitaya peel (*Hylocereus polyrhizus*). *Food Bioprocess Technol.* 6, 1332–1342.

Bas, D., & Boyaci, I.H. (2007). Modeling and optimization I: usability of response surface methodology. *J. Food Eng.* 78(3), 836–845.

Basu, S., Shivhare, U.S., & Mujumdar, A.S. (2006). Models for sorption isotherms for foods: A review. *Dry. Technol.* 24(8), 917-930.

Bhandari, B.R., & Hartel, R.W. (2005). Phase transitions during food powder production and powder stability. In C. Onwulata (Ed.), *Encapsulated and powdered Foods* (pp. 261-292). New York: Taylor & Francis.

Boonyai, P., Howes, T., & Bhandari, B. (2006). Applications of the cyclone stickiness test for characterization of stickiness in food powders. *Dry. Technol.* 24(6), 703-709.

- Borrmann, D., Pierucci, A.P.T.R., Leite, S.G.F., & Leão, M.H.M.R. (2013). Microencapsulation of passion fruit (*Passiflora*) juice with *n*-octenylsuccinate-derivatised starch using spray-drying. *Food Bioprod. Process.* 91(1), 23-27.
- Botrel, D.A., Borges, S.V., Fernandes, R.V.B., Viana, A.D., Costa, J.M.G. & Marques, G.R. (2012). Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 2289–2296.
- Cai, Y.Z., & Corke, H. (2000). Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. *J. Food Sci.* 65(7), 1248-1252.
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M., & Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *In. Food Sci. Emerg. Technol.* 6(4), 420-428.
- Caparino, O.A., Tang, J., Nindo, C.I., Sablani, S.S., Powers, J.R., & Fellman, J.K. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine ‘Carabao’ var.) powder. *J. Food Eng.* 111(1), 135-148.
- Chakraborty, S., Rao, P.S., & Mishra, H.N. (2014). Effect of pH on enzyme inactivation kinetics in high-pressure processed pineapple (*Ananas comosus* L.) puree using response surface methodology. *Food Bioprocess Technol.* 7, 3629–3645.
- Cuq, B., Rondet, E., & Abecassis, J. (2011). Food powders engineering, between knowhow and science: Constraints, stakes and opportunities. *Powder Technol.* 208(2), 244-251.
- Derringer, G., & Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *J. Qual. Technol.* 12(4), 214-219.
- Drusch, S., Serfert, Y., Heuvel, A.V.D., & Schwarz, K. (2006). Physicochemical characterization and oxidative stability of fish oil encapsulated in an amorphous matrix containing trehalose. *Food Res. Int.* 39(7), 807-815.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Ashtari, A.K., & Omid, M. (2012). Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food Bioprod. Process.* 90(4), 667-675.

Fernandes, R.V.B., Borges, S.V., Botrel, D.A., & Oliveira, C.R. (2014). Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein-inulin blends as carriers. *Int. J. Food Sci. Technol.* 49(6), 1522-1529.

Fernandes, R.V.B., Borges, S.V., Botrel, D.A., Silva, E.K., Costa, J.M.G., & Queiroz, F. (2013). Microencapsulation of rosemary essential oil: Characterization of particles. *Dry. Technol.* 31, 1245–1254.

Fuchs M., Turchiuli C., Bohin, M., Cuvelier, M.E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *J. Food Eng.*, 75, 27-35.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.* 40(9), 1107-1121.

Gorle, B.S.K., Smirnova, I., & Arlt, W. (2010). Adsorptive crystallization of benzoic acid in aerogels from supercritical solutions. *J. Supercr Fluids* 52, 249–257.

Goula, A.M., & Adamopoulos, K.G. (2010). A new technique for spray drying orange juice concentrate. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.* 11(2), 342-351.

Goula, A.M., & Adamopoulos, K.G. (2008). Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: I. Drying kinetics and product recovery. *Dry. Technol.* 26(6), 714-725.

Goula, A.M., & Adamopoulos, K.G. (2004). Spray drying of tomato pulp: Effect of feed concentration. *Dry. Technol.* 22(10), 2309-2330.

Hancock, B.C., & Zografi, G. (1997) Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. *J. Pharm. Sci.* 86, 1–12.

Jinapong, N., Suphantharika, M., & Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J. Food Eng.* 84(2), 194-205.

Kim, E.H.J., Chen, X.D., & Pearce, D. (2002). Surface characterization of four industrial spray-dried dairy powders in relation to chemical composition, structure and wetting property. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.* 26(3), 197-212.

- Kha, T.C., Nguyen, M.H., Roach, P.D., & Stathopoulos, C.E. (2014). Microencapsulation of gac oil: optimisation of spray drying conditions using response surface methodology. *Powder Technol.* 264, 298–309.
- Langrish, T.A.G., & Wang, S. (2009). Crystallization rates for amorphous sucrose and lactose powders from spray drying: A comparison. *Dry. Technol.* 27(4), 606-614.
- Lannes, S.C.S., & Medeiros, M.L. (2003). Processamento de achocolatado de cupuaçu por spray-dryer. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.* 39(1), 115-123.
- Leimann, F.V., Gonçalves, O.H., Machado, R.A.F., & Bolzan, A. (2009). Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology. *Mater. Sci. Eng., C.* 29(2), 430-436.
- Marques, G.R., Borges, S.V., Botrel, D.A., Costa, J.M.G., Silva, E.K., & Corrêa, J.L.G. (2014a). Spray drying of green corn pulp. *Dry. Technol.* 32(7), 861-868.
- Marques, G.R., Borges, S.V., Mendonça, K.S., Fernandes, R.V.B., & Menezes, E.G.T. (2014b). Application of maltodextrin in green corn extract powder production. *Powder Technol.* 263, 89-95.
- Medina-Torres, L., García-Cruz, E.E., Calderas, F., González Laredo, R.F., Sánchez-Olivares, G., Gallegos-Infante, J.A., Rocha-Guzmán, N.E., & Rodríguez-Ramírez, J. (2013). Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus indica*). *LWT - Food Sci. Technol.* 50(2), 642-650.
- Moreira, G.E.G., Costa, M.G.M., Souza, A.C.R., Brito, E.S., Medeiros, M.F.D., & Azeredo, H.M.C. (2009). Physical properties of spray dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. *LWT - Food Sci. Technol.* 42(2), 641-645.
- Ohtsuki, T., Sato, K., Sugimoto, N., Akiyama, H., & Kawamura, Y. (2012). Absolute quantification for benzoic acid in processed foods using quantitative proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Talanta.* 99(15), 342-348.
- Palma-Rodrigues, H.M., Agama-Acevedo, E., Gonzalez-Soto, R.A., Vernon-Carter, E.J., Alvarez-Ramirez, J., & Bello-Perez, L.A. (2013). Ascorbic acid microencapsulation by spray-drying in native and acid-modified starches from different botanical sources. *Starch – Stärke.* 65(7-8), 584-592.

- Patil, V.; Chauhan, A.K., & Singh, R.P. (2014). Optimization of the spray-drying process for developing guava powder using response surface methodology. *Powder Technol.* 253, 230-236.
- Pereira, H.V.R., Saraiva, K.P., Carvalho, L.M.J., Andrade, L.R., Pedrosa, C., & Pierucci, A.P.T.R. (2009). Legumes seeds protein isolates in the production of ascorbic acid microparticles. *Food Res. Int.* 42(1), 115-121.
- Quek, S.Y., Chok, N.K., & Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powder. *Chem. Eng. Proc.: Process. Intensif.* 46(5), 386-392.
- Ré, M.I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Dry. technol.* 16(6), 1195-1236.
- Reineccius, G.A. (2004). The spray drying of food flavors. *Dry. Technol.* 22, 1289-1324.
- Reineccius, T.A., Reineccius, G.A., & Peppard, T.L. (2004). Utilization of β -Cyclodextrin for improved flavor retention in thermally processed foods. *J. Food Sci.* Chicago. 69(1), FCT58-FCT62.
- Robert, P., García, P., Reyes, N., Chávez, J., & Santos, J. (2012). Acetylated starch and inulin as encapsulating agents of gallic acid and their release behaviour in a hydrophilic system. *Food Chem.* 134(1), 1-8.
- Rodrigues, M.I., & Iemma, A.F. (2011). *Experimental Design and Process Optimization*. Ed. Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, Campinas, SP, Brazil. 352.
- Sansone, F., Mencherini, T., Picemo, P., D'Amore, M., Aquino, R.P., & Lauro, M.R. (2011). Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. *J. Food Eng.* 105(3), 468-476.
- Santos, A.B., Fávaro-Trindade, C.S., & Grosso, C.R.F. (2005). Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* Campinas. 25(2), 322-326.
- Souza, A.S., Borges, S.V., Magalhães, N.F., Ricardo, H.V., Cereda, M.P., & Daiuto, E.R. (2009). Influence of spray drying conditions on the physical

properties of dried pulp tomato. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* Campinas. 29(2), 291-294.

Teixeira, M.I., Andrade, L.R., Farina, M., & Rocha-Leão, M.H.M. (2004). Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray drying. *Mater. Sci. Eng., C.* 24(5), 653-658.

Tfouni, S.A.V., & Toledo, M.C.F. (2002). Determination of benzoic and sorbic acids in brazilian food. *Food Control.* 13(2), 117-123.

Vardin, H., & Yasar, M. (2012). Optimisation of pomegranate (*Punica Granatum* L.) juice spray-drying as affected by temperature and maltodextrin content. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47(1), 167-176.

Vasconcelos, E.A.F., Medeiros, M.G.F., Raffin, F.N., & Moura, T.F.A.L. (2005). Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil[®] 200 nas características de extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Rev. Bras. Farmacogn.* 15(3), 243-249.

Walton, D.E., & Mumford, C.J. (1999). The morphology of spray-dried particles: The effect of process variables upon the morphology of spray-dried particles. *Chem. Eng. Res. Design.* 77(5), 442-460.

Yoon, H.J., Cho, Y.H., Park, J., Lee, C.H., Park, S.K., Cho, Y.J., Han, K.W., Lee, J.Ok., & Lee, C.W. (2003). Assessment of estimated daily intakes of benzoates for average and high consumers in Korea. *Food Addit. Contam.* 20(2), 127-135.

Yu, L. (2001). Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 48(1), 27-42.

**ARTIGO 2 - AVALIAÇÃO DE DIFERENTES AGENTES
ENCAPSULANTES NAS PROPRIEDADES DO ÁCIDO BENZOICO
ENCAPSULADO POR SECAGEM POR *SPRAY DRYING***

(VERSÃO PRELIMINAR)

Artigo redigido conforme norma da revista Powder Technology

RESUMO

A utilização da microencapsulação de ácido benzoico é muito importante para garantir a melhor aplicação deste aditivo em matriz alimentícia, pela transformação de um produto vítreo em uma estrutura amorfa, além de prolongar o seu tempo de armazenamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar o material encapsulante de amido modificado (AM) e/ou maltodextrina (M) nas propriedades físicas e na estabilidade térmica dos produtos estudados. Foi utilizado um delineamento univariado inteiramente casualizado com três repetições: amido modificado (AM), maltodextrina (M) e blenda de amido modificado e maltodextrina (AM/M). A aplicação do material encapsulante AM/M resultou em maior eficiência de encapsulação (82,65 g/100 g) e menor eficiência foi observada para os tratamentos AM e M (68,47 e 67,10 g/100 g), respectivamente. As propriedades de reconstituição do tratamento AM/M mostraram um valor de 2,16% para o teor de umidade e 74,78 g/100 g para a solubilidade. Já o diâmetro da micropartícula desse pó resultou em um valor de 19,15 μm e o *span* de todos os tratamentos variou de 1,94 a 2,15, o que indica uma boa homogeneidade em relação à distribuição do tamanho da micropartícula. A morfologia do tratamento AM/M apresentou micropartícula, parcialmente rugosa, e os tratamentos AM e M resultaram formação de maior quantidade de micropartículas quebradiças. A densidade de leito e compactada no tratamento AM/M alcançou um valor de 0,59 e 0,41 g. mL⁻¹, respectivamente, a molhabilidade foi de 58 segundos. A isoterma apresentou comportamento do Tipo III, para o tratamento AM/M e o modelo matemático de GAB foi o que melhor ajustou os dados experimentais para o comportamento de sorção de umidade das micropartículas. As análises térmicas indicaram que as micropartículas produzidos com diferentes materiais encapsulantes foram estáveis termicamente. O tratamento AM/M foi o mais adequado para encapsular ácido benzoico.

Palavras-chave: amido modificado, maltodextrina, micropartículas, propriedades físicas, análise térmica

Evaluation of different encapsulating agents in the properties of benzoic acid encapsulated by spray drying

ABSTRACT

The use of benzoic acid microencapsulation is very important to guarantee the better application of this additive in food matrix for the transformation of a glass product into an amorphous structure in addition to prolonging its time for storage. The objective of this work was to evaluate the encapsulating material of modified starch (MS) and/or maltodextrin (M) in the physical properties and thermal stability of the studied products. We used a completely randomized, univariate design, with three replicates: modified starch (MS), maltodextrin (M) and mixture of modified starch and maltodextrin (MS/M). The application of the encapsulating material resulted in higher efficiency of the encapsulation (82.65 g/100 g), with lower efficiency observed for treatments MS and M (68.47 and 67.10 g/100 g, respectively). The reconstructing properties of the MS/M treatment resulted in 2.16% for moisture content and 74.78 g/100 g for solubility. The diameter of the microparticle of this powder resulted in 19.15 μm , and the span of all treatments ranged from 1.94 to 2.15, which indicates good homogeneity in relation to the distribution of the microparticle size. The morphology of the MS/M treatment presented partially rough microparticle, and treatments MS and M resulted in the formation of a higher amount of brittle microparticles. The bed and compact densities in the MS/M treatment reached the value of 0.59 and 0.41 g mL^{-1} , respectively, wettability of 58 seconds. Isotherm presented Type III behavior for the MS/M treatment and the GAB mathematical model better adjusted to the experimental data for microparticle moisture sorption behavior. The thermal analyses indicated that the microparticles produced with different encapsulating materials were thermally stable. The MS/M treatment was the most adequate for encapsulating benzoic acid.

Keywords: modified starch, maltodextrin, microparticles, physical properties, thermal analysis.

1. Introdução

O ácido benzoico apresenta inúmeras aplicações, na produção de fármacos, cosméticos, embalagens, sendo utilizado como conservante de alimentos [1,2]. Adicionalmente, esse aditivo é muito comum nos alimentos, geralmente, é encontrado nas formulações de diversos gêneros alimentícios [3]. Esse conservante é considerado um agente antimicrobiano, pois inibe ou retarda o crescimento de bactérias, fungos e bolores [4]. Na natureza, o ácido benzoico é encontrado nas plantas, frutos e produtos derivados do leite [3].

Entre as inovações tecnológicas de alimentos, a técnica de microencapsulação por *spray drying* representa um importante papel na indústria. Consiste em dispersar o produto a ser seco sobre forma de pequenas gotículas em uma corrente de ar quente de maneira a se obter um pó. As funções básicas de atomização são proporcionar elevada taxa de evaporação em altas temperaturas e produzir micropartículas com formato, tamanho e densidade com magnitudes controladas e desejadas [5,6].

A escolha do tipo de polímero, a estabilidade da matriz e as condições de alimentação e secagem são variáveis de interesse com importância nas propriedades e características do produto final [7]. Dentre as variáveis, que afetam a eficiência do processo e demais propriedades, destaca-se o uso de agentes carreadores ou encapsulantes que diferem entre si, na sua capacidade emulsificante e formadora de um filme, propriedades necessárias para uma eficiente encapsulação. O material encapsulante é proveniente de compostos que criam uma rede cuja principal finalidade é a proteção do material do núcleo [8]. Portanto os materiais encapsulantes devem possuir capacidade de formar uma película coesa com o material ativo, proporcionar compatibilidade química e física que irá conferir as propriedades desejadas com as micropartículas, tais como flexibilidade, resistência, impermeabilidade e estabilidade. Além disso, é

necessário que apresentem baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos, baixa higroscopicidade e disponibilidade [9,10]. Entretanto o uso da mistura de amido modificado com maltodextrina é uma alternativa que pode oferecer uma boa relação entre custo e eficiência de encapsulação.

Dependendo do material do núcleo e as características desejadas para o produto final, materiais encapsulantes podem ser selecionados com base em uma grande variedade de polímeros naturais e sintéticos [11]. Cada substância possui características únicas de poder emulsificante e propriedades formadoras de filme que definem a sua capacidade para funcionar como um bom agente encapsulante [8]. O agente encapsulante como amido modificado vem sendo desenvolvido, há algum tempo, com o objetivo de superar as limitações dos amidos nativos e, assim, aumentar a utilidade e aplicabilidade deste polímero pelas indústrias. As razões que levam à modificação do amido são de melhorar a formação de filmes e aumentar o poder emulsificante [9]. Quando o amido é modificado com octenil anidrido succínico, o amido ceroso, parcialmente hidrolisado, ganha um elemento hidrofóbico sob a forma de grupos de octenil, resultando em moléculas inteiras com um caráter anfifílico [7]. Um pequeno nível de substituição resulta em um produto com excelente capacidade emulsificante de auxílio à secagem por spray e pode ser utilizado, em altas concentrações, na alimentação do sistema, produzindo, ainda, soluções com boa estabilidade [12,13]. A maltodextrina é um polissacarídeo obtido da hidrólise parcial de amido, formado por D-glicose ligada na posição α -(1→4). A maltodextrina possui, ainda, um baixo custo, uma alta solubilidade em água (> 75%) e baixa viscosidade, em soluções aquosas [14], devendo apresentar um valor de dextrose equivalente (DE) < 20 [12,15].

A utilização da microencapsulação de ácido benzoico por secagem por *spray drying*, além de permitir que o produto possua características amorfas necessárias para sua aplicação na matriz alimentícia, facilita a incorporação e

padronização desse componente, em uma matriz alimentícia e prolonga o tempo de armazenamento desse produto. O objetivo deste trabalho foi avaliar os agentes encapsulantes amido modificado e/ou maltodextrina na eficiência de microencapsulação e nas propriedades físicas e térmicas dos produtos desidratados.

2. Material e métodos

Para o estudo do processo de microencapsulação, foi utilizado o ácido benzoico (Brenntag Química Brasil Ltda, São Paulo, Brasil) como material a ser encapsulado. A maltodextrina (Maltogil DE 10, Gargil, São Paulo, Brasil) e o amido modificado (Capsul[®], National Starch Food Innovation, São Paulo, Brasil) como materiais encapsulantes; o polisorbato 80 (Emfal – Empresa Fornecedora de Álcool Ltda, Betim, Brasil) usado como agente emulsificante.

2.1. Planejamento experimental

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições, conforme apresentado na Tabela 1. Para avaliar os efeitos das três formulações sobre as características dos pós de ácido benzoico encapsulado, uma análise de variância foi feita, utilizando o *software Statistica* (ver. 8. Stat Soft. Inc., Tulsa, USA) e as médias comparadas com o teste de Tukey a ($p < 0,05$).

Tabela 1. Delineamento experimental para microencapsulação de ácido benzoico.

Tratamento	Material encapsulante (g/100g)		
	AM	M	AM/M
1	100	-	-
2	-	100	-
3	-	-	50:50

AM: Amido modificado; M: Maltodextrina; AM/M: Amido modificado e maltodextrina.

2.2. Preparo da emulsão

A substituição total e parcial de amido modificado e maltodextrina foi preparada, para cada formulação, conforme Tabela 1, as quais foram hidratadas com água destilada, por 12 horas, em temperatura ambiente, para garantir a saturação completa das moléculas dos polissacarídeos. A concentração de material de encapsulante foi fixada em 40% (m/m). O ácido benzoico foi, previamente dissolvido, em 5 mL de etanol, com auxílio de um gral e pistilo na concentração de 6% em relação aos sólidos totais [15]. Polissorbato 80 (0,5% m/v) foi usado como agente emulsificante. A solução final foi aquecida a 60 °C e homogeneizada a 2500 rpm durante 10 min (homogeneizador Ultraturrax, TECNAL Piracicaba, Brasil).

2.3. Microencapsulação por *spray drying*

As emulsões foram processadas, em um secador *spray drying* de bancada da marca Labmaq, modelo MSD 1.0 (Ribeirão Preto, Brasil), com sistema injetor de bico duplo fluido de 3 mm de diâmetro, em uma câmara de secagem com dimensão 670 mm x 200 mm. A alimentação do secador é fornecida pela bomba peristáltica, com fluxo de ar de aspersão 40 L/min e pressão do ar 400 kPa. A temperatura do secador seguiu a metodologia proposta

por Marques et al. [15], utilizando-se a temperatura do ar de entrada a 169 °C. A temperatura de saída do ar variou de 78-96 °C e a vazão de alimentação foi mantida a 0,70 L/h.

2.4 Análises do produto encapsulado

A análise de eficiência de microencapsulação foi realizada, de acordo com a metodologia descrita por Tfouni e Toledo [17], com pequenas modificações. Para isso, empregou-se um sistema modular de cromatografia líquida de alta eficiência Shimadzu® (Kyoto, Japão), composto de bomba LC 20 AT, forno CTO 20A, amostrador automático SIL 10A, detector de comprimento de onda variável SPD-20A e sistemas de dados LC Solution. Para o preparo das amostras, pesaram-se 5 g de ácido benzoico microencapsulado, em um balão volumétrico âmbar de 100 mL e, em seguida, adicionaram-se 50 mL de solução hidroetanólica a 70%. A solubilização das amostras foram realizadas por sonicação por 30 min a 50 °C. O volume de 100 mL foi completado com solução hidroetanólica a 70% e homogeneizado. As amostras foram filtradas em membrana de 0,45 µm. Para as análises cromatográficas, empregou-se coluna Acclaim Organic Acid AO (250 × 40 mm, 5 µm), injetando-se 25 µL dos sobrenadantes. As análises foram realizadas em modo isocrático, empregando-se como fase móvel uma solução de acetato de amônio 0,005 M/acetonitrila/água nas proporções 2:17:81, pH: 4,2 e fluxo de 1 mL/min, a 25 °C. A detecção no UV foi registrada a 228 nm. A curva de calibração de ácido benzoico compreendeu a faixa de 1,0 a 5,0 mg/mL. A equação da reta, $y = 139.476,98 - 2110,07x$, $R^2 = 0,9989$, em que y é a absorbância e x é a concentração, foi empregada, para determinação das concentrações de ácido benzoico, no microencapsulado. Para os cálculos de eficiência da microencapsulação, empregou-se a Equação (1) adaptada por Vasconcelos et al. [18].

$$\text{Microencapsulation efficiency} = \left(\frac{Q_{Eba}}{Q_{ba}} \right) \times 100 \quad (1)$$

em que: Q_{Eba} o total de ácido benzoico microencapsulado e Q_{ba} quantidade de ácido benzoico presente na alimentação.

O teor de umidade foi determinado, segundo a técnica gravimétrica, em estufa a vácuo a temperatura de 70 °C, segundo método AOAC [19].

A molhabilidade dos pós foi medida, adaptando-se a metodologia proposta por Fuchs et al. [20]. O método constitui na queda de 1 g do produto, em 100 mL de água destilada a 20 °C, em béquer de 250 mL, sem agitação e medindo o tempo necessário para que todas as micropartículas se molhassem até a completa dissolução do produto.

Para solubilidade, utilizou-se a metodologia proposta por Cano-Chauca et al. [21] com algumas modificações. 1g do pó foi polvilhado sobre superfície de 100 mL de água destilada e homogeneizada. A solução foi transferida para um tubo e centrifugada a 2.600 rpm, por 5 minutos. Uma alíquota (25 mL) do sobrenadante foi colocada na placa de petri previamente pesada e submetida numa estufa a 105 °C. A quantidade de pó presente no sobrenadante foi quantificada e considerada como porção solúvel do pó.

A densidade de leite (ρ) foi determinada por meio da medida do volume ocupado por 2 g da amostra em uma proveta graduada de 50 mL [22]. A densidade compactada foi determinada de acordo com a metodologia de Goula e Adamopoulos [23]. Para isso, pesaram-se 20 g de pó, o qual foi transferido para uma proveta graduada de 50 mL. As amostras foram repetidamente batidas, manualmente, levantando-se e soltando-se da proveta sob o seu próprio peso, a uma altura de 14±2 cm, até que uma diferença negligenciável do volume entre as

medições sucessivas fosse observada. Massa (g) e volume (mL) observados foram determinados para o cálculo da densidade compactada (g/mL).

A distribuição do tamanho de micropartículas foi medida, usando um laser instrumental de difração de luz (Mastersizer 2000, modelo Hydro 2000 UM, Malvern Instruments, Worcestershire, UK). A dispersão das micropartículas foi realizada, na unidade de dispersão do equipamento, com uma pequena amostra de pó, utilizando isopropanol PA. O tempo de agitação da solução foi de 15 minutos, sendo feitas cinco réplicas de leitura, na mesma amostra, em um intervalo de 10 segundos. A composição granulométrica foi determinada, utilizando-se o diâmetro médio volumétrico das micropartículas ($D_{[4,3]}$) e a homogeneidade da distribuição do tamanho das micropartículas (*span*) foi calculada, conforme a Eq. (2), adaptada por Jinapong et al. [22].

$$Span = \left(\frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}} \right) \quad (2)$$

em que: D_{10} , D_{50} e D_{90} são os diâmetros equivalentes a 10%, 50% e 90%, respectivamente, do volume acumulado.

2.5. Morfologia

A morfologia das micropartículas foi avaliado por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). As micropartículas foram fixado em porta-espécimes metálicas (*stubs*), com fita adesiva de dupla fase de 1 cm de diâmetro e 1 cm de altura, revestida de ouro. As amostras foram colocados na câmara a vácuo e examinada com o microcópico eletrônico de varredura (MEV 1430 VP-LE Microscopia Eletrônica Ltd., Cambidge, UK). O MEV foi operado a 20 kv com uma ampliação de 900-1200x.

2.6. Isoterma de adsorção de umidade

As isotermas de adsorção foram determinadas pelo método gravimétrico estático descrito por Spiess and Wolf [24]. Pesou-se 1 g de cada tratamento na placa de petri a qual foi colocada, em sete dessecadores, contendo soluções salinas saturadas, em água destilada (LiCl, MgCl₂, K₂CO₃, Mg(NO₃)₂, NaNO₃, NaCl e KCl), com atividade de água variando entre 0,11 a 0,84 e armazenadas, em uma câmara climática, na temperatura de 25°C. Amostras de todos os tratamentos foram pesadas, em intervalos de tempo pré-determinados, até alcançar peso constante. Os dados da isoterma de sorção de umidade correlacionados com os seguintes modelos matemáticos: (GAB [25], Halsey [26], Henderson [27], Oswin [28] e Smith [29]). Os modelos, utilizados para o ajuste, foram selecionados, de acordo com a revisão de Al-Muhtaseb et al. [30]. Os parâmetros das equações foram estimados pela correlação dos modelos matemáticos aos dados experimentais, utilizando uma regressão não linear pelo método Quasi-Newton, com critério de convergência de 10⁻⁴ e auxílio do *Statistica software* (ver. 8. Stat Soft. Inc., Tulsa, USA), em nível de 5% de significância. O modelo foi considerado o mais adequado, baseado no maior coeficiente de determinação (R²) e, no menor módulo do desvio relativo médio (E%), definido pela equação (3).

$$E = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{|Y - \hat{Y}|}{Y} \right) \quad (3)$$

em que: E erro padrão (%); n número de dados observados; Y valor observado; \hat{Y} valor estimado pelo modelo.

2.7. Estabilidade térmica

A estabilidade térmica do ácido benzoico encapsulado foi avaliada por análise termogravimétrica, em um equipamento DTA-TG Shimadzu 50 H

(Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). As análises foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio, a uma taxa de fluxo de 50 mL.min⁻¹, com aquecimento de 25 °C a 600 °C com uma razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

3. Resultados e discussão

Observa-se que o uso de diferentes materiais encapsulantes, empregados na microencapsulação de ácido benzoico afetou, significativamente ($p < 0,05$) e os parâmetros físicos e físico-químicos analisados (Tabela 2).

Um dos parâmetros de qualidade mais importantes, no processo de microencapsulação, é a eficiência da encapsulação e esta análise se torna indispensável na característica do produto final. Essa variável está fortemente relacionada ao tipo de material encapsulante utilizado, à concentração de sólidos da solução de alimentação e à temperatura aplicada ao processo. A eficiência de encapsulação pode ser aumentada pela seleção dos materiais encapsulantes que apresentem diferentes propriedades funcionais [7]. A maior eficiência foi verificada, para o tratamento AM/M, que se diferiu, estatisticamente, ($p < 0,05$) do tratamento AM e M. Observa-se que a aplicação do material encapsulante (amido modificado ou maltodextrina) na formulação pode ter facilitado a formação de crosta, durante a secagem, reduzindo a difusão do ácido encapsulado para a superfície das micropartículas, diminuindo, portanto a perda do material do núcleo. Baixos valores de eficiência de encapsulação de ácido ascórbico foram encontrados, para o suco camu-camu, usando amido modificado ou maltodextrina como materiais puros (44,44 g/100 g – 46,31 g/100 g), respectivamente e, para a mistura de amido modificado e maltodextrina (45,50 g/100 g) [31]. Segundo os autores, a utilização destas blendas, também, contribuíram, para diminuir a perda de vitamina C, durante o armazenamento.

Tabela 2. Médias e desvios padrão de parâmetros físico e físico-químicos de ácido benzoico encapsulado com diferentes materiais encapsulantes.

Tratamento	Variáveis							
	Eficiência da microencapsulação (g/100 g)	Umidade (%)	Molhabilidade (s/g)	Solubilidade (g/100 g)	Densidade da partícula (g.mL ⁻¹)	Densidade compactada (g.mL ⁻¹)	D _[4,3] (µm)	Span
AM	68,47±1,11 ^b	1,55±0,24 ^a	68,41±2,02 ^a	75,92±0,87 ^b	0,68±0,03 ^a	0,58±0,01 ^a	15,93±0,07 ^b	2,12±0,00 ^a
M	67,10±1,05 ^b	1,55±0,14 ^a	52,64±3,17 ^b	77,90±0,43 ^a	0,58±0,01 ^b	0,50±0,01 ^b	14,88±0,09 ^c	2,15±0,03 ^a
AM/M	82,65±3,52 ^a	2,16±0,01 ^b	58,72±3,84 ^{ab}	76,78±0,84 ^c	0,59±0,01 ^b	0,41±0,01 ^c	19,15±0,01 ^a	1,94±0,00 ^b

^{a,b,c}Valores com letras diferentes na mesma coluna diferem entre si significativamente (p<0,05) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. AM - amido modificado; M - maltodextrina; AM/M - amido modificado e maltodextrina.

O teor de umidade é o principal fator que afeta a estabilidade e as propriedades físicas das micropartículas, desde que um pequeno aumento, no conteúdo de água é capaz de diminuir a temperatura de transição vítrea (T_g) das micropartículas, o suficiente, para aumentar a mobilidade do material encapsulado, na matriz encapsulante, durante o armazenamento, impactando, negativamente, nas principais propriedades físicas e tecnológicas desses materiais. Observa-se que a blenda de amido modificado e maltodextrina resultaram em um aumento na umidade do pó. Tal fato pode ter atribuído ao aumento da viscosidade da mistura do material encapsulante, visto que as micropartículas apresentaram diâmetro relativamente maior. De maneira que, quando a viscosidade da solução aumenta maiores são as gotículas formadas na atomização [32].

A molhabilidade pode ser caracterizada pela susceptibilidade das micropartículas serem penetradas pela água as quais são influenciadas por fator físico, especialmente, tamanho e forma das micropartículas [33]. Observou-se que o uso de maltodextrina contribuiu, para melhorar a molhabilidade, pois esse componente, o qual é caracterizado por alta solubilidade em água, favorece a diminuição do tempo necessário para que as micropartículas sejam, totalmente, adsorvidas pela água. Lannes e Medeiros [34] mencionam que o tempo máximo, para o produto molhar seja uma decisão arbitrária e que um bom parâmetro pode ser o máximo de 60 segundos, para que 90% do produto mergulhem na água e, nesse aspecto, pode-se afirmar que os tratamentos (M e AM/M) alcançam esses valores. No entanto, o tratamento AM/M não foi estatisticamente diferente desses.

Uma boa solubilidade é requisito fundamental para aplicação dos pós como ingredientes na indústria de alimentos. A solubilidade é a última etapa de dissolução da micropartícula na matriz alimentícia e é considerada essencial para a qualidade destes produtos. Observou-se, para solubilidade, que os tempos

obtidos, para os pós se tornarem completamente solubilizados em água, variaram de 75,92 a 77,90 g/100 g entre os tratamentos. Abadio et al. [35], utilizando diferentes concentrações de maltodextrina, para suco de abacaxi em pó, observaram um valor médio de 81,56% para a solubilidade. Verificou-se que, com a adição da maltodextrina que é muito solúvel em água, a solubilidade aumentou muito pouco com a blenda AM/M.

A densidade da micropartícula é um parâmetro fundamental e importante para avaliar os processos industriais na determinação das condições de empacotamento, embalagem e transporte. Verificou-se que os tratamentos M e AM/M se diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) do tratamento AM. Este resultado pode estar relacionado ao tamanho desses compostos, já que as moléculas de maltodextrina são menores que as do amido modificado. Bae e Lee [33] observaram que alto grau de aglomeração e do colapso estrutural do pó estão relacionados ao conteúdo de maltodextrina e, tal fato pode gerar a diminuição do volume da micropartículas. Por outro lado, a densidade compactada é influenciada pela geometria e tamanho da micropartícula. As micropartículas esféricas terão melhor organização ao serem empacotadas e apresentam maiores densidade [36].

O controle, no tamanho das micropartículas, é um fator importante pela sua grande influência na aparência, fluidez e dispersibilidade [37]. Observou-se que o tamanho das micropartículas foi influenciado, significativamente ($p < 0,05$), quando foi empregada substituição total e parcial de amido modificado por maltodextrina. Os valores do tamanho da micropartícula encontrados estão em conformidade aos estudos conduzidos com o uso da técnica do *spray drying*, que variam de 5 a 100 μm [38]. Quando a maltodextrina foi aplicada à formulação com o amido modificado, o tamanho da micropartícula foi aumentado. Este resultado pode estar relacionado com a morfologia das micropartículas, como observado pela análise da morfologia discutida a seguir. As micropartículas, na

presença de amido modificado e maltodextrina, mostraram um menor encolhimento, durante o processo de secagem contribuindo, assim, para o aumento do tamanho das micropartículas. O valor de dispersibilidade (*span*) se relaciona ao grau de uniformidade de distribuição de tamanho das micropartículas [39]. Assim, quanto menor for o valor deste parâmetro menor será dispersão da distribuição de tamanho da micropartícula, o que indica um sistema homogêneo que permite uma melhor padronização do produto e das propriedades das micropartículas. Foi verificado que as micropartículas do presente estudo apresentaram valores, para o *span* entre 1,94 a 2,15, indicando uma homogeneidade do processo de secagem por *spray drying*.

3.1 Morfologia das micropartículas

As micropartículas mostraram variedade em tamanho, que é uma característica típica de micropartículas produzidas por *spray drying*. Verificou-se que as micropartículas produzidas com blendas de material encapsulante possui maior concentração de micropartículas rugosas (Fig. 1 C). As imperfeições superficiais (frissuras, rugosidade e colapsos) são formadas, quando há um lento processo de formação de filme, durante a secagem das gotículas atomizadas, associando a presença de depressões superficiais ao colapso sofrido pelas gotas durante os estágios iniciais de secagem [40]. Em trabalho conduzido por Costa et al. [41], no encapsulamento de bioaroma de queijo suíço por *spray drying*, utilizando maltodextrina e amido modificado como material de encapsulante, obtiveram-se formas esféricas ocas com a formação de vacúolos que podem ter sido originados, a partir de um processo de encolhimento ocorrido, logo após o endurecimento da superfície. As micropartículas produzidos com AM e M levaram à formação de maior quantidade de micropartículas quebradiças (Fig. 1A e 1B), provavelmente, por não ter adquirido a característica viscoelástica. Os mecanismos associados com a

formação de espaços vazios estão relacionados à expansão das micropartículas durante as últimas fases do processo de secagem. Teixeira et al. [42] evidenciaram que a expansão térmica do ar, no interior das micropartículas de secagem, pode suavizar o encolhimento. Os pequenos orifícios, encontrados em algumas micropartículas, provavelmente, devem ter ocorrido nos estágios finais de secagem [43].

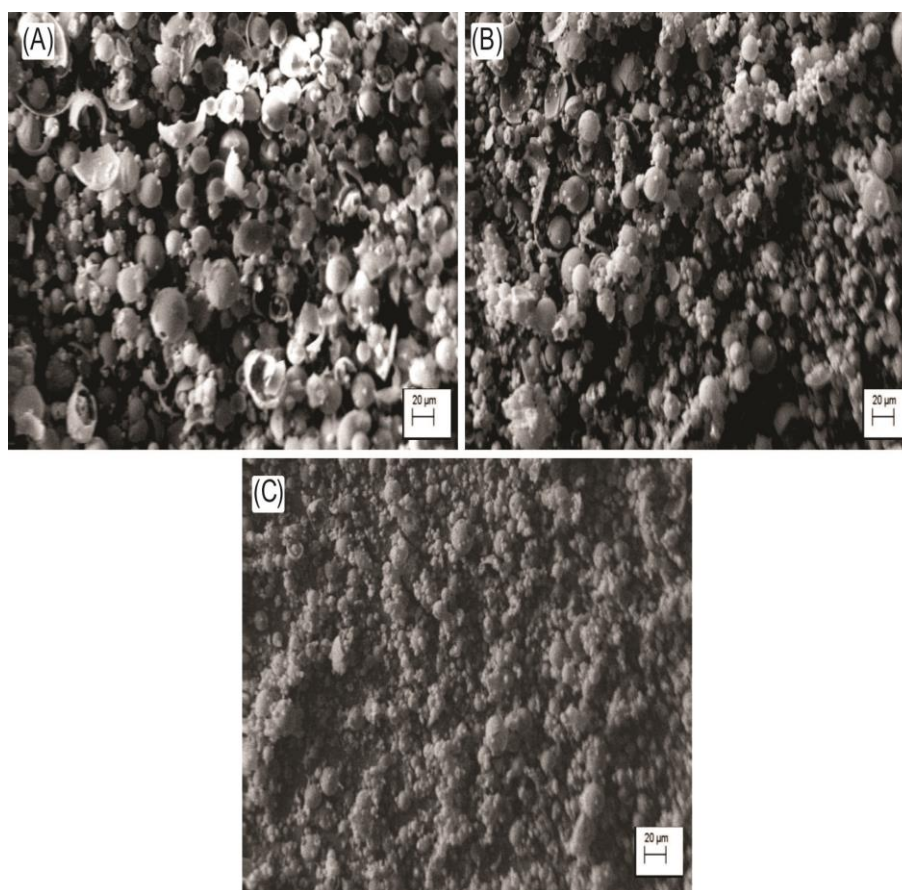


Fig. 1. Micrografias eletrônicas de varredura obtidas para as micropartículas de ácido benzoico produzidas com os seguintes encapsulantes: A: Amido modificado, B: maltodextrina, C: amido modificado/maltodextrina.

3.2 Isotermas de adsorção de umidade do ácido benzoico encapsulado

O modelo de GAB foi escolhido como o melhor modelo, para explicar o comportamento da isoterma, em função de seu alto coeficiente de determinação (R^2) e menor desvio relativo médio (E%) (Tabela 3). O teor de umidade na monocamada (X_m) mostra a quantidade de água que é fortemente adsorvida, em sítios específicos, na superfície dos alimentos, sendo considerado um valor importante para assegurar a estabilidade do produto [44]. Os valores de (X_m), obtidos para ácido benzoico encapsulado, variaram de 0,055 a 0,095 g.g^{-1} entre os diferentes tratamentos. As micropartículas produzidas M apresentaram menores valores de X_m do que as micropartículas produzidas AM e AM/M. Os valores de X_m indicaram que as micropartículas apresentaram características de higroscopicidade, similares a valores encontrados, para produtos ricos em açúcares, entre 0,060 g.g^{-1} a 0,064 g.g^{-1} para polpa de abacaxi e polpa de camu-camu em pó, respectivamente, de acordo com dados experimentais obtidos por Gabas et al. [45] e Silva et al. [46].

Tabela 3 Valores estimados dos coeficientes e parâmetros estatísticos para o modelo GAB, Halsey, Oswin e Peleg

Modelo da Equação		AM	M	AM/M	
GAB	X_m	0,055	0,095	0,067	
	C	0,055	2,915	0,099	
	$X_{\text{seq}} = \frac{X_m C K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)}$	K	0,183	0,619	0,114
	E (%)	0,509	0,509	1,116	
	R ²	0,999	0,995	0,994	
Halsey	A	0,002	0,002	0,002	
	B	0,070	0,070	0,071	
	$X_{\text{seq}} = \left[\frac{a}{\ln \left(\frac{1}{a_w} \right)} \right]^{\frac{1}{b}}$	E (%)	4,204	4,57	4,475
	R ²	0,783	0,760	0,724	
Oswin	A	0,085	0,079	0,066	
	B	0,411	0,400	0,602	
	$X_{\text{seq}} = a \left[\frac{a_w}{(1 - a_w)} \right]^b$	E (%)	1,616	1,464	0,849
	R ²	0,988	0,988	0,996	
Peleg	A	0,093	0,084	0,016	
	$X_{\text{seq}} = a \cdot a_w^{k1} + b \cdot a_w^{k2}$	K ₁	1,019	0,979	1,787
	b	0,093	0,084	0,116	
	K ₂	1,019	0,979	1,787	
	E (%)	0,997	0,916	2,273	
	R ²	0,986	0,985	0,992	

X_{eq}: unidade de equilíbrio (g.g⁻¹ de pó seco); X_m: unidade de monocamada (g.g⁻¹ de pó seco); C; K: constantes do modelo relacionadas com a monocamada e propriedades de monocamadas; a_w: atividade de água; a, b: parâmetros do modelo; E: módulo de desvio relativo; R²: coeficiente de determinação. AM: amido modificado; M: maltodextrina e AM/M: amido modificado e maltodextrina.

O modelo de GAB foi usado para descrever o comportamento das isothermas (Fig. 2). As isothermas de sorção, para os tratamentos AM e M, apresentaram características de isothermas do tipo II (sigmoidal), enquanto a isoterma, obtida para o tratamento AM/M, apresentou isoterma do tipo III (não sigmoidal) [47]. De acordo Rizvi [48], comportamento de isoterma do tipo III é característico de alimentos ricos em componentes solúveis.

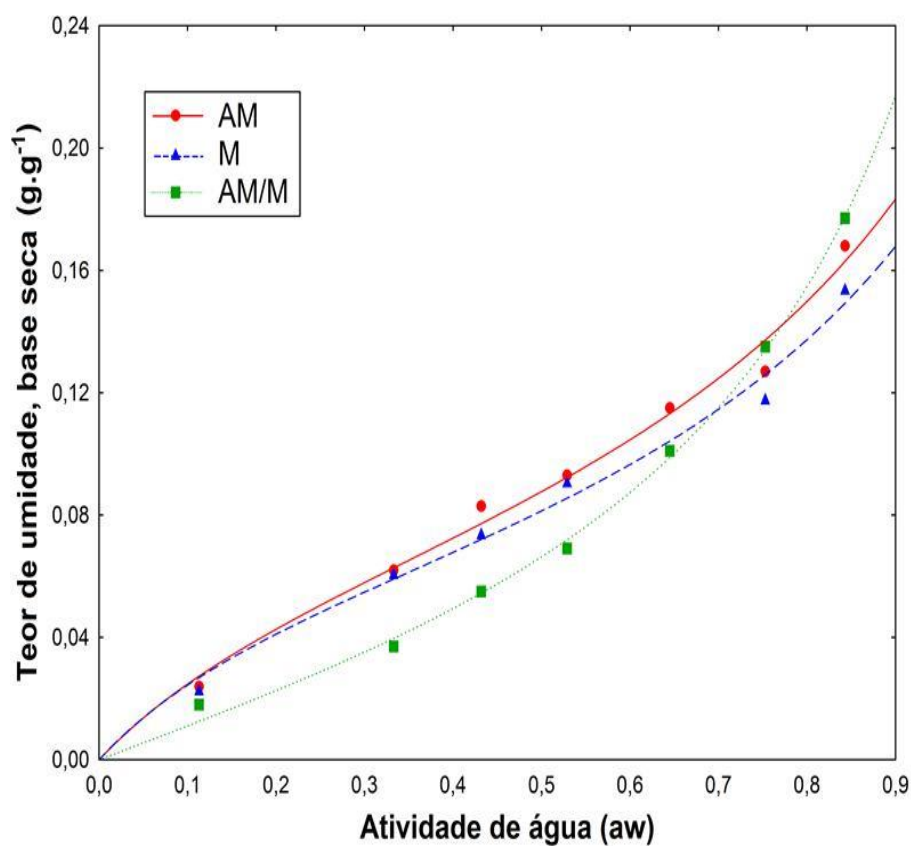


Fig. 2. Isoterma de adsorção de umidade, para ácido benzoico encapsulado, ajustado para o modelo de GAB.

Observou-se, por meio das características físicas dos pós, que as umidades apresentaram mudanças de fases para os tratamentos de ácido benzoico encapsulado (Fig. 3). O colapso encontrado para os tratamentos é um fenômeno indesejável, em que, inicialmente, o pó começa a aglomerar e, em consequência, ocorre a formação de torrões. Este estágio foi observado, nas atividades de água de 0,113 a 0,529, para o tratamento M e atividade de água de 0,113 a 0,645, para o tratamento AM e AM/M. Aguilera et al. [49] relatam que o colapso, que pode ser observado nas micropartículas, geralmente, inicia-se com a formação de pontos de onde começa a deformação da superfície e adesão de contato dos pós. Esta formação de colapso do pó foi observada, na atividade de água 0,645, para o tratamento M. A compactação é o estágio mais avançado no processo, geralmente está associado à perda pronunciada da integridade do sistema, ocorrendo espessamento das pontes interpartículas e redução do espaço entre as micropartículas e deformação dos agrupamentos dos pós. Este fato foi observado, na atividade de água 0,756, para o tratamento AM e AM/M. No estágio final, ocorre a liquefação da amostra. Essa fase foi observada, para todos os tratamentos, na atividade de água de 0,843.

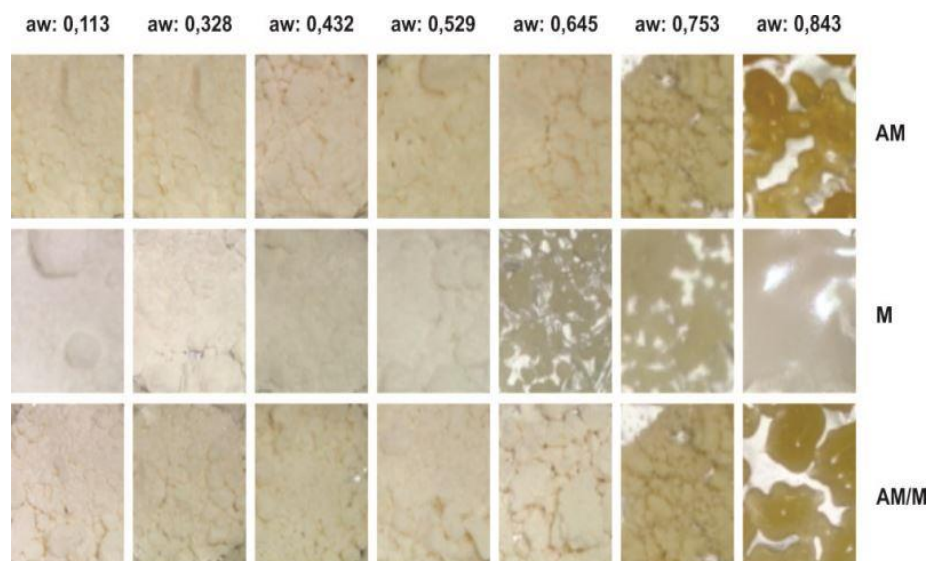


Fig. 3. Estrutura física dos pós de ácido benzoico encapsulado, nas atividades de água utilizadas, durante a determinação das isotermas de adsorção de umidade.

3.3 Análise térmica diferencial e perda de massa

A termogravimetria é uma técnica que se baseia, na medida de perda de massa de uma determinada amostra (Tabela 4), em função da temperatura ou do tempo. O ácido benzoico apresentou apenas um estágio de perda de massa e as micropartículas, contendo o ácido benzoico encapsulado e os materiais encapsulantes puros, apresentaram dois estágios de perda de massa (Fig. 4 A). O primeiro estágio, para todos os materiais, com exceção do ácido benzoico, até 110 °C, é atribuído à perda de umidade das amostras. Observou-se que o ácido benzoico apresentou uma menor estabilidade térmica em relação aos materiais encapsulantes puros e encapsulados. Em temperaturas superiores a 110 °C, as perdas de massa observadas correspondem a processos de decomposição dos materiais. Nesta etapa podem ocorrer reações relacionadas à desidratação de anéis de carboidratos, despolimerização e decomposição de unidades dos polímeros [50]. Quando os materiais poliméricos são submetidos a um

tratamento térmico, podem apresentar mudanças estruturais caracterizadas pela ruptura de ligações químicas, nas cadeias principais e laterais [51]. Em relação a temperaturas correspondentes à inclinação máxima de cada passo de mudança de peso (Fig. 4B) ou temperatura máxima de degradação térmica (600 °C), observa-se que esta temperatura é menor, para ácido benzoico puro (aproximadamente 180 °C), do que os encapsulantes e o produto encapsulado (300-330 °C), pois se trata de um composto volátil, cuja encapsulação é benéfica, para retardar esta degradação, que é o objetivo do processo de encapsulação.

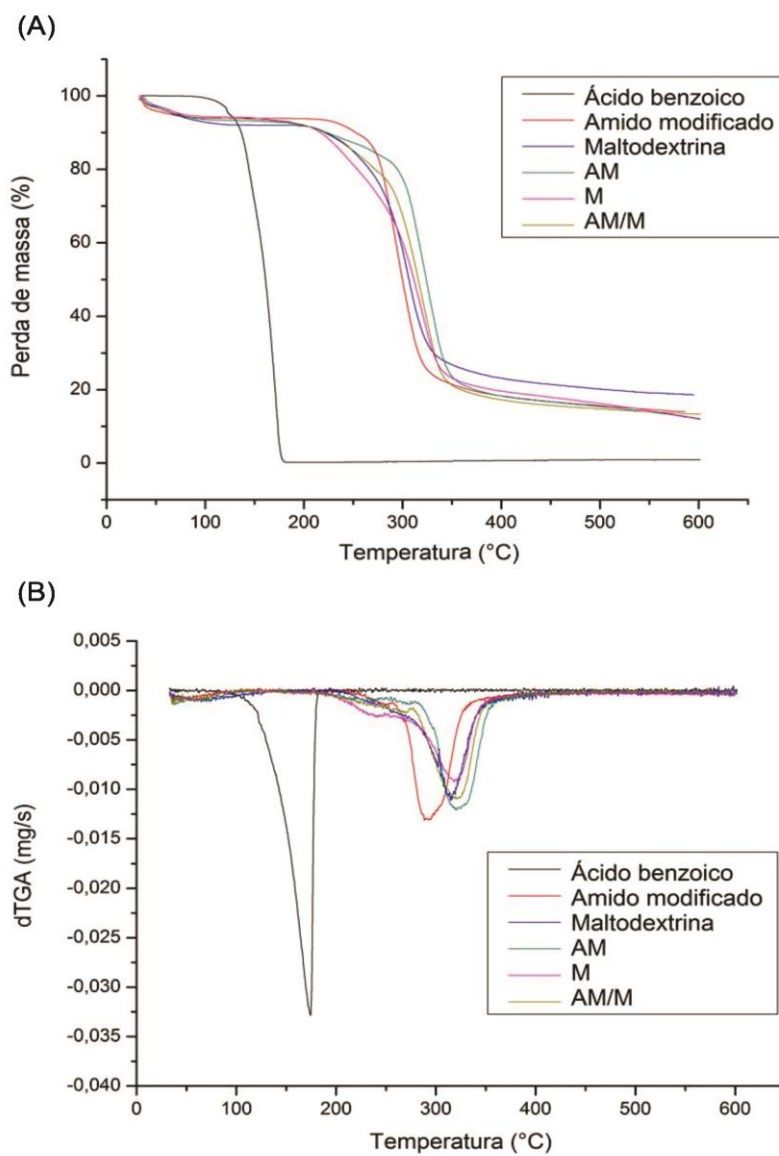


Fig. 4. Curva de perda de massa TGA (A) e dTGA (B) obtida, para os materiais encapsulantes puros e para o ácido benzoico encapsulado, nas diferentes matrizes estudadas, em atmosfera de nitrogênio. AM: amido modificado; M: maltodextrina; e AM/M: amido modificado e maltodextrina

Tabela 4 Análise térmica diferencial e perda de massa do material encapsulante e ácido benzoico encapsulado

Ensaio	1º estágio			2º estágio		
	T _{onset}	T _{endset}	PM	T _{onset}	T _{endset}	PM
	°C	°C	%	°C	°C	%
Ácido benzoico	88,20	110,64	1,18	151,12	178,43	99,162
Amido modificado	41,90	76,92	5,29	290,79	339,98	79,74
Maltodextrina	48,89	100,13	7,05	286,85	330,77	73,34
AM	41,34	69,97	5,53	294,77	336,99	81,46
M	39,45	68,41	5,02	280,38	332,17	82,06
AM/M	40,03	72,81	5,06	280,92	337,95	80,79

T_{onset}: temperatura de entrada; T_{endset}: temperatura de saída; PM: perda de massa. AM: amido modificado; M: maltodextrina e AM/M: amido modificado e maltodextrina.

4. Conclusão

De maneira geral, as variáveis estudadas apresentam efeito significativo sobre as respostas avaliadas. A combinação de amido modificado e maltodextrina mostra-se uma boa alternativa de material encapsulante nas propriedades de reconstituição do produto. Além disso, apresenta a maior eficiência de encapsulação para o ácido benzoico. As isotermas de adsorção apresentam comportamento sigmoidal típico da curva do tipo III para a blenda de amido modificado e maltodextrina. A morfologia da micropartícula apresenta uma variedade em tamanho, para os diferentes tratamentos, de formato parcialmente rugosa e quebradiça. As análises térmicas indicaram que o ácido benzoico encapsulado, para os diferentes materiais encapsulantes, foi resistente termicamente.

Referências

- [1] P.M. Davidson, V.K. Juneja, J.K. Branen, Antimicrobial Agents in: Branen, A.L.; Davidson, P.M.; Salminen, S.; Thorngate III, J.H. (Eds). Food Additives, 2nd Edition, Marcel Dekker, Inc., 2002 pp. 563-620.
- [2] S. Mangalassary, Antimicrobials Food Packaging to Enhance Food Safety: Current Developments and Future Challenges, Food Process. Technol. (2012) 3-5.
- [3] J.R. Chipley, Sodium Benzoate and Benzoic Acid in: DAVIDSON P. M., SOFOS J. N., BRANEN A. L. (Eds), Antimicrobials in Food, 3rd Edition, CRC Press (2005).
- [4] F.J.M. Mota, I.M.P.L.V.O. Ferreira, S.C. Cunha, M. Beatriz, P.P. Oliveira, Optimisation of extraction procedures for analysis of benzoic and sorbic acids in foodstuffs, Food Chem. 82 (2003) 469-473.
- [5] A. Gharsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley, R. Saurel, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview, Food Res. Int. 40 (2007) 1107–1121.
- [6] G.R. Marques, S.V. Borges, K.S. Mendonça, R.V.B. Fernandes, E.G.T. Menezes, Application of maltodextrin in green corn extract powder production, Powder Technol. 263 (2014a) 89-95.
- [7] D.A. Botrel, R.V.B. Fernandes, S.V. Borges, Microencapsulation of essential oils using spray drying technology. In: SAGIS, L. M. C. (Ed.). Microencaps. and microspheres for food applications. San Diego: Academic Press, 2015b, pp. 235-251.
- [8] E.L. Carmo, R.V.B. Fernandes, S.V. Borges, Microencapsulação por *spray drying*, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos, J. of Chem. Eng. and Chem. 1 (2015) 30–44.
- [9] P. Venkatesan, R. Manavalan, K. Valliappan, Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system, J. of Pharmac. Sci. and Res. 1 (2009) 26-35.
- [10] V.R.N. Telis, N. Martínezna-Varrete, Application of compression test in analysis of mechanical and color changes in grapefruit juice powder as related to glass transition and water activity, Food Sci. and Technol. 43 (2010) 744–751.

- [11] D.A. Botrel, S.V. Borges, R.V.B. Fernandes, A.D. Viana, J.M. Costa, G.R. Marques, Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil, *Int. J. of Food Sci. and Technol.* 47 (2012a) 2289-2296.
- [12] F. Shahidi, X.Q. Han, Encapsulation of food ingredients, *Crit. Rev. In Food Sci. and Nutr.* 33 (1993) 501-547.
- [13] M.C. Sweedman, M.J. Tizzotti, C. Schafer, R.G. Gilbert, Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: a review, *Carbohydr Polym.* 92 (2013) 905–920. Barking.
- [14] L. Medina-Torresa, R. Santiago-Adame, F. Calderas, J.A. Gallegos-Infante, R.F. González-Laredo, N.E. Rocha-Guzmán, D.M. Núñez-Ramírez, M.J. Bernad-Bernad, O. Manero, Microencapsulation by spray drying of laurel infusions (*Litsea glaucescens*) with maltodextrin, *Ind. Crop. Prod.* 9 (2016) 1–8.
- [15] S. Akhavan Mahdavi, S.M. Jafari, E. Assadpoor, D. Dehnad, Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin, *Int. J. Biol. Macromol.* 85 (2016) 379-385.
- [16] G.R. Marques, R.V.B. Fernandes, S.V. Borges, D.A. Botrel, Influence of Spray-Drying Conditions on Physical and Morphological Characteristics of Microencapsulated Benzoic Acid, *Food Bioprocess. Technol.* 9 (2016b) 1969-1978.
- [17] S.A.V. Tfouni, M.C.F. Toledo. Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food. *Food Control.* 13 (2002) 117-123.
- [18] E.A.F. Vasconcelos, M.G.F. Medeiros, F.N. Raffin, T.F.A.L. Moura, Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil[®]200 nas características de extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), *Rev. Brasil. de Farmac. São Paulo*, 15 (2005) 243-249.
- [19] AOAC (Association of Official Analytical Chemistry), *Official Methods of Analysis*. 16^o ed., 1997. (Washington).
- [20] M. Fuchs, C. Turchiuli, M. Bohin, M.E. Cuvelier, C. Ordonnaud, M.N. Peyrat-Maillard, E. Dumoulin, Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration, *J. of Food Eng.* 75 (2006) 27-35.

- [21] M. Cano-Chauca, P.C. Stringheta, A.M. Ramos, J. Cal-Vidal, Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization, *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.* 6 (2005) 420-428.
- [22] N. Jinapong, M. Supphantharika, P. Jamnong, Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J. of Food Eng.* 84 (2008) 194-205.
- [23] A.M. Goula, K.G. Adamopoulos, Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: I Powder properties, *Dry. Technol.* 26 (2008) 726-737.
- [24] W.E.L. Spiess, W. Wolf, Critical evaluation of methods to determine moisture sorption isotherms. In: Rockland, L.B., Beuchat, L.R (Ed). *Water activity: theory and applications to food.*, 1987, New York: Dekker.
- [25] C. Van Den Berg, Development of B.E.T. like models for sorption of water of foods; theory and relevance . In D. Simatos & Multon (Eds). *Properties of water in foods.* Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1985 pp.119-135.
- [26] G. Halsey, Physical adsorption on non-uniform surfaces, *J. of Chem. Phys.* 16 (1948) 931-937.
- [27] S.M. Henderson, A basic concept of equilibrium moisture. *Agricultural Engineering*, 33 (1952) 29–32.
- [28] C.R. Oswin, The kinetics of package life: III isotherm, *J. of the Soc. Chem. Ind.* 65 (1946) 419-421.
- [29] S. E. Smith, S. E. The sorption of water vapor by high polymers, *J. of Am. Chem. Soc.* 69 (1947) 646-651.
- [30] A.H. Al-Muhtaseb, W.A.M. McMinn, T.R.A. Magee, Moisture sorption isotherm characteristics of food products: a review, *Food and Bioprod. Process.* 80 (2002) 118-128.
- [31] A.L.R. Souza, F.S. Gomes, R.V. Tonon, R.I. Nogueira, S.M. Pontes, L.M.C. Cabral, Caracterização e estabilidade da vitamina C, compostos fenólicos totais e atividade antioxidantes do suco de camu-camu microencapsulado, *J. of Fruit. and Veg.* 1 (2015) 35-38.

- [32] A.M. Goula, K.G. Adamopoulos, Spray drying of tomato pulp: effect of feed concentration, *Dry. Technol.* 22 (2004) 2309-2330. Philadelphia.
- [33] E.K. Bae, S.J. Lee, Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrina, *J. of Microenc.* 25 (2008) 549-560.
- [34] S.C.S. Lannes, M.L. Medeiros, Processamento de achocolatado de cupuaçu por *spray-dryer*, *Rev. Brasil. de Ciênc. Farm.* 39 (2003) 115-123.
- [35] F.D. Abadio, S.V. Domingues, S.V. Borges, V.M. Oliveira, Physical of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice: effect of malt dextrin concentration and atomization speed, *J. of Food Eng.* 64 (2004) 285-287. Essex.
- [36] J. Finney, R. Buffo, G.A. Reineccius, Effects of type of atomization and processing temperatures on the physical properties and stability of spray-dried flavours, *J. of Food Sci.* 67 (2002) 1108-1114.
- [37] T.A. Reineccius, G.A. Reineccius, T.L. Peppard, Utilization of β -Cyclodextrin for improved flavor retention in thermally processed foods, *J. Food Sci.* 69 (2004) FCT58-FCT62. Chicago.
- [38] F.P. Castro-Cislaghi, C.R. Silva, C.B. Fritzen-Freire, J.G. Lorenz, E.S. Sant'Anna, Bifidobacterium Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage, *J. Food Eng.* 113 (2012) 186-193.
- [39] R.V. Tonon, C.R.F. Grosso, M.D. Hubinger, Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying, *Food Res. Int. Barking*, 44 (2011) 282-289.
- [40] M. I. Ré, Microencapsulation by spray drying, *Dry Technology*, 16 (1998) 1195-1236.
- [41] J.M.G. Costa, E.K. Silva, A.A.C.T. Hijo, V.M. Azevedo, M.R. Malta, J.G.L.F. Alves, S.V. Borges, Microencapsulação de queijo suíço bioaroma por secagem por pulverização: Otimização de processos e caracterização de partículas, *Powder Technol.* 274 (2013) 296-304.
- [42] M.I. Teixeira, L.R. Andrade, M. Farina, M.H.M. Rocha-Leão, Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray drying, *Mat. Sci. and Eng. C.* 24 (2004) 653-658.

- [43] S.M. Jafari, Y. He, B. Bhandari, B. Encapsulation of nanoparticles of dlimonene by spray-drying: role of emulsifiers and emulsifying techniques, *Dry. Technol.* 25 (2007) 1079-1089.
- [44] C. Pérez-Alonso, C.I. Beristain, C. Lobato-Calleros, H.E. Rodríguez-Huezo, E.J. Vemon-Carter, Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blend carbohydrate polymers, *J. of Food Eng.* 77 (2006) 753-760. Essex.
- [45] A.L. Gabas, V.R.N. Telis, P.J.A. Sobral, J. Telis-Romero, Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder, *J. of Food Eng.* 82 (2007) 246-252. Oxford.
- [46] M.A. Silva, P.J.A. Sobral, T.G. Kieckbusch, State diagrams of freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition, *J. of Food Eng.* 77 (2006) 426-432. Oxford.
- [47] Y.H. Roos, Phase transition in foods. San Diego: Academic, 1995, pp. 360.
- [48] S.S.H. Rizvi, Thermodynamic properties of foods in dehydration, In: M.A. Rao and S.S.H. Rizvi (Ed.). *Eng. Propert. of Foods*, 1986 New York: Academic Press.
- [49] M.J. Aguilera, J.M. Del Valle, M. Karel, Caking phenomena in amorphous food powder, *Trends in Food Sci. and Technol.* 6 (1995) 149-155. Londres.
- [50] S.F. Hosseini, M. Zandi, M. Rezaei, F. Farahmandghavi, Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study, *Carbohydr. Polym.* 95 (2003) 50-56.
- [51] E.F. Lucas, B.G. Soares, E. Monteiro, Caracterização de Polímeros. Determinação de peso molecular e análise térmica. Pertence a Googleboks, 2001, pp. 11-57.

**ARTIGO 3 - MICROENCAPSULATION OF THYME ESSENTIAL OIL
IN POLYMERIC MATRICES BY SPRAY-DRYING: EVALUATION OF
PHYSICAL AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS**

(VERSÃO PRELIMINAR)

Artigo redigido conforme norma da revista Industrial Crops and Products

Abstract

The aim of this study was to evaluate the physical and physicochemical characteristics of thyme essential oil encapsulated by spray drying and by partially replacing whey protein isolate with maltodextrin and chitosan. The effects of different encapsulant materials on the viscosity of thyme essential oil were examined. In general, microparticles containing encapsulated thyme essential oil treated with whey protein isolate and maltodextrin had good powder characteristics such as hygroscopicity and solubility, and their morphological studies showed spherical surfaces. The microparticle sizes ranged from 20.97 to 26.18 μm for all treatments. It was found that the whey protein isolate and maltodextrin treatment produced the greatest oil retention efficiency for (29.50%). Analyses for major components of thyme essential oil indicated that the mixture of different encapsulants resulted in over 40% thymol retention. Pure and encapsulated essential thyme oil were found to have appreciable antioxidant activity for different treatments.

Keywords: Thymol; process efficiency; milk protein; chitosan; spray drying.

1. Introduction

Thyme is a plant, which is widely used in the cuisine of different cultures. Its use is widespread in Mediterranean countries, and its pleasant flavor makes thyme easy to accept. Heat sensitive and volatile bioactive compounds derived from natural sources such as plants have many applications in the food industry as well as in the pharmaceutical and cosmetic products industry (Kha et al., 2010; Quispe-Condori et al., 2011). These compounds are of interest to the food industry because of their different biological functions especially antioxidant and antimicrobial functions (Kocic-Tanackov et al., 2012). The properties of essential oils are owing mainly to the presence of different classes of compounds such as terpenes, terpenoids, aliphatic, and aromatic compounds (Dima et al., 2014). However, they have limitations in their use since they can react with other compounds in formulations, which alters their properties (Parris et al., 2005).

Among the methods employed to prolong the stability of such compounds is microencapsulation, which makes use of encapsulating solid or liquid matrices, or polymeric reservoir systems (Madene et al., 2006; Nedovic et al., 2011). Microencapsulation by spray drying is an interesting method; its main function is to protect the encapsulated material from factors that are likely to cause deterioration of the material (Gharsallaoui et al., 2007). These methods are widely used to protect compounds from exposure to elevated temperatures and preserve essential oils, preventing the loss of their biological activity. The spray drying method is particularly used for improved preservation of products as dry solids (Li et al., 2010). The choice of the polymeric matrix is very important, and factors such as matrix solubility, toxicity, cost, and linkage ability with the compound should be taken into consideration. Thus, the coating material must allow the formation of a film encapsulating the active compound in order to be chemically compatible. The membrane must display properties that promote

coating, such as flexibility, strength, impermeability, and stability (Severino et al., 2011). The encapsulating materials should not react with the active core materials and should be safe for use in food products (Fernandes et al., 2014).

The whey protein isolate or milk protein molecules are composed of different chemical groups, are amphiphilic, and have the ability to associate and interact with a variety of different types of encapsulating materials of high molecular weight. In addition, they have a flexible molecular chain (Madene et al., 2006). They are widely used for microencapsulation of food ingredients owing to their functional properties including solubility, film-forming ability, emulsifying ability, and ability to stabilize emulsion droplets (Jafari et al., 2008).

Maltodextrin is a polymer widely used as an encapsulating material and offers great advantages over other materials because of its relatively low cost, neutral aroma and taste, low viscosity at high solids concentrations, and ability to provide good protection of the encapsulated essential oil against oxidation. Limitations to its use include a low emulsifying capacity and retention of volatile compounds; therefore, it is recommended for use together with other encapsulant materials (Fernandes et al., 2014).

Chitosan has low toxicity and high biocompatibility, biodegradability, bioactivity, and antibacterial properties. The chitin β -(1-4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose is a naturally occurring biopolymer found in the cell walls of fungi and the exoskeletons of invertebrates such as shrimp, crab, crayfish, and crabs (Muzzarelli, 1973; Desai and Park, 2005). The incorporation of essential oil in chitosan improves the action of its major constituent (Avila-Sosa et al., 2012; Dima et al., 2014). Hence, it has attracted much attention as a polymeric matrix for the controlled release of drugs and other ingredients (Jung et al., 2006).

Given the above considerations, the aim of this study was to evaluate the physical and physicochemical characteristics of thyme essential oil encapsulated

by spray drying due to the partial replacement of whey protein with maltodextrin and chitosan.

2. Materials and methods

The essential oil of thyme (*Thymus vulgaris* L.) (Ferquima Ind. e Com. Ltd, Vargem Grande Paulista, Brazil) was used as the material to be encapsulated. The whey protein isolate of 80% protein (Gemacom Tech, Juiz de Fora, Brazil), maltodextrin (DE 10 Maltogil, Gargil, São Paulo, Brazil), and chitosan (PM= 71.3 kDa, degree of deacetylation 85.9%) (Polymar Science and Nutrition, Fortaleza, Brazil) were used as wall materials

2.1. Experimental planning

Treatments were performed using a randomized experimental design with three replicates, as shown in Table 1. To evaluate the effects of four formulations on the features of encapsulated thyme essential oil powders, analysis of variance was performed using Statistica software (ver. 8 Stat Soft. Inc., Tulsa, OK, USA), and means were compared using the Tukey's test ($p < 0.05$).

Table 1. Experimental design for thyme essential oil microencapsulation.

Treatment	Encapsulant material (%)		
	WPI	M	C
WPI	30	-	-
WPIM	15	15	-
WPIM1C	14.5	14.5	1
WPIM2C	14	14	2

WPI - Whey protein isolate; M - Maltodextrin; C - Chitosan; WPIM - Whey protein isolate and maltodextrin; WPIM1C - Whey protein isolate, maltodextrin and 1% chitosan and WPIM2C - Whey protein isolate, maltodextrin and 2% chitosan.

2.2. Emulsion Preparation

A solution of the encapsulant materials was prepared by dissolving the materials for each treatment in distilled water one day before. The emulsion was maintained at room temperature for 12 h to ensure complete saturation of the polymer molecules. Chitosan dispersion was carried out by dissolving one and two g chitosan in 100 mL of 0.25 and 0.50% (v/v) acetic acid solution, respectively. The solution was then allowed to stand for 2 h for hydration of the polysaccharide. For complete dissolution, the solution was placed for 6 h under continuous stirring (1000 rpm) using a magnetic stirrer at room temperature (25 °C). The chitosan solution was vacuum-filtered to remove non-solubilized materials. Ten grams of the essential oil was added to the polymer solution while stirring at 3500 rpm for 10 min using a homogenizer (Ultra turrax IKA T18 basic, Wilmington, NC, USA). The viscosity measurements of the emulsions were made to verify rheological behavior. The emulsion was used as liquid feed in the spray drying process. For each treatment, around 400 mL of emulsion was prepared for the production of microparticles. The ratio of the

essential oil mass to the encapsulating material was maintained at 1:3 (m/m) (Jafari et al., 2008). The percentage of solids (encapsulant) used as a feed solution was 30% (m/m) for all treatments.

2.3. Microencapsulation by spray drying

The treatments were processed using a benchtop spray drying injection system (Labmaq brand, model MSD 1.0, Ribeirão Preto, Brazil) with a double fluid nozzle 3 mm in diameter on a drying chamber with dimensions 670 mm × 200 mm. The power supply for the dryer was supplied by a peristaltic pump with a spray air-flow of 40 L/min and air pressure of 4.0 bars. The drying temperature was adapted from the methodology proposed by Jafari et al. (2008), who used an inlet air temperature of 180 °C, outlet air temperature ranging from 78-96 °C, and a feed flow rate maintained at 0.80 L/h.

2.4. Emulsion viscosity

The rheological measurements of essential oil emulsion were assessed in triplicate and assayed at 25 °C using a rheometer with concentric cylinder (Brookfield DVIII Ultra, Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, USA). The treatments were subjected to an increasing ramp shear rate for 6 min that varied linearly from 3.3 to 61.2 s⁻¹, and 12 measurements were taken. The spindle SC4-34 (9.39 mm in diameter and 29.36 mm in length), and 23R/RP (19.05 mm in diameter and depth of 64.77 mm) were used. The shear stress values (τ) and strain rate ($\dot{\gamma}$), and the rheological parameters of the model Herschel-Bulkley (Equation 1), were calculated using Rheocalc software (version v.3.1, Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, USA).

$$\eta_a = K_H (\dot{\gamma})^{n_H-1} + \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}} \quad (1)$$

η_a : apparent viscosity (Pa.s); K_H : consistency index (Herschel-Bulkley); $\dot{\gamma}$: strain rate (s^{-1}); n_H : fluid behavior index (Herschel-Bulkley); τ_0 : initial shear stress (Pa.s).

2.5. Analytical methods

The humidity of the powders was determined gravimetrically in a vacuum oven at 70 °C. The analysis was done in triplicate using 5 g of the powder samples until constant weight was obtained, according to the method by AOAC (2006).

Hygroscopicity was measured based on the methodology proposed by Cai and Corke (2000). Two grams of the powder were used in petri dishes, which were placed in an airtight container containing saturated NaCl solution that provides 75.29% relative humidity at 25 °C. After one week, the samples were weighed, and hygroscopicity was expressed in grams of water per 100 g of dry solids.

Solubility was determined according to the method by Cano-Chauca et al. (2005). One gram of powder was added to 100 mL of distilled water, and the solution was homogenized. The solution was then transferred to a tube and centrifuged at 2.600 rpm for 5 min. An aliquot (25 mL) of the supernatant was transferred to a petri dish previously weighed and placed in an oven at 105 °C until it reached a constant weight. The amount of powder present in the supernatant was measured and regarded as the soluble portion of the powder.

Total oil was determined using the method by Jafari et al. (2007) with some modifications. Ten grams of the encapsulated powder was added to 250 mL of distilled water in a distillation flask. Hydrodistillation was then performed in a Clevenger apparatus for 3 h. The hydrolate was collected, and the essential

oil was purified using dichloromethane (3×25 mL), employing a liquid-liquid partition separating filter. The physiological functions of each replicate were assessed by pooling the fractions and drying with 2 g of anhydrous magnesium sulfate. The salt was removed by simple filtration and the solvent evaporated at room temperature under gas exhaust hood until it reached a constant weight, yielding the essential oil alone. Oil retention is defined as the ratio of total oil extracted in the initial oil feed in relation to the total solids and was calculated by equation 2.

$$\text{Oil retention (\%)} = \left(\frac{\text{total oil extracted (\%)}}{\text{initial oil (\%)}} \right) \quad (2)$$

The bulk density was determined by measuring the volume occupied by 2 g of the sample in a 50 mL graduated cylinder. The bulk density (ρ) was calculated using the ratio mass/volume (Jinapong et al., 2008). The tapped density was determined according to the methodology by Goula and Adamopoulos (2008). According to this, 20 g of powder were weighed and transferred to a 50 mL graduated cylinder. Samples were repeatedly hit manually by lifting up and dropping the cylinder at a height of 14 ± 2 cm, until a negligible difference in volume between successive measurements was observed. Mass (g) and volume (mL) were determined and used to calculate the tapped density (g/mL).

2.6. Size distribution of the microparticles

The particle size distribution was measured using a laser diffraction instrument (Mastersizer 2000, modelo Hydro 2000 UM, Malvern Instruments, Worcestershire, UK). The microparticles were dispersed by the equipment dispersion unit using a small powder sample using isopropanol. The solution

was stirred for 15 min, and five readings were obtained on the same sample over a 10 s interval. The particle size distribution was determined using the volume mean diameter of the microparticles ($D_{[4,3]}$), and scattering of the microparticles (span) was calculated according to Eq. (3) adapted from Jinapong et al. (2008).

$$Span = \left(\frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}} \right) \quad (3)$$

D_{10} , D_{50} , and D_{90} are the diameters equal to 10%, 50%, and 90% cumulative volume, respectively.

2.7. Analysis by Gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS)

For chemical analysis of thyme essential oil and other pure essential oils extracted from the microparticles were analyzed. Quantitative analysis of essential oils was conducted using the gas phase chromatographic equipment Agilent® 7890A coupled to a mass selective detector Agilent® MSD 5975C (Agilent Technologies, California, USA) operated by electronic impact ionization 70 eV, in scanning mode, at speed 1.0 scan/s, with mass acquisition interval 40–400 m/z. We used a fused silica capillary column HP-5MS (30 m length × 0.25 mm internal diameter × 0.25 μm film thickness) (California, USA). Helium was used as a carrier gas with flow 1.0 mL/min; the temperatures of the MS injector and transfer line were maintained at 230 °C. The analysis conditions were an initial oven temperature of 50 °C, followed by a temperature ramp of 4 °C/min till 140 °C and then a ramp of 10 °C/min until 240 °C. The injection was performed on the split mode at a 1:50 rate of injection. The concentrations of the constituents present in the fraction were expressed as a percentage of the total normalized ions chromatogram area, which indicates the relative percentage constituents of the sample. The components were identified

by comparing their retention rates relative to calculated retention rates in the literature (Adams, 2007) and by comparison to the mass spectra library database NIST/NHI (Nist, 2008; Adams, 2007). The retention index (IR) was calculated by the injection of the mixture of hydrocarbons C₈-C₂₀ (Sigma, EUA) and the application of equation Van Den Dool and Kratz (1963).

2.8. Antioxidant activity analysis

The compound 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazila (DPPH) was used as a substance to generate free radicals in order to determine the antioxidant activity of pure and encapsulated thyme essential oil using different encapsulating materials. The antioxidant activity test was adapted by Dima et al. (2014). We used 0.1 g of the essential oil sample was encapsulated with 10 mL of distilled water and homogenized until completely dissolved. The solution of this sample was pipetted 300 µL, and placed in a test tube, into which was 3.7 mL of the DPPH solution was added. The DPPH solution was prepared with 40 mL of 0.1 M acetate buffer (pH 5.5) with 60 mL in 80% methanol. The sample mixture was vigorously vortexed for 1 min and allowed to stand in the dark for 30 min. Readings were performed using the spectrophotometer Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Italy) at 517 nm. The percentage of antioxidant activity (% AA) for each concentration of the tested treatments was calculated according to equation 4.

$$\%AA = \left[1 - \left(\frac{ABS_{control} - ABS_{sample}}{ABS_{control}} \right) \right] \times 100 \quad (4)$$

ABS_{sample} refers to reading absorbance of DPPH solutions and extracts;

$ABS_{control}$ is the absorbance of the sample control.

2.9. Morphology

The morphology of the microparticles was evaluated by scanning electron microscopy (MEV). The powders were fixed on metal door species (*stubs*) with double-sided tape of 1 cm diameter coated with gold. The samples were examined using MEV 1430 VP-LE (Electron microscopy Ltd., Cambridge, UK), operated at 20 kv at a magnification of 900-1200x.

3. Results and Discussion

3.1. Emulsion viscosity of different encapsulating materials

Table 2 shows the rheological parameters of the emulsion using different polymeric materials, calculated by the model fit Herschel Bulkley using the consistency index data, behavior index, and coefficient of determination.

Table 2. Rheological parameters obtained by fitting the data to the model Herschel Bulkley, the temperature 25 °C.

Emulsions	Parameter			
	K (Pa.s)	n	R ²	E (%)
WPI	0.181±0,00 ^a	0.90±0,00 ^b	100.0	0.00
WPIM	0.023±0,01 ^d	1.11±0,02 ^a	98.7	0.05
WPIM1C	0.163±0,02 ^b	0.80±0.01 ^c	99.8	0.10
WPIM2C	0.158±0.01 ^c	0.74±0,01 ^d	99.8	0.09

^{a,b,c} Values with different letters in the same column differ ($p < 0.05$). by Tukey test at 5%. K: Consistency index; n: Behavior index; R²: Determination coefficient; E: mean relative error. WPI – Whey protein isolate; WPIM – Whey protein isolate and maltodextrin; WPIM1C – Whey protein isolate, maltodextrin and 1% chitosan and WPIM2C – Whey protein isolate, maltodextrin and 2% chitosan.

Emulsions of the polymeric materials showed significant differences ($p < 0.05$) between treatments. The results showed a good rheological adjustments

to data (Fig. 1) because the non-linear regression analysis for the treatments whey protein isolate (WPI), whey protein isolate, maltodextrin and 1% chitosan (WPIM1C), and whey protein isolate, maltodextrin and 2% chitosan (WPIM2C) demonstrated determination index (R^2) greater than 0.99. However, the whey protein isolate and maltodextrin (WPIM) treatment was influenced by the processing of the emulsion indicating a trend of Newtonian fluid behavior.

The suspension containing encapsulant WPIM showed the lowest angle of inclination as seen in Fig. 2 owing to the low viscosity (0.023 Pa.s).

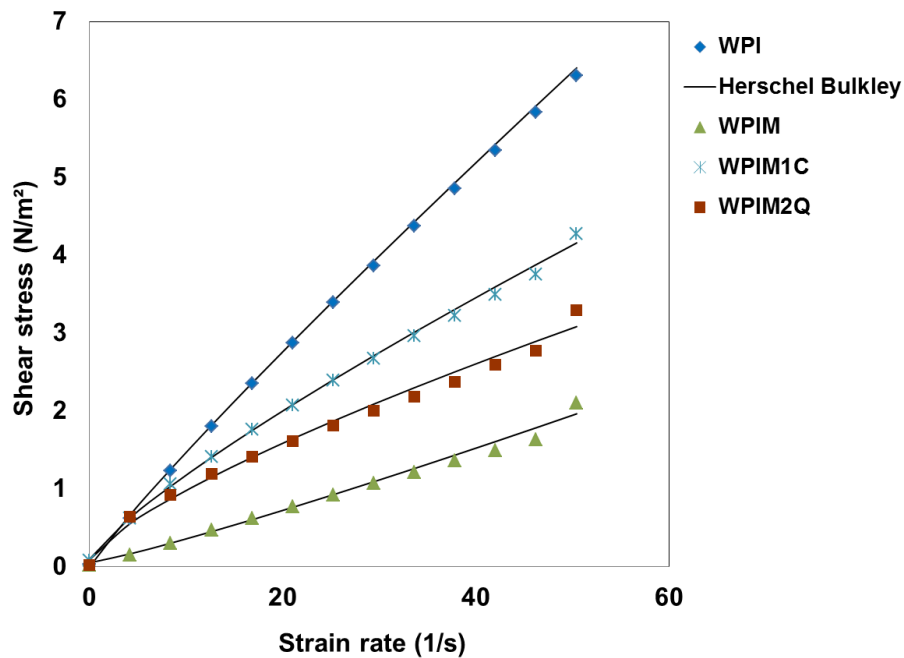


Fig. 1. Experimental design for thyme essential oil microencapsulation. WPI - Whey protein isolate; WPIM - Whey protein isolate and maltodextrin; WPIM1C - Whey protein isolate, maltodextrin, and 1% chitosan and WPIM2C - Whey protein isolate, maltodextrin, and 2% chitosan.

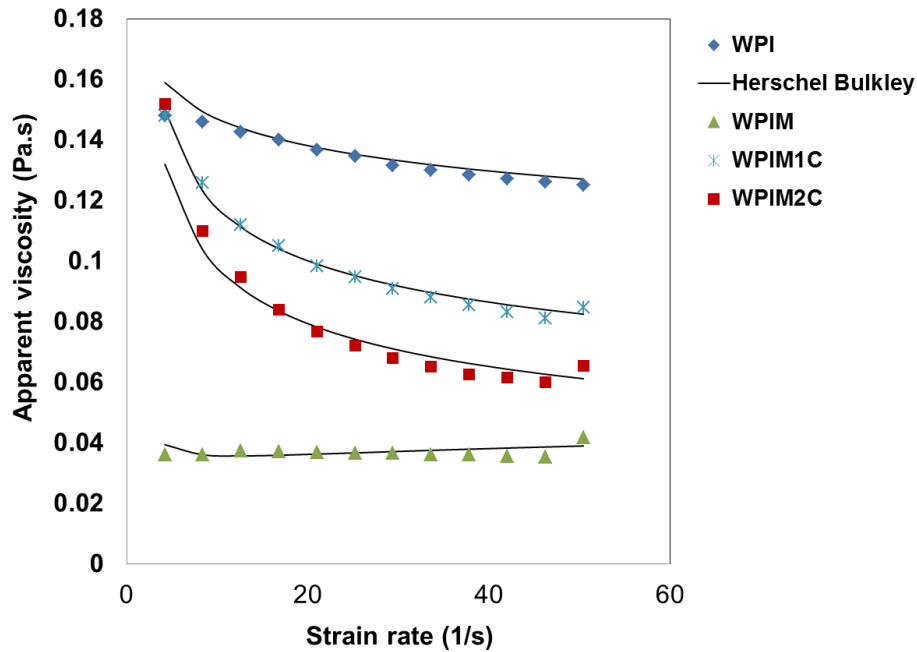


Fig. 2. Relationship between apparent viscosity and shear rate for emulsion of different polymeric materials. WPI - Whey protein isolate; WPIM - Whey protein isolate and maltodextrin; WPIM1C - Whey protein isolate, maltodextrin, and 1% chitosan and WPIM2C - Whey protein isolate, maltodextrin, and 2% chitosan.

According to Flourey, Desrumaux and Legrand, (2000), physical characteristics of emulsion can change when using homogenizer at high pressure, which may result in a change in viscosity. However, less viscous emulsions processed at a high-pressure homogenizer suffer less variation in viscosity compared with emulsions that are more viscous. The emulsions created by mixing chitosan in WPIM2C and WPIM1C treatments resulted in values ranging from 0.158 to 0.163 Pa.s, respectively. According to Qian and McClements (2011), viscous emulsions are usually more difficult to obtain with small diameter high-pressure homogenization, as the residence time in the equipment is very short and often is much less than the time required to deform

and break the dried drops. Therefore, it can be observed in the treatment with WPI that the viscosity was enhanced by processing the emulsion by homogenization. Flourey et al., (2002), observed an increase in the viscosity of emulsions in WPI using high-pressure homogenization, which may have assigned the increase of intermolecular interactions, resulting attraction between adjacent molecules denatured. According to Reineccius (1989) the viscosity limit to carry out atomization of a solution is close to 500.00 mPa.s. It is noted that for the formulations with 30% solids content, the viscosity value observed in the emulsion of the WPI treatment was smaller than 181.00 mPa.s.

3.2. Physical and physicochemical characteristics of the microparticles

It is noted that using different polymeric materials in thyme essential oil microencapsulation significantly affected ($p < 0.05$) the physical and physicochemical parameters analyzed (Table 3).

Moisture content is one of the most important parameters in food analysis. The moisture percentage of the microparticles showed a range of 1.32% to 2.06%. The lowest percentage was observed for encapsulated WPIM, which was not significantly different from WPI ($p > 0.05$). Jafari et al. (2007) obtained powders with moisture contents between 1.20% to 2.70% for D-limonene protein isolate microencapsulating matrices, modified starch, and maltodextrin.

Table 3. Means and standard deviations of the physical and physicochemical characteristic of thyme essential oil encapsulated with different polymeric materials.

Treatment	Moisture content (%)	Hygroscopicity (g/100 g)	Solubility (g/100 g)	Oil retention (%)	Bulk density (g.mL ⁻¹)	Tapped density (g.mL ⁻¹)	D _[4,3] (μm)	Span
WPI	1.82±0.06 ^{ab}	7.79±0.91 ^a	70.30±0.91 ^b	29.50±0.56 ^a	0.27±0.02 ^b	0.39±0.02 ^a	26.18±0.46 ^a	3.06±0.02 ^a
WPIM	1.32±0.38 ^a	9.24±0.63 ^a	68.62±0.80 ^b	28.62±0.54 ^a	0.20±0.01 ^c	0.33±0.02 ^b	20.97±0.16 ^c	2.81±0.16 ^a
WPIM1C	1.96±0.11 ^b	8.62±0.34 ^a	65.40±1.29 ^a	23.75±2.32 ^{ab}	0.33±0.02 ^a	0.38±0.01 ^a	24.51±0.46 ^b	2.24±0.00 ^a
WPIM2C	2.06±0.09 ^b	6.46±0.70 ^a	64.09±1.62 ^a	20.40±2.80 ^a	0.28±0.02 ^{ab}	0.35±0.01 ^{ab}	24.74±0.33 ^b	2.28±0.02 ^a

^{a,b,c}Values with different letters in the same column differ significantly ($p < 0.05$) by Tukey test at 5%. WPI – Whey protein isolate; WPIM – Whey protein isolate and maltodextrin; WPIM1C – Whey protein isolate, maltodextrin and 1% chitosan and WPIM2C – Whey protein isolate, maltodextrin and 2% chitosan.

The hygroscopicity is another important feature of the microparticles to be examined. It is related to the solubilization and formation of agglomerates. These formations increase humidity and hinder solubilization of the encapsulated material (Walstra et al., 2006; Fox and McSweeney, 1998; Fernandes et al., 2014). It was found that WPIM1C, WPI, and WPIM2C treatments resulted in the combination of polymeric materials with low hygroscopicity, however the difference was not statistically significant ($p>0.05$). This was because maltodextrin is a low hygroscopicity material and chitosan mixture is an alternative to its use as a carrier agent and reduces the hygroscopicity. It is desirable that the microparticles have low hygroscopicity, since the moisture gain can result in changes in flow properties due to its structure, the breakdown, and agglomeration. According to Cai and Corke (2000), further degradation of the encapsulated material can be related to the high hygroscopicity of the encapsulant.

The highest percentage oil retention occurred in WPI treatments and WPIM, although they showed no statistical differences compared to the treatment WPIM1C. Oil retention during the encapsulation has been related to the rate of formation of the semipermeable membrane of the microparticles during the drying process, which allows the diffusion of water loss or retainment of larger molecules with oil (Reineccius, Reineccius, & Peppard, 2004). The partial replacement of protein isolate by maltodextrin and chitosan mixture reduces volatility during drying because of the increased hydrophilic nature of the wall system, limiting the oil accessibility through diffusive processes and a reduction in time for the formation of crust with dried drops. On the other hand, the high content of isolated proteins improves the solidification rate (Yousefi et al., 2001).

The bulk densities and compacted powder product may result in improved storage for products with high density can take up less space and

require smaller containers. They have been submitted with the WPIM mixture powder microparticles with lower density. According to Cai and Corke (2000), low bulk density may be due to the presence of air within the microparticles. The addition of maltodextrin blends and chitosan microparticles resulted in lower packing density. This can be explained by the fact that the encapsulant material directly influences the distribution and size of the microparticles. According to Tonon et al. (2011), the lower the tapped density, the greater the amount of air present between the microparticles, which increases the possibility of oxidative degradation and reduces the stability during packaging.

The microparticles may have various diameters and may have various shapes, depending on the encapsulant materials and the methods by which they were obtained (Schroothen et al., 2001). The microparticles produced using different encapsulants have average diameters that reached values ranging from 20.97 to 26.18 μm , respectively. The application of the encapsulant materials in the chitosan treatments had no influence on the average size of the microparticles. Drusch and Berg (2008) found that the microparticles of larger size have less surface area and thus can encapsulate more oil, decreasing the oil content on the surface. According to Jafari et al. 2008, in some cases it is desirable to produce large microparticles to facilitate the hydration of the encapsulated material. Small microparticles tend to disperse very little, especially in cold water, forming lumps on the surface of the liquid. The microparticles were found to be homogeneous due to low spreadability values between 2.24 to 3.06 span. A stable suspension is one that has no noticeable changes in the distribution of the droplet size and in its state of aggregation at a time that should prevent the coalescence of drops after formation of dried microparticles (Jafari et al., 2008).

3.3. Analysis by GC/MS of the thyme essential oil extracted from the microparticles

Fig. 3 presents the results of chemical composition of the eight chemical constituents (area normalized > 2 %) of pure thyme essential oil extracted from microparticles.

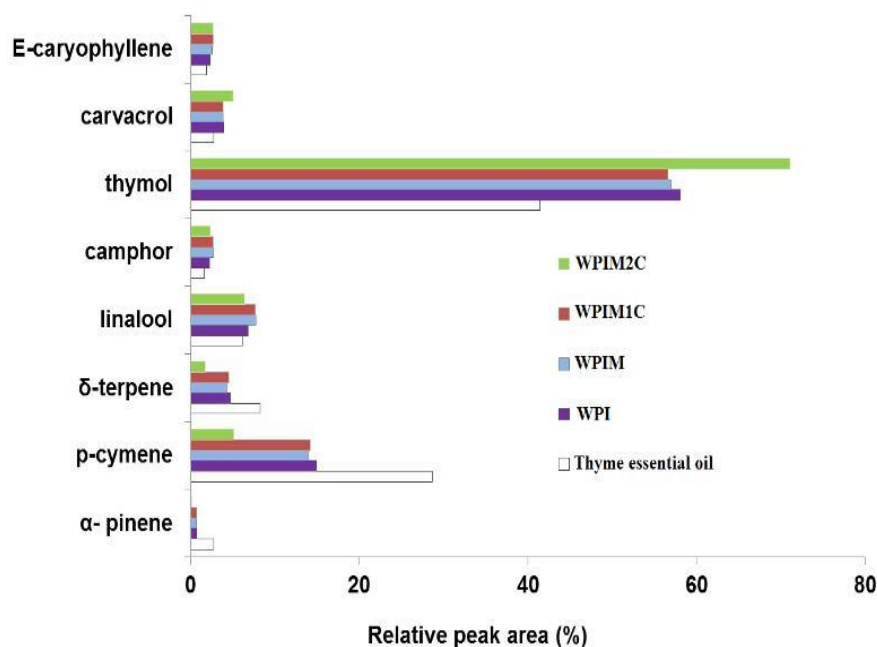


Fig. 3. Main chemical composition (normalized area > 2%) of pure essential oils of thyme and extracted microparticles. WPI – Whey protein isolate; WPIM – Whey protein isolate and maltodextrin; WPIM1C – Whey protein isolate, maltodextrin, and 1% chitosan and WPIM2C – Whey protein isolate, maltodextrin, and 2% chitosan.

In independent samples, thymol was characterized as the major constituent of thyme essential oil, with levels above 40% of the normalized area. The lower content of thymol was observed in pure essential oil (41.45%), which

higher in oils extracted from microparículas (56.66% to 71.10%). The highest thymol levels in oils extracted from the microparticles are characterized by the percentage increase in the relative distribution of the areas, due to the losses of the volatile constituents (α -pinene, p-cymene and δ -terpinene) present in thyme essential oil.

Note that the contents of these components in pure oil are significantly higher than in the oils extracted from the microparticles. The encapsulation of essential oils in a solid matrix provides protection against degradation and controls the release of the essential oil (Almeida et al., 2013). However, according to Bakry et al. (2016), the chemical composition of essential oils can be altered because of oxidation, chemical interactions, or volatilization. Thermal and oxidative degradation of essential oil *Origanum vulgare* L. (oregano) encapsulated by spray drying occurred because of the use of high temperatures during the process of spray drying (over 80 °C) and the presence of oxygen, since normally compressed air is used as drying gas (Almeida et al., 2013). During the process of atomization of thyme essential oil, a similar phenomenon may have occurred, leading to the loss of volatile thermolabile constituents.

Another hypothesis can be formulated based on the hydrophobicity of monoterpene hydrocarbons that would be more concentrated on the surface of the microparticles. According to Bertolini et al. (2001), volatile hydrophobic compounds from essential oils, which may be present on the surface of the microparticles, are less protected and hence, more susceptible to evaporation losses.

Moreover, linalool, camphor, carvacrol, thymol, and E-caryophyllene showed higher affinity to the wall materials studied than did pure oil polymer materials; all these constituents were protected by the encapsulating agents. Compared to WPIM1C treatment and other treatments, chitosan at a concentration of 2% (WPIM2C treatment) provided greater protection for

carvacrol and thymol. A simple change in chitosan concentration when used as an polymeric material showed greater preservation of these constituents, which may potentially contribute more effectively to its delayed release. Similar results were observed by Almeida et al. (2013) on the microencapsulation of oregano essential oil. The impregnated oil starch employing rapid depressurization (maximum 1.5 min) was richer in thymol (72%) and carvacrol (14%) compared to the pure oil (52.6% and 8.6%, respectively).

3.4. Antioxidant activity analysis of pure and encapsulated thyme essential oil

The antioxidant activities of the essential oil obtained from concentrations of pure and polymeric peas were found to differ with different encapsulant materials and were evaluated by the method of free radical sequestration DPPH as shown in Table 4.

Table 4. Antioxidant activity of different dilutions of pure thyme essential oil encapsulated with different polymeric materials.

Dilutions ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Treatment (%)				
	Thyme essential oil	WPI	WPIM	WPIM1C	WPIM2C
100	55.30 \pm 1.49 ^a	48.76 \pm 0.60 ^b	45.96 \pm 0.47 ^c	47.30 \pm 0.36 ^{cb}	47.76 \pm 0.85 ^b
500	49.40 \pm 0.26 ^a	42.46 \pm 1.40 ^c	42.53 \pm 0.25 ^c	45.46 \pm 0.49 ^b	45.90 \pm 0.51 ^b
1.000	37.86 \pm 0.30 ^b	40.43 \pm 0.35 ^a	40.16 \pm 0.25 ^a	32.10 \pm 0.34 ^d	34.10 \pm 1.12 ^c
2.000	26.73 \pm 1.15 ^c	32.33 \pm 0.25 ^b	39.33 \pm 0.73 ^a	25.93 \pm 0.75 ^c	25.30 \pm 0.55 ^c
3.000	24.40 \pm 1.04 ^b	24.36 \pm 0.45 ^b	31.93 \pm 0.75 ^a	19.20 \pm 0.26 ^c	17.63 \pm 0.66 ^d
4.000	11.06 \pm 0.66 ^d	14.90 \pm 0.30 ^b	27.83 \pm 0.35 ^a	15.13 \pm 0.20 ^b	13.23 \pm 0.35 ^c

^{a,b,c,d}Values with different letters in the same column differ significantly ($p < 0.05$) by Tukey test at 5%. WPI – Whey protein isolate; WPIM – Whey protein isolate and maltodextrin; WPIM1C – Whey protein isolate, maltodextrin and 1% chitosan and WPIM2C – Whey protein isolate, maltodextrin and 2% chitosan.

It is noted that different values for percentage antioxidant activity were found for pure versus encapsulated thyme essential oil. The results of this study were based on the capacity of the antioxidant substances on the reaction substrate, which is capable of reacting with the free radicals DPPH•. This method is based on the electron transfer of antioxidant compounds present in the treatments to the radical DPPH•, because in order to receive this electron color is reduced. The strength of antioxidant activity found in pure and encapsulated thyme essential oil is related to the presence of hydroxyl (-OH) groups that are capable of donating a hydrogen atom to prevent or stabilize free radicals (Dima et al., 2014). The thyme essential oil and its main compounds of antioxidant activity including thymol and carvacrol have hydroxyl group.

3.5. Morphology of the microparticles

The microparticulate powders produced using different polymeric materials have partially similar morphological characteristics. They generally had mostly spherical shapes and smooth surfaces with slight roughness. It is observed in Fig. 4A that treatment with WPI propitiated the formation of smoother surface of microparticles as compared to WPIM treatments (Fig. 4B), in which the predominance of rough surface is noted. A similar result was observed with the treatment of blends of chitosan (Fig. 4C and D), where microparticles with light ridges and hollows were obtained. These recesses or surface shrinkage is a characteristic feature of dehydrated products by spray drying (Bertolini et al., 2001). The shrinking of the surface occurs when the drying temperature is relatively low causing the surface layer to remain moist and flexible for longer and thus the microparticles do not expand in volume and shrivel when cooled (Trindade and Grosso, 2000). This characteristic was obtained by Fernandes et al. (2008) for the *Lippia sidoides* essential oil microencapsulation. Some holes can be noticed in some microparticles that probably occurred in the final stages of drying and may result from lower viscoelastic property of the encapsulant materials (Jafari et al., 2007).

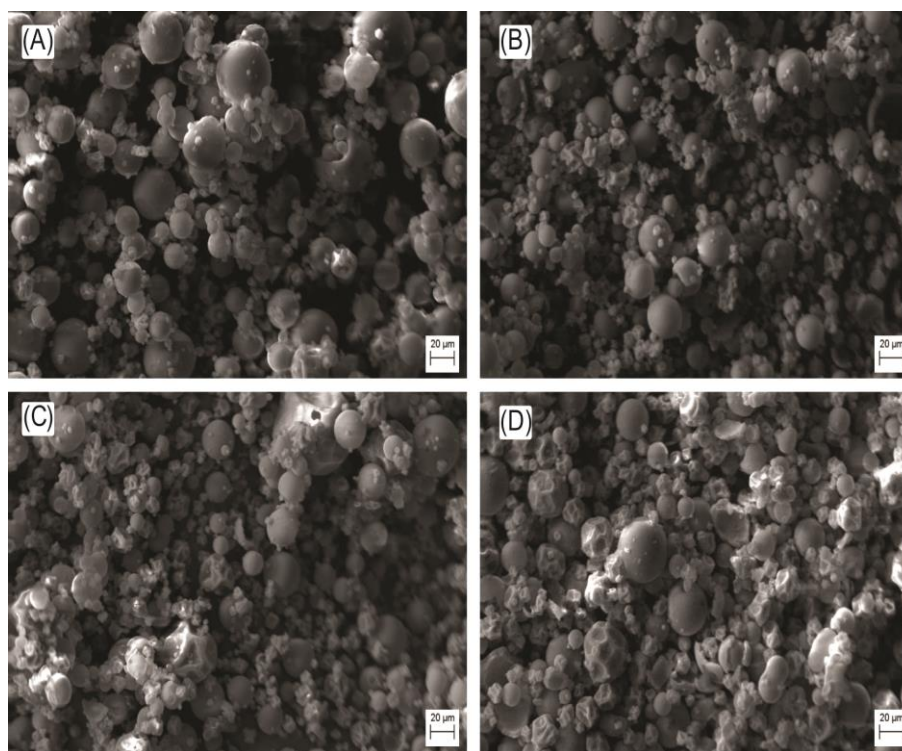


Fig. 4. Scanning electron micrographs of benzoic acid particulate matter produced with the following encapsulant WPI - Whey protein isolate; WPIM - Whey protein isolate and maltodextrin; WPIM1C - Whey protein isolate, maltodextrin, and 1% chitosan and WPIM2C - Whey protein isolate, maltodextrin, and 2% chitosan.

4. Conclusions

The choice of polymeric material is important for the microencapsulation process. Chitosan has been widely used in combination with other polysaccharides for various industrial applications. In general, the whey protein isolate mixed with maltodextrin showed promise and was feasible to use, since it produced low viscosity emulsion. Results showed that it is possible to produce microparticles with good physical characteristics, oil retention, volatile constituents, and antioxidants. The morphology of powders using single protein

isolate and maltodextrin resulted in relatively spherical microparticles, and for powders treated with chitosan microparticles showed slight grooves or recesses.

Referência

Adams, R. P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. London: Allured Pub. Corp. 804.

Almeida, A.P., Rodríguez-Rojo, S., Serra, A.T., Vila-Real, H., Simplicio, A.L., Delgadillo, I., Costa, S.B., Costa, L.B., Nogueira, I.D., Duarte, C.M.M., 2013. Microencapsulation of oregano essential oil in starch-based materials using supercritical fluid technology. *Inn. Food Sci. and Emerging. Technol.* 20, 140-145.

AOAC - Official Methods of Analysis., 2006. 18^o ed. Gaithersburg, Maryland: Association of Official Analytical Chemists.

Avila-Sosa, R., Palou, E., Juménez-Munguía, M.T., Nevárez-Moorillón, G.V., Navarro Cruz, A.R., López-Malo, A., 2012. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *Int. J. of Food Microb.* 153, 66-72, ISSN 0168-1605.

BAkry, A.M., Abbas, S., Ali, B., Majeed. H., Abouelwfa, M.Y., Mousa, A., Liang, L., 2016. Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *In. Food Sci. and Food Safety.* 15, 130-142.

Baranauskienė, R., 2006. Properties of oregano (*Origanum vulgare* L.), citronella (*Cymbopogon nardus* G.) and marjoram (*Majorana hortensis* L.) flavors encapsulated into milk protein-based matrices. *Food Res. Int. Mysore.*, 39, 413-425.

Bertolini, A.C., Siani, A.C., Grosso, C.R.F., 2001. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by *spray-drying*. *J. of Agric. and Food Chem.* 49, 780-785.

Cai, Y. Z., Corke, H., 2000. Production and properties of spray dried *Amaranthus betacyanin* pigments. *J. of Food Sci.* 65, 1248-1252.

Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M., Cal-Vidal, J., 2005. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. In. *Food Sci. Emerg. Technol.* 6, 420-428.

Dima, C., Cotârlet, M., Alexe, P., Dima, S., 2014. Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.* 22, 203-211.

Drusch, S., Berg, S., 2008. Extractable oil in microcapsules prepared by spray-drying: localization determination and impact on oxidative stability. *Food Chem.* 109, 17-24.

Fernandes, L.P., Turatti, I.C.C., Lopes, N.P., Ferreira, J.C., Candido, R.C., Oliveira, W.P., 2008. Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of *Lippia sidoides* essential Oil. *Drying Technol.* 26, 1534-1542.

Fernandes, R.V.B., Borges, S.V., Botrel, D.A., 2014. Gum Arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydr. Polym.* 101, 524-532.

Floury, J., Desrumaux, A., Lardieres, J., 2000. Effect of high pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Inn. Food Sci. and Emerg. Technol.* 1, 127-134.

Floury, J., Desrumaux, A., Legrand, J., 2002. Effect of ultra-high-pressure homogenization on structure and on rheological properties of soy protein-stabilized emulsions. *Food Eng. and Phys. Propert.* 67, 3388-3395.

Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., 1998. *Dairy chemistry and biochemistry*. London: Blackie Academic. 463.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R., 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.* 40, 1107-1121.

Goula, A.M., Adamopoulos, K.G., 2008. Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: I. Powder properties. *Drying Technol. New York.* 26, 726-737.

Jafari, S. M., He, Y., Bhandari, B., 2007. Encapsulation of nanoparticles of d-limonene by spray drying: role of emulsifiers and emulsifying techniques. *Drying Technol. New York.* 25, 1079-1089.

Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y., Bhandari, B., 2008. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technol.* New York. 26, 816-835.

Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P., 2008. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J. of Food Eng.* 84, 194-205.

Jung, B.O., Chung, S.J, Lee, S.B., 2006. Preparation and Characterization of Eugenol-Grafted Chitosan Hydrogels an their antioxidant activities, *J. of Appl. Polym. Sci.* 99, 3500-3506.

Kha, T.C., Nguyen, M.H., Roach, P.D., 2010. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *J. of Food Eng.* 98, 385 – 392.

Kocic-Tanackov, S., Dimic, G., Tanackov, I., Pejin, D., Mojovic, L., Pejin, J., 2012. The inhibitory effect of oregano extract on the growth of *Aspergillus* spp. and on sterigmatocystin biosynthesis. *LWT - Food Sci. and Technol.* 49, 14-20.

Li, X., Anton, N., Arpagaus, C., Belleiteix, F., Vandamme, T.F., 2010. Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano Spray Dryer B-90. *J. of Control. Release.* 147, 304-310.

Pisoschi, A.M., Pop, A., Serban, A.I., Fafaneata, C., 2014. Review Article: Electrochemical methods for ascorbic acid determination. *Electrochimica Acta.* 121, 443-460.

Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S., 2006. Flavour encapsulation and controlled release – a review. *Int. J. of Food Sci. and Technol.* 41, 1–21.

Muzzarelli, R.A.A., 1973. *Natural chelating polymers*, Pergamon Press, Oxford.

National Institute of Standardas and Technology., 2008. PC version the of the NIST/EPA/NIH mass spectral database: software Gaithersburg.

Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, F., Bugarski, B., 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Sci.* 1, 1806 – 1815.

- Parris, N., Cooke, P.H., Hicks, K.B., 2005. Encapsulation of Essential Oils in Zein Nanospherical Particles. *J. of Agr. and Food Chem.* 53, 4788-4792.
- Qian, C., McClements, D.J., 2011. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocoll.* 25, 1000-1008.
- Quispe-Condori, S., Saldaña, M.D.A., Temelli, F., 2011. Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. *LWT - Food Sci. and Technol.* 44, 1880-1887.
- Reineccius, T.A., Reineccius, G.A., Peppard, T.L., 2004. Utilization of β -Cyclodextrin for improved flavor retention in thermally processed foods. *J. Food Sci. Chicago.* 69, FCT58-FCT62.
- Reineccius, G.A., 1989. Flavor encapsulation. *Food Review Int.* 5, 146-176.
- Schrooyen, P.M.M., Meer, R.V.D., Kruif, C.G., 2001. Microencapsulation: its application in nutrition, *Proceedings of the Nutrition Society.* 60, 475-479.
- Severino, P., Santana, M.H.A., Pinho, S. C., Souto, E.B., 2011. Polímeros Sintéticos Biodegradáveis: Matérias-primas e Métodos de Produção de Micropartículas para uso em Drug Delivery e Liberação Controlada. *Polímeros.* 21, 286-292.
- Tonon, R.V., Grosso, C.R.F., Hubinger, M.D., 2011. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Res. Int.* 44, 282-289.
- Trindade, M.A., Grosso, C.R.F., 2000. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. *J. of Microencaps.* 17, 169-176.
- Van Den Dool, H., Kratz, P.D.J.A., 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. of Chromatogr.* 11, 463-471.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M., Geurts, T.J., 2006. *Dairy science and technology.* Boca raton: CRC Press, 2 ed. 808p.

Yoshii, H., Soottitantawat, A., Liu, X.D., Atarashi, T., Furuta, T., Aishima, S., Ohgawara, M., Linko, P., 2011. Flavor release from *spray-dried* maltodextrina/gum arabic or soy matrices as a function of storage relative humidity, *Inn. Food Sci. & Emerging Technol.* 2, 55-61.

Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, S.M., 2011. Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica Granatum* L.). *J. of Food Sci. and Technol., Mysore.* 48, 677-684.