



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**

**WILLIARA QUEIROZ DE OLIVEIRA**

**ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CAFÉ VERDE RICO EM CAFESTOL E CAVEOL**  
**POR COACERVAÇÃO COMPLEXA E APLICAÇÃO EM SUCO DE TAMARINDO**  
**(*Tamarindus indica* L.)**

**FORTALEZA**

**2019**

WILLIARA QUEIROZ DE OLIVEIRA

ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CAFÉ VERDE RICO EM CAFESTOL E CAVEOL  
POR COACERVAÇÃO COMPLEXA E APLICAÇÃO EM SUCO DE TAMARINDO  
(*Tamarindus indica* L).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Microencapsulação para alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.

Co-orientadora: Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- O52e Oliveira, Williana Queiroz de.  
Encapsulação de óleo de café verde rico em cafestol e caveol por coacervação complexa e aplicação em suco de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) / Williana Queiroz de Oliveira. – 2019.  
101 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2019.  
Orientação: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.  
Coorientação: Prof. Dr. Maria do Socorro Rocha Bastos.
1. composto bioativo, goma de cajueiro, liberação gastrointestinal simulada, Rancimat. I.  
Título.

---

CDD 664

WILLIARA QUEIROZ DE OLIVEIRA

ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CAFÉ VERDE RICO EM CAFESTOL E CAVEOL  
POR COACERVAÇÃO COMPLEXA E APLICAÇÃO EM SUCO DE TAMARINDO  
(*Tamarindus indica* L).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Microencapsulação para alimentos.

Aprovada em 29/03/2019

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos (Coorientadora)  
Embrapa Agroindústria Tropical (Embrapa)

---

Prof.a Dra. Alessandra Lopes de Oliveira  
Universidade de São Paulo (USP)

---

Dra. Talita Aline Comunian  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

---

Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa  
Universidade de Federal do Ceará (UFC)

A Deus,  
Aos meus pais, João e Lourdes,  
Aos meus irmãos, Tom, William, Williana.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que em “Seu divino poder dá-me sempre todas as coisas de que necessito para a vida e para a piedade (...), para Sua própria glória e virtude” (2 Pedro 1:3). Em todos os momentos do mestrado percebi Sua mão me conduzindo à luz (conhecimento) e me motivando a fazer tudo com vivacidade, intensidade, gratidão e amor. “Não a nós, Senhor, nenhuma glória para nós, mas sim ao Teu nome, por Teu amor e por Tua fidelidade!” (Salmo 115.1). Louvo também por Ele ser minha fonte de inspiração, motivação, confiança, sabedoria e paz.

Aos meus honrados pais, João e Lourdes. De fato, seria impossível chegar até aqui sem o apoio e a abnegação de vocês. Eu tenho muito orgulho de quem vocês são e do que representam na minha história e identidade. Obrigada pelo suporte em todas as dificuldades que passamos juntos. Mãe, obrigada por dá o exemplo de leitora voraz das Sagradas Escrituras. Foi por essa leitura que aprendi a amar todas as outras; foi a partir daquela Sabedoria que meu coração aqueceu pelo bem ao mundo, pela resignificação das coisas criadas, levando-me a descobrir que há um propósito maravilhoso e divino por trás da tecnologia e da ciência. Pai, obrigada por sua proteção e por trabalhar incansavelmente para que eu tivesse condições de estudar. Obrigada por seu sustento amoroso! Que Deus cumpra em mim todas as palavras bondosas que você profere sobre o meu futuro.

Aos meus queridos irmãos. William, você é um grande irmão, seguramente, um segundo pai. Obrigada por sua generosidade comigo e também por me mostrar que é possível - com trabalho duro, contínuo e aplicado - ser um excelente profissional. Você é minha referência! Williana, você tem sido uma irmã fiel e cuidadosa. Obrigada por ser, depois da minha mãe, a pessoa em que sempre posso contar, isso é acalentador! Obrigada por sempre se prontificar e por me ensinar que auxiliar é melhor que competir. Tom, meu irmão mais velho, até hoje me lembro com carinho das suas palavras quando era menina. Você colocou seu sonho (de ter uma formação superior) no meu coração. Chegamos mais longe - Deus tem sido bom - e quero compartilhar essa conquista do mestrado também com você!

Ao meu orientador, professor Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo. Sinto-me honrada ter sido orientada por alguém que, com primoroso trabalho, contribuiu e continua a acrescentar para o avanço da área de alimentos, com devido

reconhecimento no Nordeste e no Brasil. A você, professor Wilane, meu respeito e estima!

À minha querida coorientadora, Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos, por ter confiado no meu trabalho desde 2014, pelas portas abertas na Embrapa, pela paciência nos momentos difíceis e imensa ajuda. Obrigada por fazer parte da minha vida profissional e torná-la melhor; ensinando-me com palavra e exemplo sobre disciplina, organização, compromisso, objetividade, foco e eficiência. No meu coração há imensa gratidão a Deus por você, Dra. Socorro, obrigada por tudo!

Ao Dr. Nédio Jair Wurlitzer, por sua imensa ajuda e preocupação com o andamento deste trabalho. Obrigada por suas importantes contribuições e questionamentos construtivos. As nossas reuniões fizeram-me pensar mais profundamente sobre este trabalho. Sou grata por sua paciência e toda contribuição!

À professora Dra. Alessandra Lopes de Oliveira, que mesmo sem me conhecer, aceitou de pronto participar do nosso projeto, sem nenhuma garantia. Louvo a Deus por sua credulidade comigo e por sua disposição em ajudar sempre que precisei. Na época que fechamos parceria, seu “sim” fez toda diferença e foi incrivelmente encorajador! Nunca esquecerei disso, professora Alê, muito obrigada!

À Dra. Talita Aline Comunian (contato sensacional feito pela professora Alessandra), pessoa que já respeitava e admirava por seu relevante trabalho na área de coacervação complexa e que tive a grata surpresa de perceber que seu respeitado nome está em consonância com a pessoa incrível que é! Talita, sinto-me honrada de ter suas contribuições e participação neste trabalho. Obrigada por ouvir gentilmente minhas dúvidas (mesmo que fossem em um domingo à noite) e responder todas elas. Você foi um referencial muito positivo para mim e para construção deste trabalho.

Às pesquisadoras Dra. Roselayne Furtado e Dra. Selene Daiha Benevides, que foram solícitas, pacientes e contribuíram com sugestões proveitosas. A vocês expressei minha enorme gratidão e carinho!

Ao Hilton César Rodrigues Magalhães, que se dedicou e tornou possível todas as análises de cromatografia gasosa. Obrigada, Hilton!

Ao Laboratório de Embalagens de Alimentos (EMBRAPA), lugar no qual coloquei em prática muitos dos conhecimentos teóricos aprendidos e que me proporcionou suporte estrutural para o desenvolvimento das principais etapas deste projeto. Ressalto, também, que esse foi um ambiente seguro e aconchegante, que me deu bons colegas, boas conversas e momentos alegres. Não posso deixar de citar e

agradecer a todos os meus queridos companheiros, que vivenciaram de perto essa importante fase comigo. Willian (brilhante professor “Williams”, que tem minha profunda admiração e gratidão!) e Karoline (Karolzinha). A ajuda de ambos foi excepcional! Grata por Nadya (cadê meu cheirinho? – Sophia), Andrêssa (notável referência), Marília (do Pompom), Leônia (amada Leozinha), Joana (Marena sorrisos), Tiago (lord Titi), Roniele (garota gentileza), Aires (nossa grande *teacher*), Lorena (dedicação em pessoa), Airlania (dona dos caracóis extrusados), Maryana (fala mansinho), a Luana Carvalho (pelas longas ligações e ajuda), a Talitinha (do Bonrilho) a professora Lívia Xerez (eterna “embrapete”, sempre com melhores conselhos!) e por todos aqueles que convivi aqui durante esses quatro anos. Obrigada!

Ao Laboratório de Processos Agroindustriais (EMBRAPA), expresso minha gratidão a Cláudia Oliveira Pinto, ao Arthur e ao Gabriel Bonfim Garcia Oliveira.

Ao Laboratório de Tecnologia da Biomassa (EMBRAPA), em especial ao professor Men de Sá Moreira de Souza Filho por suas palavras gentis, pelas brincadeiras (que tornavam aqueles dias mais leve), pela solicitude e grande auxílio. Agradeço também a ajuda incrível do Hálisson Lucas Ribeiro e do Adriano Lincoln Albuquerque de Mattos.

Ao Laboratório de Patologia Pós-Colheita (EMBRAPA), meus agradecimentos à Dra. Andreia Hansen Oster Andreia, ao Antônio Ageu Cardoso de Araújo e a Natália Moura de Vasconcelos Beleza (melhor técnica – foram muitas risadas!).

Ao Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (EMBRAPA), em especial ao professor Dr. Guilherme Julião Zocolo. Obrigada por toda atenção e pelo suporte (livro, material impresso, conversas, etc...) para que as análises de quantificação no CG acontecessem da melhor forma possível.

Ao Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita (EMBRAPA), especificamente à Marcia Regia Souza da Silveira, obrigada!

Ao Laboratório de Frutos e Hortaliças (UFC), em especial ao professor Paulo Henrique Machado de Sousa, por sua grande ajuda para a realização da análise sensorial e ao técnico Fernando Lima.

Ao Dr. Fernando Aragão, ao Gabriel Mendes e a Aurenice Mota, que me ajudaram com a estatística da segunda parte deste trabalho! Muito obrigada! Vocês foram incríveis!



Ao Laboratório de Referência em Biocombustíveis (NUTEC), especialmente ao Dr. Jakson de Queiroz Malveira, por sua atenção, preocupação e ajuda, nos permitindo o uso no Rancimat.

Ao Laboratório de Tecnologia de Alta Pressão e Produtos Naturais (USP/FZEA), coordenado pela professora Alessandra, pelo fornecimento do óleo de café verde e a Lia Blanco pela extração.

À Universidade Federal do Ceará, instituição que desde a graduação tem sido minha segunda casa, lugar que tenho orgulho e amor!

Ao Departamento de Engenharia de Alimentos, aos docentes queridos pelo precioso conhecimento transferido e aos funcionários/colaboradores (Sr. Luiz – *in memoriam*, Pereira, Paulo, Helena, Juninho, Adail, Lourdes e Luciano).

À Embrapa Agroindústria Tropical pela disponibilização da excelente estrutura no desenvolvimento deste trabalho. Sinto-me orgulhosa e honrada de ter pesquisado com o suporte da maior empresa de pesquisa e tecnologia agropecuária brasileira. Obrigada!

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado (Processo 131605/2018-6; Projeto 832420/1999-9).

Às minhas queridas amigas, Jéssica Campelo, Maiara Sena, Rebeca Nogueira, Geanne Queiroz, Laísa Praciano, Rebeca Kramer, Juliana Kramer, Juliana Queiroz e aos amigos Tiago Madeira, Daniel Medeiros, Jael Sales e José Evaldo. Nossas vivências no período do mestrado foi terapia. Gratidão pela profunda empatia, por cada palavra verdadeira, gentil e de encorajamento. Obrigada também por toda preocupação, oração e compreensão mesmo com minha falta de tempo (praticamente sumi e vocês “correram atrás” – que delícia de comunhão!).

Ao ministério de missões urbanas GAP, que me possibilitou conhecer pessoas extraordinárias e dos mais diversos contextos. Com vocês gapeiros, aprendi a ser melhor cristã, cidadã e estudante. Vivendo o Reino de Cristo, construímos um mundo melhor!

A minha amada Igreja Batista Filadélfia, em especial ao pastor Luiz Correia e a Gláucia Maria, sua esposa pelo carinho e atenção constantes. Obrigada pelos sermões inteligentes que me desafiavam a ser alguém melhor e por tantos outros que enchiam meu coração de esperança em Deus durante esse “período de tensão”. Querida Gláucia, obrigada por todo carinho e atenção.

A todos não citados aqui, mas lembrados no coração, que contribuíram direta e indiretamente para minha formação até aqui: MUITO OBRIGADA!

“Grandes são as obras do SENHOR,  
Dignas de estudo para quem as ama”  
(Salmos 111.2).

“Façam tudo para a glória de Deus”  
(1 Coríntios 10:31).

## RESUMO

O óleo de café verde (OCV), rico em cafestol e caveol, apresenta efeitos funcionais relacionados a ação antiproliferativa de células cancerígenas, capacidade anti-inflamatória e antidiabéticas. Contudo, desafios precisam ser superados para aplicação direta deste óleo na matriz alimentar; isso porque seus compostos bioativos apresentam-se instáveis, principalmente os diterpenos. A coacervação complexa é uma tecnologia de encapsulação reproduzível e não onerosa, que se propõe a superar os desafios tecnológicos da incorporação de óleos, permitindo sua aplicação com maior estabilidade. O objetivo deste trabalho foi projetar e caracterizar microcápsulas de OCV, rico em cafestol e caveol, utilizando-as como ingrediente em suco de tamarindo; investigar os efeitos na qualidade físico-química, reológica e sensorial da bebida; além de quantificar a liberação gastrointestinal *in vitro* e verificar a resistência da melhor microcápsula selecionada aos estresses de agitação, temperatura e pH. Dentre seis formulações, as microcápsulas de T6, com parede de gelatina e goma do cajueiro (GE/GC), mostraram melhor combinação biopolimérica para aplicação em suco, melhor capacidade dispersiva além de resistir à temperatura de 100°C/30seg, acima das usadas na pasteurização. Quando se variou a quantidade de OCV, T625 (selecionada como melhor partícula para a aplicação em suco) exibiu microcápsulas ( $14,56 \pm 6,36 \mu\text{m}$ ) capazes de preservar melhor o óleo encapsulado, com boa eficiência de encapsulação ( $85,57 \pm 1,41\%$ ) e proteção à oxidação doze vezes maior que o OCV não encapsulado. Não houve detecção de cafestol liberado pelas microcápsulas quando foram submetidas a diferentes valores de pH (2,5-6,5) nem quando foram aplicadas em suco durante o armazenamento (30 dias). Com boa qualidade sensorial, o suco com T625 apresentou pH entre  $3,20 \pm 0,01$  a  $3,67 \pm 0,01$ , sólidos solúveis totais (SST) de  $7,13 \pm 0,15$  a  $8,07 \pm 0,21$  °Brix e acidez total titulável (ATT) de  $1,08 \pm 0,07$  a  $0,67 \pm 0,20\%$ . A viscosidade da bebida foi de  $11,7 \pm 8,4$  a  $15,2 \pm 2,6$  (mPa.s), sem diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre controle (Ts1), suco com óleo livre (Ts2) e suco com microcápsulas de OCV (Ts3), não comprometendo a qualidade do produto final. Este estudo mostrou que a encapsulação de óleo de café verde por coacervação complexa foi possível, além de promover a produção de suco rico em cafestol e caveol, sem alteração de suas propriedades físico-químicas, reológicas e sensoriais quando comparado ao suco de tamarindo convencional;

fornecendo, assim, uma ampla perspectiva sobre aplicação de microcápsulas de OCV para incorporação em alimentos de base hidrofílica.

**Palavras-chave:** Composto bioativo. Goma de cajueiro. Liberação gastrointestinal simulada. Rancimat.

## ABSTRACT

Green coffee oil (GCO), rich in cafestol and caveol, has functional effects related to the antiproliferative action of cancer cells, anti-inflammatory capacity and antidiabetics. However, challenges need to be overcome for direct application of this oil in the food matrix; matrix due to the instability of its bioactive compounds, specially diterpenes. Complex coacervation is a reproducible and non-costly encapsulation technology, which proposes to overcome the technological challenges of the incorporation of oils, allowing its application with greater stability. The objective of this work was to design and characterize GCO microcapsules, rich in cafestol and caveol, using them as an ingredient in tamarind juice, investigate the effects on the physical-chemical, rheological and sensorial quality of the beverage, in addition to quantifying the gastrointestinal release in vitro and checking the resistance of best microcapsule selected to stress (agitation, T, pH). Among six formulations, the T6 microcapsules, gelatin and cashew gum walls (GE / GC), showed a better biopolymer combination for application in juice, better dispersive capacity and resisting to temperature of 100 °C/30s, higher than those used in pasteurization. When the amount of GCO was varied, T625 (sectioned as the best particle for application in juice) exhibited microcapsules ( $14.56 \pm 6.36 \mu\text{m}$ ) capable of better preservation of the encapsulated oil, with good encapsulation efficiency ( $85.57 \pm 1.41\%$ ) and twelve-fold oxidation protection higher than nonencapsulated GCO. There was no detection of cafestol released by the microcapsules when they were submitted to different pH values (2.5-6.5) or when they were applied in juice during storage (30 days). With good sensory quality, the juice with T625 presented pH between  $3.20 \pm 0.01$  to  $3.67 \pm 0.01$ , total soluble solids (TSS) of  $7.13 \pm 0.15$  to  $8.07 \pm 0.21$  ° Brix and total titratable acidity (TTA) of  $1.08 \pm 0.07$  to  $0.67 \pm 0.20\%$ . The viscosity of the beverage was  $11.7 \pm 8.4$  at  $15.2 \pm 2.6$  (mPa.s), without significant differences ( $p < 0.05$ ) among control (Tj1), juice and free oil (Tj2) and juice with GCO microcapsules (Tj3), without compromising the quality of the final product. This study showed that encapsulation of green coffee oil by complex coacervation was possible, in addition to promoting the production of coffee-rich and caveol rich juice, without altering its physical-chemical, rheological and sensorial properties when compared to conventional tamarind juice; thereby providing a broad perspective on the application of GCO microcapsules for incorporation into food products of hydrophilic matrix.

**Keywords:** Bioactive compound. Cashew gum. Rancimat. Simulated gastrointestinal release.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Diferentes tipos de microcápsulas: (i) microcápsula simples, (ii) microesferas, (iii) microcápsula irregular, (iv) microcápsula multinucleada, (v) microcápsula multiparede e (vi) montagem de microcápsulas .....	27
Figura 2 – Técnicas mais usadas para a encapsulação de componentes bioativos e probióticos entre 2018-2019 .....	29
Figura 3 – Materiais com qualidade alimentar adequada para encapsulação de compostos bioativos .....	34
Figura 4 – Fragmento estrutural de goma de cajueiro, onde o “R” representa D-manose, L-rhamnose, L-arabinose ou 1,2-ligados cadeiras de arabinose .....	36
Figura 5 – Estrutura da gelatina .....	39
Figura 6 – Representação esquemática da baga verde percentual de composição .....	40
Figura 7 – Estrutura química do cafestol (1) e caveol (2) .....	41
Figura 8 – Esquema geral dos estresses (dispersividade ou ressuspensão, temperatura, pH, armazenamento, digestão gastrointestinal simulada) sofridos pela microcápsula de OCV. Identificação e/ou quantificação por microscopia óptica ou GC-MS .....	48
Figura 9 – Esquema de preparação das amostras para identificação e/ou quantificação do cafestol liberado pelas microcápsulas, segundo a metodologia de De Oliveira et al. (2014) .....	49
Figura 10 – Esquema do teste de Rancimat .....	52
Figura 11 – Preparo das formulações Ts1 (suco de tamarindo sem adição de compostos bioativos), Ts2 (suco de tamarindo adicionado de óleo de café verde livre rico em cafestol e caveol) e Ts3 (suco de tamarindo contendo microcápsulas) .....	54



Figura 12 – T1, T2, T3, T4, T5 e T6 são, respectivamente, as emulsões GE/GA (pH=3,5), GE/GC (pH=3,5), GE/GA (pH=4,0), GE/GC (pH=4,0), GE/GA (pH=4,5), GE/GC (pH=4,5) .....	60
Figura 13 – I, II, III são, respectivamente, vista vertical logo após a correção de pH= 4,5, vista vertical e horizontal logo após overnight da solução T1, com 25% (p/p) de OCV .....	61
Figura 14 – Microscopia óptica de T1, T2, T4 e T6 com aumento de 10x e escala de 100 µm. A seta vermelha indica óleo de café verde encapsulado e branca indica óleo não encapsulado .....	63
Figura 15 – Microscopia óptica de T625, T650 e T675 com aumento de 10x e escala de 100 µm. Microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas secas de óleo de café verde (T625) obtidas por coacervação complexa, com aumento de (a) 154 x (b) 500 x (c) 12000 x .....	64
Figura 16 – Microcápsula T625 (a) liofilizada, (b) Microscopia de varredura eletrônica com aumento de 1000x, (c) Microscopia óptica, aumento de 10x e escala de 100 µm .....	65
Figura 17 – Microcápsulas úmidas dispersas em 0 (A), 15 (B), 30 (C), 60 (D), 120 (E) e 180 (F) min, com concentração de 2% (m/v) em água acidificada (pH=3,5). T1, T2, T4 e T6 são, respectivamente, GE/GA (pH=3,5), GE/GC (pH=3,5), GE/GC (pH=4,0), GE/GC (pH=4,5) .....	68
Figura 18 – Microscopia óptica dos tratamentos T2 e T6 feitos com GE/GA (pH=3,5) e GE/GA (pH=4,5), respectivamente, dispersos em água (pH=3,5) nos tempos 0, 15, 30, 60, 120 e 180 min .....	69
Figura 19 – Liberação de cafestol pelas microcápsulas T6, quando submetidas às temperaturas de 40°C/30s (b), 60°C/30s (c), 80°C/30s (d), 100°C/30s (e) e 100°C/60s (f). Detecção por GC-MS e análise óptica, com aumento de 10x e escala de 100 µm .....	70
Figura 20 – Liberação de cafestol pelas microcápsulas T625, quando submetidas ao pH 2,5 (b), 3,5 (c), 4,5 (d), 5,5 (e) e 6,5 (f). Detecção	

por GC-MS e análise óptica, com aumento de 40x e escala de 20 $\mu\text{m}$ .....	74
Figura 21 – Tempo de indução das amostras de óleo de café verde não encapsulado (linha verde). Linhas vermelha e marrom mostram o tempo de indução de microcápsulas com e sem óleo de café verde, respectivamente .....	75
Figura 22 – 1) Cromatogramas com pico de cafestol liberado em 0 (b), 30 (c), 60 (d), 120 (e) e 180 (f) min após digestão gastrointestinal (in vitro). Em (a) tem-se o pico do padrão de cafestol. 2) Quantidade em (g/mL) de cafestol liberado durante 180 min .....	77
Figura 23 – Microscopia óptica de Ts1 (suco de tamarindo sem adição de compostos bioativos), Ts2 (suco de tamarindo adicionado óleo de café verde livre rico em cafestol e caveol) e Ts3 (suco de tamarindo contendo microcápsulas T625). Setas vermelhas indicam OCV encapsulado e brancas OCV livre. Micrografias com aumento de 10x e escala de 100 $\mu\text{m}$ .....	78
Figura 24 – Gráfico do pH (a), acidez total titulável – ATT, (b) sólidos solúveis totais - SST (c) e (d) tabela de valor médio de pH, sólidos solúveis (SS (Brix <sup>o</sup> )), acidez titulável (TA) durante 30 dias de armazenamento (5°C) das amostras Ts1, Ts2 e Ts3 .....	80
Figura 25 – (a) Fotos do suco de tamarindo e (b) tabela de valor médio de L*, a*, b* das amostras de (a) Ts1, Ts2 e Ts3. (a) e (b) foram avaliados durante 30 dias de armazenamento (5°C) .....	82
Figura 26 – a) Efeito do tempo de viscosidade aparente (mPa.s) na função de cisalhamento (s-1), para os tratamentos de suco de tamarindo Ts1 (a), Ts2 (b) e Ts3 (c), nos tempos de armazenamento 0 (preto), 7 (vermelho) 15 (azul), 21 (verde escuro) e 30 (verde claro) dias de armazenamento. b) tabela da viscosidade aparente (mPa.s) durante 30 dias .....	85
Figura 27 – Detecção por GC de cafestol liberado por microcápsulas aplicadas em suco durante 0 (b), 7 (c), 15 (d), 21 (e) e 30 (f) dias de	

armazenamento (5°C). Em “a” tem-se o cromatograma do padrão de cafestol ..... 86

Figura 28 – (a) Análise dos descritores sensoriais de listagem livre para sucos de tamarindo Ts1, Ts2 e Ts3, distribuídos em duas dimensões (CATA). (b) Pontuações de impressão geral, consistência, sabor e cor (diferentes letras maiúsculas diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey). (c) Quantificação da intensidade dos descritores (RATA) ..... 88

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Métodos utilizados para encapsulação de tamanhos das cápsulas .....	28
Tabela 2 – Estudos recentes, pesquisados na Science Direct, classificados por data e relevância, sobre coacervação complexa para possíveis aplicações em alimentos .....	32
Tabela 3 – Alguns componentes bioativos lipofílicos que já foram encapsulados e suas respectivas alegações funcionais .....	33
Tabela 4 – Estudos classificados por relevância e pesquisados na Science Direct, sobre algumas funcionalidades do cafestol e caveol .....	42
Tabela 5 – valores de potencial zeta de gelatina (GE), goma arábica (GA) e goma de cajueiro (GC), dispersadas separadamente (1%) e variando-se o pH em 3,5; 4,0 e 4,5 .....	59
Tabela 6 – Valor de potencial zeta das emulsões T1, T2, T3, T4, T5 e T6, precipitadas em diferentes valores de pH (3,5; 4,0 e 4,5) .....	62
Tabela 7 – Tamanho médio de partícula ( $\mu\text{m}$ ) de T1, T2, T4 e T6 usando como material de parede GE/GA (pH=3,5), GE/GC (pH=3,5), GE/GC (pH=4,0) e GE/GC (pH=4,5), respectivamente, e OCV 25,6% (p/p) constante. Tratamentos T625, T650 e T675 foram feitos com GE/GC (pH=4,5) e variou-se a quantidade de OCV em 25%, 50% e 75% (p/p) .....	66
Tabela 8 – Porcentagem do rendimento de processo, capacidade de carga (CC) e eficiência de encapsulação (EE) dos tratamentos T625, T650 e T675, quando o OCV foi variado de 25, 50 e 75%. Foi usada a mesma proporção biopolimérica (1:3,5) de GE/GC em pH=4,5 .....	71
Tabela 9 – Coeficiente de determinação dos sucos Ts1, Ts2 e Ts3 obtidos por ajuste dos dados experimentais aos modelos reológicos .....	84

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b>	24
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	25
2.1	<b>Encapsulação: definição e aplicação em alimentos</b>	25
2.1.1	<b><i>Métodos para produção de micropartículas</i></b>	27
2.1.1.1	<i>Encapsulação por coacervação complexa</i>	29
2.2	<b>Encapsulação de óleos e estabilidade</b>	31
2.3	<b>Uso de polissacarídeos como material de parede</b>	33
2.3.1	<b><i>Goma de cajueiro</i></b>	35
2.3.1.1	<i>Caracterização</i>	35
2.3.2	<b><i>Goma arábica</i></b>	37
2.3.3	<b><i>Gelatina</i></b>	38
2.4	<b>Óleo de café verde: extração, composição e bioativos</b>	39
2.4.1	<b><i>Cafestol e caveol</i></b>	41
2.5	<b>Tamarindo e suas propriedades</b>	42
3	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	43
3.1	<b>Material</b>	43
3.2	<b>Métodos</b>	44
3.2.1	<b><i>Purificação da goma de cajueiro (GC)</i></b>	44
3.2.2	<b><i>Determinação das matrizes encapsulantes</i></b>	44
3.2.3	<b><i>Encapsulação</i></b>	44
3.2.4	<b><i>Avaliação do processo de microencapsulação</i></b>	46
3.2.4.1	<i>Análise de determinação de potencial zeta (<math>\zeta</math>)</i>	46
3.2.4.2	<i>Caracterização morfológica</i>	46
3.2.5	<b><i>Tamanho de Partícula</i></b>	46
3.2.6	<b><i>Teste de adequação da microcápsula para aplicação em suco</i></b>	47
3.2.6.1	<i>Dispersividade e análise de variação de temperatura</i>	47
3.2.6.2	<i>Estudo da liberação do cafestol à variação de temperatura</i>	47
3.2.7	<b><i>Captação de óleo de café verde pós-estresse</i></b>	48
3.2.8	<b><i>Identificação e quantificação de cafestol por GC-MS</i></b>	48
3.2.9	<b><i>Caracterização de T6 variando-se OCV</i></b>	50
3.2.9.1	<i>Rendimento do processo de encapsulação</i>	50

3.2.9.2	<i>Capacidade de carga (CC)</i> .....	50
3.2.9.3	<i>Eficiência de encapsulação (EE)</i> .....	51
3.2.10	<b><i>Estudo da liberação de cafestol de T625 em diferentes valores de pH</i></b> .....	51
3.2.11	<b><i>Oxidação Acelerada por Rancimat</i></b> .....	52
3.2.12	<b><i>Simulação de liberação gastrointestinal do cafestol</i></b> .....	53
3.2.13	<b><i>Preparação de suco de tamarindo</i></b> .....	53
3.2.14	<b><i>Caracterização do suco de tamarindo</i></b> .....	54
3.2.14.1	<i>Caracterização morfológica</i> .....	54
3.2.14.2	<i>Determinação do pH, sólidos solúveis totais, acidez total titulável</i> .....	55
3.2.14.3	<i>Cor</i> .....	55
3.2.14.4	<i>Reologia</i> .....	55
3.2.15	<b><i>Liberação do cafestol a partir de microcápsulas aplicadas em suco</i></b> .....	56
3.2.16	<b><i>Avaliação sensorial</i></b> .....	56
3.3	<b><i>Análise estatística</i></b> .....	57
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	58
4.1	<b><i>Determinação da proporção das matrizes encapsulantes</i></b> .....	58
4.2	<b><i>Avaliação do processo de microencapsulação</i></b> .....	59
4.2.1	<b><i>Análise de determinação do potencial zeta (<math>\zeta</math>)</i></b> .....	62
4.2.2	<b><i>Microscopia óptica</i></b> .....	63
4.3	<b><i>Tamanho de Partícula</i></b> .....	66
4.4	<b><i>Teste de adequação da microcápsula para aplicação em suco</i></b> .....	67
4.4.1	<b><i>Dispersividade</i></b> .....	67
4.4.2	<b><i>Estudo da liberação de cafestol à variação de temperatura</i></b> .....	69
4.5	<b><i>Caracterização de T6 (GE/GC (1:3.5 (p/p)), variando-se OCV</i></b> .....	71
4.6	<b><i>Estudo da liberação de cafestol de T625 em diferentes pH</i></b> .....	73
4.7	<b><i>Oxidação acelerada por Rancimat</i></b> .....	74
4.8	<b><i>Simulação de liberação gastrointestinal do cafestol</i></b> .....	76
4.9	<b><i>Caracterização do suco de tamarindo</i></b> .....	78
4.9.1	<b><i>Caracterização morfológica</i></b> .....	78
4.9.2	<b><i>Determinação do pH, sólidos solúveis totais, acidez total titulável</i></b> .....	79

<b>4.9.3</b>	<b><i>Cor</i></b> .....	<b>81</b>
<b>4.9.4</b>	<b><i>Reologia</i></b> .....	<b>83</b>
<b>4.10</b>	<b>Liberação de cafestol a partir de microcápsulas aplicadas em suco</b> .....	<b>86</b>
<b>4.11</b>	<b>Avaliação Sensorial</b> .....	<b>87</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>90</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>91</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O café é a segunda maior *commodity* comercialmente explorada no mundo, e o *Coffea arabica* L. (arábica) é o principal tipo comercializado (JANISSEN; HUYNH, 2018). O óleo do grão de café verde, devido à sua composição, tem sido avaliado como uma opção para diversificar e desenvolver novos produtos. O óleo de café verde (OCV) é constituído por triacilgliceróis (75,2%), ácidos graxos (18,5%), diterpenos livres (0,4%), esteroides (3,2%), esteróis livres (2,2%), tocoferol (0,04-0,06%), fosfatidos (0,1-0,5%) e cafeína ( $\pm$  0,3%) (CORNELIO-SANTIAGO *et al.*, 2017). Os diterpenos cafestol (C) e caveol (K) representam, respectivamente, 5,18 e 6,76% da composição do óleo de café verde. C e K estão na forma esterificada e são distribuídos como 24 ésteres; diferindo em uma insaturação nos carbonos C1-C2, presente apenas no caveol (DE OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Embora apresente benefícios à saúde, o óleo de café verde rico em cafestol e caveol é altamente instável e suscetível à degradação oxidativa, o que leva a diminuição da vida útil, perda de qualidade sensorial e nutricional. Além disso, o carácter lipofílico do OCV dificulta a aplicação a alimentos hidrofílicos, por exemplo, sucos de frutas. Portanto, a encapsulação do OCV é considerada uma opção para superar as limitações mencionadas. O óleo de café verde já foi encapsulado pela técnica de spray drying, o que resultou em maior proteção e estabilidade (CARVALHO; SILVA; HUBINGER, 2014; FRASCARELI *et al.*, 2012; SILVA; VIEIRA; HUBINGER, 2014); entretanto, investigações por coacervação complexa não foram encontradas.

A coacervação complexa, utilizando proteína e polissacarídeo, é caracterizada pela interação de forças intermoleculares (van der Waals e interações hidrofóbicas) do par amino-protonado (proteína) com o carboxil (polissacarídeo). É um método simples, barato e reprodutível, pois não requer dispositivos tecnológicos sofisticados, é indicado para a encapsulação de óleos, e possui os mesmos benefícios de metodologias mais sofisticadas, como liberação controlada, produção de microcápsulas estáveis e resistentes ao calor.

Os pares encapsulantes GE/GA e GE/GC mostraram-se eficientes como material de parede em estudos anteriores (Comunian *et al.*, 2018, Comunian *et al.*, 2017, Gomez-Estaca *et al.*, 2016). A gelatina é um dos hidrocolóides mais utilizados na indústria alimentícia, pois possui custo acessível e propriedade emulsionante (COMUNIAN *et al.*, 2018). A goma arábica (GA), proveniente dos países



árabes, é utilizada como emulsificante, estabilizante e espessante (COMUNIAN *et al.*, 2018). A goma de cajueiro (GC) e apresenta propriedades tecnológicas semelhantes às da goma arábica, tendo maior teor de proteína do que a GA, o que resulta em melhor capacidade emulsificante (COMUNIAN *et al.*, 2018).

A aplicação de microcápsulas por coacervação complexa foi relatada principalmente em iogurte (COMUNIAN *et al.*, 2017; GOMEZ-ESTACA *et al.*, 2016; RUTZ *et al.*, 2017) não sendo muito encontrado na literatura a incorporação em suco. Um estudo anterior discutiu, limitadamente, a aplicação de nanocápsulas por coacervação complexa em suco de frutas (ILYASOGLU; EL, 2014).

O suco de tamarindo foi escolhido porque possui um sabor peculiar e marcante, o que favorece mascarar ou até combinar com o sabor do óleo de café verde. A bebida de *T. indica* L. possui alto teor de fibras, aminoácidos essenciais, minerais (ferro, magnésio, fósforo, cálcio e potássio), vitaminas (C e E) e antioxidantes (GONZÁLEZ-MONROY *et al.*, 2018). A literatura também relatou efeitos hipoglicemiantes e hipocolesterolêmicos e antioxidantes (MARTINELLO *et al.*, 2006).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar as microcápsulas de óleo de café verde obtidas por coacervação complexa, utilizando gelatina e goma de cajueiro como materiais de parede. Essas microcápsulas foram avaliadas quanto à estabilidade oxidativa, propriedades de liberação gastrointestinal e sua aplicação no suco de tamarindo, para produzir um produto rico em cafeol e cafeol, por análises físico-químicas, estabilidade de armazenamento, análises reológicas e sensoriais.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Encapsulação: definição e aplicação em alimentos**

A encapsulação é uma técnica que vem sendo estudada desde a década de 30. A empresa pioneira no estudo foi a National Cash Register Co. Somente em 1954, com o desenvolvimento microcápsulas através do processo de coacervação contendo corantes, a tecnologia foi aplicada comercialmente, a fim de servir a indústria de papel (PAULO; SANTOS, 2017).

Atualmente, com o aumento da tendência do mercado mundial por produtos com valor agregado, a indústria de alimentos tem o desafio em manter a estabilidade

de compostos ativos nas condições empregadas no processamento de alimentos, transformando-os em substâncias com maior estabilidade e rentabilidade, além de controlar sua liberação. Nesse sentido, a tecnologia de encapsulação tem se tornado importante e amplamente estudada (PAULO; SANTOS, 2017; WEISS; TAKHISTOV; MCCLEMENTS, 2006).

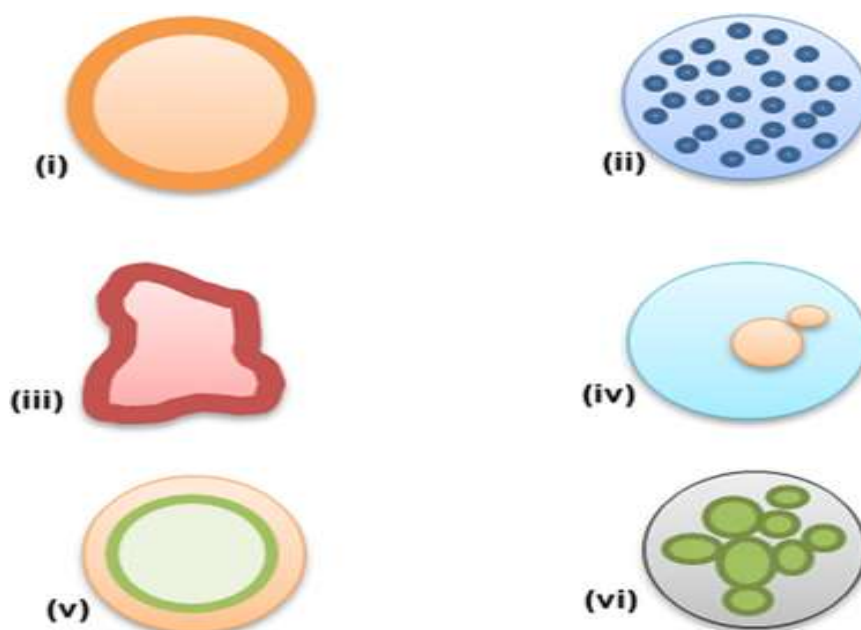
Por definição, a encapsulação é uma técnica (física, química ou físico-química) de revestimento em que uma substância em estado líquido, sólido ou gasoso, chamada de material ativo, é circundada por um material de parede, com isolamento parcial ou total do núcleo (SILVA; MEIRELES, 2014).

A encapsulação apresenta como objetivos gerais, a capacidade de estabilizar e prolongar a vida útil dos materiais encapsulados, proteger de reações oxidativas (pH, luz e oxigênio extremos), promover a liberação controlada, mascarar sabor, cor e odor desagradáveis, reduzir a volatilidade e reatividade do material do núcleo com o ambiente, além de proteger os componentes contra perdas nutricionais (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008; SILVA; MEIRELES, 2014).

A literatura não apresenta um consenso sobre o tamanho das partículas formadas, que podem variar de alguns poucos nanômetros até vários micrômetros (FAVARO-TRINDADE, PINHO, ROCHA, 2008; PAULO, SANTOS, 2017). Segundo Silva e Meireles (2014), a forma e o tamanho das partículas dependem do método, do material de parede e do material de núcleo. O núcleo pode ser composto por apenas um ou vários tipos de ingredientes e a parede pode apresentar uma ou mais camadas. Alguns tipos de microcápsulas podem ser observados na Figura 1.

Ao se iniciar processo de encapsulação é importante conhecer o agente ativo (funcionalidade e concentração conveniente no produto final); o tipo de material de parede que será utilizado; a que condições de processamento as partículas serão submetidas, bem como condições biológicas após a ingestão; o mecanismo de liberação; o tamanho da partícula, a densidade; a estabilidade; o custo do processo e se o ingrediente encapsulado apresenta funcionalidade comprovada (WEISS; TAKHISTOV; MCCLEMENTS, 2006).

Figura 1 - Diferentes tipos de microcápsulas: (i) microcápsula simples, (ii) microesferas, (iii) microcápsula irregular, (iv) microcápsula multinucleada, (v) microcápsula multiparede e (vi) montagem de microcápsulas



Fonte: Adaptado de Bakry *et al.* (2016) e Saifullah *et al.* (2019).

Já foram relatadas diversas pesquisas com aplicações da encapsulação na indústria de alimentos. Nesse sentido, pode-se citar a encapsulação de agentes aromatizantes, por exemplo, óleos de cravo, limão e alho (CORTÉS-CAMARGO *et al.*, 2019); HASHEMINEJAD; KHODAIYAN; SAFARI, 2019; PINILLA; THYS; BRANDELLI, 2019); adoçantes como Stevia e eritritol (ALIJANI *et al.*, 2019; MADADLOU *et al.*, 2019); corantes, dos quais, corante fluorescente, curcumina, extrato fenólico de uva (KIRYUKHIN *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2019; TSALI; GOULA, 2018); vitaminas lipossolúveis - A, D, D3, E (JANNASARI *et al.*, 2019; JIANG *et al.*, 2019; RANA *et al.*, 2019; TAN *et al.*, 2019) e hidrossolúvel - vitamina C (KHEYNOOR *et al.*, 2018); além da encapsulação de probióticos, como das células de *Lactobacillus paracasei* BGP1, *Lactobacillus rhamnosus* 64 e *Lactobacillus acidophilus* LA3 (MATOS-JR *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2018).

### 2.1.1 Métodos para produção de micropartículas

A escolha do método de encapsulação mais conveniente depende diretamente do tipo e das propriedades físico-químicas, tanto do material ativo quanto

do material de parede da partícula. Além disso, deve ser considerado também o tamanho, os mecanismos de liberação, as propriedades de fabricação, armazenamento, a viabilidade econômica, aplicação no produto final e a satisfação dos consumidores (DIAS *et al.*, 2017; PAULO; SANTOS, 2017).

Algumas tecnologias de encapsulação e o tamanho das partículas foram descritas por Favaro-Trindade, Pinho e Rocha (2008) e estão apresentadas na Tabela 1.

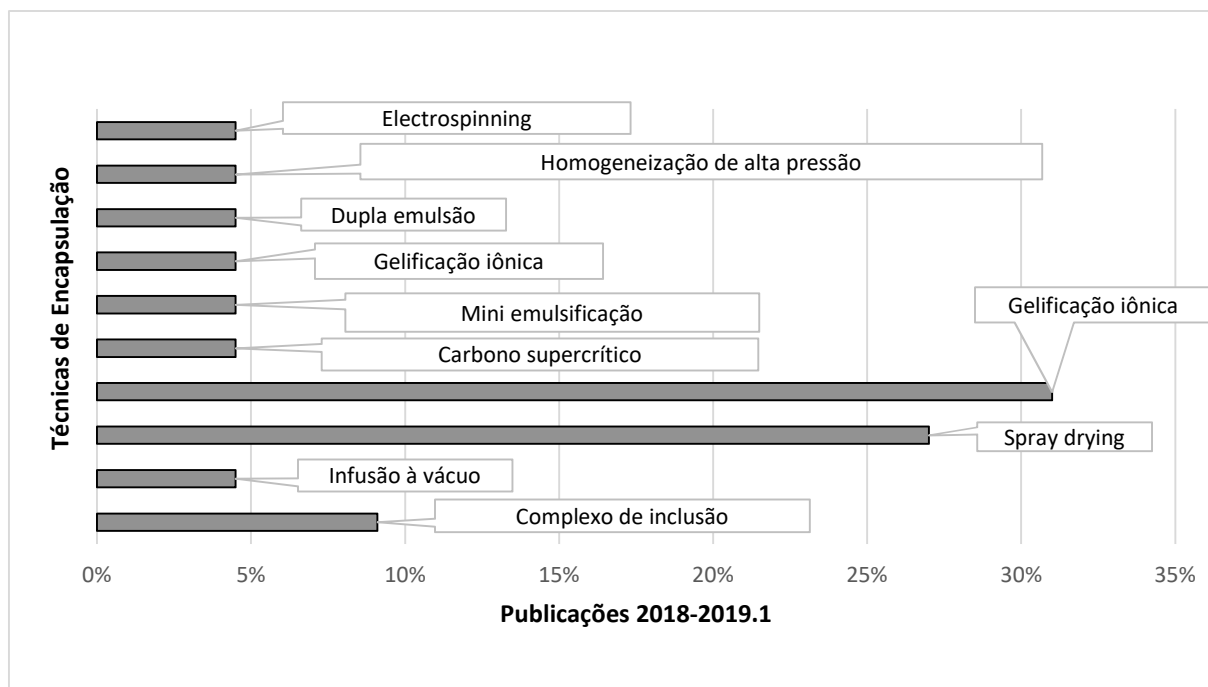
Tabela 1 - Métodos utilizados para encapsulação e tamanhos das cápsulas

<b>Métodos de encapsulação</b>	<b>Materiais Encapsuláveis</b>	<b>Faixa de Tamanho (µm)</b>
<b>Métodos físicos</b>		
Extrusão estacionária	Líquido/Sólido/Gás	1.000-6.000
Bocal submerso	Líquido/Sólido/Gás	700-6.000
Extrusão centrífuga	Líquido/Sólido/Gás	125-3.000
Bocal vibrante	Líquido/Sólido/Gás	500-2.000
<i>Spray drying</i>	Líquido/Sólido	5-150
Disco Rotativo	Líquido/Sólido	5-1.000
<i>Pan coating</i>	Sólido	>500
Suspensão por ar	Sólido	50-10.000
Spray chilling e Spray cooling	Líquido/Sólido	20-200
Leito fluidizado	Sólido	>100
Liofilização	Líquido	-
<b>Métodos químicos</b>		
Polimerização interfacial	Líquido/Sólido	1-150
Inclusão molecular	Líquido	5-50.
Polimerização <i>in situ</i>	Líquido/Sólido	1-150
<b>Métodos físico-químicos</b>		
Coacervação simples	Líquido/Sólido	20-500
Coacervação complexa	Líquido/Sólido	1-500
Lipossomas	Líquido/Sólido	0,02-3
Evaporação do solvente	Líquido/Sólido	1-5.000

Fonte: Adaptada de Favaro-Trindade, Pinho e Rocha (2008).

Pesquisas recentes mostram que a gelificação iônica, spray drying e complexo de inclusão, estão entre as tecnologias de encapsulação mais aplicadas entre 2018-2019 (2019, no primeiro trimestre), quando foram usadas as palavras de busca “*encapsulation AND food*”, na base *Science Direct*. Na Figura 2, temos o número de artigos de pesquisa, selecionados por ordem de relevância em função dos métodos de encapsulação para componentes bioativos e probióticos alimentares.

Figura 2 - Técnicas mais usadas para a encapsulação de componentes bioativos e probióticos entre 2018-2019



Fonte: Elaborada pela autora.

### 2.1.1.1 Encapsulação por coacervação complexa

A técnica encapsulação por coacervação complexa, segundo Dias *et al.* (2017), foi a segunda metodologia mais usada em meados de 2017, com mais de setenta artigos de pesquisa publicados na base do *Science Direct*. Semelhante aos métodos mais sofisticados, a coacervação complexa é uma tecnologia de encapsulação relativamente simples e indicada para encapsular óleos, apresentando boa eficiência e liberação controlada.

A encapsulação por coacervação pode ser classificada como simples (quando envolve apenas um polímero como material de parede) ou complexa (quando se usam dois ou mais materiais) (BAKRY *et al.*, 2015).

Na coacervação simples, adiciona-se eletrólitos ao polímero, como, por exemplo, o sulfato de sódio ou dessolvata-se pela adição de um solvente imiscível em água, com variação de temperatura. Essas circunstâncias químicas promovem interações das macromoléculas entre si, em detrimento das interações das macromoléculas com moléculas de solventes (MARTINS *et al.*, 2014).

Na coacervação complexa ocorrem cinco etapas até a produção da partícula. Na primeira, tem-se a dissolução, que é criação de uma solução aquosa composta pelos diferentes polímeros. É usual a junção de uma proteína (com pH

abaixo do ponto isoelétrico) e um glicídio. Na segunda etapa, ocorre a emulsificação ou dispersão do composto do núcleo na solução preparada na primeira etapa. Na terceira, ocorre a coacervação onde há separação em duas fases heterogêneas, como resultado das interações eletrostáticas e do pH da solução. Na quarta, ocorre a gelação, que é a formação da parede polimérica em torno do material ativo, com temperatura controlada. Por último, tem-se o endurecimento da parede com o aprisionamento do agente ativo no núcleo (DIAS *et al.*, 2017; CHANG *et al.*, 2016).

As forças eletrostáticas predominantes no processo para formação das microcápsulas com coacervação complexa são as de *van der Waals* e as interações hidrofóbicas (TURGEON; SCHMITT; SANCHEZ, 2007). Segundo Timilsena *et al.* (2017), o mecanismo de interação química na coacervação complexa ainda carece de maiores elucidações. Mas já se sabe, empiricamente, que fatores como propriedades do material de parede, densidade da carga, peso molecular dos polímeros, relação entre concentração/mistura e os parâmetros do processo (pH, temperatura e força iônica) afetam diretamente o processo da coacervação complexa (WEINBRECK *et al.*, 2003).

É importante ressaltar que uma dada condição, para um determinado conjunto de polímeros, não pode ser extrapolada a um outro conjunto de polímeros, por isso, o aprimoramento dos parâmetros de coacervação é um passo importante no processo de microencapsulação. Assim, vários modelos teóricos (BIESHEUVEL; STUART, 2004; OVERBEEK; VOORN, 2005; VEIS; ARANYI, 1960) e técnicas experimentais (BERRET *et al.*, 2003; GIRARD; TURGEON; GAUTHIER, 2003; KAYITMAZER *et al.*, 2013) foram desenvolvidos para se determinar condições ideais para coacervação complexa. A simulação de Monte Carlo é a tecnologia mais recente, com o propósito de lançar um modelo para determinar os mecanismos e as propriedades de formação da coacervação complexa. Contudo, essa simulação ainda depende do desenvolvimento de softwares mais sofisticados (XIAO; LI; HUANG, 2017).

Portanto, para a otimização do processo de coacervação complexa é necessário determinar em laboratório a densidade de carga superficial (pela análise de potencial zeta) e a turbidez da dispersão (análise de espectrofotometria) em função do pH e da quantidade de cada polímero. A turbidez da solução diminui progressivamente com a formação das partículas por coacervação complexa (ERATTE

*et al.*, 2014; TIMILSENA *et al.*, 2017). A complexação é dita como ideal quando em determinado pH, as cargas dos polímeros são opostas e apresentam maior magnitude (LIU *et al.*, 2010).

Comparando-se os dois tipos de coacervação (simples e complexa), tem-se que a simples apresenta vantagens no que diz respeito à economia de custos e flexibilidade de operação, pois usa-se sais inorgânicos baratos, se comparado aos hidrocolóides relativamente caros usados na coacervação complexa (SUTAPHANIT; CHITPRASERT, 2014). Entretanto, a complexa possui excelentes características, como de liberação controlada, produção de partículas estáveis e relativamente resistentes ao calor, capacidade de carregar uma carga útil elevada, além de ser um método simples, reprodutível, isento de solventes e de baixo custo (BAKRY *et al.*, 2015).

Estudos recentes usando o método de coacervação complexa estão listadas na Tabela 2. Os trabalhos foram selecionados por data (2018) e relevância, tendo como palavras chaves: “*complex coacervation AND food*”, pesquisados na base de dados do Science Direct.

## **2.2 Encapsulação de óleos e estabilidade**

Componentes lipofílicos bioativos podem ser adicionados em alimentos e bebidas, porém esses ingredientes apresentam desafios na aplicação, como baixa solubilidade em água, baixa biodisponibilidade, baixa estabilidade e alto ponto de fusão, o que dificultam a incorporação direta em matrizes alimentares (MCCLEMENTS; LI, 2010). Portanto, a microencapsulação de óleos melhora sua dispersividade no alimento, estabilidade oxidativa e térmica, prolonga a vida útil, reduz a volatilidade de bioaromas e controla a liberação após a ingestão (BAKRY *et al.*, 2015). Na Tabela 3 são apresentados alguns componentes lipofílicos bioativos que foram encapsulados e suas alegações funcionais.

A estabilidade de compostos lipofílicos pode ser afetada por fatores múltiplos. Quando há interesse na aplicação direta em alimentos de base hidrofílica, dois motivos gerais devem ser considerados. O primeiro é relativo a instabilidade físico-química, ocasionado pelas densidades e polaridades diferentes; o segundo está relacionado à instabilidade química própria da composição dos materiais lipídicos, uma vez que esses ingredientes são susceptíveis à oxidação.

Tabela 2 – Estudos recentes, pesquisados na Science Direct, classificados por data e relevância, sobre coacervação complexa para possíveis aplicações em alimentos.

Título da Publicação	Objetivo Principal	Conclusões	Referência
Coacervação complexa induzida por pH e força iônica de Pectina e Gelatina A	Avaliação da complexação entre pectina e gelatina A.	A cápsula de pectina e gelatina A formou complexos, mostrando-se promissora para o desenvolvimento de novos biomateriais.	Joshi; Rawat; Bohidar, (2018)
Formação do complexo de heteroproteínas de albumina e lisozima de soro bovino: estrutura e estabilidade térmica	Formação e caracterização de complexos de albumina de soro bovino e lisozima.	Houve coacervação complexa de albumina e lisozima, sendo favorecida pela a adição de NaCl.	Santos; De Carvalho; Garcia-Rojas (2018)
Preparação e caracterização de complexos coacervados de goma Hsian-Tsao e quitosana	Formação e caracterização (estruturais, térmicas e morfológicas) dos coacervados complexos	Houve coacervação complexa de goma de Hsian-tsao com quitosana, apresentando viscosidade e elasticidade melhoradas.	You; Liu; Zhao (2018)
Complexo macromolecular de lisozima com carragenina kappa	Caracterização em diferentes composições, valores de pH e força iônica da complexação de goma kappa e lisozima.	O presente estudo forneceu informações sobre as interações entre a goma kappa e a lisozima que não possui uma especificidade local de ligação.	Antonov <i>et al.</i> (2018)
Fenômenos de crescimento em complexos de biopolímeros compostos por proteína do soro de leite aquecida e pectina	Avaliou-se a formação e estabilidade das dispersões proteína-polissacarídeo no ponto isoelétrico da proteína.	Houve complexação da proteína do soro de leite e pectina, formando partículas com dimensões, formas e estruturas internas específicas.	Zeeb <i>et al.</i> (2018)
Liberção e estabilidade oxidativa de emulsões de óleo de peixe estabilizadas por complexos de soro da proteína do soro de leite e xarope de alperce: Impacto do pH	Analizou-se a influência do pH na estabilidade das emulsões contendo complexos de proteína do soro de leite / goma xantana / goma de alfarroba e caracterizou-se.	Em pH 3 e 5, as emulsões apresentaram grande tamanho de partícula. Em pH 7, as emulsões goma xantana-proteína de soro do leite apresentaram maior resistência à separação de fases e resultaram em emulsões estáveis.	Owens <i>et al.</i> (2018)

Fonte: Elaborado pela autora.

A oxidação lipídica resulta em sabor e odor indesejáveis (rançosos), podendo ser, até mesmo, uma ameaça à segurança alimentar e à saúde humana. Além disso, deve ser considerado também a redução da vida de prateleira, das propriedades sensoriais e nutricionais do alimento, resultando na rejeição da aceitabilidade global dos produtos (HUANG; ZHOU, 2019).



Tabela 3 - Alguns componentes bioativos lipofílicos que já foram encapsulados e suas respectivas alegações funcionais

Nome	Tipos	Potenciais benefícios nutricionais	Potenciais benefícios nutricionais
Ácidos graxos	Ácidos gordos $\omega$ -3, ácido linoleico conjugado, ácido butírico	Doença cardíaca, câncer, saúde óssea, distúrbios da resposta imune, ganho de peso, prevenção de AVC, saúde mental, acuidade visual	Comunian <i>et al.</i> , (2017); Vélez <i>et al.</i> (2019); Ng; Yang (2016).
Carotenoides	$\beta$ -caroteno, licopeno, luteína e zeaxantina	Doença cardíaca, câncer, degeneração macular, catarata	Kong; Bhosale; Ziegler, (2018); Souza <i>et al.</i> (2018); De Campo <i>et al.</i> (2018).
Antioxidantes solúveis em óleo	Tocoferóis, flavonóides, polifenóis	Doença cardíaca, câncer e doença do trato urinário	Hu <i>et al.</i> (2018); Pravinata; Murray (2019).
Fitoesteróis	$\beta$ -sitosterol	Doença cardíaca coronária	Khalid <i>et al.</i> (2017).
Vitaminas solúveis em óleo	Vitaminas A, D	Saúde dos olhos, saúde óssea, câncer	Jannasari <i>et al.</i> (2019); Jiang <i>et al.</i> (2019); Rana <i>et al.</i> (2019).
Nutracêuticos	Co-enzima Q	Hipertensão, doenças cardíacas, diabetes, câncer	Huang <i>et al.</i> , 2019

Fonte: Elaborado pela autora.

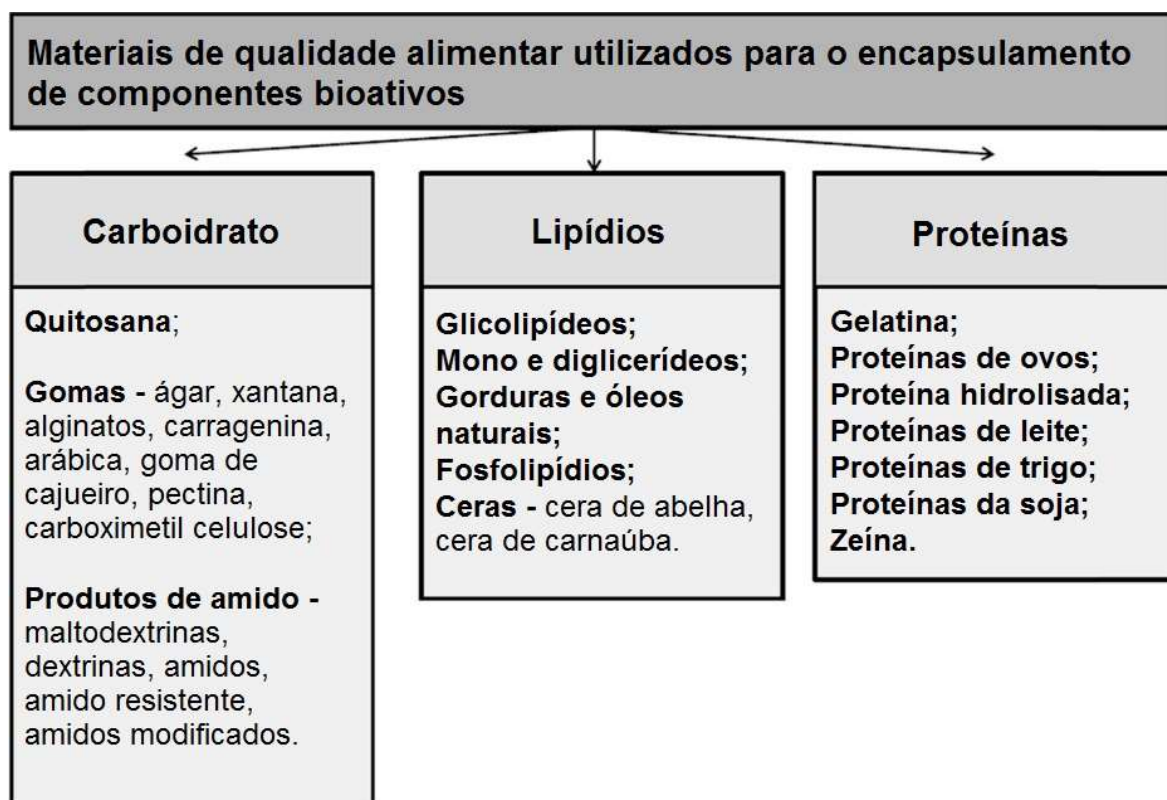
Nesse sentido, os biopolímeros tem significativa importância para a estabilidade físico-química de óleos, pois atuam como emulsionantes e formadores de película, conferindo maior dispersão e proteção oxidativa do composto lipofílico (BAKRY *et al.*, 2015; COMUNIAN *et al.*, 2017; ZHU, 2017).

### 2.3 Uso de polissacarídeos como material de parede

Os ingredientes funcionais podem ser encapsulados por vários materiais de parede, como mostrados na Figura 3.

Além de conferirem proteção ao material de núcleo e permitir a aplicação em alimentos, os materiais de parede são projetados para regular a liberação dos componentes bioativos dentro do trato gastrointestinal especificamente em locais como a boca, estômago, intestino delgado ou cólon.

Figura 3 - Materiais com qualidade alimentar adequada para encapsulação de compostos bioativos



Fonte: adaptada de Vinceković *et al.* (2017).

O conhecimento dos sistemas de entrega de biopolímeros e o desempenho do material de parede, sob diferentes condições, pode ser usado para projetar alimentos que aumentam, diminuem ou controlem a biodisponibilidade do material de núcleo (MUN *et al.*, 2006).

Idealmente, o sistema de entrega deve ter funções e características adequadas para aplicação em alimentos; deve apresentar alta capacidade de empacotamento; deve reter o material no núcleo ao longo do tempo e deve conferir estabilidade ao material de núcleo durante a preparação, armazenamento e transporte (VINCEKOVIĆ *et al.*, 2017). O mecanismo de transporte e liberação da parede das partículas é ideal quando o material do núcleo se deposita em uma região específica, sendo liberado de forma controlada ou em resposta a um estímulo externo (pH, força iônica, atividade enzimática ou temperatura). Outro fator importante é que material encapsulante não deve sofrer degradação química (oxidação, hidrólise), mas ao contrário, proteger o material de núcleo de estresses quando submetido a temperatura, luz, oxigênio ou produtos químicos específicos. Por fim, os materiais de

parede devem melhorar ou, pelo menos, não afetar a biodisponibilidade do componente de núcleo (MCCLEMENTS; LI, 2010).

Algumas características técnicas são relevantes para a escolha de biopolímeros para a encapsulação com aplicação em alimentos. Por exemplo, o material de parede deve ter sido aceito pela legislação como seguro para saúde, além de não afetar negativamente a aparência, textura, sabor ou estabilidade do produto final, sendo também capaz de suportar as operações de processamento no qual será submetido, bem como apresentar produção econômica, quando for avaliado o custo-benefício em relação a vida útil, capacidade de comercialização e novas funcionalidades. Desse modo, as gomas alimentares e a gelatina tem sido uma promissora escolha para atuar como emulsionantes e estabilizadores de emulsão através da adsorção de camadas protetoras em interfaces óleo-água (DICKINSON, 2003; MCCLEMENTS; LI, 2010).

### **2.3.1 Goma de cajueiro**

A goma de cajueiro (GC) é um exsudato extraído da árvore comumente conhecida como cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), sendo encontrada em países tropicais como o Brasil, especificamente nas regiões Norte e Nordeste, como Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte (RIBEIRO *et al.*, 2016).

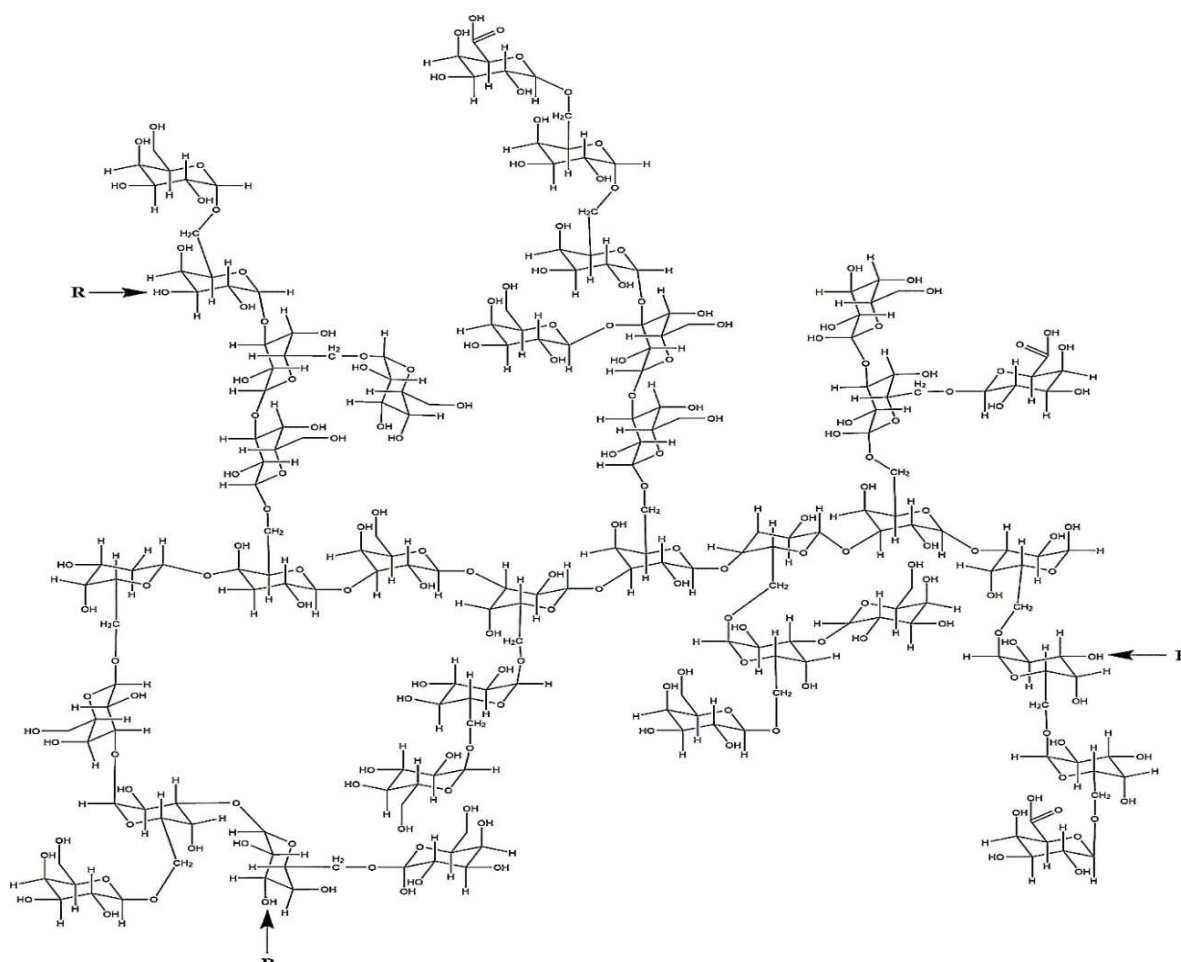
O exsudato é produzido pelas células epiteliais do córtex em resposta às injúrias mecânicas ou ataques de patógenos. Sua formação pode ocorrer em todas as partes da árvore e sua composição qualitativa e quantitativa depende da maturidade e condições ambientais. A extração é realizada mecanicamente, promovendo cortes na casca ou através da estimulação química, usando ácido benzoico e derivados, etileno óxido e ácido 2-cloroetilfosfônico (RIBEIRO *et al.*, 2016).

#### **2.3.1.1 Caracterização**

Devido a semelhanças estruturais e químicas da GC e goma arábica, vários estudos vêm demonstrando potencial da goma de cajueiro em comparação a goma arábica, que, por consequência, agregaria vantagens à cajucultura, gerando lucros no período de entressafra (ANDRADE *et al.*, 2013; BOTREL *et al.*, 2017).

Ao ser extraída, a goma de cajueiro carrega consigo inúmeras sujidades, como lignina, sais inorgânicos, proteínas, etc., provenientes tanto do campo quanto do processo próprio de remoção do exsudato, portanto é necessário ser purificada (RIBEIRO *et al.*, 2016). O exsudato da *A. occidentale* é um conjunto de polissacarídeos ácidos contendo inúmeros íons metálicos ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$ ), sendo que estes constituintes dependem da composição do solo onde as árvores cresceram (RIBEIRO *et al.*, 2016). Em sua composição molecular, a CG apresenta  $\beta$ -D-galactopiranosose (72%),  $\alpha$ -D-glucopiranosose (14%),  $\alpha$ -L-arabinofuranose (4,6%),  $\alpha$ -L-trianopiranosose (3,2%) e de ácido glucurônico (4,5%) (COMUNIAN *et al.*, 2017). Ademais, também possui três tipos de unidades ramificadas dentro do núcleo de galactana, ligados em C-1 e C-3, em C-1 e C-6, em C-1 e C-3 e C-6 (PAULA; HEATLEY; BUDD, 1998) (Figura 4).

Figura 4 - Fragmento estrutural de goma de cajueiro, onde o "R" representa D-manose, L-rhamnose, L-arabinose e cadeias de arabinose



Fonte: Ribeiro *et al.* (2016).

As vantagens no uso da GC estão relacionadas ao seu baixo custo de produção e sustentabilidade (apresenta baixo impacto ambiental por ser totalmente biodegradável). Ademais, é considerada uma alternativa econômica para fornecer controle da reologia, tem sido usada como espessante, emulsionante, adoçante empregada como biopolímero funcional, na aplicação de embalagens biodegradáveis e em sistemas de entrega (RIBEIRO *et al.*, 2016).

Por apresentar compostos anfífilos (complexos de polissacarídeo-proteína), a goma do cajueiro apresenta capacidade encapsulante e também boas características adesivas e de biodegradabilidade (PORTO; CRISTIANINI, 2014). Por essas razões a GC vem sendo usada como material de parede na encapsulação de vários compostos bioativos lipofílicos, como, por exemplo, a encapsulação de óleos (peixe, gengibre, echium, *Eucalyptus staigeriana*), extrato de astaxantina e fitoesteróis (BOTREL *et al.*; 2017; COMUNIAN *et al.*, 2017; GOMEZ-ESTACA *et al.*, 2016; HERCULANO *et al.*, 2015).

### **2.3.2 Goma arábica**

A goma arábica (GA) ou goma acácia, assim como a goma de cajueiro, é proveniente do exsudato de troncos das espécies *Acacia senegal* e *Acacia seyal* produzido em resposta à injúrias, estresse e ataques de patógeno. É um heteropolissacarídeo, largamente usado na encapsulação como material de parede devido a excepcional propriedade de emulsificação, boa retenção de voláteis, alta solubilidade, baixa viscosidade e proteção contra a oxidação. Além disso, apresenta-se praticamente incolor das soluções, sendo uma matéria-prima de baixo custo e fácil uso (GULÃO *et al.*, 2014).

Assim como a GC, a composição química do GA pode variar com a sua fonte, a idade das árvores de onde foi extraída, as condições climáticas e o ambiente do solo. Portanto, sua constituição é formada por complexo ramificado de galactose, arabinose, ramnose, ácidos glucurônico, além de frações de proteínas, sendo a glicoproteína arabinogalactana, o composto que apresenta a maior fração da sua composição total. Por ser ramificada e apresentar alta solubilidade, as moléculas de goma arábica apresentam pequeno volume hidrodinâmico resultando em soluções de baixa viscosidade (SILVA *et al.*, 2015). A goma arábica foi definida *Codex Alimentarius* como fibra alimentar, uma vez que não é digerida no intestino, contudo, é fermentada

no cólon, originando ácidos graxos de cadeia curta que são responsáveis por uma diversidade de possíveis benefícios para a saúde (KHALID *et al.*, 2017b).

Como material encapsulante, a goma arábica foi usada recentemente para encapsular *Lactobacillus Acidophilus* e *Lactobacillus acidophilus* (AREPALLY; GOSWAMI, 2019; REYES *et al.*, 2018); tocoferol (LI *et al.*, 2018), antocianinas (PIECZYKOLAN; KUREK, 2019; SHADDEL *et al.*, 2018) e óleo de peixe (CORTÉS-CAMARGO *et al.*, 2019), dentro outros, apresentando maior eficácia na proteção desses materiais de núcleo.

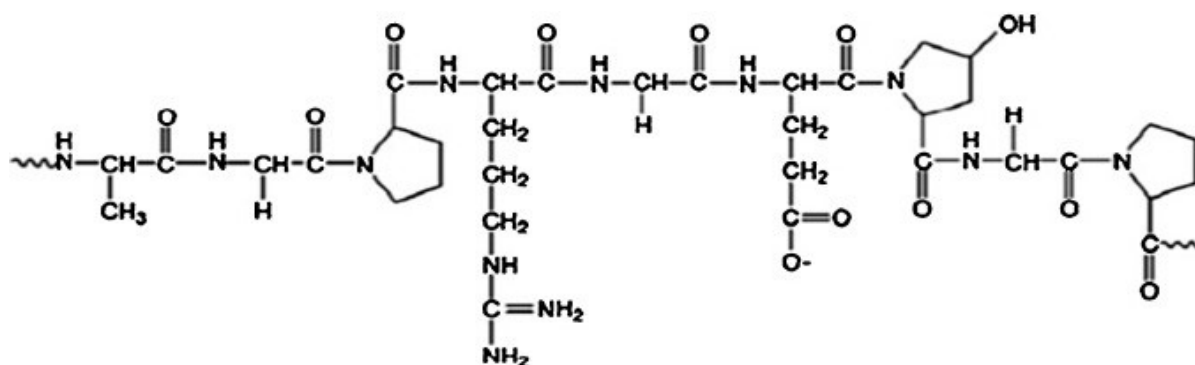
### **2.3.3 Gelatina**

A gelatina (GE) tem respondido satisfatoriamente à coacervação complexa formando paredes com as gomas (COMUNIAN *et al.*, 2017; DEVI *et al.*, 2017; GOMEZ-ESTACA *et al.*, 2016). Além disso, por ser anfótera, possui excelente capacidade emulsionante, de espessamento, solubilidade em água e atividade estabilizadora (DEVI *et al.*, 2017).

Apresentando alto peso molecular, a GE é obtida pela desnaturação do colágeno, proveniente de tecidos conjuntivos como tendão, osso e pele. A estrutura de gelatina está esquematizada na Figura 5. A composição da gelatina varia com a espécie animal, com os processos de pré-tratamento e extração. A quantidade de ácido glutâmico e ácido aspártico na gelatina tipo B é maior que da gelatina tipo A. A gelatina geralmente mostra a composição de aminoácidos semelhante ao colágeno, contendo glicina (~33%), prolina (~12%), alanina (~11%) e hidroxiprolina (10%) como os principais aminoácidos. Histidina, metionina e tirosina apresenta teores menores na composição da GE (BENJAKUL; KITTIPHATTANABAWON, 2019).

A conversão do colágeno em gelatina ocorre através de aquecimento seguido do processo de hidrólise ácida ou básica, originando, assim, dois tipos de gelatinas (tipo A e tipo B) que apresentam propriedades diferentes, por exemplo, a gelatina do tipo A, obtida através de tratamento ácido, apresenta ponto isoelétrico entre 6-8, enquanto gelatina do tipo B, obtida através de tratamento alcalino, tem ponto isoelétrico na faixa de 4,7-5,3 (BENJAKUL; KITTIPHATTANABAWON, 2019).

Figura 5 - Estrutura da gelatina



Fonte: Devi *et al.* (2017), com adaptações.

Na coacervação complexa, o nível de interações proteína-polissacarídeo, como já relatado, depende das características do biopolímero que será complexada (tipo, tamanho, razão na mistura, conformação, tipo e distribuição dos locais reativos); das condições do solvente (pH, de sais e de temperatura) e do método de preparação de emulsão. Sendo que, para complexar com polissacarídeos, a carga parcial da proteína deverá sempre ser positiva (pH de coacervação menor que pI). A agregação desses complexos coacervados é energeticamente favorável, uma vez que diminui a entropia do sistema e modifica as propriedades de tamanho e de superfície, resultando na precipitação das partículas (DEVI *et al.*, 2017).

## 2.4 Óleo de café verde: extração, composição e bioativos

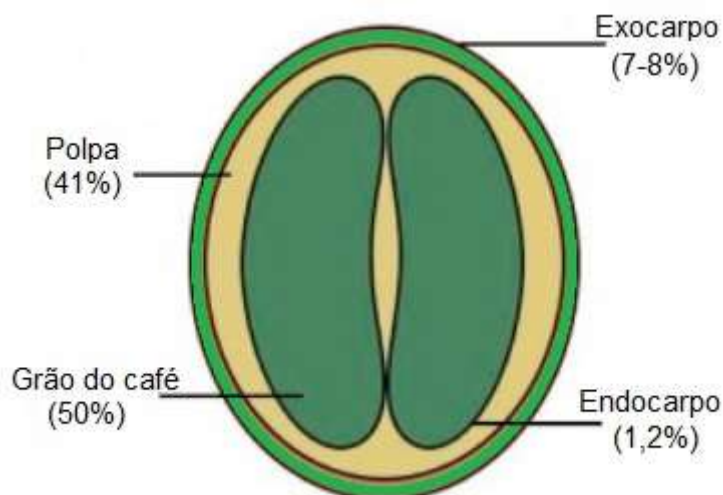
O café é a segunda maior commodity produzida no mundo, sendo *Coffea arabica* L (arábica) e a *Coffea canephora* Pierre (robusta) as espécies principais na comercialização, com produção de 75% e 25%, respectivamente (JANISSEN; HUYNH, 2018). O café que habitualmente é usado como bebida, vem sendo explorado também para fabricação de outros produtos, como o óleo de café verde (DE OLIVEIRA *et al.*, 2014).

A baga de café verde é aquela que foi colhida antes do amadurecimento, estando esquematizada na Figura 6.

Industrialmente, o óleo de café é obtido pressionando-se os grãos com prensas mecânicas contínuas (expeller), porém podem ser utilizadas outras técnicas de extração, agitação orbital usando solventes orgânicos, extração assistida por

microondas e extração com dióxido de carbono supercrítico (DE OLIVEIRA et al., 2014; TSUKUI et al., 2014).

Figura 6 - Representação esquemática da baga verde percentual de composição.



Fonte: adaptada de Janissen e Huynh (2018).

A extração que emprega dióxido de carbono supercrítico (CO<sub>2</sub>) vem sendo eficazmente demonstrada como uma técnica a ser utilizada para obtenção do óleo de café verde, pois apresenta algumas vantagens em comparação com as técnicas convencionais. Enquanto essas usam solventes orgânicos em condições de temperaturas elevadas e que podem gerar resíduos tóxicos no produto final, a extração que usa o dióxido de carbono supercrítico gera produtos sem resíduos tóxicos já que o CO<sub>2</sub> apresenta baixa toxicidade. Além disso, esse processo de extração é realizado em condições moderadas de temperatura e pressão (DE AZEVEDO *et al.*, 2008).

O óleo de café verde já é comercialmente explorado pela indústria de cosméticos, uma vez que apresenta boa propriedade emoliente e capacidade de prevenção do fotoenvelhecimento. Em alimentos, várias pesquisas relataram as propriedades bioativas do grão verde (MELLBYE *et al.*, 2015; LIMA *et al.*, 2017; TSAI *et al.*, 2018).

A constituição da baga apresenta 7-17% de lipídios em massa, sendo o óleo composto de 75% de triacilgliceróis e 1% de ácidos graxos (FERRARI *et al.*, 2010). Os mais relevantes constituintes dos ácidos graxos são os compostos linolêicos (43,1%), palmítico (31,1%), esteárico (9,6%), oleico (9,6%) e linolênico (1,8%). A fração lipídica pode ser saponificável (glicerídeos, fosfolipídios e pequenas



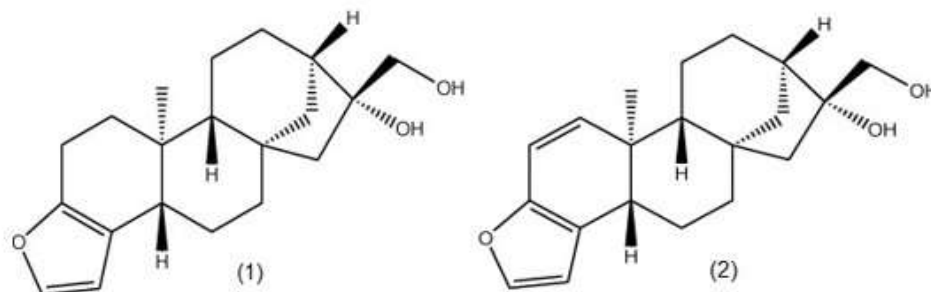
quantidades de diterpenos livres) e insaponificável - esteróis, diterpenos, tocoferóis e ceras. Os tocoferóis, constituintes da vitamina E, também estão presentes na fração lipídica do café verde (AZEVEDO *et al.*, 2008; CORNELIO-SANTIAGO *et al.*, 2017).

### 2.4.1 Cafestol e caveol

Cafestol (C) e caveol (K) são diterpenos pentacíclicos, formados por moléculas de hidroxilas ligadas as unidades de isopreno, formando uma estrutura de caurana de 20 carbonos, como representados na Figura 7 (DE OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Ambos são os principais ésteres terpenóides presentes nos lipídios do café, e podem chegar até 2,5% p/p da composição do grão. Essa proporção faz com que os diterpenos sejam a segunda classe mais abundante em óleo de café verde ( $\leq 20\%$ ), logo após os triacilglicerídeos (75-85%). O caveol difere do cafestol por uma insaturação nos carbonos C1-C2 (NOVAES *et al.*, 2018).

Figura 7 – Estrutura química do cafestol (1) e do caveol (2)



Fonte: Tsukui *et al.*, 2014.

Foram relatados ação anti-inflamatória, anticarcinogênicas, atividade antioxidante, hepatoprotetora, efeito antidiabético, além de ter sido relacionado menores riscos de câncer colorretal ao consumo de caveol (PARK; SONG; JEONG, 2016; NOVAES *et al.*, 2018). A Tabela 4 traz um resumo das publicações, por ordem de relevância, da *Science Direct*. Os termos de busca usados foram “*cafestol AND kahweol*” e “*cafestol AND kahweol AND bioactivity*”.

Apesar de seus benefícios à saúde, os diterpenos do óleo de café verde (C e K) degradam-se quando expostos a uma superfície aquecida e na presença de oxigênio, o que é agravado por longos tempos de reação e pelo uso de ácidos ou

bases necessárias para a esterificação química. Por isso, faz-se necessário o uso de tecnologias, como da encapsulação, para proteção desses compostos bioativos.

Tabela 4 – Estudos classificados por relevância e pesquisados na base de *Science Direct*, sobre algumas funcionalidades do cafestol e caveol

Funcionalidade	Bioativo	Autoria/Ano
Indução da apoptose das células cancerígenas (HER2)	Caveol	Oh <i>et al.</i> (2018)
Efeito protetor do cafestol em condições carcinogênicas	Cafestol	Tsai <i>et al.</i> (2018)
Propriedades antiinflamatórias e anticancerígenas (Supressão de ciclooxigenase-2 em macrófagos).	Cafestol/ Caveol	Kim; Jung; Jeong (2004)
Efeitos protetores contra o estresse oxidativo e danos no DNA	Cafestol/ Caveol	Lee; Jeong (2007)
Supressão de metástase do fibrosarcoma humano (HT-1080) induzido por PMA pelo kahweol	Caveol	Choi <i>et al.</i> (2019)
Efeito quimiopreventivos em fígado de ratos expostos à xenobióticos.	Cafestol/ Caveol	Huber <i>et al.</i> (2008)
Ação antitumoral de câncer de mama humano	Caveol	Cárdenas; Quesada; Medina (2014)

Fonte: Elaborado pela autora.

## 2.5 Tamarindo e suas propriedades

Várias espécies de árvores produzem frutas e sementes durante a estação seca, sendo importante na minimização da escassez de alimentos. Portanto, oferecem um meio conveniente e barato às pessoas nos países tropicais com uma quantidade adequada de suprimentos de minerais, gorduras, proteínas, carboidratos e fibras (AMARTEIFIO; MOSASE, 2011).

O tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.) é uma planta que se desenvolve em regiões tropicais e subtropicais, tais como Índia, Sudoeste Asiático, África, sul dos Estados Unidos, México, Guatemala, Costa Rica e Brasil. No Brasil, é encontrado em

plantações não organizadas, especificamente, nas regiões do Norte e Nordeste (NASCIMENTO *et al.*, 2011).

Morfologicamente, o fruto do *Tamarindus indica* L. é uma vargem indeiscente alongada variando de 5 a 15 cm de comprimento e diâmetro de 2-3,2 cm. A cor do epicarpo varia de parda a escuro, possuindo estrutura lenhosa e quebradiça, seu mesocarpo tem coloração parda, sendo fortemente ácido e rico em açúcares. A acidez da polpa se deve ao fato de o mesocarpo apresentar 10% de ácido tartárico livre, 8% de tartarato ácido de potássio, além de outros ácidos, como o acético, cítrico, ascórbico e málico. Mesmo ácida, a polpa é rica em açúcares, apresentando 25 a 40% de frutose e pectina, além de substâncias aromáticas (NASCIMENTO *et al.*, 2011).

Segundo Okello *et al.* (2017), a fruta do *T. indica* apresenta propriedades antioxidantes, cerca de 1520mg de fenólicos totais e 240mg de flavonóides totais por 100g de polpa. A fruta é rica em micronutrientes, sendo que o ferro nela presente tem valor superior à taxa média de ingestão diária de 8-18mg, além de também ser uma fonte importante de magnésio, fósforo, cálcio e potássio. A literatura tem relatado também atividade antimicrobiana da polpa e das demais partes do fruto. O uso popular da *T. indica* recomenda o uso em tratamentos para diarreia, infecções por helmintos, malária, diabetes, dentre outros (KURU, 2014).

No Brasil, o fruto apresenta industrialização limitada, mas já existem iniciativas na produção de processados a partir da polpa, dentre eles estão o suco, doces, sorvetes, licores, curry, chutneys e molhos (BVENURA; SIVAKUMAR, 2017).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Material**

A goma de cajueiro bruta foi purificada no Laboratório de Embalagens de Alimentos da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Brasil. A goma arábica foi adquirida da Sigma-Aldrich® e a gelatina (GE) 175H30 foi doada pela Rousselout®. O óleo de café verde (*Coffea arabica* L.) (OCV) rico em cafestol e caveol, obtido via extração com dióxido de carbono supercrítico (DE OLIVEIRA *et al.*, 2014), foi fornecido pelo Laboratório de Tecnologia de Alta Pressão e Produtos Naturais da Universidade de São Paulo (LTAPPN), Pirassununga, Brasil. O fruto do tamarindo (*Tamarindus indica* L.) foi obtido em comércio local da cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. Os

reagentes utilizados - obtidos da Dinâmica, Indaiatuba, Brasil - foram ácido clorídrico (0,7M) e hidróxido de sódio (0,5M) (para calibração do pH); além de etanol, hexano, metanol, clorofórmio, sulfato de sódio, sulfato de zinco, cloreto de potássio, com grau analítico. O reagente terc-metil-butil-eter (Sigma-Aldrich), pureza HPLC, foi utilizado para de quantificação do cafestol. Para a análise de liberação gastrointestinal foram usados pepsina, pancreatina e sais biliares, todos adquiridas da Sigma-Aldrich.

## **3.2 Métodos**

### **3.2.1 Purificação da goma de cajueiro (GC)**

A metodologia de Torquato *et al.* (2004), com modificações foi usada para a purificação do exsudato do cajueiro. A goma bruta foi seca em estufa (60°C/24h) com circulação de ar. Em seguida, foi triturada em moinho de facas e solubilizada em água destilada (1:3 m/v) durante 24h. Após a solubilização, a amostra foi centrifugada (15 krpm por 10 min à 25°C) para descarte do precipitado contendo resíduos. Após essa etapa, a amostra foi precipitada com etanol (1:3 v/v) por 24h sob refrigeração. O sobrenadante foi retirado e o precipitado foi seco em estufa nas mesmas condições de secagem descritas anteriormente. O material já seco foi triturado em moinho analítico (A11 Basic Mill Ika).

### **3.2.2 Determinação da concentração das matrizes encapsulantes**

Foram preparadas soluções de goma de cajueiro, goma arábica e gelatina, separadamente, com concentração de 1% (p/v), para leitura de carga em função do pH de 3,5; 4,0 e 4,5, utilizando um instrumento de dispersão de luz dinâmico Zetasizer (Nano ZS 3000, Malvern, Inglaterra). A partir dos resultados de carga gerados pelo potencial zeta ( $\zeta$ ), determinou-se a proporção adequada de cada biopolímero, bem como o pH de precipitação das microcápsulas (PRATA; GROSSO, 2015).

### **3.2.3 Encapsulação**

As microcápsulas foram produzidas conforme Carvalho Da Silva *et al.* (2018) em duas diferentes fases, usando concentração fixa 0,65% (m/v) de

biopolímero em água. Na primeira fase da pesquisa (descrita em 3.2.6), foi selecionada a combinação de polímeros que proporcionou a formação de microcápsulas com maior dispersividade e estabilidade em diferentes temperaturas. Para isso, utilizou-se gelatina/goma arábica (GE/GA) com proporções de 1:1,20; 1:3,57 e 1:8,2 (p/p), gelatina/goma de cajueiro (GE/GA), com proporções de 1:13,4; 1:1,8 e 1:3,5 (p/p), resultando nas soluções T1, T2, T3, T4, T5 e T6. Essas proporções foram determinadas por estequiometria simples, dividiu-se a carga da gelatina (GE) pela carga do biopolímero (GA ou GC), após a leitura da carga dos biopolímeros usando o Zetasizer (Nano ZS 3000, Malvern, Inglaterra) em diferentes valores de pH (3,5; 4,0 e 4,5). Como material de núcleo, foi utilizado o óleo de café verde (OCV) (50,18 mg cafestol/g e 63,76 mg caveol/g – De Oliveira *et al.* (2014)) com quantidade fixada em 1g (25,6% p/p). Os testes de dispersividade e estabilidade a temperatura foram usados como etapa de corte, indicando a microcápsula (T6) mais adequada para aplicação em suco, será descrito adiante. Na segunda fase desse estudo (*item* 3.2.9), T6 foi avaliada quanto sua máxima capacidade de encapsular o OCV. Para isso, mantiveram-se fixas a concentração (0,65% m/v) do par biopolimérico em relação a quantidade de água e a proporção (1:3,5 (p/p)) ou quantidade usada de cada polímero em relação a concentração total; variando-se, apenas, a quantidade de óleo de café verde (OCV) com percentagens de 25, 50 e 75% (p/p) em relação à massa total de biopolímeros; o que resultou nos tratamentos T625, T650 e T675.

A produção das microcápsulas dividida em três etapas. Na primeira, gelatina, OCV e água destilada (100 mL) foram homogeneizadas para obter uma emulsão óleo em água (O / A). Na segunda etapa, a goma de cajueiro foi dispersa em água destilada (100 mL). Finalmente, emulsão (primeira etapa) foi adicionada à dispersão de goma de cajueiro (segundo etapa). Após isso, foram acrescentados 400 mL de água destilada e o sistema foi novamente agitado. A homogeneização, nas três etapas, foi realizada com um dispositivo Ultra Turrax (IKA T25, Staufen, Alemanha) a 10.000 rpm durante 3 min. Coacervação complexa ocorreu logo após o ajuste do pH para 4,5 sob leve agitação magnética (IKA C-MAG HS7, Staufen, Alemanha). Subsequente, um arrefecimento de 24 h foi necessário para completa precipitação das microcápsulas. Após isso, o sistema foi centrifugado (Multifuge X3R, Waltham, Estados Unidos) (10.000 rpm / 10 min / 25 ° C) e as microcápsulas foram separadas.

As microcápsulas foram liofilizadas (Liotop LP510, São Carlos, Brasil) apenas para as análises de rendimento de processo, capacidade de carga (CC),

eficiência de encapsulação (EE), oxidação acelerada por Rancimat, liberação gastrointestinal simulada e *MEV*.

### **3.2.4 Avaliação do processo de microencapsulação**

#### **3.2.4.1 Análise de determinação de potencial zeta ( $\zeta$ )**

Após o processo de precipitação, foi retirada uma alíquota do sobrenadante para medir a carga elétrica do sistema, usando o equipamento Zetasizer (Nano ZS 3000, Malvern, Inglaterra).

#### **3.3.4.2 Caracterização morfológica**

Para a Etapa 1, a morfologia foi feita coletando-se uma alíquota de microcápsulas úmidas, após ressuspensão de 40rpm/3h, e depositando-a na lâmina. As micrografias foram realizadas em microscópio óptico Zeiss (Axio Imager.A2, Oberkochen, Germany) acoplado a uma câmera (ZEISS, AxioCan ICc 5, Oberkochen, Alemanha) e equipado com o software (Zen 2012 SP2, Oberkochen, Alemanha).

Na Etapa 2 foi feita a microscopia de varredura eletrônica (*MeV*), usando um Microscópio Eletrônico de Varredura Quanta FEG 450 (Thermo Fisher Scientific, Hillsboro, EUA) com baixa energia (10 kV). A amostra de T625 (produzida com 0,65% (m/v) de GE/GC (1:3,5 (p/p)), 25% (p/p) OCV) foi depositada em fitas de carbono (revestida com ouro - por deposição à vapor) e digitalizada usando ampliação entre 154 a 12.000  $\times$ . Também foi estudada a morfologia da microcápsula (T625) após reidratação, usando em microscópio óptico Zeiss (Axio Imager.A2, Oberkochen, Germany).

### **3.2.5 Tamanho de Partícula**

O diâmetro médio das microcápsulas foi obtido através da análise de imagens utilizando o software *ImageJ*, seguindo a metodologia Comunian *et al.* (2017), com modificações. Para cada amostra, foram calculados diâmetros médios 100 de microcápsulas. As imagens foram obtidas, utilizando um microscópio óptico Zeiss (Axio Imager.A2, Oberkochen, Germany).

### **3.2.6 Teste de adequação da microcápsula para aplicação em suco**

Sistemas alimentares hidrofílicos e pouco viscosos apresentam-se desafiadores para aplicação de microcápsulas por coacervação complexa, pois após precipitação, as micropartículas formam um aglomerado viscoso e relativamente coeso. Portanto, foi verificada a adequabilidade das microcápsulas para aplicação no suco, como estudo preliminar. Para isso, as microcápsulas formadas (Etapa 1) foram submetidas à testes de dispersividade (*item 3.2.6.1*) e à diferentes temperaturas (*item 3.2.6.2*), o que resultou na seleção de uma única microcápsula, posteriormente caracterizada (Etapa 2) e aplicada no suco de tamarindo.

#### **3.2.6.1 Dispersividade e análise de variação de temperatura**

A dispersividade foi analisada ressuspensando 2% (m/v) de microcápsulas em água acidificada pH=3,5 (pH final do suco de tamarindo) durante os tempos de 0, 15, 30, 60, 120 e 180min. Para isso, utilizou-se chapa agitadora (IKA C-MAG HS7, Alemanha), com rotação de 40 rpm e temperatura de 25°C. Em cada tempo, uma alíquota foi retirada para leitura no microscópio óptico, a fim de visualizar se as microcápsulas liberavam óleo ao serem dispersas (Axio Imager.A2, Oberkochen, Germany).

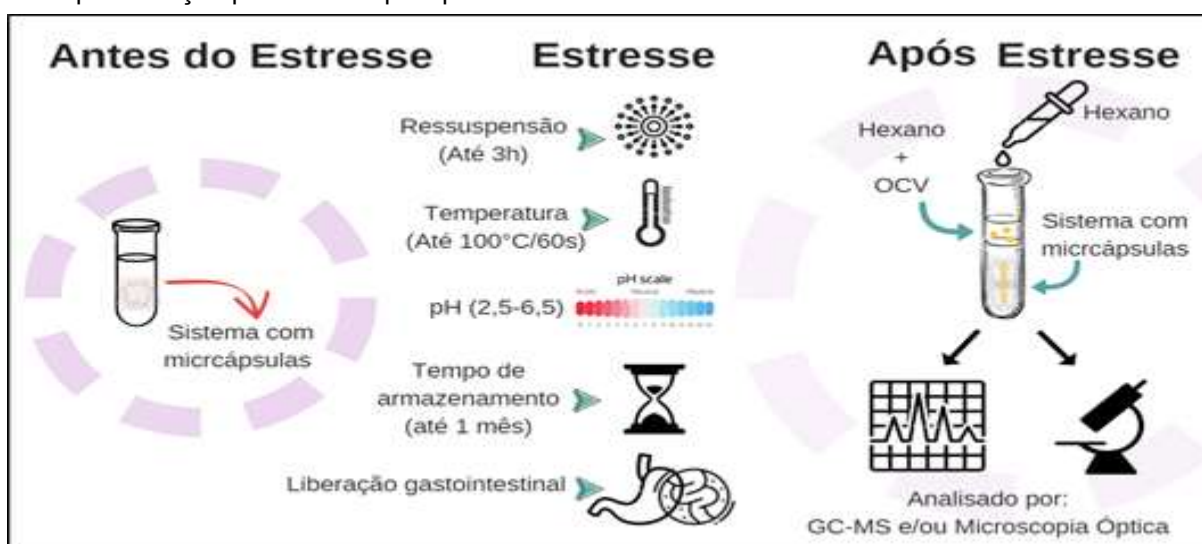
#### **3.2.6.2 Estudo da liberação do cafestol à variação de temperatura**

Posteriormente, a microcápsula de melhor dispersividade foi submetida ao estresse em diferentes temperaturas (40°C/30s, 60°C/30s, 80°C/30s, 100°C/30s). Para isso, foi usado um banho de glicerina, uma chapa aquecedora (IKA C-MAG HS7, Alemanha) e 2% (análise óptica) ou 1% (GC-MS) de microcápsulas em água destilada. Após o estresse por temperatura, as amostras foram arrefecidas em banho de gelo (60s). As micrografias foram feitas usando o microscópio ZEISS Axio Imager.A2, conforme descrito em 2.2.3.2. A captação de OCV liberado pós-estresse e a metodologia para detecção em GC-MS foram descritas nos itens 3.2.7 e 3.2.8 respectivamente.

### 3.2.7 Captação de óleo de café verde pós-estresse

Após o estresse, 5 mL de hexano foi adicionado ao sistema para possibilitar a captação do óleo liberado pelas micropartículas (Figura 8). Após isso, o sistema foi agitado (1 min), a fase lipofílica foi coletada, posteriormente, o hexano foi rotaevaporado (IKA RV 10 CONTROL, Biovera, Brasil). A metodologia para detecção e quantificação de cafestol está descrita na Figura 8, onde há também um resumo gráfico geral para todos as condições de estresses realizados neste trabalho.

Figura 8 - Esquema geral dos estresses (dispersividade ou ressuspensão, temperatura, pH, armazenamento, digestão gastrointestinal simulada) sofridos pela microcápsula de OCV. Identificação e/ou quantificação por microscopia óptica ou GC-MS



Fonte: Elaborada pela autora.

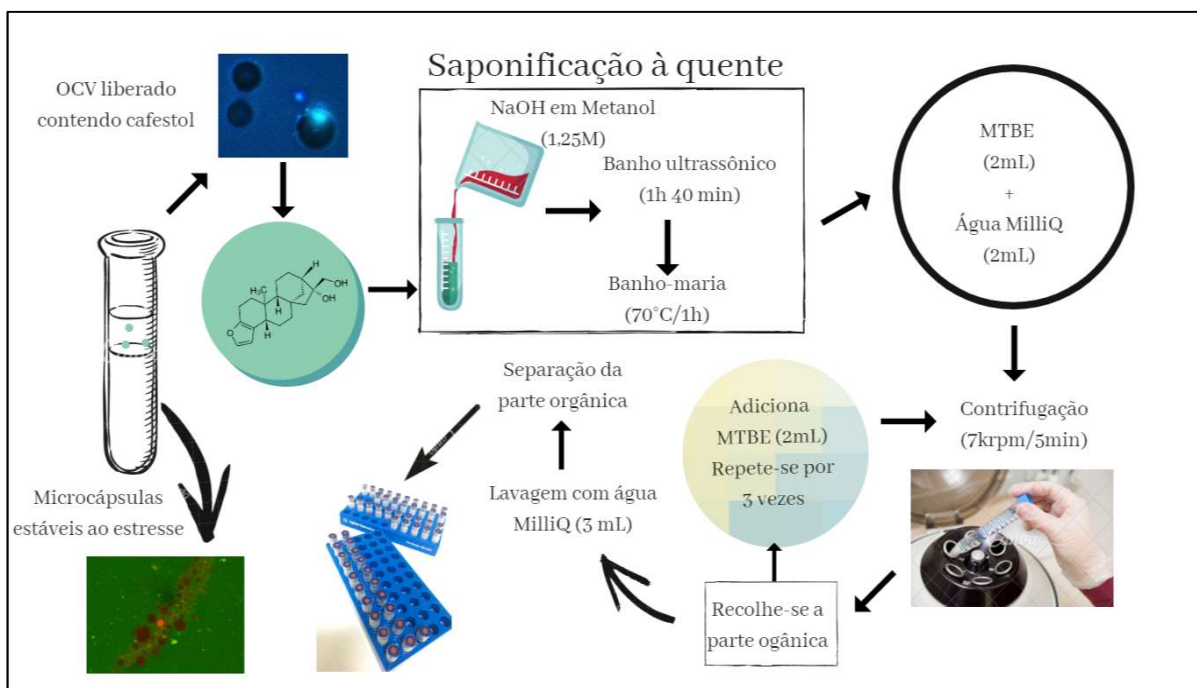
### 3.2.8 Identificação e quantificação de cafestol por CG-MS

Para a identificação e/ou quantificação do cafestol, seguiu-se a metodologia de De Oliveira *et al.* (2014), com adaptações. As amostras foram saponificadas a quente com 2mL de NaOH em metanol (1,25M) e, em seguida, colocadas em banho ultrassônico (Ultra Cleaner 750, Unique, Brasil) por 100 min. Após isso, foram então deixados em banho-maria a 70 °C/1h. Subsequente, adicionou-se 2 mL de terc-metil-butil-eter (MTBE) e 2 mL de água deionizada, seguindo centrifugação de 7.000 rpm/5 min (Multifuge X3R, Waltham, Estados Unidos). A parte orgânica foi coletada e mais MTBE (2 mL) foi adicionado à parte hidrofílica residual. Este procedimento de adição de MTBE e centrifugação foi repetido 3 vezes a fim de coletar todo o cafestol remanescente. Finalmente, foram adicionados



3 mL de água deionizada. Apenas a parte lipofílica foi coletada e rotoevaporada. As frações insaponificáveis não foram silanizadas, como sugerido por De Oliveira et al., 2014. Um esquema está representado na Figura 9.

Figura 9 - Esquema de preparação das amostras para identificação e/ou quantificação do cafestol liberado pelas microcápsulas, segundo a metodologia de De Oliveira et al. (2014)



Fonte: Elaborada pela autora.

Para a leitura, 1mL de amostra foi injetado automaticamente (modelo AOC-500), usando um cromatógrafo a gás Agilent (modelo 7890B), equipado com um detector de massa (modelo 5977A), todos de um mesmo fabricante (Agilent, Santa Clara, EUA) e uma coluna (RTX 5, Restek, EUA) (30 mm, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 de espessura de filme). O programa de temperatura utilizado foi: 15 °C/min de rampa de 80 °C a 220 °C, 7 °C/min até 270 °C, permanecendo por 5 minutos e 5 °C/min até 290 °C, permanecendo por 20 minutos. As temperaturas do injetor e de interface entre o cromatógrafo e o detector de massa seletiva foram de 280 °C e a ionização foi feita por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons mantida a 250 °C. A faixa de varredura de massa foi de 40 a 800 m/z. A quantificação foi realizada através da construção de uma curva de calibração. Para isso, diferentes concentrações do padrão cafestol puro (0, 300, 500, 1000, 1200, 1400, 1600 e 1800ppm) (Santa Cruz Biotechnology, Califórnia, EUA) foram injetadas no equipamento e tiveram suas áreas analisadas no software MassHunter (Agilent, Santa Clara, EUA) (dados não publicados). A relação entre a área do pico *versus*

concentração, possibilitou quantificar o valor de cafestol liberado pós-estresses, pela Equação 1 ( $R^2 = 0,98$ ).

$$\text{Concentração de Cafestol} = \frac{\text{Área do Pico} + .477.845,35}{18.944,07} \quad (1)$$

### 3.2.9 Caracterização de T6 variando-se OCV

A micropartícula selecionada na primeira etapa (T625) foi analisada quanto sua capacidade máxima de encapsular o óleo de café verde. Para isso, o OCV foi variado em 25, 50 e 75% (p/p) e, posteriormente, foi calculado o rendimento de processo, a capacidade de carga (CC) e eficiência de encapsulação (EE).

#### 3.2.9.1 Rendimento do processo de encapsulação

Para a obtenção do rendimento em percentual (Equação 2), calculou-se a relação entre massa total inicial, usada na preparação das microcápsulas e o valor de microcápsula em massa no final do processo, segundo CALDERÓN-OLIVER *et al.* (2017).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{m_f}{m_i} \times 100 \quad (2)$$

Na Equação 2, “ $m_f$ ” corresponde ao valor em gramas da massa seca final de microcápsulas e “ $m_i$ ” ao valor em gramas da massa inicial de gelatina, goma do cajueiro e óleo de café verde.

#### 3.2.9.2 Capacidade de carga (CC)

A capacidade de carga (%) foi determinada dividindo-se o óleo total (OT) retido nas microcápsulas, pela quantidade de óleo de café verde no início do processo (OCV<sub>i</sub>), segundo a Equação 3.

$$CC (\%) = \frac{OT_o}{OCV_i} \times 100 \quad (3)$$

Para a determinação de óleo total, usou-se a metodologia Bligh; Dyer (1959), adaptado por Comunian *et al.* (2018). Após a ruptura das microcápsulas secas (1 g), foi adicionado 5 mL de clorofórmio, 10 mL de metanol e 4 mL de água. Essa mistura foi agitada suavemente (1 min). Em seguida, foi acrescentado 5 mL de clorofórmio e 5 mL de sulfato de sódio a 1,5% (p/ p), sendo novamente agitada por 1 min e mantida em repouso durante 30 min, para separação da fase lipofílica. A fase com clorofórmio e óleo foi levada a estufa a 60 °C até o solvente ser evaporado. Por fim, o OT foi quantificado por diferença gravimétrica.

### 3.2.9.3 Eficiência de encapsulação (EE)

A eficiência de encapsulação (%) determina o percentual que ficou retido apenas na estrutura interna da matriz biopolimérica, sendo calculada conforme a Equação 4, onde OT e OS representam, respectivamente, a quantidade de óleo total e óleo superficial.

$$EE (\%) = \frac{OT - OS_o}{OT} \times 100 \quad (4)$$

Para a determinação do óleo superficial (OS), após a centrifugação, 7 g de microcápsula úmidas foram ressuspensas com 20 mL de água destilada e 10 mL de hexano e homogeneizados (200 rpm / 5 min) em uma incubadora shaker (Solab, SL 222, Piracicaba, Brasil). Após isso, as amostras foram centrifugadas (10.000 rpm, 10 min a 25°C) e o material lipofílico coletado foi evaporado em estufa (modelo, cidade, País) a 60 °C, seguido de quantificação gravimétrica do óleo retido.

### 3.2.10. Estudo da liberação de cafestol de T625 em diferentes valores de pH

A liberação de cafestol por T625 foi investigada em diferentes valores de pH (2,5; 3,5; 4,5; 5,5 e 6,5), no qual o diterpeno foi usado como sinalizador da liberação OCV encapsulado.

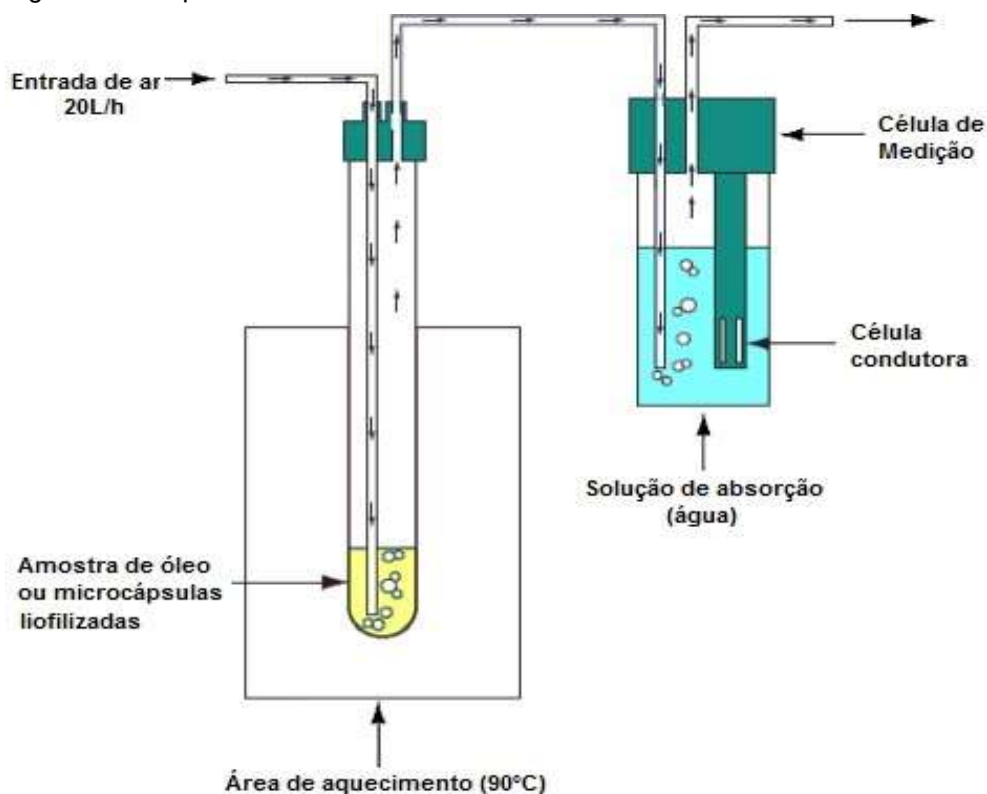
As microcápsulas úmidas (1%) (m/v), após centrifugação, foram dispersas (40 rpm/min) em água destilada e o pH foi ajustado com uma solução de NaOH 0,7 M

ou HCl 0,5 M, à temperatura ambiente. Após isso, as amostras foram submetidas a análise óptica (ZEISS Axio Imager.A2), conforme item 3.3.4.2 e a cromatografia gasosa (Agilent, Santa Clara, EUA), de acordo com os itens 3.2.7 e 3.2.8.

### 3.2.11 Oxidação Acelerada por Rancimat

A oxidação acelerada por Rancimat do OCV puro e encapsulado foi analisada pelo aparelho Metrohm Rancimat 743 (Modelo 873, Herisau, Suíça), de acordo com Comunian *et al.* (2017), com adaptações. Amostras (3 g de OCV puro, 1,5 g de microcápsulas liofilizadas com e sem OCV encapsulado) foram submetidas a uma temperatura de 90 ° C e uma corrente de ar purificado a 20 L/h. Os compostos oxidados, transportados pelo fluxo de ar, foram coletados em água deionizada e o aumento na condutividade da água foi medido continuamente em horas ( $\mu\text{S} / \text{cm}$ ) (Figura 10). O tempo de indução em horas foi utilizado como índice de estabilidade oxidativa. A metodologia é amplamente usada para medir a oxidação microcápsulas com núcleo lipofílico (COMUNIAN *et al.* 2017; MA *et al.*, 2019; NOELLO *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2018a).

Figura 10 - Esquema do teste de Rancimat



Fonte: Adaptado de Jain e Sharma (2010).

### **3.2.12 Simulação de liberação gastrointestinal do cafestol**

A liberação gastrointestinal do cafestol presente nas microcápsulas foi estabelecida de acordo com a literatura (COMUNIAN *et al.*, 2017; GBASSI *et al.*, 2009), com adaptações. O fluido gástrico foi simulado utilizando NaCl a 0,9% (p / p) e pepsina a 0,3% (p / p) numa solução de pH 1,8. Neste sistema, microcápsulas (2% m / V) foram incubadas sob agitação por 30 min e 37 ° C. Na sequência, o sistema foi ajustado para simular a digestão intestinal. Para isso, o pH foi corrigido para 7,8; adicionou-se 1% (p / p) de pancreatina e 0,3% (p / p) de sais biliares. A liberação de cafestol presente nas microcápsulas foi monitorada a 0, 30, 60, 120 e 180 min. Em cada tempo, 10 mL de hexano foram adicionados às amostras para capturar o OCV liberado. Após agitação lenta (1 min), o hexano foi rotavaporado (IKA RV 10 CONTROL, Staufen, Alemanha) e a fase lipofílica foi recolhida. A quantificação do cafestol está descrita na Seção 3.2.8.

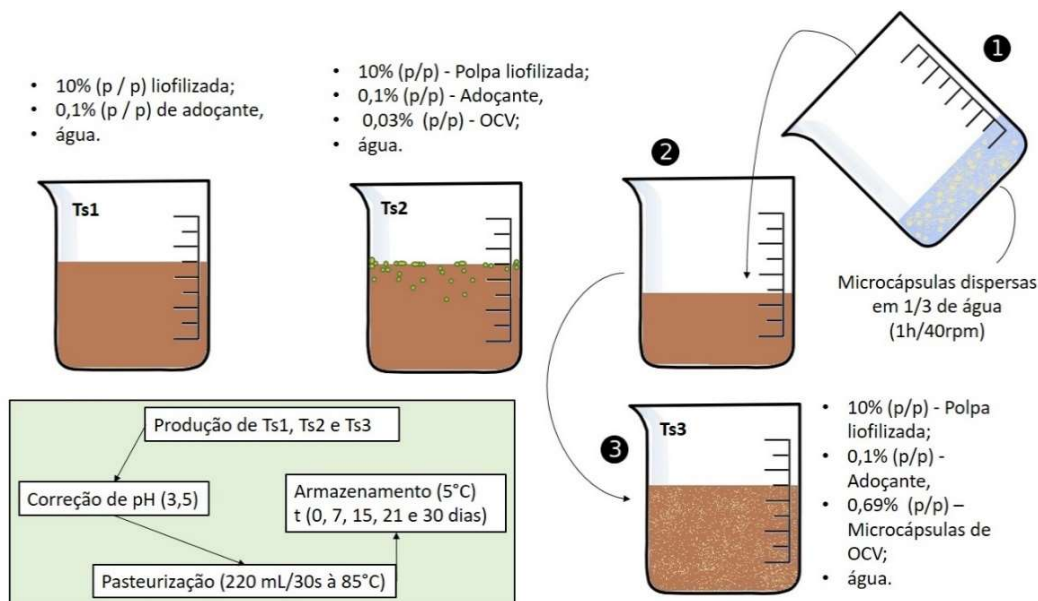
### **3.2.13 Preparação de suco de tamarindo**

Três diferentes tratamentos de suco de tamarindo foram preparados com polpa de tamarindo 10% (p / p) liofilizada e 0,1% (p / p) de adoçante, diluídos em água potável. Ts1 foi o tratamento controle do suco de tamarindo; o tratamento com Ts2, com a adição de 0,03% (p / v) de óleo de café verde não encapsulado; o Ts3, 0,69% (p / v) de microcápsulas foram adicionados à formulação básica. Exclusivamente em Ts3, as microcápsulas foram dispersas em 1/3 do volume de água por 1 h, para facilitar a ressuspensão. Posteriormente, foram adicionadas a outra parte do volume de água e aos ingredientes da formulação, conforme representado na Figura 11. Em Ts2 e Ts3 foi utilizada a mesma quantidade de OCV, ou seja, 0,03 g de óleo livre ou encapsulado em 100 mL da bebida (DE OLIVEIRA *et al.*, 2014).

A quantidade de OCV incorporado ao suco foi estabelecida com base na ingestão diária de cafeína pois ainda não há limite de consumo para o óleo de café verde. Segundo Wikoff *et al.* (2017) efeitos tóxicos ao corpo humano não foram observados quando adultos consumiram até 400 mg de cafeína/dia, mulheres grávidas consumiam 300 mg/dia e crianças 2,5 mg/dia. Vale ressaltar que o OCV apresenta baixos níveis de cafeína, removidos por centrifugação (DE OLIVEIRA *et al.*, 2014). Após a preparação dos tratamentos, o pH do suco foi corrigido para 3,5 usando

KOH (15% p / v). Finalmente, a pasteurização foi realizada em um trocador tubular (Armfield FT74x, Ringwood, Inglaterra), com temperatura ajustada a 85 ° C, utilizando vazão de 220 mL / 30 s.

Figura 11 - Preparo das formulações Ts1 (suco de tamarindo sem adição de compostos bioativos), Ts2 (suco de tamarindo adicionado de óleo de café verde livre rico em cafestol e caveol) e Ts3 (suco de tamarindo contendo microcápsulas)



Fonte: Elaborado pela autora.

Os tratamentos foram envasados a quente (hot fill) em frascos de vidro (250 mL) e tampas rosqueáveis plásticas, previamente sanitizadas com cloro ativo (100 mg. L<sup>-1</sup>). As garrafas foram inclinadas para pasteurização da tampa (3 min), resfriadas em banho-maria, rotuladas e armazenadas por 0, 7, 15, 21 e 30 dias em câmara de refrigeração (5 °C).

### 3.2.14 Caracterização do suco de tamarindo

#### 3.2.14.1 Caracterização morfológica

Os tratamentos Ts1, Ts2 e Ts3 foram caracterizados morfológicamente. Uma alíquota foi coletada e depositada em uma lâmina de vidro. As micrografias foram feitas em microscópio ótico Zeiss (Axio Imager.A2, Oberkochen, Alemanha) e por MeV (Quanta FEG 450, Thermo Fisher Scientific, Hillsboro, EUA) com aumento de 1.980x.

Para melhor visualização, o suco foi microfiltrado com o auxílio de uma bomba de vácuo (Buchi, bomba de vácuo V700, Valinhos, Brasil).

#### *3.2.14.2 Determinação do pH, sólidos solúveis totais, acidez total titulável*

O pH das amostras foi analisado utilizando um medidor de pH (Jenway 3505 Meter, Staffordshire, Inglaterra) calibrado com soluções tampão 7,0 e 4,0 a 25 °C, segundo método 13.010 da A.O.A.C., 1984. SST foi medido com um refratômetro digital (Atago, PAL-3, Minato-ku, Tóquio) conforme nº 932.12 da AOAC (1997). A ATT da amostra foi determinada com um titulador automático (MS Tecnopeon, Mpa 210, Piracicaba, Brasil) utilizando NaOH 0,1 M, expresso em porcentagem de ácido tartárico, segundo método nº 942.15 da A.O.A.C., 1997, para amostras de suco de tamarindo em 0, 7, 15, 21 e 30 dias.

#### *3.2.14.3 Cor*

A cor dos tratamentos de suco armazenados (5 °C) foi determinada usando um colorímetro (Konica Minolta Modelo CR400, Tóquio, Japão) nos tempos 0, 7, 15, 21 e 30 dias. A cor dos tratamentos foi determinada pelas coordenadas instrumentais da cor, usando os parâmetros L\* (branco (100) a preto (0)), a\* (verde (-) a vermelho (+)) e b\* (amarelo (+) a azul (-)) do sistema CIE. A diferença total de cores ( $\Delta E$ ), após 30 dias de armazenamento, foi calculada pela Equação (5).

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (5)$$

#### *3.2.14.4 Reologia*

A viscosidade aparente das amostras foi determinada (0, 7, 14, 23, 30 dias), utilizando um reômetro (Thermo Scientific HAAKE™ MARS™, Waltham, EUA), com cilindro concêntrico (CC16 DIN Ti) (D = 15.700 mm, L = 23.544 mm  $\beta = 120^\circ$  e gap de 3,318 mm), e sistema Peltier (TM-PE-C, Waltham, EUA) acoplado a um banho (Haake A 10, Waltham, EUA). Testes de rotação foram realizados, a 25 °C, com taxas de cisalhamento (0,1 s<sup>-1</sup> a 100 s<sup>-1</sup>) e descidas (100 s<sup>-1</sup> a 0 s<sup>-1</sup>), controladas pelo

software *Haake Rheowin Job Manager*, de acordo com a literatura (DE CASTILHOS *et al.*, 2018, DE CASTILHOS *et al.*, 2017), com modificações.

Os resultados dos dados experimentais foram modelados usando de tensão e taxa de cisalhamento pelo procedimento de estimação não-linear do software *OriginPro* 2018. Para isso, foram testados os modelos de Ostwald-de Waele (Equação 6) e Herschel-Bulkley (Equação 7). O melhor modelo reológico, que ajustou os dados experimentais, foi selecionado de acordo considerando o coeficiente de determinação ( $R^2$ ),

$$\tau = k (\dot{\gamma})^n \quad (\text{Equação 6})$$

$$\tau = \tau_0 + k (\dot{\gamma})^n \quad (\text{Equação 7})$$

onde:  $\tau$  = tensão de cisalhamento (Pa),  $k$  = índice de consistência (Pa.s),  $n$  = índice de comportamento do fluxo (adimensional),  $\dot{\gamma}$  = taxa de cisalhamento ( $s^{-1}$ ).

### **3.2.15 Liberação de cafestol a partir de microcápsulas aplicadas em suco**

A liberação de cafestol a partir de microcápsulas dispersas no suco (Ts3) foi monitorada por 0, 7, 15, 21, 30 dias. Em cada tempo, 5 mL de hexano foram dispensados no sistema na razão de 2: 1 (amostra Ts3 / hexano). A amostra foi levemente agitada durante 1 min para solubilizar o OCV liberado. Em seguida, a fase lipofílica foi coletada e o hexano foi rotavaporado (IKA RV 10 CONTROL, Staufen, Alemanha). A liberação de cafestol, detectada por cromatografia gasosa (etapa descrita na secção 3.2.8), foi utilizada como indicador da estabilidade das microcápsulas de OCV aos 30 dias.

### **3.2.16 Avaliação sensorial**

Essa avaliação sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Cultura e Arte da Universidade Federal do Ceará. O número Certificado de Apresentação de Ética (CAAE) foi 56393715.5.0000.5054.

Os ensaios foram realizados em laboratório do Instituto de Cultura e Arte (ICA) da Universidade Federal do Ceará, com condições de iluminação, ruídos e temperatura controladas. A avaliação sensorial foi realizada com a participação de



130 consumidores. As amostras foram servidas em copos plásticos de 180 mL codificados com números aleatórios de três dígitos. Esses recipientes foram entregues juntamente com um copo de água mineral, para eliminação do sabor residual na boca.

As amostras foram apresentadas utilizando o delineamento de blocos completos balanceados. As amostras foram avaliadas quanto aos atributos de impressão global, consistência, sabor e cor. Para isso, foi utilizada uma escala hedônica, estruturada com 9 pontos (1 = desgostei extremamente e 9 = gostei extremamente) (Meilgaard, Civille e Carr, 2007).

A avaliação sensorial foi realizada com a participação de 130 consumidores não treinados. Os participantes foram questionados sobre o quanto gostaram de suco de tamarindo. Respostas como "não gostei" ou "gostei um pouco" foram caracterizadas como um fator de exclusão, participando da análise estatística 34 homens, 28 mulheres e 16 provadores que não marcaram a opção de sexo, totalizando 78 degustadores, com idade entre 18 e 65 anos.

Após o teste de aceitação, os provadores foram convidados a preencher um questionário chamado *Check-All-That-Apply* (CATA), o qual apresentava 8 termos descritivos relacionados com as características sensoriais das amostras de suco de tamarindo ("muito ácido", "pouco ácido", "cor marron", "cor escura", "sabor residual", "sabor de óleo", "sabor de café", "aroma de café"). Durante o teste, os consumidores foram orientados a assinalar com a letra X nos termos do CATA que melhor descreviam as características percebidas nas amostras. No questionário CATA, a frequência de uso de cada termo foi determinada pela contagem do número de consumidores que usaram os mesmos termos em maior número de vezes de acordo com Vidal *et al.* (2015). O RATA, por sua vez, foi utilizado para quantificar esses descritores utilizando uma escala numérica de intensidade (1 - pouco / fraco até 5 - muito / forte) (ARES *et al.*, 2014).

### **3.3 Análise estatística**

Os dados dos testes de aceitação foram avaliados por ANOVA, seguido por comparações das médias dos valores hedônicos pelo teste de *Tukey* a 5% de probabilidade. O teste de Cochran Q foi realizado para identificar diferenças significativas de cada atributo do método CATA (MANOUKIAN, 1986). Foi realizada a contagem da frequência na tabela CATA a fim de compreender o posicionamento

das quatro amostras de suco de tamarindo segundo a percepção dos consumidores, juntamente com sua amostra ideal.

Os resultados também foram avaliados através da análise dos componentes principais (ACP) com gráficos bidimensionais e os testes de médias apresentados de forma tabular e gráfica. Todas as análises estatísticas foram realizadas por XLSTAT (2019) *software* para Windows versão 1.2 (Adinsoft, Paris, França). Para as demais análises também foi feita ANOVA e *Tukey* (significância de 5%), utilizando o programa estatístico Origin (OriginLab), versão 8.0.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Determinação da proporção das matrizes encapsulantes

Na Tabela 5, tem-se os valores de carga dos polímeros quando o pH variou (3,5; 4,0 e 4,5). Essa variação (3,5-4,5) foi escolhida por ser, seguramente, mais baixa que o ponto isoelétrico (pI) da gelatina B (Rousselout®), que segundo Ciannamea *et al.* (2018), apresenta pI = 5,1. No ponto isoelétrico, a gelatina precipita sem interação eletrostática com o polissacarídeo, e acima dele, assume valores negativos, não sendo adequada para interação por coacervação complexa (PAL; BAJPAI; BAJPAI, 2018; WANG *et al.*, 2018b).

Pode-se observar que, à medida que o pH diminui, a carga líquida positiva da dispersão de gelatina aumentou. Perfil semelhante foi encontrado em Klassen; Nickerson (2012) e Jamróz *et al.* (2018).

Considerando os polissacarídeos usados, verificou-se que tanto goma arábica quanto goma do cajueiro exibiram um potencial zeta negativo, estando de acordo com a literatura (GOMEZ-ESTACA *et al.*, 2016; SHADDEL *et al.*, 2018a; SHADDEL *et al.*, 2018b; SILVA *et al.*, 2018; TIMILSENA *et al.*, 2017, WU *et al.*, 2018).

A goma do cajueiro teve seu valor de carga diminuído quando o pH aumentou, e esse é um fator positivo para coacervação complexa, pois quanto menor for a carga, maiores são as chances de interação entre os colóides e sua precipitação (DUCEL *et al.*, 2004).

Para goma arábica, o valor absoluto da carga não diferiu estatisticamente ( $p < 0.05$ ) em pH=3,5 e pH=4,0. De acordo com Ducel *et al.* (2004) em valores de pH superiores a 3, o módulo de potencial zeta da goma arábica aumenta lentamente.

Tabela 5 - Valores de potencial zeta de gelatina (GE), goma arábica (GA) e goma de cajueiro (GC), dispersadas separadamente (1%) e variando-se o pH em 3,5; 4,0 e 4,5

pH	Polímeros	$\zeta$ (mV)
3,5	GE	15,28 ± 0,87 <sup>a</sup>
	GA	-18,28 ± 0,29 <sup>h</sup>
	GC	-1,14 ± 0,07 <sup>d</sup>
4,0	GE	5,09 ± 0,35 <sup>b</sup>
	GA	-18,19 ± 0,49 <sup>h</sup>
	GC	-4,67 ± 0,25 <sup>e</sup>
4,5	GE	2,61 ± 0,38 <sup>c</sup>
	GA	-21,48 ± 0,44 <sup>g</sup>
	GC	-9,18 ± 0,36 <sup>f</sup>

Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Em pH=4,5 a goma arábica apresentou módulo de carga maior, se comparado as cargas apresentadas nos outros valores de pH (3,5 e 4,0) estudados. Esse resultado é coerente, pois em pH 4,5 havia menor concentração de hidrogênio livre (carga positiva), resultando em menor interferência na carga parcial de GA (Tabela 5). Segundo Ravindran *et al.* (2018), o pH afeta quantitativamente as interações eletrostáticas e as cargas dos polímeros dispersos.

## 4.2 Avaliação do processo de microencapsulação

O processo de microencapsulação é atribuído à interação entre grupos carboxila do polissacarídeo e os grupos amino-protonados da proteína.

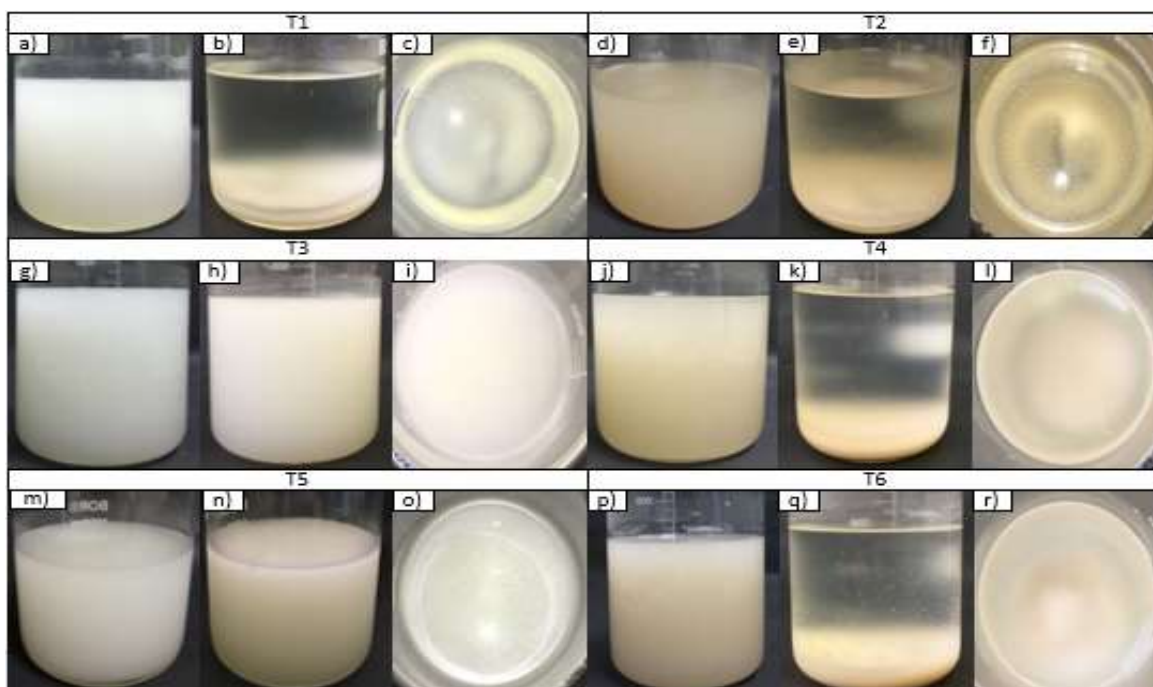
A Figura 12 mostra as soluções (T1 à T6) logo após a correção do pH (a, d, g, j, m e p) e depois do descanso de 24h (overnight) em temperatura refrigerada, sendo “b”, “e”, “h”, “k”, “n” e “q” a vista frontal e “c”, “f”, “i”, “l”, “o” e “r”, vista transversal. Arrefecer o sistema é importante, pois favorece ligações de curto alcance (*van der Waals*) que são predominantes em sistemas de coacervação complexa (PATTERSON, 1982).

Ainda considerando a Figura 12, tem-se que T1, T2, T4 e T5 separaram em duas fases heterogêneas, formando uma fase concentrada em polímeros e outra diluída. Inicialmente, a coacervação complexa forma microcápsulas coacervadas muito finas, denominada de microcoacervação. No decorrer do processo, as micropartículas se aglutinam, formando partículas maiores, com alta densidade e, por

isso, decantam no fundo do recipiente, estágio chamado de macrocoacervação (Figura 12) (TIMILSENA *et al.*, 2019). A fase de transição entre a micro e macrocoacervação ocorre porque os biopolímeros repelem a água intermolecular, aumentando a entropia do sistema, acarretando na turvação da solução (Figura 12 – a, d, g, j, m, p), mas, na sequência, seguem a tendência natural de agregação, no qual o sistema perde energia e diminui a entropia (SINGH; ASWAL; BOHIDAR, 2007). Em T3 e T5 não houve formação de microcápsulas por coacervação complexa, pois a emulsão permaneceu turva e sem decantação mesmo após *overnight*.

Após a verificação da adequabilidade da parede, o sistema T6 (GE/GA em pH 4,5) foi escolhido como mais adequadas para aplicação em suco (discutida no *item* 4.4). Portanto, as microcápsulas de T6 foram também estudadas quanto a sua capacidade máxima de carregar o óleo de café verde. Para isso, a quantidade de OCV foi variada em 25, 50 e 75% (p/p) e as soluções estão apresentadas na Figura 13.

Figura 12 - T1, T2, T3, T4, T5 e T6 são, respectivamente, as emulsões GE/GA (pH=3,5), GE/GC (pH=3,5), GE/GA (pH=4,0), GE/GC (pH=4,0), GE/GA (pH=4,5), GE/GC (pH=4,5)  
a, d, g, j, m e p perspectivas verticais logo após a correção de pH (3,5);  
b, e, h, k, n e q são perspectivas verticais após *overnight* e  
c, f, i, l, o e r são as vistas transversais logo após *overnight*

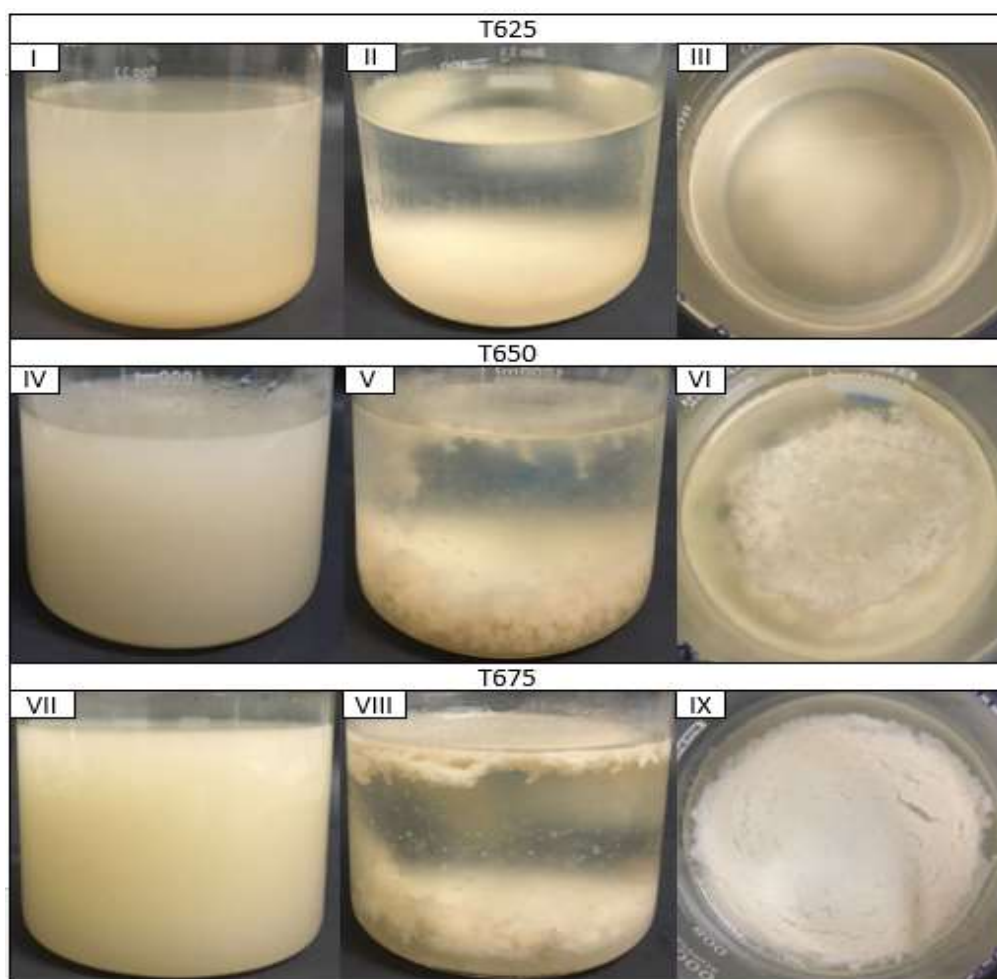


Fonte: Elaborado pela autora.

A Figura 13 mostra que, quando a quantidade de OCV foi aumentada no sistema, a macrocoacervação foi afetada uma vez que as microcápsulas não decantaram, ao contrário, flocularam. Sugere-se que as microcápsulas de GC/GE

mais cheias de óleo, ficaram mais leve, resultando em uma menor densidade, por isso aglomerou em cima. Mayya; Bhattacharyya; Argillier, 2003, encapsulando óleo de parafina, relataram precipitação no fundo e floculação topo semelhante a esse trabalho. Huang *et al.* (2012) coacervando proteína de soja e quitosana em função dos valores de pH obtiveram precipitados esponjosos semelhantes a T650 [0,65% (m/v) de GE/GC (1:3,5 (p/p)), 50% (p/p) OCV] e T675 [0,65% (m/v) de GE/GC (1:3,5 (p/p)), 75% (p/p) OCV]. Apesar de os tratamentos com 50 e 75% de OCV (p/p) terem floculado, houve encapsulação confirmada pela análise óptica (Figura 15) e análises de rendimento do processo, capacidade de careamento e eficiência de encapsulação (item 4.5).

Figura 13 - I, II, III são, respectivamente, vista vertical logo após a correção de pH=4,5, vista vertical e horizontal logo após *overnight* da solução T1, com 25% (p/p) de OCV. IV, V, VI são vista vertical logo após a correção de pH=4,5, vista vertical e horizontal logo após *overnight* da solução T1, com 50% (p/p) de OCV, respectivamente. VII, VII, IX são vistas vertical logo após a correção de pH=4,5, vista vertical e horizontal logo após *overnight* da solução T1, com 75% (p/p) de OCV, nessa ordem Fonte:



Elaborado pela autora.

#### 4.2.1 Análise de determinação de potencial zeta ( $\zeta$ )

A Tabela 6 mostra os resultados de zeta  $\zeta$  (mV) para as emulsões T1, T2, T3, T4, T5 e T6, bem como, dos tratamentos T625, T650 e T675 variando-se a quantidade do óleo de café verde em 25, 50 e 75% (p/p) (Tabela 6). Quanto mais próximo de zero for a carga, mais complexados estão os pares de polímeros (MARQUES DA SILVA et al., 2018). Essa condição é observada em T1, T3, T4 e T6, mas não ocorre em T3 e T5, pois apresentaram alto valor de em módulo de carga, condição evidenciada na Figura 13 e confirmada pelo  $\zeta$  (mV).

Tabela 6 - Valor de potencial zeta dos sistemas (T1, T2, T3, T4, T5 e T6) precipitados em diferentes valores de pH (3,5; 4,0 e 4,5)

Tratamento	pH de coacervação	Proporção Biopolimérica (p/p)	OCV (p/p) (%)	Precipitação	$\zeta$ (mV)
T1	3,5	1:1,2	25,6%	Precipitou	-0,97 $\pm$ 0,11 <sup>de</sup>
T2		1:13,4	25,6%	Precipitou	-0,88 $\pm$ 0,12 <sup>d</sup>
T3	4	1:3,6	25,6%	Não precipitou	-16,64 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>
T4		1:1,8	25,6%	Precipitou	2,03 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>
T5	4,5	1:8,2	25,6%	Não precipitou	-19,91 $\pm$ 0,20 <sup>c</sup>
T6		1:3,5	25,6%	Precipitou	-1,59 $\pm$ 0,06 <sup>def</sup>
T625	4,5	1:3,5	25%	Precipitou	-1,86 $\pm$ 0,44 <sup>ef</sup>
T650		1:3,5	50%	Precipitou / Floculou	-2,15 $\pm$ 0,26 <sup>f</sup>
T675		1:3,5	75%	Precipitou / Floculou	-1,90 $\pm$ 0,11 <sup>ef</sup>

Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de *Tukey*.

GanesH *et al.* (2018) relataram que ter alto valor absoluto de carga permite com que repulsão eletrostática dos polímeros sejam elevadas o suficiente para evitar a agregação, precipitação e decantação das microcápsulas, como ocorreu nas formulações T3 e T5 (Figura 12).

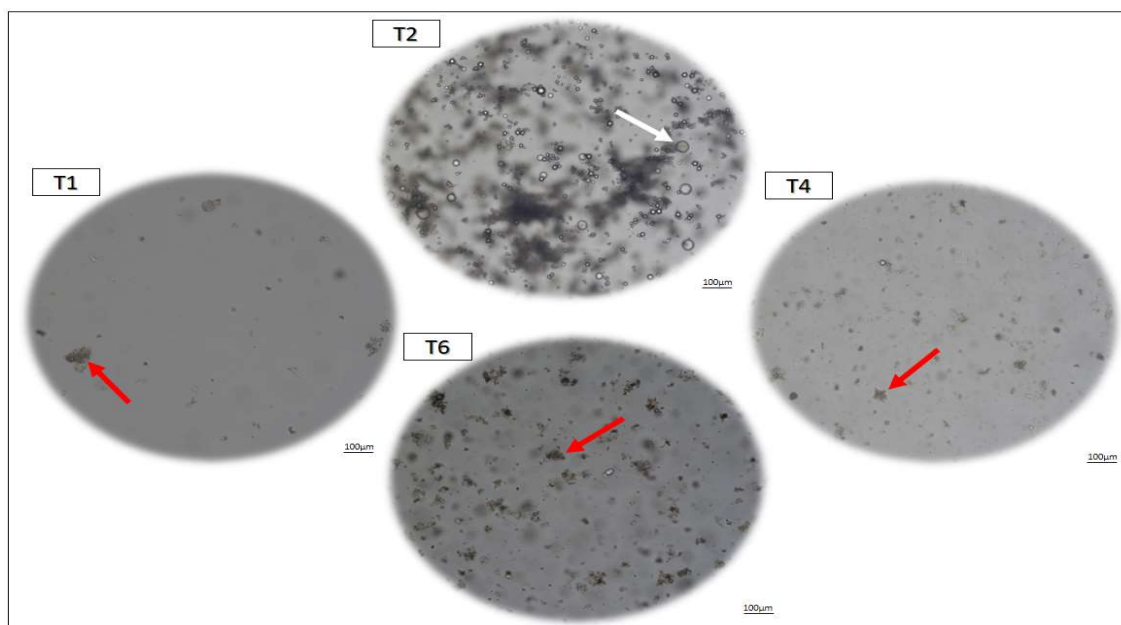
Marques da Silva *et al.* (2018) trabalharam com encapsulação de *Bifidobacterium Bb -12* usando GE/GA e formaram microcápsulas em pH=4,0, porém, esses autores utilizaram gelatina tipo A, diferente da que foi usada nesta pesquisa. Além do uso de gelatinas distintas, coacervação complexa é afetada por parâmetros como temperatura, ponto isoelétrico, razão de mistura, flexibilidade de cadeia e distribuição de sequência de carga de polieletrólito (PATHAK *et al.*, 2017). Gomez-

Estaca *et al.* (2016), usando os pares de proteína-polieletrólito (gelatina/goma arábica e gelatina/goma do cajueiro) para encapsular astaxantina a partir de resíduos de camarão, não conseguiram formar microcápsulas de GE/GA em pH próximo ou abaixo de 4,0, divergindo deste trabalho, pois, foi possível formar microcápsulas de GE/GA em pH mais baixos (pH=3,5) (Figura 12). Já para microcápsulas formadas de goma de cajueiro e gelatina, o mesmo trabalho (GOMEZ-ESTACA *et al.*, 2016) relatou formação quando o pH variou de 3,5 - 5,0, semelhante ao nosso trabalho, quando foi usado o mesmo par biopolimérico (GE/GC).

#### 4.2.2 Microscopia óptica

As análises morfológicas das microcápsulas úmidas foram realizadas apenas com os tratamentos da primeira etapa que apresentaram precipitação (T1, T2, T4 e T6) e também com T625, T650 e T675, quando se variou a quantidade de OCV em T6 (25, 50 e 75% (p/p)) em relação ao material de parede (Figura 14). A microscopia de varredura eletrônica (MEV) foi feita somente de T625 (melhor microcápsula selecionada) (Figura 15).

Figura 14 - Microscopia óptica de T1, T2, T4 e T6 com aumento de 10x e escala de 100  $\mu\text{m}$ . Seta vermelha indicam óleo de café verde encapsulado e branca indica óleo não encapsulado



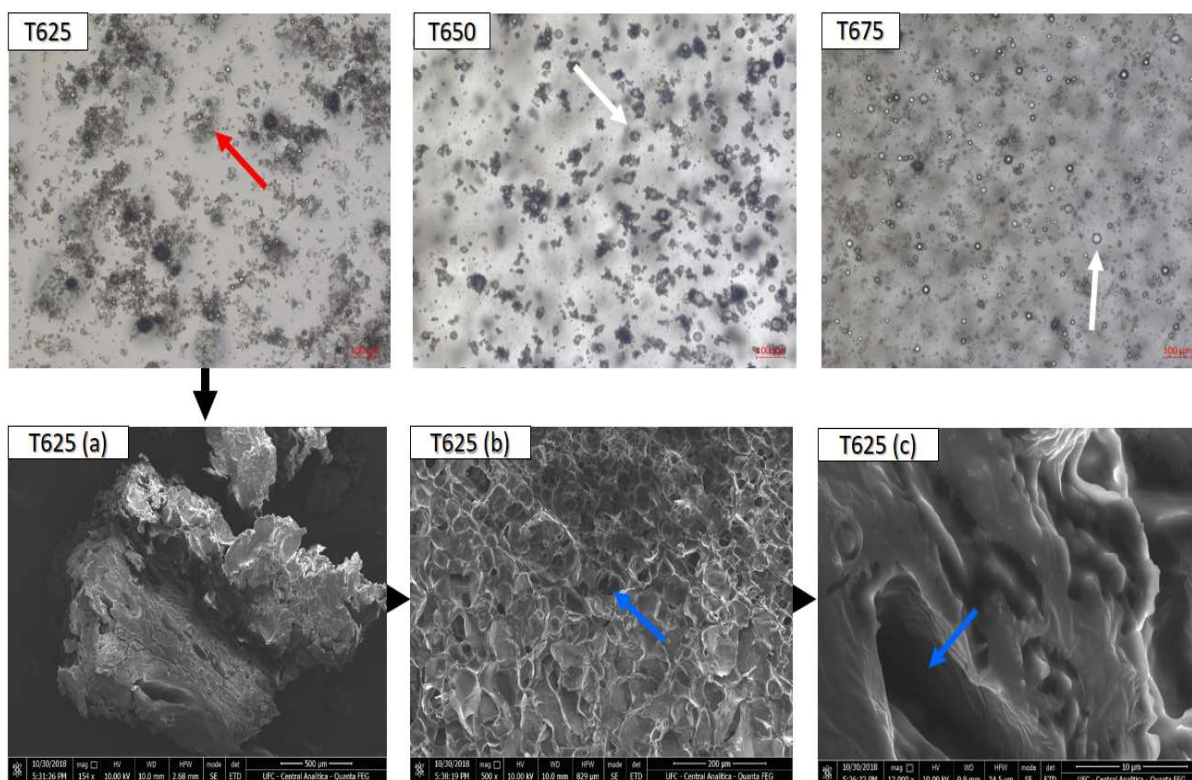
Fonte: Elaborado pela autora.

Quanto à micrografia (óptica) das microcápsulas úmidas analisadas, todos os tratamentos apresentaram microcápsulas multinucleadas e polimórficas, com o



material de parede encapsulando todo o óleo de café verde. De Souza *et al.* (2018) encapsularam um extrato de canela rico em proantocianidina por coacervação complexa, com GE/GA e GE/GC e encontraram formatos semelhantes desta pesquisa. Ter morfologia multinucleada é importante, pois proporciona liberação controlada do núcleo (SHADDEL *et al.*, 2018a; SHADDEL *et al.*, 2018b). Comunian *et al.* (2018), usando GE/GA e GE/CG, encapsularam óleo de semente de echium e beta-sitosterol e observaram que as microcápsulas com goma arábica apresentaram morfologia circular com paredes definidas, diferindo dessa pesquisa; contudo, as microcápsulas com goma do cajueiro, foram similares ao nosso trabalho. Gomez-Estaca *et al.* (2016) também relataram características estruturais semelhantes as dessa pesquisa (polinuclear e irregular) quando usaram como material de parede o par biopolimérico gelatina e goma do cajueiro.

Figura 15 -Microscopia óptica de T625, T650 e T675 com aumento de 10x e escala de 100  $\mu\text{m}$ . Microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas secas de óleo de café verde (T625) obtidas por coacervação complexa, com aumento de (a) 154 x (b) 500 x (c) 12000 x. Seta vermelha indicam óleo de café verde encapsulado, branca indica óleo não encapsulado e azul indica os poros da estrutura



Fonte: Elaborado pela autora.

Os tratamentos T2 (Figura 14), T650 e T675 (Figura 15) mostraram liberação de óleo encapsulado quando agitados 40rpm/3h. Outros trabalhos, usando a metodologia de coacervação complexa, porém com materiais de parede e/ou núcleos diferentes nesta pesquisa, apresentaram morfologia similar a desta pesquisa

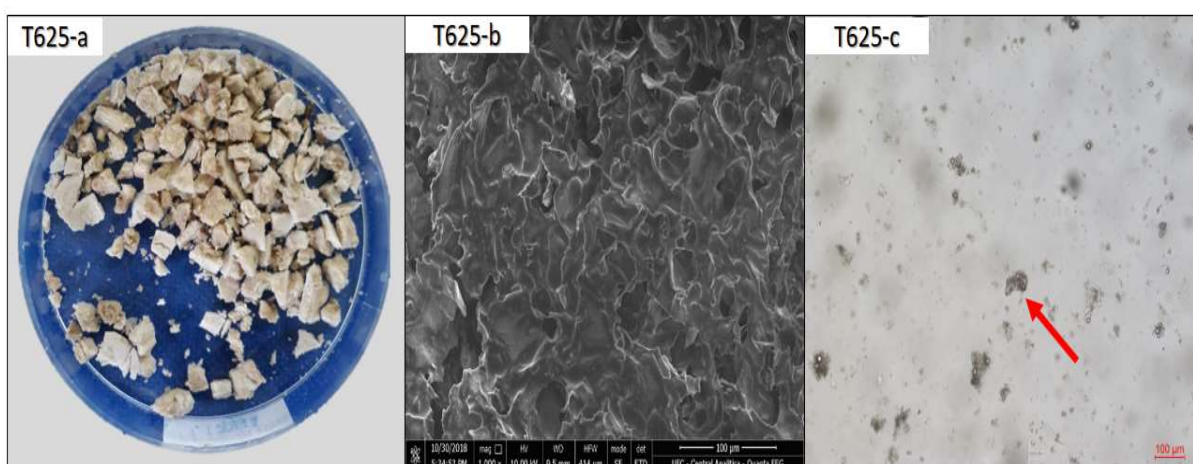


(CALDERÓN-OLIVER *et al.*, 2017; ESPINOSA-ANDREWS *et al.*, 2010; MENDANHA *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2018).

A microscopia de varredura eletrônica das microcápsulas secas de OCV (25% p/p) e paredes GE/GC (T625) apresentou também estruturas aglomeradas e polimórficas, com superfície porosa e formando redes interligadas pelo contato da matriz durante o processo de liofilização (Figura 15 a-c). Xiao *et al.* (2019) relataram que os poros são atribuídos à vaporização da água aprisionada durante o processo de secagem. Esse resultado foi semelhante a um estudo atual usando o mesmo material de parede (COMUNIAN *et al.*, 2018). Silva *et al.* (2018) encapsularam *Bifidobacterium* Bb-12 por coacervação complexa com paredes de GE/GA e também relatou estrutura irregular interligada. Outras pesquisas por coacervação complexa, apresentaram estruturas semelhantes à de T625 (RODRIGUES DA CRUZ *et al.*, 2019; BEZERRA *et al.*, 2019; MATOS-JR *et al.*, 2019; XIAO *et al.*, 2019), por isso, infere-se que a morfologia da microcápsula seca depende, exclusivamente, do processo de secagem e da tecnologia de encapsulação empregada.

A microcápsula (T625) foi novamente hidratada e voltou ao seu formato inicial (Figura 16). Gomez-Estaca *et al.* (2016) observaram comportamento semelhante em microcápsulas liofilizadas de GC/GE contendo astaxantina, pois relatou ao serem reidratadas voltavam ao formato original.

Figura 16 - Microcápsula T625 (a) liofilizada, (b) Microscopia de varredura eletrônica com aumento de 1000x, (c) Microscopia óptica, aumento de 10x e escala de 100  $\mu\text{m}$ . Seta vermelha indica cavidades/poros e azul indicam óleo de café verde encapsulado



Fonte: Elaborado pela autora.

Portanto, embora o processo de liofilização tenha resultado na perda da estrutura inicial das microcápsulas de T625, como observado por MeV (Figura 16), isso não

compromete sua aplicação, principalmente em alimentos úmidos, como é o caso do suco de tamarindo.

### 4.3 Tamanho de Partícula

O tamanho de partícula é uma medida importante quando se deseja aplicar as microcápsulas como ingrediente alimentar e pode ser controlado principalmente pelo tamanho inicial da emulsão e pela espessura do material da parede (MA *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2018).

A coacervação complexa permite obtenção de microcápsulas na faixa de 1 a 500  $\mu\text{m}$ , sendo que, para a aplicação em alimentos é conveniente que as microcápsulas tenham tamanhos inferiores a 100  $\mu\text{m}$ , pois facilita a aplicação, além de permitir baixa percepção sensorial (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008; COMUNIAN *et al.*, 2016b).

Pela Tabela 7, percebe-se que o tamanho das microcápsulas variou de  $10,07 \pm 0,86$  à  $24,10 \pm 2,08$   $\mu\text{m}$ . Todas apresentaram distribuição unimodal e polidispersividade (SDV variando de 3,02 à 0,63).

Tabela 7 - Tamanho médio de partícula ( $\mu\text{m}$ ) de T1, T2, T4 e T6 usando como material de parede GE/GA (pH=3,5), GE/GC (pH=3,5), GE/GC (pH=4,0) e GE/GC (pH=4,5), respectivamente, e OCV 25,6% (p/p) constante. Tratamentos T625, T650 e T675 foram feitos com GE/GC (pH=4,5) e variou-se a quantidade de OCV em 25%, 50% e 75% (p/p)

Tratamento	Tamanho ( $\mu\text{m}$ )
T1	$19,50 \pm 3,02$ <sup>bc</sup>
T2	$24,10 \pm 2,08$ <sup>b</sup>
T4	$10,07 \pm 0,86$ <sup>a</sup>
T6	$15,67 \pm 1,56$ <sup>abc</sup>
T625	$14,56 \pm 0,63$ <sup>ac</sup>
T650	$22,67 \pm 3,02$ <sup>bc</sup>
T675	$19,73 \pm 2,46$ <sup>bc</sup>

Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Os tratamentos T2, T50 e T675 apresentaram tamanhos de partícula um pouco maiores que os demais tratamentos, isso ocorreu porque o óleo, liberado durante a homogeneização das microcápsulas úmidas, interferiu no cálculo, inevitavelmente foram também contabilizados pelo programa *ImageJ*. Fatores como a concentração de polímero, pH, força iônica, relação núcleo-parede também afetam no tamanho das microcápsulas (GOMEZ-ESTACA *et al.*, 2016).

Considerando apenas os tratamentos (GE/GA ou GE/GC) que não liberaram óleo durante a ressuspensão das microcápsulas (T1, T4, T6 e T625) tem-se que seus diâmetros,  $19,5 \pm 3,02 \mu\text{m}$ ;  $10,07 \pm 0,86 \mu\text{m}$ ;  $15,67 \pm 1,56 \mu\text{m}$  e  $14,56 \pm 0,63 \mu\text{m}$ , respectivamente, foram menores que os relatados por Souza *et al.* (2018), Gomez-estaca *et al.* (2016) e Comunian *et al.* (2016a), todos usam os mesmos pares de polímeros para encapsulação por coacervação complexa. Portanto, esse é um fator positivo deste estudo, pois quanto menor o tamanho de partícula, menor será o impacto na textura dos alimentos (COMUNIAN *et al.*, 2016b).

Comparando-se as microcápsulas formadas por goma arábica (T1) e as de goma do cajueiro que não liberam o óleo (T4, T6 e T625) temos que as microcápsulas formadas por goma arábica foram maiores que T6 e T625, e quase duas vezes maior que a T4, estando em conformidade com a literatura, pois microcápsulas feitas com goma arábica são, comprovadamente, maiores que aquelas formadas por goma do cajueiro (COMUNIAN *et al.*, 2016b).

Quando se variou a quantidade de óleo de café verde em 25, 50 e 75% (p/p) da microcápsula T6, a partícula com menos óleo de café verde (T625) apresentou menor tamanho ( $14,56 \pm 0,63 \mu\text{m}$ ) comparado as de 50 e 75% (T650 e T675), sendo semelhante ao valor encontrado em um estudo usando gelatina e goma do cajueiro (COMUNIAN *et al.*, 2017).

#### **4.4 Teste de adequação da microcápsula para aplicação em suco**

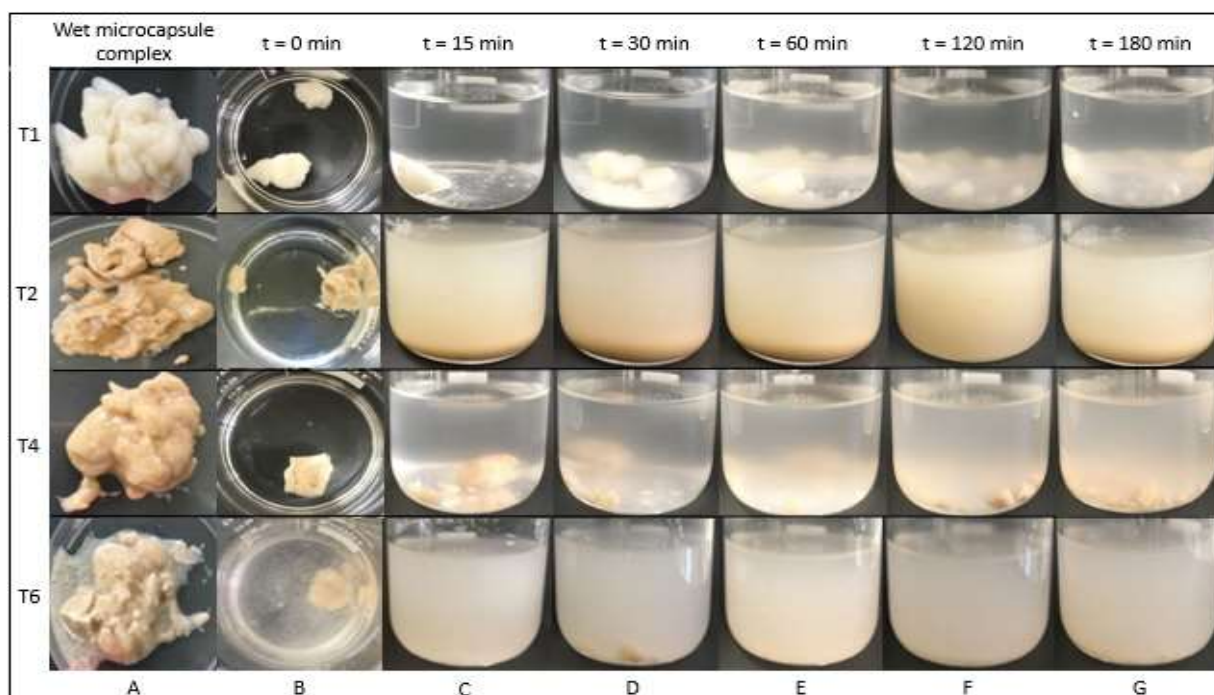
##### **4.4.1 Dispersividade**

As microcápsulas úmidas obtidas por coacervação complexa tendem a aglomerar, formando uma rede agregada que aprisiona as moléculas do núcleo (Figura 17 – A). Segundo Gonçalves *et al.* (2018), a tendência a aglomeração deve-se à ausência de cargas superficiais. Outros estudos usando a coacervação complexa

também relataram sobre aglomeração das microcápsulas (CALDERÓN-OLIVER *et al.*, 2017; GONÇALVES *et al.*, 2018; HASANVAND; RAFE; EMADZADEH, 2018; MA *et al.*, 2019; SCHMITT *et al.*, 2001; YUAN *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2018). Assim, a produção das microcápsulas de OCV para aplicação em suco (sistema hidrofílico e pouco viscoso) exigiu que fosse selecionado uma combinação polimérica com melhor dispersão e que propiciasse uma mínima liberação de óleo. Por isso, todos os sistemas que efetivamente formaram microcápsulas (T1, T2, T4, e T6 - Figura 12) foram analisados quanto a sua capacidade de dispersividade em água acidificada (pH =3,5), durante 0 (A), 15 (B), 30 (C), 60 (D), 120 (E) e 180 (F) minutos (Figura 17). As condições de tempo (t=180 min), rotação (40 rpm) foram determinadas experimentalmente, uma vez que atenderam a testes iniciais feitos com suco de tamarindo.

Na Figura 17 – A, tem-se as microcápsulas aglomeradas após a centrifugação. De B-C (Figura 17), nenhum tratamento apresentou aglomerado (convenciou-se chamar de complexo) com ligação irreversível entre os pares poliméricos, ou seja, nenhuma amostra gelificou. Isso mostra que a concentração de 0,65% (m/v) e a proporção biopolimérica (p/p) (Tabela 5) estavam adequadas.

Figura 17 – Microcápsulas úmidas dispersas em 0 (A), 15 (B), 30 (C), 60 (D), 120 (E) e 180 (F) min, com concentração de 2% (m/v) em água acidificada (pH=3,5). T1, T2, T4 e T6 são, respectivamente, GE/GA (pH=3,5), GE/GC (pH=3,5), GE/GC (pH=4,0), GE/GC (pH=4,5)

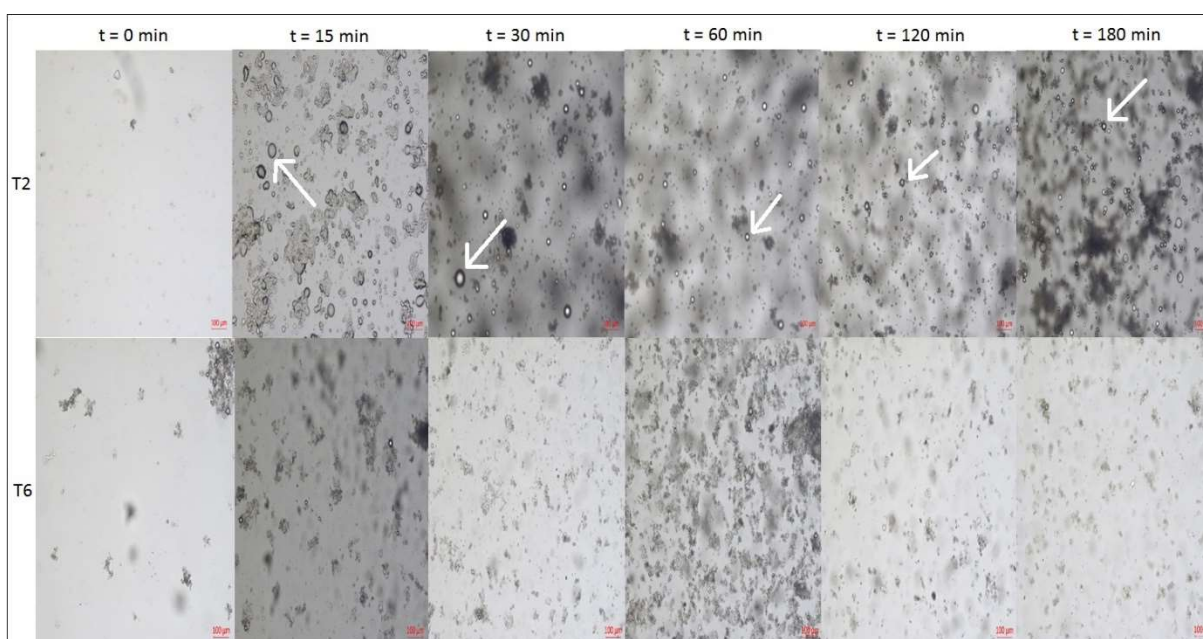


Fonte: Elaborado pela autora.

Relacionando a Tabela 6 com a Figura 17, percebeu-se que quanto maior a proporção de gelatina se comparado ao polissacarídeo, mais coeso tornou-se o complexo (T1 – 1: 1,2 e T4 – 1:1,8). Da mesma forma, os tratamentos T2 e T6, ambos feitos com GE/GC e proporções de 1:13,4 e 1:3,4, respectivamente, apresentaram maior dispersividade e, portanto, foram submetidos à análise óptica, a fim de avaliar a capacidade de segurar o OCV, sob estresse de agitação.

Correlacionando a Figura 17 com Figura 18, tem-se que T2 já apresentava alta dispersão em 15min, porém liberou OCV (Figura 18). Com o passar do tempo, as gotículas de óleo, inicialmente grandes, diminuíram de tamanho devido a agitação do sistema. Comparando T2 (1:13,5 – GE/GC) com T6 (3,5:1 – GE/GC), observa-se que a alta porção de goma de cajueiro em T2, resultou em um complexo extremamente frouxo, liberando o OCV no sistema. Por sua vez, o complexo de microcápsulas T6 dispersaram bem e o OCV permaneceu encapsulado.

Figura 18 - Microscopia óptica dos tratamentos T2 e T6 feitos com GE/GA (pH=3,5) e GE/GA (pH=4,5), respectivamente, dispersos em água (pH=3,5) nos tempos 0, 15, 30, 60, 120 e 180 min. Setas vermelhas indicam OCV encapsulado e brancas, OCV livre. Micrografias com aumento de 10x e escala de 100  $\mu\text{m}$



Fonte: Elaborado pela autora.

#### **4.4.2 Estudo da liberação de cafestol à variação de temperatura**

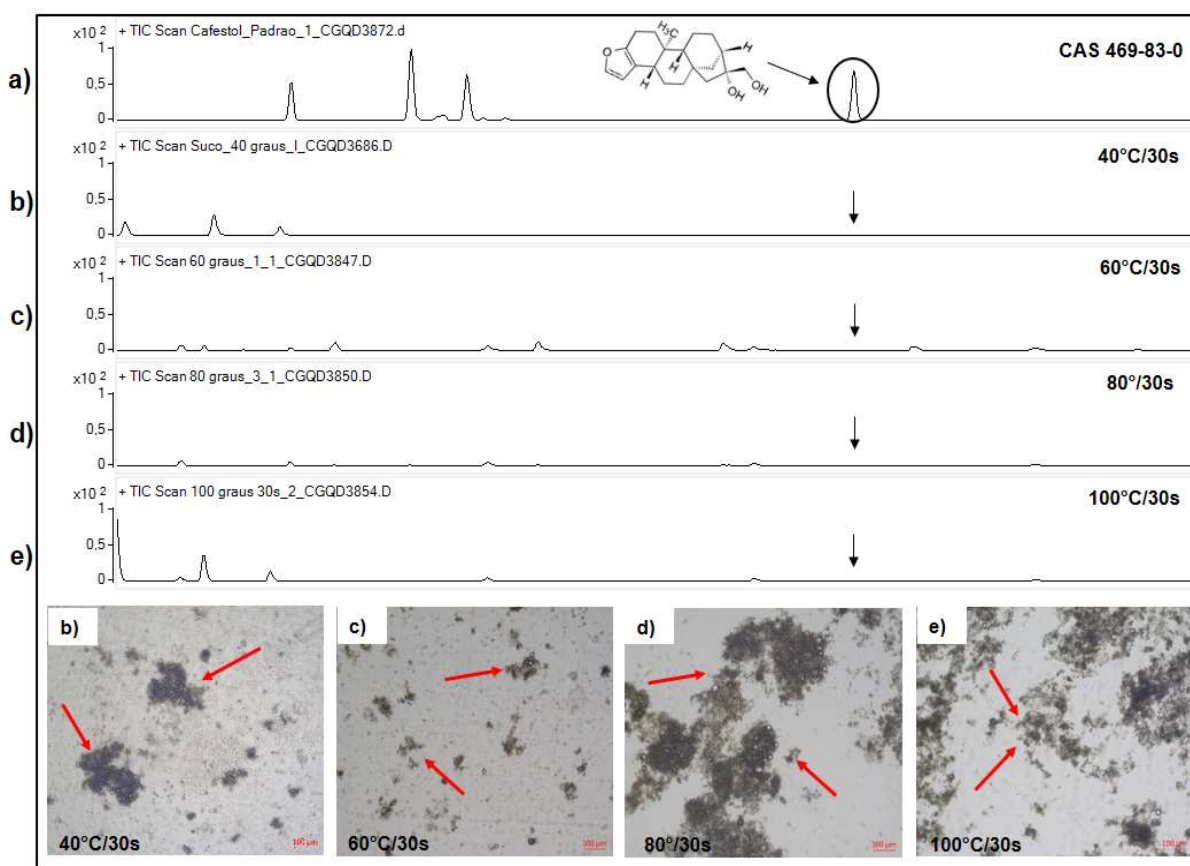
As microcápsulas obtidas por coacervação complexa podem ser destruídas pelas características físico-químicas do alimento e/ou de processamento no qual ele é submetido, o que sua limita incorporação. O aquecimento, por exemplo, causa



agitação entre as moléculas, o que pode desarranjar o complexo polissacarídeo-proteína (Comunian *et al.*, 2016a). Portanto, para simular as condições de pasteurização (72°C/15s) e verificar inferências da temperatura na liberação de óleo, amostra T6 foi analisada, uma vez que apresentou maior dispersividade e menor liberação de OCV.

Na microscopia óptica (Figura 19) foi possível observar que, em todas as temperaturas, o OCV permaneceu dentro da rede biopolimérica. Além disso, os cromatogramas (b à e) não detectaram cafestol no sistema, o que indicou, com maior precisão, a preservação do OCV dentro da microcápsula de T6.

Figura 19 - Liberação de cafestol pelas microcápsulas T6, quando submetidas às temperaturas de 40°C/30s (b), 60°C/30s (c), 80°C/30s (d), 100°C/30s (e) e 100°C/60s (f). Detecção por GC-MS e análise óptica, com aumento de 10x e escala de 100 µm. Em (a) tem-se o cromatograma do cafestol padrão. Setas vermelhas mostram OCV encapsulado e pretas mostram o pico do cafestol



Fonte: Elaborado pela autora.

Comunian *et al.* (2016a), quando encapsularam o óleo de echium com GE/GC, usando 5 min de exposição ao calor, relataram liberação de óleo a partir de 40°C. Em contrapartida, quando houve reticulação com ácido sinápico e transglutaminase, as paredes foram resistentes a temperaturas um pouco maiores que 80°C. Assim, T6 mostrou-se mais eficiente que as microcápsulas do estudo

citado, pois mesmo sem reticulação, resistiram ao estresse à temperatura até 100°C (Figura 19). Desse modo, T6 foi escolhida para análises de caracterização variando-se óleo de café verde.

#### 4.5 Caracterização de T6 (GE/GC (1:3,5 (p/p)), variando-se OCV

Após a definição do complexo mais adequado, o tratamento T6 (0,65% (m/v) de GE/GC (1:3,5 (p/p)), em pH=4,5) foi avaliado quanto sua capacidade máxima de carregar o óleo de café verde. Para isso, quantidade de OCV foi variada de 25, 50, 75 % (p/p), resultando nos tratamentos T625, T650 e T675 (Figura 13). A caracterização foi analisada em termos de rendimento, capacidade de carga e eficiência de encapsulação (Tabela 8).

A Tabela 8 mostra que o rendimento variou de  $33,49 \pm 0,34$  (%) em T625 à  $28,70 \pm 6,51$  (%) em T675, ou seja, percebe-se que o aumento do material de núcleo diminui o valor do rendimento. Isso ocorre porque o óleo dificulta a adsorção dos polímeros e a exposição de grupos carregados.

Tabela 8 - Porcentagem do rendimento de processo, capacidade de carga (CC) e eficiência de encapsulação (EE) dos tratamentos T625, T650 e T675, quando o OCV foi variado de 25, 50 e 75%. Foi usada a mesma proporção biopolimérica (1:3,5) de GE/GC em pH=4,5

Tratamento	Rendimento de Processo (%)	Capacidade de carregamento (CC) (%)	Eficiência de encapsulação (EE) (%)
T625	$33,49 \pm 0,34^a$	$30,87 \pm 4,69^a$	$85,57 \pm 2,41^a$
T650	$31,59 \pm 4,50^a$	$30,35 \pm 11,02^a$	$94,18 \pm 0,61^b$
T675	$28,70 \pm 6,51^a$	$32,47 \pm 4,29^a$	$90,95 \pm 2,93^{ab}$

Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferença ( $p < 0,05$ ) pelos testes de Anova e Tukey.

Corroborando, Gonçalves *et al.* (2018) e Shi *et al.* (2018) observaram que na ausência de óleo, a complexação produziu um alto rendimento, contudo foi diminuída quando o óleo foi adicionado. Jun-Xia; Hai-Yan; Jian (2011) obtiveram rendimentos semelhantes aos do nosso trabalho, quando encapsularam por coacervação complexa óleo de laranja doce, usando goma arábica e quitosana em diferentes valores pH (2,5; 3,0; 3,5). Chang *et al.* (2016), ao otimizarem a coacervação complexa de isolado proteico

de canola (IPC) e quitosana, apresentaram rendimentos próximos aos deste trabalho (20 a 35%), quando variaram IPC e quitosana de 1:2 até 6:1. Já Shi *et al.* (2018) obtiveram rendimentos menores que os nossos (5-15%) quando encapsularam óleo de krill por coacervação complexa.

Ainda sobre o rendimento, pode-se observar na Tabela 8 que, ao aumentar a concentração de óleo em 50% e 75%, o desvio padrão de T650 e T675 cresceu, se comparado a T625, isso ocorreu devido a flocculação do complexo (Figura 13– V/VI e VIII/IX), fator que dificultou a coleta do material mesmo após a centrifugação.

A capacidade de carga (CC) mensura quanto de material de núcleo foi retido pelas microcápsulas no final do processo, comparando-se com a massa inicial de óleo. Na Tabela 8, CC variou de  $30,87 \pm 4,69$  a  $32,47 \pm 4,29$  (%) (p/p) e não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) quando a quantidade de óleo de café verde aumentou. Nesse caso, infere-se, que houve uma saturação de carregamento, fato associado a concentração biopolimérica usada (0,65% (m/v)). Quando se relaciona a capacidade de carga (CC (%)) (p/p) com o rendimento de processo (%) (p/p) das microcápsulas de GE/GC, verifica-se que há maior quantidade de óleo de café verde encapsulado em T675 > T650 > T625 por total de microcápsulas secas. Capacidades de carregamento diversas estão relatadas na literatura e Shaddel *et al.* (2018a) conclui que isso se deve às diferenças de núcleo, de classes de macromoléculas formadoras da parede e da relação entre eles. Este estudo apresentou maior capacidade de carga se comparado a YANG *et al.*, 2014 que encapsulou óleo de baunilha por coacervação complexa (19,5 a 21,7% de CC) e Calderón-Oliver *et al.* (2017) que obteve de  $3,05 \pm 0,08$  a  $13,59 \pm 1,23$  (%) de carregamento quando encapsulou, usando o mesmo método, nízina e extrato de abacate. Trabalhos recentes apresentam capacidades de carregamento por coacervação complexa semelhantes as encontradas nesta pesquisa (SHADDEL *et al.*, 2018a; SHADDEL *et al.*, 2018b).

Na Tabela 8 são apresentados os valores de eficiência de T625 ( $85,57 \pm 2,41\%$ ), T650 ( $94,18 \pm 0,61\%$ ) e T675 ( $90,95 \pm 2,93\%$ ). A eficiência de encapsulação é a quantidade de óleo que ficou retida internamente na matriz biopolimérica, ou seja, em T625, dos  $30,87 \pm 4,69$  (%) de óleo de café verde carregado,  $85,57 \pm 2,41$  (%) foi aprisionado dentro da parede de GE/GC. Souza *et al.* (2018), trabalhando com o complexo GE/GC para encapsular extrato de canela, obteve  $86 \pm 6$  (%) de eficiência de encapsulação próximo ao valor T625 e inferior as de T650 e T675. Gomez-Estaca *et al.* (2016) usando o mesmo complexo (GE/GC) apresentou uma EE (%) de  $59,9 \pm$



0,01 (%), valor semelhante foi relatado por Feng *et al.* (2018), com eficiência de 58,75  $\pm$  4,47 (%), ambos apresentaram EE (%) inferior a todos tratamentos deste trabalho.

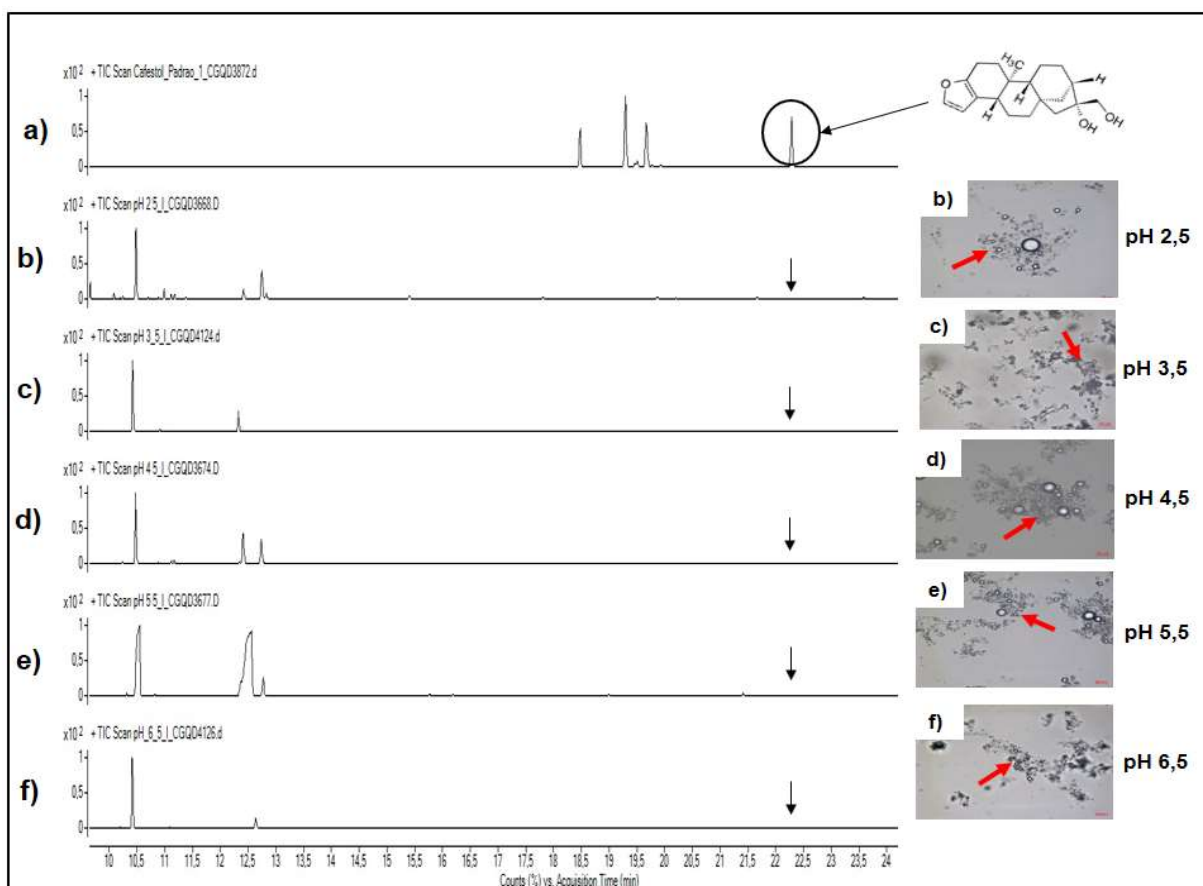
Ter CC (%) e EE (%) altas ou baixas podem apresentar vantagens ou desvantagens, por exemplo, cargas baixas de material encapsulado pode resultar em mais material de núcleo para obter uma concentração de ingrediente ativo no produto final. Por outro lado, microcápsulas com capacidade de empacotamento maior apresentam como desvantagens menor proteção do ingrediente encapsulado (SHADDEL *et al.*, 2018a; SHI *et al.*, 2018). Segundo Oxley (2014), conforme a concentração do material do núcleo eleva-se, a proteção da matriz biopolimérica diminui. Somando-se a isso, a quantidade de material do núcleo na superfície da microcápsula aumenta, resultando na rápida degradação ou na liberação no ambiente circundante. Foi isso que aconteceu com T650 e T675, pois mesmo apresentando maior eficiência (Tabela 8), liberaram o óleo após agitação de 3h (Figura 14), operação necessária e discutida anteriormente para dispersar o complexo. Assim, o tratamento T625 com 25% de OCV (p/p) foi escolhido para as próximas fases do trabalho, pois apresentou maior rendimento de processo, satisfatória capacidade de carga e boa eficiência.

#### **4.6 Estudo da liberação de cafestol de T625 em diferentes pH**

O pH afeta as ligações do complexo proteína-carboidrato devido à influência no grau de ionização dos grupos amino-protonados, que pode induzir o processo de liberação do conteúdo da microcápsula de uma maneira desejável ou indesejável (MATOS-JR *et al.*, 2019). A Figura 20-a apresenta as imagens captadas pela microscopia óptica do material obtido por coacervação complexa em diferentes valores de pH (2,5 a 6,5). No pH = 2,5 (Figura 20 a -b) o complexo pareceu mais espalhado, com gotículas grandes de óleo perto do perímetro da microcápsula. Apesar de o cromatograma não ter detectado o pico de cafestol (Figura 20 a -b), o que indica a não liberação de OCV, o complexo mostrou-se dissociável e frágil. Comunian *et al.*, 2016a, verificando a estabilidade de microcápsulas de GE/GC, relatou que pH extremos (2,0 e 8,0), a parede da cápsula tornou-se mais frágil, embora tenha permanecido intacta. De acordo com Matos-Jr *et al.* (2019), à medida que os valores de pH se distanciam do valor usado para a coacervação, é possível verificar que as delimitações das microcápsulas são consideravelmente enfraquecidas. Em pH=3,5

(Figura 20 a -c), o mesmo do suco de tamarindo, não houve detecção de cafestol, além disso, as microcápsulas estavam mais bem agrupadas e compactadas, com gotículas de óleo mais próximas e menores. Nos pH 4,5, 5,5, e 6,5 (Figura 20 -d, e, f), o mesmo comportamento foi observado, ou seja, as microcápsulas não sofreram mudanças consideráveis em sua estrutura. Também não houve detecção de cafestol liberado no sistema, podendo-se inferir que as microcápsulas produzidas com gelatina e goma do cajueiro são resistentes em uma gama de pH. Diferentes estudos, não evidenciaram liberação de material de núcleo na faixa de 2,5 a 5,6 (COMUNIAN *et al.*, 2016a; MATOS-JR *et al.*, 2019; CHUNG; MCCLEMENTS, 2015).

Figura 20 - Liberação de cafestol pelas microcápsulas T625, quando submetidas ao pH 2,5 (b), 3,5 (c), 4,5 (d), 5,5 (e) e 6,5 (f). Detecção por GC-MS e análise óptica, com aumento de 40x e escala de 20  $\mu$ m. Em (a) tem-se o cromatograma do cafestol padrão. Setas vermelhas mostram OCV encapsulado e pretas mostram o pico do cafestol



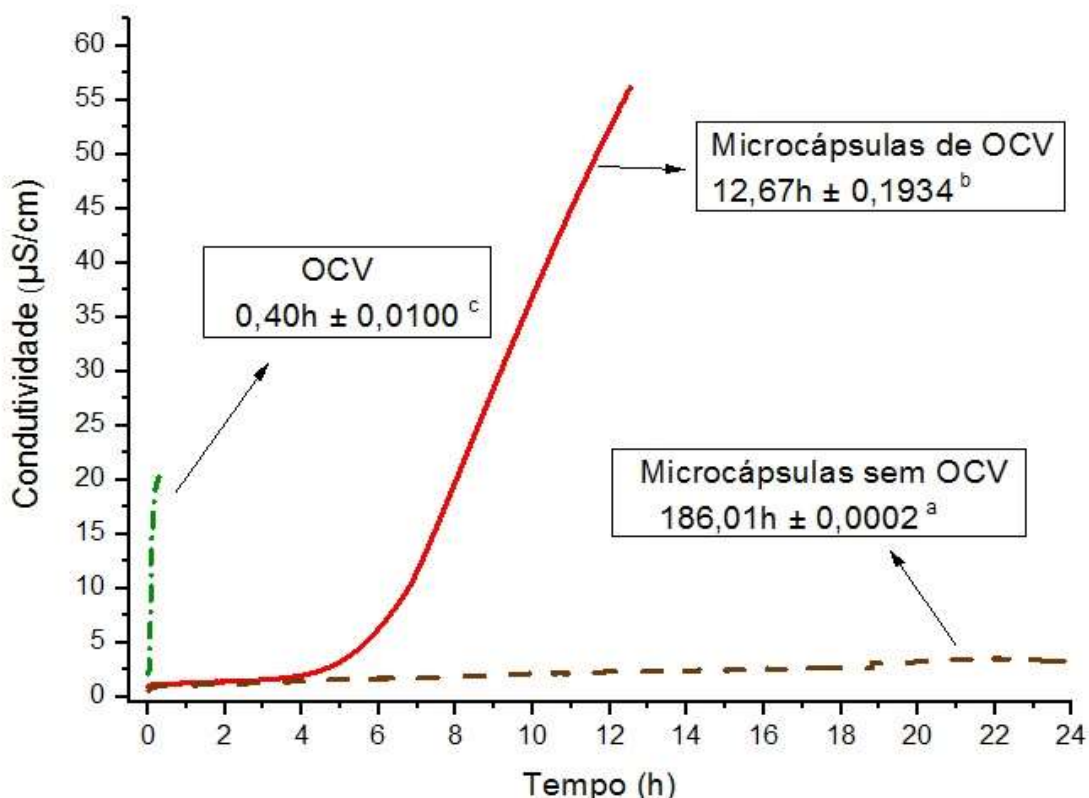
Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.7 Oxidação acelerada por Rancimat

Os produtos da oxidação lipídica provocam a rejeição dos consumidores, além de causar a degradação dos compostos bioativos. Portanto, o prolongamento da estabilidade torna-se necessário para a indústria alimentícia e para o consumidor final.

O índice de estabilidade oxidativa (IEO) e os comportamentos de oxidação do óleo de café verde livre e das microcápsulas sem e com OCV estão apresentados na Figura 21.

Figura 21 - Tempo de indução das amostras de óleo de café verde não encapsulado (linha verde). Linhas vermelha e marrom mostram o tempo de indução de microcápsulas com e sem óleo de café verde, respectivamente



Fonte: Elaborado pela autora.

A amostra de OCV puro, rico em cafestol e caveol, mostrou-se bastante instável, sendo oxidada logo no início da análise. Quando encapsulado, o óleo de café verde apresentou estabilidade oxidativa até 6h, oxidando completamente em 12,64h. Ou seja, comparando-se a estabilidade oxidativa da ambos (OCV livre ou encapsulado), a encapsulação diminuiu a oxidação do OCV em, aproximadamente, 6 vezes, comparado ao óleo livre. Portanto, a coacervação complexa mostrou-se eficaz no aumento da estabilidade do óleo de café verde. Pode-se inferir também que, a oxidação das microcápsulas com OCV foi, primordialmente, resultante do material de núcleo e não da parede ou de possíveis íons remanescentes o ajuste de pH (durante o processo coacervação), uma vez que oxidação das microcápsulas sem OCV foi significativamente ( $p < 0,05$ ) prolongada por 186,01 h.

Ma *et al.*, 2019, estudando o efeito das condições de processamento na estabilidade oxidativa de microcápsulas lipídicas durante coacervação complexa, relataram que o material de parede, o pH, a velocidade de agitação ou razão biopolimérica não afetam estabilidade oxidativa das microcápsulas. Corroborando, WOO; KIM; LEE (2019), afirmaram que o índice de estabilidade oxidativa está diretamente associado a natureza físico-química do óleo encapsulado (composição de triacilgliceróis, ácidos graxos, grau de instauração, presença de agentes antioxidantes, metais pró-oxidativos e compostos anfífilicos do óleo encapsulado).

Comunian *et al.*, 2017, utilizando o mesmo par biopolimérico de GE/GC para encapsular óleo de echium e fitoesterol, conseguiram reduzir a oxidação dos tratamentos não reticulados em apenas duas vezes, inferior a este trabalho. Trabalhos recentes também apresentaram oxidação das partículas mais rápida que as microcápsulas de T625 (DI GIORGIO; SALGADO; MAURI, 2019; MA *et al.*, 2019; WANG; ADHIKARI; BARROW, 2018).

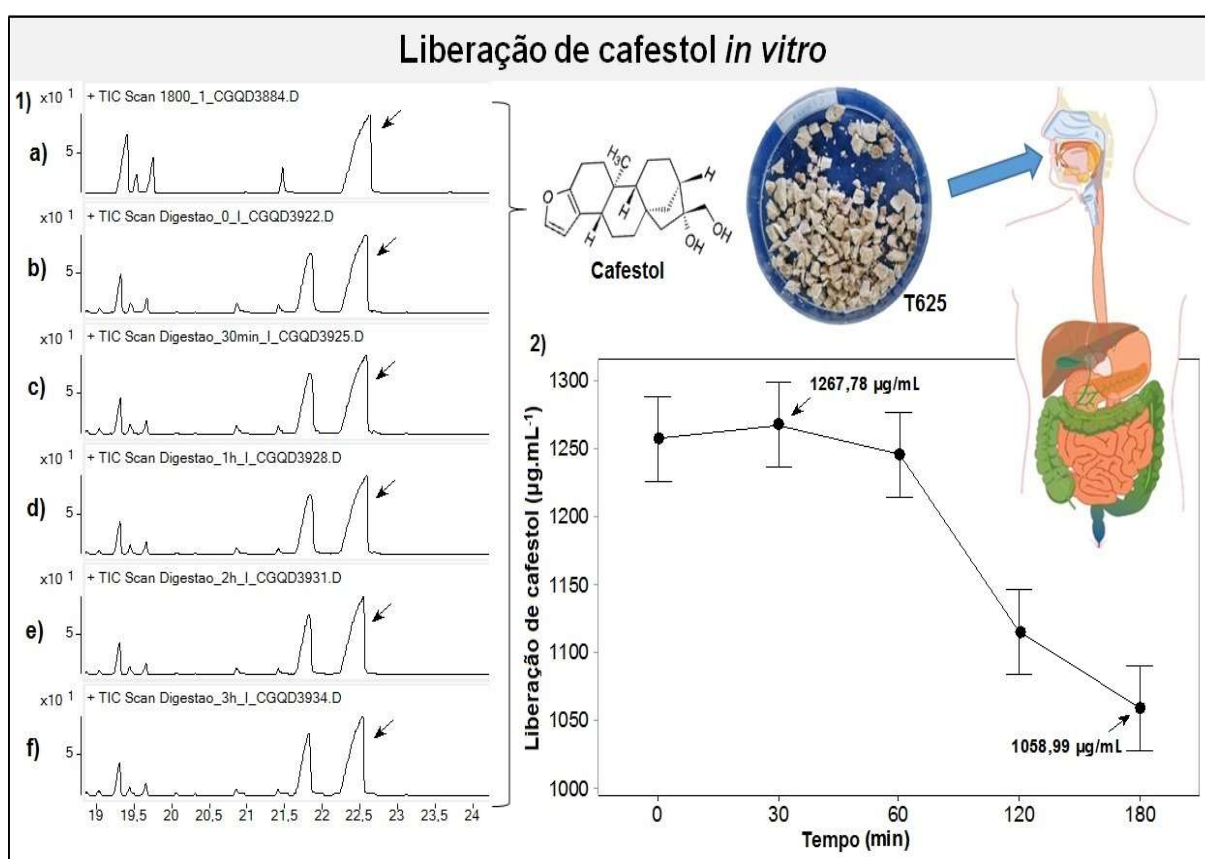
#### **4.8 Simulação de liberação gastrointestinal do cafestol**

A digestão gastrointestinal envolve uma série de etapas enzimáticas em diferentes níveis de pH que podem modificar a estrutura química dos materiais solúveis e insolúveis, acarretando na liberação do ingrediente encapsulado (AHMAD *et al.*, 2017). Essas transformações tornam a digestão gastrointestinal simulada um processo chave na avaliação benefício associado à presença dos compostos bioativos e seu potencial de entrega direcionada (CHEW *et al.*, 2015; MONTERO *et al.*, 2016)

O comportamento de liberação do cafestol está representado na Figura 22. Em (1) tem-se o pico do padrão de cafestol (a) e os cromatogramas nos tempos 0 (a), 30 (b), 60 (c), 120 (d) e 180 min após a digestão. Em todos tempos analisados, o diterpeno foi liberado, mostrando fácil digestibilidade das microcápsulas, em consequência da quebra da parede biopolimérica e da difusão de óleo de café verde para o sistema. Até 60 min (Figura 22– 2), foram detectados os maiores valores de liberação do cafestol, com pico máximo em 30 min (1267,78 µg/mL). Esse valor correspondia a 61,74% (p/p) do cafestol total liberado. Posteriormente, a concentração entra em declínio, apresentando menor valor em 180 min (1058,99 µg/mL) (55,56% (p/p)). A liberação máxima, nos primeiros minutos, ocorreu em virtude da proteólise da gelatina pela pepsina logo que entrou em contato com os fluidos estomacais. O

declínio da concentração, no decorrer do tempo, é explicado pela degradação do cafestol em outros compostos. Ahmad *et al.* (2019), estudando a liberação gastrointestinal de nanopartículas catequina, relataram maior liberação em até 30 min, o que foi chamado de liberação imediata, semelhante à deste estudo. Nossos resultados estão semelhantes com os achados por Wang; Shi; Han (2018), que relataram liberação de  $52,18\% \pm 3,82\%$ , decorridos 3 h de digestão intestinal, quando encapsularam óleo de semente de poênia (*Paeonia sect Moutan* DC).

Figura 22 - 1) Cromatogramas com pico de cafestol liberado em 0 (b), 30 (c), 60 (d), 120 (e) e 180 (f) min após digestão gastrointestinal (in vitro). Em (a) tem-se o pico do padrão de cafestol. 2) Quantidade em (g/mL) de cafestol liberado durante 180 min



Fonte: Elaborado pela autora.

Comunian *et al.*, 2017, analisando a liberação do ácido sinápico em microcápsulas de GE/GC, obtiveram taxas máximas de 16% (condições gástricas) e 17% (condições intestinais), menores que as obtidas neste trabalho. Em uma pesquisa recente, Huang; Zhou (2019) relataram liberação de  $3,66 \pm 2,32\%$  por microcápsulas contendo antocianinas após 2 h de digestão *in vitro*, significativamente

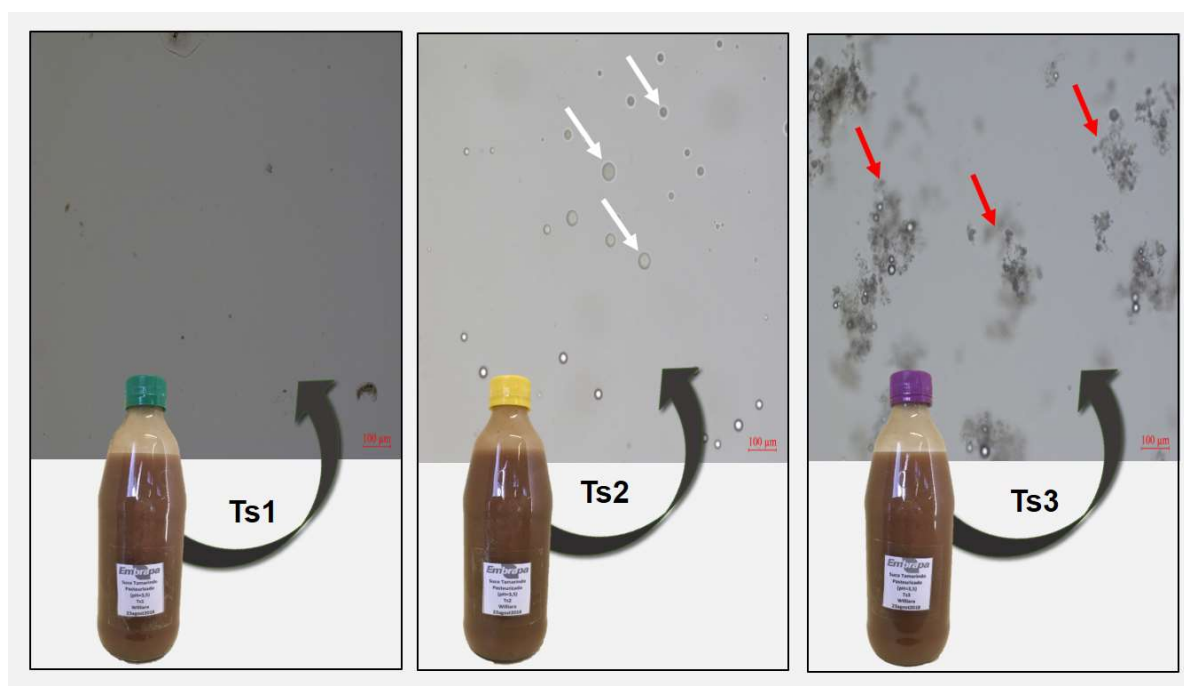
inferior à liberação de cafestol deste trabalho. Isso mostra que as microcápsulas de T625 apresentam boa bioacessibilidade de cafestol.

## 4.9 Caracterização do suco de tamarindo

### 4.9.1 Caracterização morfológica

Os tratamentos Ts1 (suco de tamarindo sem adição de compostos bioativos), Ts2 (suco de tamarindo adicionado óleo de café verde livre, rico em cafestol e caveol) e Ts3 (suco de tamarindo contendo microcápsulas de OCV (T625)) têm suas micrografias ópticas mostradas na Figura 23. Em Ts2 é possível observar que as gotículas de óleo de café verde não encapsulado são maiores quando comparadas às gotículas encapsuladas (Ts3); isso ocorre devido à instabilidade do sistema hidrofílico/lipofílico de Ts2, que leva à coalescência do OCV.

Figura 23 - Microscopia óptica de Ts1 (suco de tamarindo sem adição de compostos bioativos), Ts2 (suco de tamarindo adicionado óleo de café verde livre rico em cafestol e caveol) e Ts3 (suco de tamarindo contendo microcápsulas T625). Setas vermelhas indicam OCV encapsulado e brancas OCV livre. Micrografias com aumento de 10x e escala de 100 µm



Fonte: Elaborado pela autora.

Em Ts3, as microcápsulas de OCV foram polinucleares e irregulares, morfologia semelhante à das microcápsulas (T625) logo após o processo de

coacervação complexa. Isso indica que não houve mudanças consideráveis na estrutura das microcápsulas de T625, quando foram aplicadas em suco de tamarindo (Ts3). Segundo Ma *et al.*, 2019, microcápsulas polinucleares são formadas com concentrações biopoliméricas de até 3% (p / v) e pH 4,0; perto de condições de produção de microcápsulas T625.

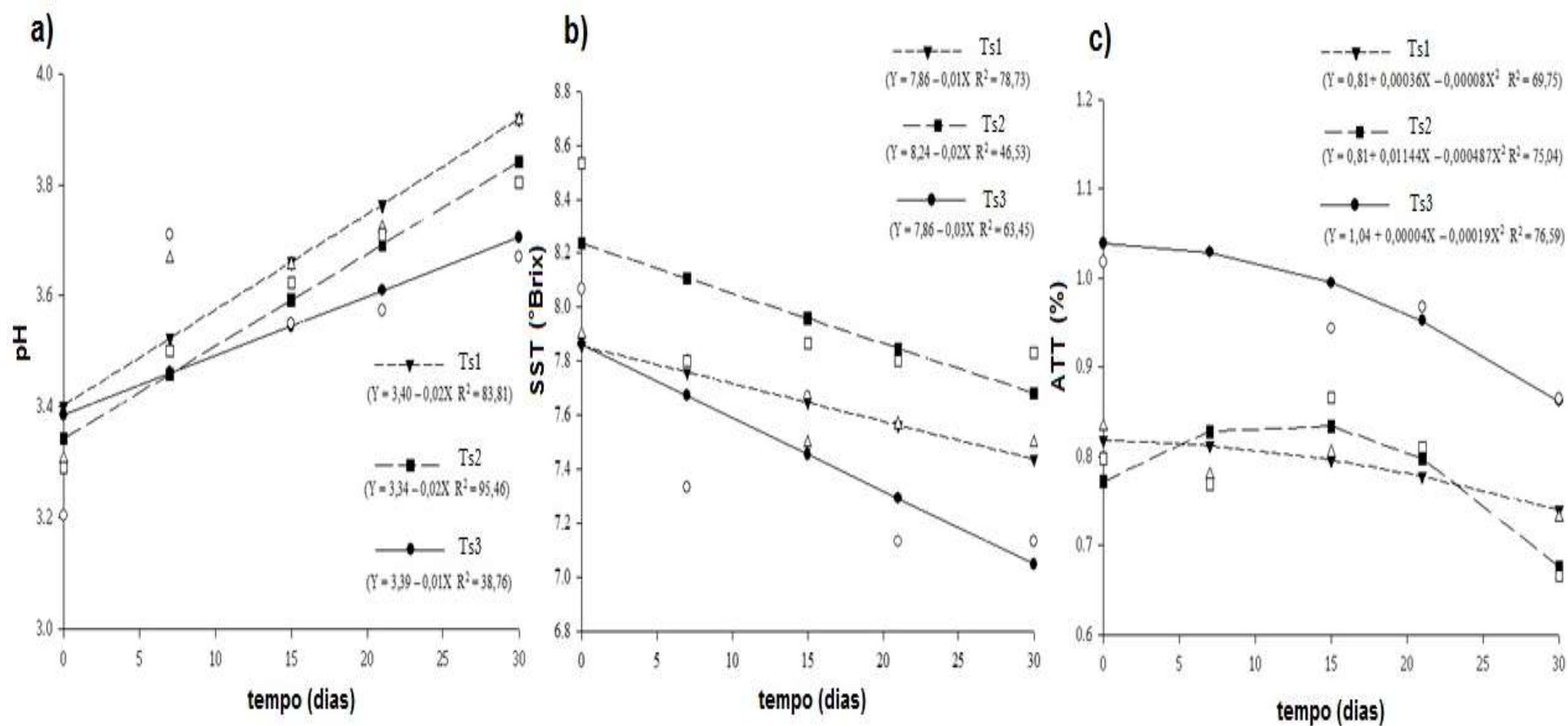
Morfologia semelhante a este estudo foi encontrada na pesquisa de Comunian *et al.*, 2017, quando aplicaram microcápsulas de óleo de echium, usando paredes de GE/GA, em iogurte de morango. Outro estudo, usando paredes de GE/GC, mostra que as microcápsulas preservaram a sua integridade quando foram aplicadas em iogurte (GOMEZ-ESTACA *et al.*, 2016).

#### **4.9.2 Determinação do pH, sólidos solúveis totais, acidez total titulável**

As amostras Ts1, Ts2 e Ts3 apresentaram valores variando de  $3,20 \pm 0,01$  a  $3,92 \pm 0,09$  (pH),  $8,53 \pm 0,21$  a  $7,13 \pm 0,15$  Brix° (SS) e  $1,08 \pm 0,07$  a  $0,67 \pm 0,20\%$  (TA) durante o armazenamento, por 30 dias sob refrigeração. Houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para pH, SST e ATT quando as diferentes amostras foram comparadas no mesmo intervalo de tempo ou na mesma amostra durante os diferentes tempos de armazenamento. No entanto, eles não influenciaram a qualidade do produto final. Não foi possível estabelecer uma correlação direta entre os parâmetros físico-químicos (pH, SST e ATT) com a incorporação ou não das microcápsulas de OCV no suco de tamarindo.

No tempo zero, o pH dos tratamentos diminuiu, embora tenha sido corrigido para 3,5 durante a produção de suco. Segundo Liu *et al.* (2017), a diminuição do pH do suco pode ser atribuída à reação de Maillard durante a pasteurização, pois formam compostos de menor basicidade a partir de grupos alfa-amino, além de degradarem compostos carboidratos. Percebe-se que durante o tempo de estocagem o valor de pH teve uma tendência crescente (Figura 24 -a). Comportamento semelhante foi encontrado em González-Monroy *et al.* (2018) quando analisaram a estabilidade do suco de tamarindo por 21 dias.

Figura 24 - Gráfico do pH (a), acidez total titulável – ATT, (b) sólidos solúveis totais - SST (c) e (d) tabela de valor médio de pH, sólidos solúveis (SS (Brix°)), acidez titulável (TA) durante 30 dias de armazenamento (5°C) das amostras Ts1, Ts2 e Ts3.



Ts1: Controle do suco de tamarindo (sem adição de compostos bioativos);

Ts2: Suco de tamarindo adicionado óleo de café verde livre rico em cafeol e caveol;

Ts3: Suco de tamarindo contendo microcápsulas T625



Para SST, Ts1 e Ts3 apresentaram médias com valores aproximados, indicando que a quantidade de microcápsulas incorporadas no suco (0,69%) não alterou consideravelmente a SST. Da mesma forma, Marsanasco *et al.*, (2011) aplicaram partículas carregadas de vitamina C ao suco de mandarina e, após 37 dias, observaram alterações insignificantes no teor de sólidos solúveis totais. A Figura 24 – b, mostra que o teor de SST decresce com o tempo, semelhante ao estudo de Calabuig-Jiménez *et al.* (2019) que relatou menor teor de sólidos solúveis em suco de tangor (*Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*) com microcápsulas, que no suco controle.

Assim como STT, a ATT também caiu o tempo de estocagem (Figura 24 – c) e a ATT do suco (Ts3) com microcápsulas de OCV apresentou média maior que Ts1 e Ts2, por 30 dias, mas sem alteração considerável. Isso pode estar relacionado à goma de cajueiro, polímero predominante da parede, já que possui ácido glucurônico em sua constituição (Comunian *et al.*, 2017).

#### 4.9.3 Cor

Os valores de luminosidade L \* do suco de tamarindo variaram de  $71,10 \pm 1,04$  a  $61,80 \pm 0,91$  (Figura 25). Comparando L \* entre os tratamentos Ts1 e Ts3, a cada tempo de análise, característica do suco de tamarindo, não foi alterado com a adição de microcápsulas de OCV; exceto em 30 dias, quando Ts3 foi mais claro e estatisticamente diferente de Ts1. Analisando cada tratamento em função do tempo, percebe-se que há diferença estatística ( $p < 0,05$ ) durante o armazenamento, porém, com pequena variação das médias. Não foi possível estabelecer uma correlação direta entre o parâmetro L \* e a influência da incorporação de microcápsulas de OCV.

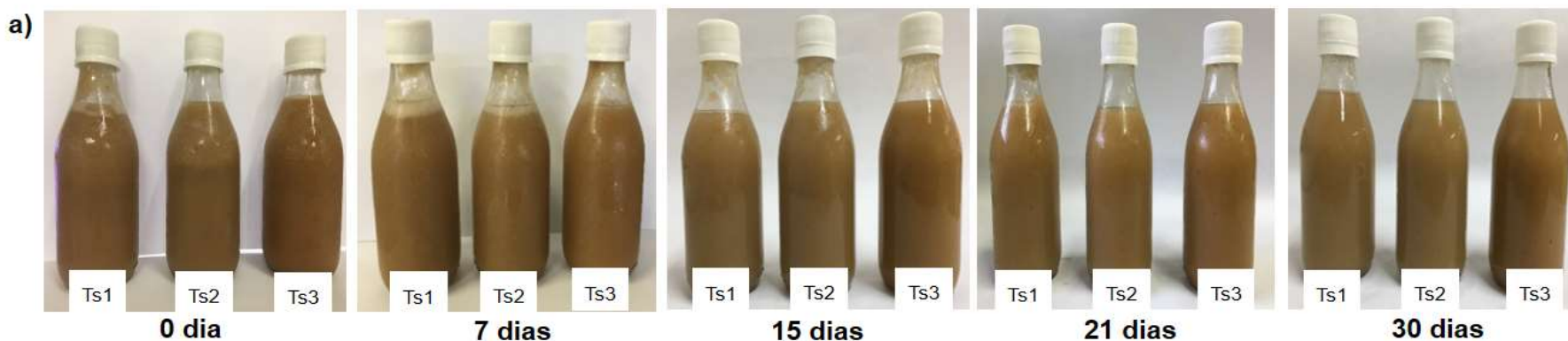
Os valores para o parâmetro a \* ((+) vermelho, (-) verde) ficaram na faixa de  $2,12 \pm 0,47$  a  $6,06 \pm 0,29$  para amostras durante o armazenamento (30 dias). Em todos os períodos analisados, o Ts3 apresentou valores de a \* maiores, quando comparado ao Ts2 e Ts3, o que pode ser explicado pela adição de goma de cajueiro, apresentando tons avermelhados. No entanto, esse aumento na pigmentação vermelha não foi suficiente para descaracterizar a cor original do suco, o que também pode ser confirmado pela análise sensorial (*item 4.11*). As amostras armazenadas apresentaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ) após 15 dias; no entanto, a mudança foi pequena. Não foi possível estabelecer uma relação direta entre a ausência e a

Figura 25 - (a) Fotos do suco de tamarindo e (b) tabela de valor médio de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  das amostras de (a) Ts1, Ts2 e Ts3. (a) e (b) foram avaliados durante 30 dias de armazenamento ( $5^{\circ}\text{C}$ ).

Ts1: Controle do suco de tamarindo (sem adição de compostos bioativos);

Ts2: Suco de tamarindo adicionado óleo de café verde livre rico em cafestol e caveol;

Ts3: Suco de tamarindo contendo microcápsulas T625



b)

Tratamento	Análise	Tempo de armazenamento ( $5^{\circ}\text{C}$ )				
		0 dia	7 dias	15 dias	21 dias	30 dias
Ts1	$L^*$	$65,36 \pm 0,30^{aA}$	$67,33 \pm 2,35^{aAB}$	$70,86 \pm 2,22^{aB}$	$66,87 \pm 1,78^{aAB}$	$65,97 \pm 1,24^{aAB}$
Ts2		$67,32 \pm 0,60^{aAB}$	$65,70 \pm 1,43^{aB}$	$71,10 \pm 1,04^{aA}$	$66,22 \pm 1,7^{aB}$	$65,68 \pm 0,43^{aB}$
Ts3		$66,43 \pm 0,79^{aAB}$	$65,06 \pm 1,17^{aA}$	$69,15 \pm 1,55^{aB}$	$64,05 \pm 0,77^{aAC}$	$61,80 \pm 0,91^{bC}$
Ts1	Cor	$3,72 \pm 0,30^{aA}$	$4,13 \pm 0,71^{aA}$	$3,33 \pm 0,49^{aAB}$	$2,93 \pm 0,51^{aAB}$	$2,12 \pm 0,47^{aB}$
Ts2		$3,62 \pm 0,60^{aA}$	$3,97 \pm 1,31^{aA}$	$3,25 \pm 0,33^{aA}$	$4,17 \pm 0,59^{bA}$	$2,76 \pm 0,98^{abA}$
Ts3		$4,54 \pm 0,79^{aA}$	$5,80 \pm 0,47^{aA}$	$3,91 \pm 0,66^{aA}$	$6,06 \pm 0,29^{cA}$	$4,97 \pm 1,44^{bA}$
Ts1	$b^*$	$27,56 \pm 1,41^{aA}$	$27,56 \pm 1,41^{aA}$	$27,52 \pm 1,84^{aA}$	$23,89 \pm 2,11^{aA}$	$25,64 \pm 0,62^{aA}$
Ts2		$26,13 \pm 0,75^{aA}$	$26,13 \pm 0,75^{aA}$	$27,52 \pm 2,72^{aA}$	$24,12 \pm 0,91^{bA}$	$28,23 \pm 0,89^{aA}$
Ts3		$30,37 \pm 0,89^{bA}$	$30,37 \pm 0,89^{aA}$	$30,32 \pm 0,84^{aB}$	$26,8 \pm 0,94^{cA}$	$31,22 \pm 0,44^{bA}$

Letras sobrescritas diferentes (maiúsculas, em coluna, comparando tratamentos; em minúsculas, nas linhas, comparando o tempo de armazenamento), seguindo as médias indicam diferença ( $p < 0,05$ ) pelos testes de Anova e Tukey.

presença de microcápsulas. Os valores do parâmetro  $b^*$  ((+) amarelo, (-) azul) variaram de  $23,85 \pm 2,11$  a  $31,22 \pm 0,44$  para tratamentos armazenados em 30 dias. Ao longo do tempo de armazenamento, o Ts3 apresentou médias ligeiramente maiores para  $b^*$ , quando comparado ao Ts1 e Ts2. Essa diferença pode estar associada à adição de microcápsulas produzidas com gelatina e goma de cajueiro, no entanto, não influenciou a qualidade do suco de tamarindo.

A variação total da cor ( $\Delta E$ ) foi calculada comparando o tempo inicial (0 dias) e 30 dias de armazenamento. Os tratamentos Ts1, Ts2 e Ts3 apresentaram  $\Delta E$  de  $3,71 \pm 1,36$ ,  $2,78 \pm 1,08$  e  $4,85 \pm 1,80$ , respectivamente. A incorporação de microcápsulas de OCV (Ts3) promoveu uma mudança de cor durante o armazenamento, provavelmente devido à presença de goma de cajueiro e gelatina como materiais da parede. Entretanto, não mostra diferença ( $p < 0,05$ ) entre as amostras e a mudança não interferiu na aceitação do produto, conforme observado na Seção 4.11.

#### **4.9.4 Reologia**

A reologia é uma ferramenta analítica que fornece uma compreensão ampla sobre a organização estrutural dos alimentos. O suco de tamarindo rico em fibras é razoavelmente particulado e apresenta decantação parcial após alguns dias de armazenamento. A Tabela 9 mostra que o modelo matemático de Herschel-Bulckley se ajustou melhor para os dados experimentais das amostras de suco de tamarindo (Ts1, Ts2 e Ts3) em todos os tempos analisados.

Na Figura 26 - a, a viscosidade aparente dos tratamentos diminuiu com a taxa de deformação, apresentando o comportamento pseudoplástico, típico de sucos, uma vez que a tensão de cisalhamento quebra fibras e colóides, reorientando-os.

A variação da viscosidade aparente, quando a taxa de cisalhamento foi de  $100 \text{ s}^{-1}$ , foi de  $11,7 \pm 8,4$  a  $15,2 \pm 2,6 \text{ mPa.s}$  (Figura 26 - b). Não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras no mesmo tempo ou ao longo do tempo.

Dentre os tratamentos, Ts3 teve o menor valor de viscosidade. Isso pode ser explicado porque, a goma de cajueiro, material majoritário da parede de T625, não confere viscosidade considerável em solução. Considera-se também que as microcápsulas promoveram maior homogeneização e maior reorganização, que não ocorreu em Ts1 e Ts2 devido a presença de microagregados, o que em contato com

o cilindro, acarretou em maior viscosidade aparente. Assim, a adição de microcápsulas não interferiu na viscosidade do suco, ademais promoveu melhor homogeneidade dos sólidos dispersos.

Tabela 9 - Coeficiente de determinação dos sucos Ts1, Ts2 e Ts3 obtidos por ajuste dos dados experimentais aos modelos reológicos.

Ts1: Controle do suco de tamarindo (sem adição de compostos bioativos);

Ts2: O suco de tamarindo adicionado óleo de café verde livre rico em cafestol e kahweol;

Ts3: suco de tamarindo contendo microcápsulas T625

	Ts1		Ts2		Ts3	
	Ostwald Weale	Herschel-Bulckley	Ostwald Weale	Herschel-Bulckley	Ostwald Weale	Herschel-Bulckley
				$R^2$		
<b>T0</b>	0,9833 ± 0,0057	0,9991 ± 0,0050	0,9771 ± 0,0058	0,9972 ± 0,0013	0,9771 ± 0,0073	0,9990 ± 0,0003
<b>T7</b>	0,9841 ± 0,0033	0,9986 ± 0,0013	0,9833 ± 0,0030	0,9994 ± 0,0003	0,9717 ± 0,01260	0,9926 ± 0,0057
<b>T14</b>	0,9848 ± 0,0050	0,9993 ± 0,0003	0,9838 ± 0,0035	0,9934 ± 0,0077	0,9884 ± 0,0061	0,9982 ± 0,0018
<b>T23</b>	0,9863 ± 0,0038	0,9971 ± 0,0050	0,9541 ± 0,0600	0,9659 ± 0,0662	0,9604 ± 0,0396	0,9885 ± 0,0132
<b>T30</b>	0,9809 ± 0,0035	0,9932 ± 0,0067	0,9730 ± 0,0161	0,9958 ± 0,0662	0,9828 ± 0,0031	0,9989 ± 0,0008

\*  $R^2$  em triplicata (média ± desvio) padrão considerando curvas descendentes.

Na Figura 26 - a, a viscosidade aparente dos tratamentos diminuiu com a taxa de deformação, apresentando o comportamento pseudoplástico, típico de sucos, uma vez que a tensão de cisalhamento quebra fibras e colóides, reorientando-os.

A variação da viscosidade aparente, quando a taxa de cisalhamento foi de  $100 \text{ s}^{-1}$ , foi de  $11,7 \pm 8,4$  a  $15,2 \pm 2,6 \text{ mPa.s}$  (Figura 26 - b). Não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras no mesmo tempo ou ao longo do tempo.

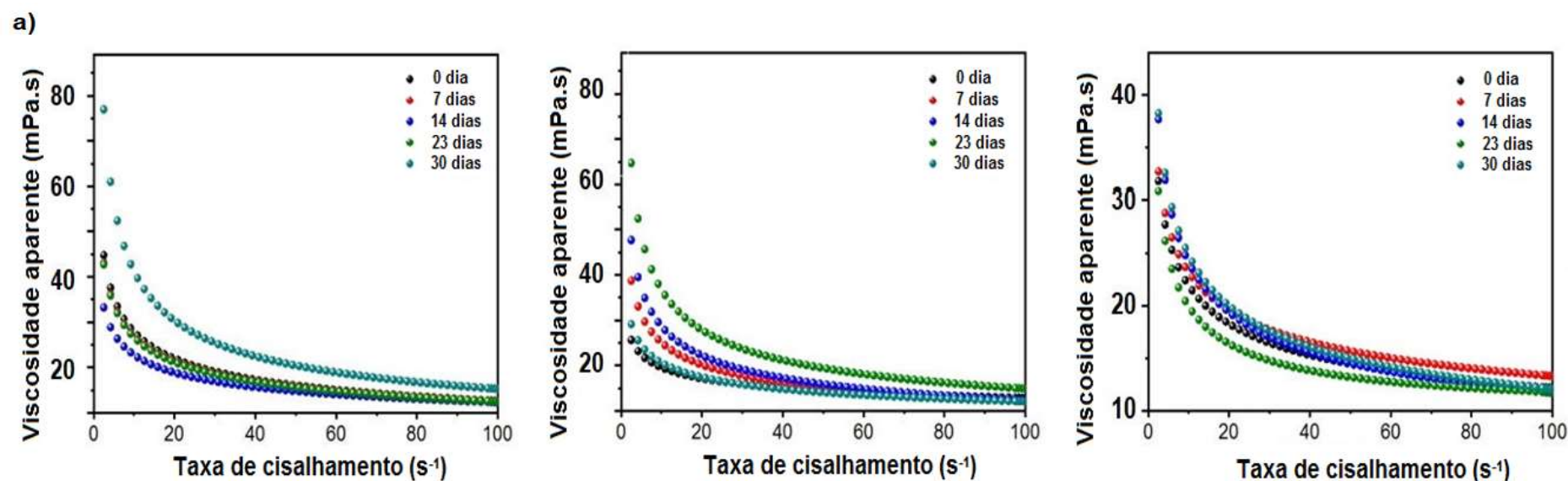
Dentre os tratamentos, Ts3 teve o menor valor de viscosidade. Isso pode ser explicado porque, a goma de cajueiro, material majoritário da parede de T625, não confere viscosidade considerável em solução. Considera-se também que as microcápsulas promoveram maior homogeneização e maior reorganização, que não ocorreu em Ts1 e Ts2 devido a presença de microagregados, o que em contato com o cilindro, acarretou em maior viscosidade aparente. Assim, a adição de microcápsulas não interferiu na viscosidade do suco, como pode ser também confirmado pela análise sensorial da viscosidade, ademais, promoveu melhor homogeneidade dos sólidos dispersos.

Figura 26 - a) Efeito do tempo de viscosidade aparente (mPa.s) na função de cisalhamento ( $s^{-1}$ ), para os tratamentos de suco de tamarindo Ts1 (a), Ts2 (b) e Ts3 (c), nos tempos de armazenamento 0 (preto), 7 (vermelho) 15 (azul), 21 (verde escuro) e 30 (verde claro) dias de armazenamento. b) tabela da viscosidade aparente (mPa.s) durante 30 dias.

Ts1: Controle do suco de tamarindo (sem adição de compostos bioativos);

Ts2: Suco de tamarindo adicionado óleo de café verde livre rico em cafestol e caveol;

Ts3: Suco de tamarindo contendo microcápsulas T625



b)

Tratamento	Análise	Tempo de armazenamento (5 °C)				
		0 dia	7 dias	15 dias	21 dias	30 dias
Ts1		12,6 ± 1,1 <sup>aA</sup>	12,6 ± 1,3 <sup>aA</sup>	12,3 ± 0,4 <sup>aA</sup>	12,5 ± 1,2 <sup>aA</sup>	15,2 ± 2,6 <sup>aA</sup>
Ts2	Viscosidade (mPa.s)	12,8 ± 0,6 <sup>aA</sup>	12,2 ± 0,5 <sup>aA</sup>	12,4 ± 0,8 <sup>aA</sup>	14,9 ± 0,3 <sup>aA</sup>	12,1 ± 0,6 <sup>aA</sup>
Ts3		12,2 ± 1,4 <sup>aA</sup>	13,3 ± 1,8 <sup>aA</sup>	11,7 ± 8,4 <sup>aA</sup>	11,8 ± 1,0 <sup>aA</sup>	12,1 ± 0,5 <sup>aA</sup>

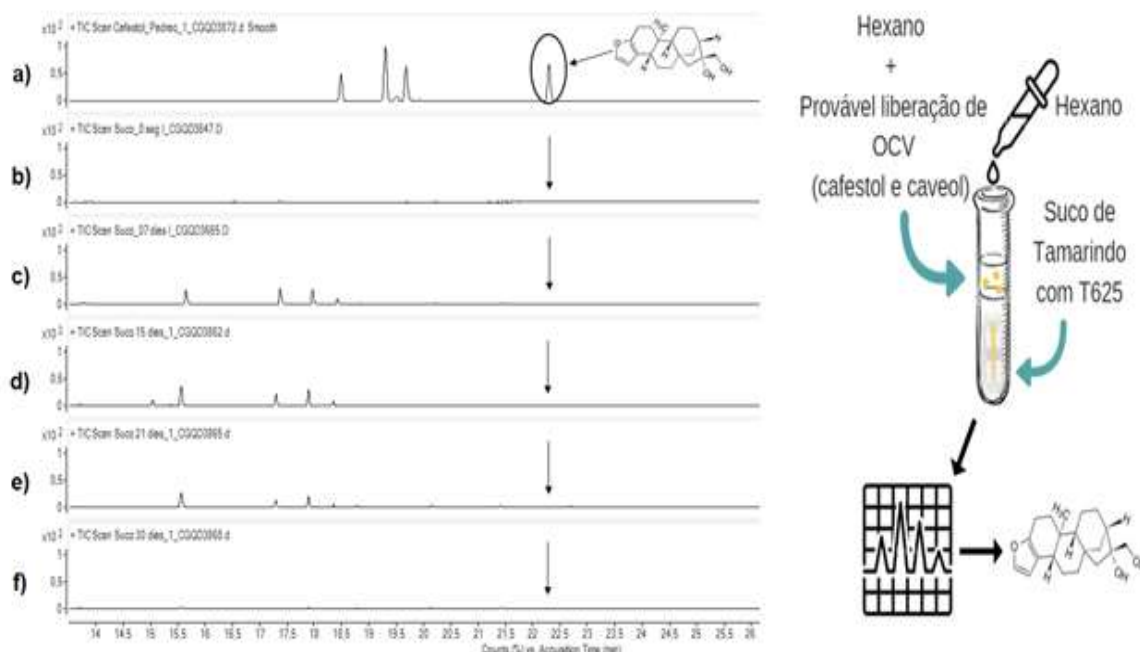
Letras sobrescritas diferentes (maiúsculas, em coluna, comparando tratamentos; em minúsculas, nas linhas, comparando o tempo de armazenamento) seguindo as médias indicam diferença ( $p < 0,05$ ) pelos testes de Anova e *Tukey*.

#### 4.10 Liberação de cafestol a partir de microcápsulas aplicadas em suco

Sabe-se que, para encapsulação de bioativo instável, é ideal que as microcápsulas não liberem material quando incorporadas ao alimento nem durante o armazenamento. Assim, a liberação de cafestol, pelas microcápsulas de T625 aplicadas em suco de tamarindo, foi estudada durante 30 dias.

Na Figura 27, o primeiro cromatograma mostra a varredura do padrão cafestol, no entanto, apenas o último pico detectado é do cafestol, confirmado por espectrometria de massa.

Figura 27 – Detecção por GC de cafestol liberado por microcápsulas aplicadas em suco durante 0 (b), 7 (c), 15 (d), 21 (e) e 30 (f) dias de armazenamento (5°C). Em “a” tem-se o cromatograma do padrão de cafestol.



Fonte: Elaborado pela autora.

É possível observar que, para os tempos analisados (0, 7, 15, 21 e 30 dias); não houve detecção de cafestol. Isso pode indicar que as microcápsulas de T625 foram eficazes para promover maior estabilidade do óleo de café verde no suco de tamarindo, não sendo afetadas pelas propriedades do suco (pH, sólidos solúveis totais ou acidez), condições do processo de formulação (pasteurização) ou temperatura (5 °C), durante o armazenamento durante 30 dias.

Segundo Yeung *et al.*, 2016, a parede da microcápsula serve como um microembalagem que protege o bioativo dentro da rede polimérica. Em um estudo recente, Tan *et al.* (2018) analisaram os efeitos do armazenamento e estabilidade de

tocotrienóis encapsulados em microcápsulas de quitosana/alginato, incorporados em iogurte. Utilizando metodologia semelhante à deste estudo, encontraram liberação máxima de até 7,4% de  $\delta$ -tocotrienol durante 30 dias na matriz alimentar. Os autores relataram que isso ocorreu devido às ligações fracas do  $\alpha$ -tocotrienol na rede de quitosana/alginato.

#### 4.11 Avaliação Sensorial

Os resultados da aceitação sensorial de Ts1, Ts2 e Ts3 estão expressos na Figura 28. Os atributos sensoriais (impressão global, consistência, sabor e cor) variaram de 5,64 a 6,80, correspondendo a escores aceitáveis (Figura 28 -b).

Para a impressão global, o suco controle (Ts1) apresentou média estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ), quando comparado ao suco adicionado com microcápsulas (Ts3), mas ambos mostraram aceitação sensorial similar - "ligeiramente gostei" com médias de 6,69 e 6,0, respectivamente. Da mesma forma, a consistência, ainda que diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ), também apresentou a semelhante aceitabilidade ao comparar Ts1 e Ts3, com médias de 6,80 e 6,21, respectivamente. Isso mostra que a adição de microcápsulas de OCV (0,69% p / v) usando o par GC/GE (T625) não interferiu negativamente na percepção sensorial da consistência do suco.

No caso do sabor, o Ts3 apresentou um escore médio de 5,64, indicando que o consumidor de suco de tamarindo não se importou e ficou indiferente à percepção do paladar quando a microcápsula foi adicionada no suco.

A cor foi o único atributo sem diferença significativa nas pontuações médias atribuídas aos tratamentos. Assim, a adição das microcápsulas não influenciou a cor do produto final. O Ts2 apresentou maiores médias quando comparado ao Ts3 para todos os atributos sensoriais analisados, pois o óleo livre aderiu às paredes do pasteurizador e ao recipiente de armazenamento, o que reduziu a quantidade de OCV disponível no suco servido ao provador. Portanto, as microcápsulas de T625 foram um meio viável para incorporação de óleo de café verde em suco de tamarindo.

Para melhorar a descrição das amostras e envolver os provadores em um processo cognitivo maior, foram feitas perguntas sobre os atributos que caracterizaram a amostra (CATA) (Figura 28 -a) e as classificações quantitativas dessas características (TATA) (Figura 27 -b).

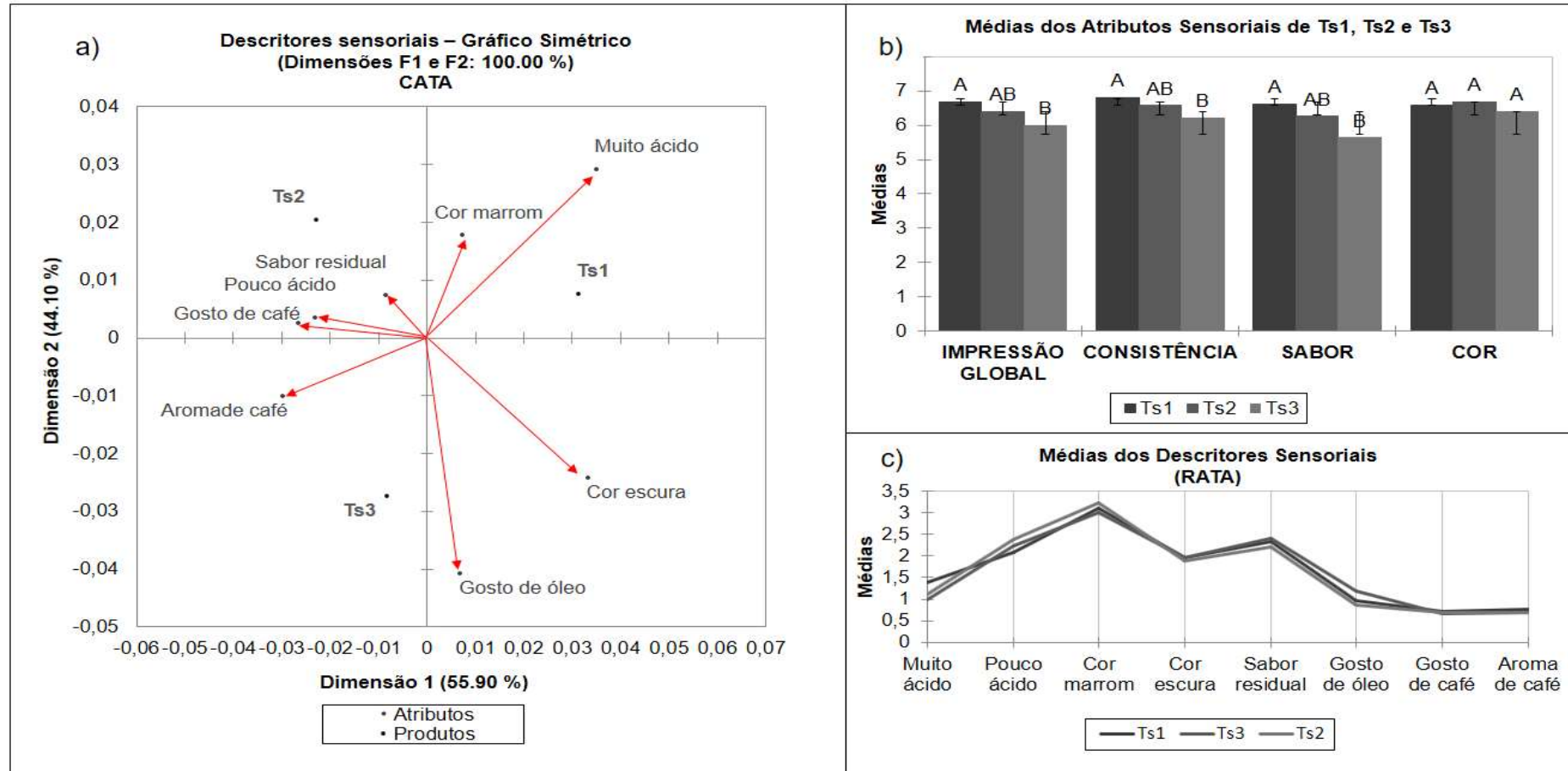


Figura 28 – (a) Análise dos descritores sensoriais de listagem livre para sucos de tamarindo Ts1, Ts2 e Ts3, distribuídos em duas dimensões (CATA). (b) Pontuações de impressão geral, consistência, sabor e cor (diferentes letras maiúsculas diferem estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey). (c) Quantificação da intensidade dos descritores (RATA).

Ts1: Controle do suco de tamarindo (sem adição de compostos bioativos);

Ts2: O suco de tamarindo adicionado óleo de café verde livre rico em cafestol e caveol;

Ts3: suco de tamarindo contendo microcápsulas T625



Fonte: Elaborado pela autora.



Os atributos mais pontuados em Ts1 foram marrons e muito ácidos. O RATA de Ts1 para o atributo "muito ácido" teve uma média de baixa intensidade (1,38), indicando o significado oposto do descritor sensorial, isso mostra que o suco controle estava "pouco ácido". O tratamento de Ts2 foi relacionada aos atributos sabor residual, baixo teor de ácido e sabor do café.

A Figura 28 -c mostra que o descritor "gosto residual", associado ao tratamento do suco com óleo livre (Ts2), foi a segunda maior média (2,22) para a intensidade dos descritores em RATA, ou seja, o OCV livre, mesmo em baixas concentrações, deixou sabor residual no suco. A amostra de suco com microcápsula (Ts3) foi associada apenas ao "sabor do café"; no entanto, o RATA apresentou uma média de 0,69 para o mesmo atributo, ou seja, mesmo o descritor estando relacionado ao Ts3, o "sabor do café" foi considerado um atributo fraco, sendo, portanto, um fator positivo de encapsulação do OCV.

## 5 CONCLUSÃO

O óleo de café verde rico, em cafestol e caveol, obtido por extração com dióxido de carbono supercrítico, foi eficientemente encapsulado ( $85,57 \pm 2,41$  %). As micropartículas de T625 (com parede de GC/GE, proporção 1:3,5 e 25% (p/p) de óleo de café verde) foram mais apropriadas para aplicação em suco, pois apresentaram boa dispersividade e resistência a temperaturas ( $100^{\circ}\text{C}/30\text{s}$ ), superiores à de pasteurização. Além disso, a oxidação do OCV foi retardada por 6h se comparado ao óleo livre. A adequabilidade das microcápsulas para aplicação em alimentos também foi confirmada pelo tamanho médio das partículas ( $14,56 \pm 0,63$   $\mu\text{m}$ ) e pela liberação in vitro ( $1267,78$   $\mu\text{g/mL}$ ) durante a digestão gastrointestinal simulada.

Por sua vez, suco de tamarindo, incorporado com (0,69% (p/p)) de microcápsulas (Ts3), apresentou propriedades físico-químicas e sensoriais semelhantes, quando comparado ao controle (10% de pupa liofilizada, 0,1% de adoçante e água). A reologia do suco foi melhorada com a adição das microcápsulas, pois contribuíram para uma melhor homogeneização dos sólidos dispersos. Além disso, a não detecção de cafestol livre no suco indicou que não houve liberação de OCV pelas microcápsulas, durante o armazenamento do suco por 30 dias.

Este estudo forneceu uma nova e ampla perspectiva da aplicação de micropartículas por coacervação complexa em um sistema não viscoso e fortemente hidrofílico, mostrando ser um caminho possível e viável para a aplicação do OCV em sucos.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, M. *et al.* Micro-encapsulation of folic acid using horse chestnut starch and  $\beta$ -cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behavior & antioxidant potential during GI tract conditions. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2017.
- ALIJANI, H. Q. *et al.* Green synthesis of zinc sulfide (ZnS) nanoparticles using Stevia rebaudiana Bertoni and evaluation of its cytotoxic properties. **Journal of Molecular Structure**, [s.l.], 2019.
- AMARTEIFIO, J.; MOSASE, M. The Chemical Composition of Selected Indigenous Fruits of Botswana. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, [s.l.], 2011.
- ANDRADE, K. C. S. *et al.* Cashew gum (anacardium occidentale): Evaluation of chemical and physical changes by thermoplastic extrusion | Goma de Cajueiro (Anacardium occidentale): Avaliação das Modificações Químicas e Físicas por Extrusão Termoplástica. **Polimeros**, [s.l.], 2013.
- ANTONOV, Y. A. *et al.* Macromolecular complexes of lysozyme with kappa carrageenan. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.
- AREPALLY, D.; GOSWAMI, T. K. Effect of inlet air temperature and gum Arabic concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. **LWT**, [s.l.], 2019.
- ARES, G. *et al.* Evaluation of a rating-based variant of check-all-that-apply questions: Rate-all-that-apply (RATA). **Food Quality and Preference**, [s.l.], v. 36, p. 87–95, 2014.
- BAKRY, A. M. *et al.* Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s.l.], 2016.
- BENJAKUL, S.; KITTIPHATTANABAWON, P. Gelatin. **Encyclopedia of Food Chemistry**, [s.l.], p. 121–127, 1 jan. 2019.
- BERRET, J.-F. *et al.* Colloidal Complexes Obtained from Charged Block Copolymers and Surfactants: A Comparison between Small-Angle Neutron Scattering, Cryo-TEM, and Simulations †. **The Journal of Physical Chemistry B**, [s.l.], 2003.
- BEZERRA, F. M. *et al.* Assessment of the delivery of citronella oil from microcapsules supported on wool fabrics. **Powder Technology**, [s.l.], v. 343, p. 775–782, 1 fev. 2019.
- BIESHEUVEL, P. M.; STUART, M. A. C. Cylindrical cell model for the electrostatic free energy of polyelectrolyte complexes. **Langmuir**, [s.l.], 2004.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. a Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, [s.l.], v. 37, n. 8, p. 911–917,

1959.

BOTREL, D. A. *et al.* Application of cashew tree gum on the production and stability of spray-dried fish oil. **Food Chemistry**, [s.l.], 2017.

BVENURA, C.; SIVAKUMAR, D. The role of wild fruits and vegetables in delivering a balanced and healthy diet. **Food Research International**, [s.l.], 2017.

CALABUIG-JIMÉNEZ, L. *et al.* High pressures homogenization (HPH) to microencapsulate *L. salivarius* spp. *salivarius* in mandarin juice. Probiotic survival and in vitro digestion. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], 2019.

CALDERÓN-OLIVER, M. *et al.* Comparative study of the microencapsulation by complex coacervation of nisin in combination with an avocado antioxidant extract. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 62, p. 49–57, 2017.

CÁRDENAS, C.; QUESADA, A. R.; MEDINA, M. Á. Insights on the antitumor effects of kahweol on human breast cancer: Decreased survival and increased production of reactive oxygen species and cytotoxicity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s.l.], 2014.

CARVALHO, A. G. S.; SILVA, V. M.; HUBINGER, M. D. Microencapsulation by spray drying of emulsified green coffee oil with two-layered membranes. **Food Research International**, [s.l.], v. 61, p. 236–245, 2014.

CARVALHO DA SILVA, L. *et al.* Optimization of cashew gum and chitosan for microencapsulation of pequi oil by complex coacervation. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s.l.], v. 42, n. 3, 2018.

CHANG, P. G. *et al.* Optimisation of the complex coacervation between canola protein isolate and chitosan. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], v. 191, p. 58–66, 2016.

CHEW, S. C. *et al.* In-vitro evaluation of kenaf seed oil in chitosan coated-high methoxyl pectin-alginate microcapsules. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], 2015.

CHOI, J. H. *et al.* Suppression of PMA-induced human fibrosarcoma HT-1080 invasion and metastasis by kahweol via inhibiting Akt/JNK1/2/p38 MAPK signal pathway and NF-κB dependent transcriptional activities. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 125, p. 1–9, 1 mar. 2019.

CHUNG, C.; MCCLEMENTS, D. J. Controlling microstructure and physical properties of biopolymer hydrogel particles through modulation of electrostatic interactions. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], 2015.

COMUNIAN, T. A. *et al.* Effect of different polysaccharides and crosslinkers on echium oil microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 150, p. 319–329, 2016a.

COMUNIAN, T. A. *et al.* Protection of echium oil by microencapsulation with phenolic

compounds. **Food Research International**, [s.l.], 2016b.

COMUNIAN, T. A. *et al.* Development of functional yogurt containing free and encapsulated echium oil, phytosterol and sinapic acid. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 237, p. 948–956, 2017.

COMUNIAN, T. A. *et al.* Enhancing stability of echium seed oil and beta-sitosterol by their coencapsulation by complex coacervation using different combinations of wall materials and crosslinkers. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 252, p. 277–284, 2018.

CORNELIO-SANTIAGO, H. P. *et al.* Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil from green coffee beans: Solubility, triacylglycerol composition, thermophysical properties and thermodynamic modelling. **Journal of Supercritical Fluids**, [s.l.], v. 128, p. 386–394, 2017.

CORTÉS-CAMARGO, S. *et al.* Effect of chia mucilage addition on oxidation and release kinetics of lemon essential oil microencapsulated using mesquite gum – Chia mucilage mixtures. **Food Research International**, [s.l.], 2019.

DE AZEVEDO, A. B. A. *et al.* Extraction of green coffee oil using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, [s.l.], 2008.

DE CAMPO, C. *et al.* Zeaxanthin nanoencapsulation with *Opuntia monacantha* mucilage as structuring material: Characterization and stability evaluation under different temperatures. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], 2018.

DE CASTILHOS, M. B. M. *et al.* Experimental study of physical and rheological properties of grape juice using different temperatures and concentrations. Part I: Cabernet Sauvignon. **Food Research International**, [s.l.], v. 100, p. 724–730, 1 out. 2017.

DE CASTILHOS, M. B. M. *et al.* Experimental study of physical and rheological properties of grape juice using different temperatures and concentrations. Part II: Merlot. **Food Research International**, [s.l.], v. 105, p. 905–912, 2018.

DE OLIVEIRA, P. M. A. *et al.* Enrichment of diterpenes in green coffee oil using supercritical fluid extraction - Characterization and comparison with green coffee oil from pressing. **Journal of Supercritical Fluids**, [s.l.], v. 95, p. 137–145, 2014.

DE SOUZA, V. B. *et al.* Functional properties and encapsulation of a proanthocyanidin-rich cinnamon extract (*Cinnamomum zeylanicum*) by complex coacervation using gelatin and different polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 77, p. 297–306, 2018.

DEVI, N. *et al.* Encapsulation of active ingredients in polysaccharide–protein complex coacervates. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s.l.], 2017.

DI GIORGIO, L.; SALGADO, P. R.; MAURI, A. N. Encapsulation of fish oil in soybean protein particles by emulsification and spray drying. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2019.

DIAS, D. R. *et al.* Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Current Opinion in Food Science**, [s.l.], 2017.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2003.

DUCEL, V. *et al.* Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: Application to the microencapsulation of oil droplets. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], 2004.

EGHBAL, N.; CHOUDHARY, R. Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 2018.

ERATTE, D. *et al.* Complex coacervation with whey protein isolate and gum arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil. **Food and Function**, [s.l.], 2014.

ESPINOSA-ANDREWS, H. *et al.* Determination of the gum Arabic-chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], 2010.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, G.; ROCHA, S. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios Review: Microencapsulation of food ingredients. **Braz. J. Food Technol**, [s.l.], 2008.

FENG, Z. Z. *et al.* Astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*: Microencapsulation with carboxymethyl cellulose sodium and microcrystalline cellulose and effects of microencapsulated astaxanthin on yogurt properties. **Lwt**, [s.l.], v. 96, p. 152–160, 2018.

FERRARI, M. *et al.* Interfacial properties of coffee oils. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], 2010.

FRASCARELI, E. C. *et al.* Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, [s.l.], 2012.

GANESH, A. N. *et al.* Colloidal aggregation: From screening nuisance to formulation nuance. **Nano Today**, [s.l.], 2018.

GBASSI, G. K. *et al.* Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp in an alginate matrix coated with whey proteins. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], v. 129, n. 1, p. 103–105, 2009.

GIRARD, M.; TURGEON, S. L.; GAUTHIER, S. F. Thermodynamic parameters of  $\beta$ -lactoglobulin-pectin complexes assessed by isothermal titration calorimetry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], 2003.

GOMEZ-ESTACA, J. *et al.* Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract

from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatin-cashew gum complex. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 155–162, [s.l.], 2016.

GONÇALVES, N. D. *et al.* Comparison of microparticles produced with combinations of gelatin, chitosan and gum Arabic. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], 2018.

GONZÁLEZ-MONROY, A. D. *et al.* GONZÁLEZ-MONROY, Arnold David; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, Gabriela; OZUNA, César; *et al.* Microwave-assisted pasteurization of beverages (tamarind and green) and their quality during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 49, **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s.l.], v. 49, p. 51–57, 2018.

GULÃO, E. DA S. *et al.* Complex coacervates obtained from lactoferrin and gum arabic: Formation and characterization. **Food Research International**, [s.l.], 2014.

HASANVAND, E.; RAFE, A.; EMADZADEH, B. Phase separation behavior of flaxseed gum and rice bran protein complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.

HASHEMINEJAD, N.; KHODAIYAN, F.; SAFARI, M. Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles. **Food Chemistry**, [s.l.], 2019.

HERCULANO, E. D. *et al.* Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated Eucalyptus staigeriana essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 2015.

HU, Y. *et al.* Physical stability and antioxidant activity of citrus flavonoids in arabic gum-stabilized microcapsules: Modulation of whey protein concentrate. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.

HUANG, E. *et al.* Co-encapsulation of coenzyme Q10 and vitamin E: A study of microcapsule formation and its relation to structure and functionalities using single droplet drying and micro-fluidic-jet spray drying. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], 2019.

HUANG, G. Q. *et al.* Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. **Food Chemistry**, [s.l.], 2012.

HUANG, Y.; ZHOU, W. Microencapsulation of anthocyanins through two-step emulsification and release characteristics during in vitro digestion. **Food Chemistry**, [s.l.], 2019.

HUBER, W. W. *et al.* Effects of coffee and its chemopreventive components kahweol and cafestol on cytochrome P450 and sulfotransferase in rat liver. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], 2008.

ILYASOGLU, H.; EL, S. N. Nanoencapsulation of EPA/DHA with sodium caseinate-gum arabic complex and its usage in the enrichment of fruit juice. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 56, n. 2, p. 461–468, 2014.

JAMRÓZ, E. *et al.* Development and characterisation of furcellaran-gelatin films containing SeNPs and AgNPs that have antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.

JANISSEN, B.; HUYNH, T. Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. **Resources, Conservation and Recycling**, [s.l.], v. 128, p. 110–117, 1 jan. 2018.

JANNASARI, N. *et al.* Microencapsulation of vitamin D using gelatin and cress seed mucilage: Production, characterization and in vivo study. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 129, p. 972–979, 15 maio 2019.

JIANG, M. *et al.* Preparation of a starch-based carrier for oral delivery of Vitamin E to the small intestine. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 91, p. 26–33, 1 jun. 2019.

JOSHI, N.; RAWAT, K.; BOHIDAR, H. B. pH and ionic strength induced complex coacervation of Pectin and Gelatin A. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.

JUN-XIA, X.; HAI-YAN, Y.; JIAN, Y. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. **Food Chemistry**, [s.l.], 2011.

KAYITMAZER, A. B. *et al.* **Protein-polyelectrolyte interactions** **Soft Matter**, 2013.  
KHALID, N. *et al.* Encapsulation of  $\beta$ -sitosterol plus  $\gamma$ -oryzanol in O/W emulsions: Formulation characteristics and stability evaluation with microchannel emulsification. **Food and Bioproducts Processing**, [s.l.], 2017a.

KHALID, N. *et al.* Encapsulation of  $\beta$ -sitosterol plus  $\gamma$ -oryzanol in O/W emulsions: Formulation characteristics and stability evaluation with microchannel emulsification. **Food and Bioproducts Processing**, [s.l.], v. 102, p. 222–232, 1 mar. 2017b.

KHEYNOOR, N. *et al.* Encapsulation of vitamin C in a rebaudioside-sweetened model beverage using water in oil in water double emulsions. **LWT**, [s.l.], v. 96, p. 419–425, 1 out. 2018.

KIM, J. Y.; JUNG, K. S.; JEONG, H. G. Suppressive effects of the kahweol and cafestol on cyclooxygenase-2 expression in macrophages. **FEBS Letters**, [s.l.], 2004.

KIRYUKHIN, M. V. *et al.* A membrane film sensor with encapsulated fluorescent dyes towards express freshness monitoring of packaged food. **Talanta**, [s.l.], 2018.

KLASSEN, D. R.; NICKERSON, M. T. Effect of pH on the formation of electrostatic complexes within admixtures of partially purified pea proteins (legumin and vicilin) and gum Arabic polysaccharides. **Food Research International**, [s.l.], 2012.

KONG, L.; BHOSALE, R.; ZIEGLER, G. R. Encapsulation and stabilization of  $\beta$ -carotene by amylose inclusion complexes. **Food Research International**, [s.l.], 2018.



KURU, P. Tamarindus indica and its health related effects. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, [s.l.], 2014.

LEE, K. J.; JEONG, H. G. Protective effects of kahweol and cafestol against hydrogen peroxide-induced oxidative stress and DNA damage. **Toxicology Letters**, [s.l.], 2007.

LI, J. *et al.* Biological macromolecule delivery system fabricated using zein and gum arabic to control the release rate of encapsulated tocopherol during in vitro digestion. **Food Research International**, [s.l.], 2018.

LIMA, C. S. *et al.* Cafestol, a diterpene molecule found in coffee, induces leukemia cell death. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 92, p. 1045–1054, 2017.

LIU, Q. *et al.* Encapsulation of curcumin in zein/ caseinate/sodium alginate nanoparticles with improved physicochemical and controlled release properties. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 5 fev. 2019.

LIU, S. *et al.* Effect of pH on the functional behaviour of pea protein isolate-gum Arabic complexes. **Food Research International**, [s.l.], 2010.

LIU, W. *et al.* Multilayered vitamin C nanoliposomes by self-assembly of alginate and chitosan: Long-term stability and feasibility application in mandarin juice. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 75, p. 608–615, 2017.

MA, T. *et al.* Effect of processing conditions on the morphology and oxidative stability of lipid microcapsules during complex coacervation. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 87, p. 637–643, 2019.

MADADLOU, A. *et al.* Development of an aqueous two-phase emulsion using hydrophobized whey proteins and erythritol. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 19 fev. 2019.

MANOUKIAN, E. B. **Mathematica In on parametric statistics**. New York: NY: Gordon and Breach, 1986.

MARQUES DA SILVA, T. *et al.* Development and characterization of microcapsules containing Bifidobacterium Bb-12 produced by complex coacervation followed by freeze drying. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 2018.

MARSANASCO, M. *et al.* Liposomes as vehicles for vitamins E and C: An alternative to fortify orange juice and offer vitamin C protection after heat treatment. **Food Research International**, [s.l.], v. 44, n. 9, p. 3039–3046, 2011.

MARTINELLO, F. *et al.* Hypolipemic and antioxidant activities from Tamarindus indica L. pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 6, p. 810–818, [s.l.], 2006.

MARTINS, I. M. *et al.* Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], 2014.

MATOS-JR, F. E. DE *et al.* Evaluation of the viability and the preservation of the functionality of microencapsulated *Lactobacillus paracasei* BGP1 and *Lactobacillus rhamnosus* 64 in lipid particles coated by polymer electrostatic interaction. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], 2019.

MAYYA, K. S.; BHATTACHARYYA, A.; ARGILLIER, J. F. Micro-encapsulation by complex coacervation: Influence of surfactant. **Polymer International**, [s.l.], 2003.

MCCLEMENTS, D. J.; LI, Y. Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s.l.], 2010.

MEILGAARD, M., CIVILLE, G. V., CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4 ed. Flórida: CRC Press, [s.l.], 2007.

MELLBYE, F. B. *et al.* Cafestol, a Bioactive Substance in Coffee, Stimulates Insulin Secretion and Increases Glucose Uptake in Muscle Cells: Studies in Vitro. **Journal of Natural Products**, [s.l.], v. 78, n. 10, p. 2447–2451, 2015.

MENDANHA, D. V. *et al.* Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. **Food Research International**, [s.l.], 2009.

MONTERO, P. *et al.* Microcapsules containing astaxanthin from shrimp waste as potential food coloring and functional ingredient: Characterization, stability, and bioaccessibility. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 2016.

MUN, S. *et al.* Influence of interfacial composition on in vitro digestibility of emulsified lipids: Potential mechanism for chitosan's ability to inhibit fat digestion. **Food Biophysics**, [s.l.], 2006.

NASCIMENTO, L. C. DO *et al.* Caracterização morfológica de frutos e sementes e desenvolvimento pós-seminal de *Tamarindus indica* L. - Leguminosae: caesalpinioideae. **Revista Árvore**, [s.l.], 2011.

NG, C. H.; YANG, K. L. Lipase in biphasic alginate beads as a biocatalyst for esterification of butyric acid and butanol in aqueous media. **Enzyme and Microbial Technology**, [s.l.], 2016.

NOELLO, C. *et al.* Spray dried microparticles of chia oil using emulsion stabilized by whey protein concentrate and pectin by electrostatic deposition. **Food Research International**, [s.l.], 2016.

NOVAES, F. J. M. *et al.* Lipase-catalysed esters synthesis of cafestol and kahweol. **Food Chemistry**, [s.l.], 2018.

OH, S. H. *et al.* Kahweol inhibits proliferation and induces apoptosis by suppressing fatty acid synthase in HER2-overexpressing cancer cells. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 121, p. 326–335, 1 nov. 2018.

OKELLO, J. *et al.* Mineral composition of *Tamarindus indica* LINN (tamarind) pulp and seeds from different agro-ecological zones of Uganda. **Food Science and Nutrition**, [s.l.], 2017.

Origin(Pro), Versão 2018. OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA.

OVERBEEK, J. T. G.; VOORN, M. J. Phase separation in polyelectrolyte solutions. Theory of complex coacervation. **Journal of Cellular and Comparative Physiology**, [s.l.], 2005.

OWENS, C. *et al.* Creaming and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized by whey protein-xanthan-locust bean complexes: Impact of pH. **Food Chemistry**, [s.l.], 2018.

OXLEY, J. Overview of Microencapsulation Process Technologies. In: **Microencapsulation in the Food Industry**, [s.l.], 2014.

PAL, A.; BAJPAI, J.; BAJPAI, A. K. Poly (acrylic acid) grafted gelatin nanocarriers as swelling controlled drug delivery system for optimized release of paclitaxel from modified gelatin. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s.l.], 2018.

PARK, G. H.; SONG, H. M.; JEONG, J. B. The coffee diterpene kahweol suppresses the cell proliferation by inducing cyclin D1 proteasomal degradation via ERK1/2, JNK and GSK3 $\beta$ -dependent threonine-286 phosphorylation in human colorectal cancer cells. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 95, p. 142–148, 1 set. 2016.

PATHAK, J. *et al.* Complex coacervation in charge complementary biopolymers: Electrostatic versus surface patch binding. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s.l.], 2017.

PATTERSON, D. Polymer compatibility with and without a solvent. **Polymer Engineering & Science**, [s.l.], 1982.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering C**, [s.l.], 2017.

PIECZYKOLAN, E.; KUREK, M. A. Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 129, p. 665–671, 15 maio 2019.

PINILLA, C. M. B.; THYS, R. C. S.; BRANDELLI, A. Antifungal properties of phosphatidylcholine-oleic acid liposomes encapsulating garlic against environmental fungal in wheat bread. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], 2019.

PORTO, B. C.; CRISTIANINI, M. Evaluation of cashew tree gum (*Anacardium occidentale* L.) emulsifying properties. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 2014.

PRATA, A. S.; GROSSO, C. R. F. Production of microparticles with gelatin and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], 2015.

PRAVINATA, L. C.; MURRAY, B. S. Encapsulation of water-insoluble polyphenols and  $\beta$ -carotene in Ca-alginate microgel particles produced by the Leeds Jet Homogenizer. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], 2019.

RANA, S. *et al.* Effect of sodium caseinate and vitamin A complexation on bioaccessibility and bioavailability of vitamin A in Caco-2 cells. **Food Research International**, [s.l.], 2019.

RAVINDRAN, S. *et al.* Understanding how the properties of whey protein stabilized emulsions depend on pH, ionic strength and calcium concentration, by mapping environmental conditions to zeta potential. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.

REYES, V. *et al.* Viability of *Lactobacillus acidophilus* NRRL B-4495 encapsulated with high maize starch, maltodextrin, and gum arabic. **LWT**, [s.l.], 2018.

RIBEIRO, A. J. *et al.* Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], 2016.

RODRIGUES DA CRUZ, M. C. *et al.* Assessment of physicochemical characteristics, thermal stability and release profile of ascorbic acid microcapsules obtained by complex coacervation. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2019.

RUTZ, J. K. *et al.* Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 220, p. 59–66, 2017.

SAIFULLAH, M. *et al.* Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v. 86, p. 230–251, 1 abr. 2019.

SANTOS, M. B.; DE CARVALHO, C. W. P.; GARCIA-ROJAS, E. E. Heteroprotein complex formation of bovine serum albumin and lysozyme: Structure and thermal stability. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.

SHADDEL, R. *et al.* Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 107, p. 1800–1810, 2018.

SHI, L. *et al.* Micro-emulsification/encapsulation of krill oil by complex coacervation with krill protein isolated using isoelectric solubilization/precipitation. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 244, p. 284–291, 2018.

SILVA, E. K.; MEIRELES, M. A. A. Encapsulation of Food Compounds Using Supercritical Technologies : Applications of Supercritical Carbon Dioxide as an Antisolvent. **Food and Public Health**, [s.l.], 2014.

SILVA, F. *et al.* Cashew gum and maltodextrin particles for green tea (*Camellia sinensis* var *Assamica*) extract encapsulation. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 261, p. 169–175, 30 set. 2018.

SILVA, V. M.; VIEIRA, G. S.; HUBINGER, M. D. Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. **Food Research International**, [s.l.], 2014.

SINGH, S. S.; ASWAL, V. K.; BOHIDAR, H. B. Structural studies of agar-gelatin complex coacervates by small angle neutron scattering, rheology and differential scanning calorimetry. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], 2007.

SOUZA, A. L. R. *et al.* Microencapsulation by spray drying of a lycopene-rich tomato concentrate: Characterization and stability. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], 2018.

SPRUIJT, E. *et al.* Binodal compositions of polyelectrolyte complexes. **Macromolecules**, [s.l.], 2010.

SUTAPHANIT, P.; CHITPRASERT, P. Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology. **Food Chemistry**, [s.l.], 2014.

TAN, P. Y. *et al.* Effects of storage and yogurt matrix on the stability of tocotrienols encapsulated in chitosan-alginate microcapsules. **Food Chemistry**, [s.l.], 2018.

TAN, Y. *et al.* Impact of an indigestible oil phase (mineral oil) on the bioaccessibility of vitamin D3 encapsulated in whey protein-stabilized nanoemulsions. **Food Research International**, [s.l.], 19 fev. 2019.

TIMILSENA, Y. P. *et al.* Advances in microencapsulation of polyunsaturated fatty acids (PUFAs)-rich plant oils using complex coacervation: A review. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 69, p. 369–381, 1 ago. 2017.

TIMILSENA, Y. P. *et al.* Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], 2019.

TORQUATO, D. S. *et al.* Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], 2004.

TSAI, Y. T. *et al.* Cafestol, a coffee diterpene, inhibits urotensin II-induced interleukin-8 expression in human umbilical vein endothelial cells. **European Journal of Pharmacology**, [s.l.], v. 820, p. 106–112, 2018.

TSALI, A.; GOULA, A. M. Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. **Powder Technology**, [s.l.], 2018.

TSUKUI, A. *et al.* **Microwave-assisted extraction of green coffee oil and quantification of diterpenes by HPLC** **Food Chemistry**, [s.l.], 2014.

TURGEON, S. L.; SCHMITT, C.; SANCHEZ, C. Protein–polysaccharide complexes

and coacervates. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, [s.l.], 2007.

VEIS, A.; ARANYI, C. Phase separation in polyelectrolyte systems. I. Complex coacervates of gelatin. **Journal of Physical Chemistry**, [s.l.], 1960.

VÉLEZ, M. A. *et al.* Effect of lyophilization on food grade liposomes loaded with conjugated linoleic acid. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], 2019.

VIDAL, L. *et al.* Comparison of Correspondence Analysis based on Hellinger and chi-square distances to obtain sensory spaces from check-all-that-apply (CATA) questions. **Food Quality and Preference**, [s.l.], v. 43, p.106-112, 2015.

VINCEKOVIĆ, M. *et al.* Innovative technologies for encapsulation of Mediterranean plants extracts. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v. 69, p. 1–12, 1 nov. 2017.

WANG, B. *et al.* Anchovy oil microcapsule powders prepared using two-step complex coacervation between gelatin and sodium hexametaphosphate followed by spray drying. **Powder Technology**, [s.l.], 2018a.

WANG, B.; ADHIKARI, B.; BARROW, C. J. Highly stable spray dried tuna oil powders encapsulated in double shells of whey protein isolate-agar gum and gellan gum complex coacervates. **Powder Technology**, [s.l.], 2018.

WANG, C. S. *et al.* A gelation mechanism for gelatin/polysaccharide aqueous mixtures. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018b.

WANG, S.; SHI, Y.; HAN, L. Development and evaluation of microencapsulated peony seed oil prepared by spray drying: Oxidative stability and its release behavior during in-vitro digestion. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], 2018.

WEINBRECK, F. *et al.* Complex coacervation of whey proteins and gum arabic. **Biomacromolecules**, [s.l.], 2003.

WEISS, J.; TAKHISTOV, P.; MCCLEMENTS, D. J. Functional Materials in Food Nanotechnology. **Journal of Food Science**, [s.l.], 2006.

WIKOFF, Daniele *et al.* Systematic review of the potential adverse effects of caffeine consumption in healthy adults, pregnant women, adolescents, and children. **Food And Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 109, p.585-648, 2017.

WOO, Y. S.; KIM, M. J.; LEE, J. H. Prediction of oxidative stability in bulk oils using dielectric constant changes. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 279, p. 216–222, 2019.

WU, W. *et al.* Improving the stability of wheat gliadin nanoparticles – Effect of gum arabic addition. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.

XIAO, J.; LI, Y.; HUANG, Q. Application of Monte Carlo simulation in addressing key issues of complex coacervation formed by polyelectrolytes and oppositely charged colloids. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s.l.], 2017.

XIAO, J. X. *et al.* Complex coacervation of carboxymethyl konjac glucomannan and chitosan and coacervate characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], 2019.

YANG, Z. *et al.* Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. **Food Chemistry**, [s.l.], 2014.

YEUNG, T. W. *et al.* Microencapsulation in alginate and chitosan microgels to enhance viability of *Bifidobacterium longum* for oral delivery. **Frontiers in Microbiology**, [s.l.], 2016.

YOU, G.; LIU, X. L.; ZHAO, M. M. Preparation and characterization of hsian-tsaogum and chitosan complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.

ZEEB, B. *et al.* Growth phenomena in biopolymer complexes composed of heated WPI and pectin. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], 2018.

ZHU, F. Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems. **Food Chemistry**, [s.l.], 2017.