

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

COACERVAÇÃO COMPLEXA EMPREGADA COMO SISTEMA DE
CARREAMENTO DE SULFATO FERROSO

Marina Stogmüller Ferreira da Silva

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**COACERVAÇÃO COMPLEXA EMPREGADA COMO SISTEMA DE
CARREAMENTO DE SULFATO FERROSO**

Marina Stogmüller Ferreira da Silva

Sob a orientação do Professor
Dr. Edwin Elard Garcia Rojas

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ

2024

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

SS586c Silva, Marina Stogmuller Ferreira da , 30/10/1992-
Coacervação Complexa Empregada como Sistema de
Carreamento do Sulfato de Ferro / Marina Stogmuller
Ferreira da Silva. - Paracambi, 2024.
59 f.

Orientador: Edwin Elard Garcia-Rojas.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação de Ciência
e Tecnologia dos Alimentos, 2024.

1. Coacervação. 2. Sulfato de ferro. 3.
Fortificação. 4. Diagrama de fases. 5. Eficiência de
encapsulação. I. Elard Garcia-Rojas, Edwin , 1972-,
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós-Graduação de Ciência e
Tecnologia dos Alimentos III. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



TERMO Nº 82/2024 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)

Nº do Protocolo: 23083.008877/2024-57

Seropédica-RJ, 23 de fevereiro de 2024.

MARINA STOGMULLER FERREIRA DA SILVA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 21/02/2024

EDWIN ELARD GARCIA ROJAS, (Dr) UFF (orientador)
BARBARA DA SILVA SOARES TELLES, (Dra) UV
JUAREZ VICENTE, (Dr) IFC

Documento não acessível publicamente

(Assinado digitalmente em 23/02/2024 13:20)

BARBARA DA SILVA SOARES TELLES

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.117-##

(Assinado digitalmente em 23/02/2024 11:04)

EDWIN ELARD GARCIA ROJAS

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.996-##

(Assinado digitalmente em 23/02/2024 15:01)

JUAREZ VICENTE

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.469-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **82**, ano: **2024**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **23/02/2024** e o código de verificação: **fb1e174380**

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, irmãos e meus avós que ainda estão comigo e os que me guiam do céu.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por toda proteção e por sempre iluminar meu caminho.

Ao professor, orientador Edwin por toda paciência, compreensão e apoio nos momentos difíceis e por toda orientação, ensinamento, sempre buscando nosso melhor.

Aos meus pais, meus irmãos e cunhadas por sempre me incentivarem, nunca me deixarem desistir e sempre me mostrarem que eu sou capaz.

Aos amigos e aos amigos que fiz no laboratório, agradeço a paciência, por me ensinarem tudo que sei hoje, por estarem sempre prontos a me ajudar. Barbara, Jessica, Bruno, Emilie e Marcelli, muito obrigada.

Obrigada por dividirem almoços, cafezinho da tarde e por sempre me ouvirem falando que estava com vontade de comer um docinho ou uma torta de chocolate.

Agradeço a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade de aperfeiçoamento pessoal e profissional.

RESUMO

SILVA, Marina Stogmüller Ferreira da. **Coacervação complexa empregada como sistema de carreamento de sulfato ferroso**. 2024. 57 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

O Ferro é um micronutriente com baixa biodisponibilidade para nós seres humano, por isso, sua deficiência é considerada um problema de saúde pública. No Brasil sua baixa biodisponibilidade é considerado um problema nutricional e atinge principalmente as crianças, mulheres em idade fértil e gestantes, a anemia ferropriva que é a baixa de hemoglobina no sangue e a incapacidade de transportar oxigênio pelos glóbulos vermelho, chega a 90% dos casos. Estratégias como ações de educação alimentar e nutricional suplementação do ferro para prevenção e tratamento da anemia com a fortificação de alimentos como a farinha de trigo e milho com ácido fólico. A microencapsulação na indústria alimentícia vem sendo muito utilizada para armazenar um ingrediente bioativo, sendo revestido por materiais de parede formando partículas de tamanho microscópico protegido de condições ambientais adversas. Assim esse trabalho teve como objetivo estudar a formação do complexo coacervado utilizando o isolado proteico de soja e alginato de sódio como materiais de parede, encapsulando o sulfato ferroso e fortificando um biscoito. Dentro das análises aplicadas conseguimos confirmar a afinidade entre os biopolímeros utilizados como material de parede, a alta eficiência da encapsulação nas proporções escolhidas e a eficiência da encapsulação e na aplicação das microcápsulas no biscoito observamos que não há diferença significativa de cor e textura entre as amostras sem microcápsulas e com microcápsulas adicionadas.

Palavras chave: microencapsulação; coacervação complexa; sulfato ferroso; deficiência de ferro.

ABSTRACT

SILVA, Marina Stogmüller Ferreira da. **Complex coacervation used as a ferrous sulfate transport system.** 2024. 57 p. Dissertation (Master's in Food Science and Technology). Institute of Technology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Iron is a micronutrient with low bioavailability for us humans, therefore, its deficiency is considered a public health problem. In Brazil, its low bioavailability is considered a nutritional problem and mainly affects children, women of childbearing age and pregnant women. Iron deficiency anemia, which is low hemoglobin in the blood and the inability to transport oxygen through red blood cells, affects 90% of cases. . Strategies such as food and nutritional education actions, iron supplementation for the prevention and treatment of anemia with the fortification of foods such as wheat and corn flour with folic acid. Microencapsulation in the food industry has been widely used to store a bioactive ingredient, being coated with wall materials forming microscopic-sized particles protected from adverse environmental conditions. Thus, this work aimed to study the formation of the coacervate complex using soy protein isolate and sodium alginate as wall materials, encapsulating ferrous sulfate and fortifying a biscuit. Within the applied analyzes we were able to confirm the affinity between the biopolymers used as wall material, the high encapsulation efficiency in the chosen proportions and the encapsulation efficiency and application of the microcapsules in the biscuit we observed that there is no significant difference in color and texture between the samples. without microcapsules and with added microcapsules.

Keywords: microencapsulation; complex coacervation; ferrous sulphate; iron deficiency.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Configurações estruturais das microcápsulas (A) simples, (B) agrupamento de cápsulas, (C) multi-núcleos, (D) multi-paredes, (E) irregular) e da microesfera (F) matrix insolúvel)..... | 5 |
| Figura 2. Processo de interação dos biopolímeros para formação do complexo coacervado através do cloreto de cálcio para reticulação. | 7 |
| Figura 3. Representação do esquema de dupla emulsão, (c) water- oil - water (água em óleo) e (d) oil – water –oil (óleo em água). | 8 |
| Figura 4. Parâmetros intrínsecos e extrínsecos que influenciam o processo de coacervação complexa..... | 10 |
| Figura 5. Interação dos biopolímeros de acordo com a variedade das diferentes interações moleculares..... | 11 |
| Figura 6. Processo para o isolamento da proteína de soja a partir da farinha de soja. | 18 |
| Figura 7. Característica estrutural do alginato: (a) monômeros de alginato, (b) cadeia conformação, (C) distribuição de bloqueio | 20 |
| Figura 8. Esquema da fabricação das microcápsulas de sulfato ferroso através da emulsão dupla e coacervação complexa com utilização do IPS (isolado proteico de soja) e o ALG (alginato de sódio) como materiais de parede. | 24 |
| Figura 9. ζ -potencial e força de interação eletrostática (SEI) do isolado proteico de soja e alginato de sódio..... | 28 |
| Figura 10. Diagrama de fases do IPS:ALG em diferentes razões no pH 4,0. Onde por □ solução turva com menor precipitado, ■ solução com leve precipitado sem turbidez, ○ solução com precipitado de menor volume e ● solução com maior volume de precipitado e levemente turva..... | 29 |
| Figura 11. FTIR óleo de milho (OM), isolado proteico de soja (IPS), alginato de sódio (NaAlg) e microcápsula de ferro (MIC)..... | 33 |
| Figura 12. Microscopia ótica da emulsão dupla (A/O/A) contendo ferro utilizando isolado proteico de soja e alginato de sódio como material de parede na proporção 1:1. | 34 |
| Figura 13. Liberação do ferro encapsulado nas microcápsulas de isolado proteico de soja e alginato de sódio..... | 35 |
| Figura 14. (1) amostra com ferro livre, (2) amostra controle, (3) amostra com microcápsula. | 36 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Métodos de microencapsulação..... | 5 |
| Tabela 2. Aplicação da coacervação complexa na microencapsulação de compostos bioativos. | 6 |
| Tabela 3. Recomendação diária de consumo de ferro em diferentes faixas etárias | 14 |
| Tabela 4. Metodologias de encapsulação ou fortificação do ferro em alimentos..... | 16 |
| Tabela 5. Aplicação da coacervação complexa na microencapsulação com isolado proteico de soja..... | 19 |
| Tabela 6. Aplicação da coacervação complexa na microencapsulação com alginato de sódio. | 21 |
| Tabela 7. Eficiência de encapsulação das amostras para encapsular o sulfato ferroso, com contrações de 0,5%, 0,75%, 1% (m/m) e razões de 1:1, 2:1 e 4:1 (IPS:ALG)..... | 31 |
| Tabela 8 – Análise estatística da eficiência de encapsulação do ferro | 32 |
| Tabela 9 – Formulação dos biscoitos com ferro livre, amostra controle e com microcápsulas de ferro..... | 36 |
| Tabela 10 – Estatística análise de dureza dos biscoitos: amostra com microcápsula, amostra com ferro livre e amostra controle..... | 37 |
| Tabela 11 – Estatística análise de fraturabilidade dos biscoitos: amostra com microcápsula, amostra com ferro livre e amostra controle. | 37 |
| Tabela 12 – Médias dos valores de luminosidade (L*) | 38 |
| Tabela 13 – Média dos valores de intensidade (a*) componente vermelho-verde) | 38 |
| Tabela 14 - Média dos valores de intensidade (b*) componente amarelo-azul) | 38 |

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

- solução turva com precipitado
 - solução turva, ○ solução com precipitado de menor volume
 - solução com maior volume de precipitado e levemente turva
- Alg – alginato de sódio
- CaCl₂ – cloreto de cálcio
- EE – eficiência de encapsulação
- IDR - Ingestão Diária Recomendada
- IPS – isolado proteico de soja
- OMS – Organização mundial da saúde
- PGPR - polirricinoleato de poliglicerol
- SEI - força da interação eletrostática
- ζ – Potencial Zeta

SUMÁRIO

| | |
|---|-----|
| INTRODUÇÃO | 1 |
| OBJETIVOS..... | 3 |
| 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 4 |
| 1.1 Microencapsulação..... | 4 |
| 1.1 Técnicas de microencapsulação | 18 |
| 1.1.1 Microencapsulação por coacervação complexa | 7 |
| 1.1.1.1 Emulsão..... | 20 |
| 1.1.1.2 Coacervação complexa | 9 |
| 1.1.1.3 Reticulação..... | 11 |
| 1.2 Biomoléculas ou ingredientes encapsulados | 12 |
| 1.3 Ferro | 12 |
| 1.3.1 Absorção do ferro | 12 |
| 1.3.2 Biodisponibilidade do ferro | 12 |
| 1.3.3 Fortificação de alimentos..... | 145 |
| 1.4 Material de parede | 14 |
| 1.4.1 Isolado proteico de soja | 17 |
| 1.4.2 Alginato de sódio..... | 19 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 22 |
| 2.1 Material | 22 |
| 2.2 Estudo do material de parede formado pelo IPS e Alg | 22 |
| 2.2.1 Tratamento térmico e dialise do IPS..... | 22 |
| 2.2.2 Determinação do Potencial Zeta..... | 22 |
| 2.2.3 Influencia da concentração de biopolímeros na formação dos complexoscoacervados: Diagrama de fases | 23 |
| 2.2.4 Encapsulação do sulfato ferroso | 23 |
| 2.2.5 Eficiência de Encapsulação | 24 |
| 2.2.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)..... | 25 |
| 2.2.7 Microscopia óptica | 25 |
| 2.2.8 Simulação gastrointestinal <i>in vitro</i> das microcápsulas | 25 |
| 2.2.9 Bioacessibilidade da microcápsula de ferro | 26 |
| 2.2.10 Liberação do Ferro..... | 26 |
| 2.3 Formulação e enriquecimento de biscoitos com microcápsulas de sulfato ferroso | 27 |
| 2.3.1 Análise de textura: dureza e fraturabilidade | 27 |

| | | |
|--------|--|----|
| 2.3.2 | Análise de cor | 27 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 28 |
| 3.1.1 | Formação do complexo coacervado: Potencial Zeta | 28 |
| 3.1.2 | Influência da concentração de biopolímeros na formação dos complexos coacervados: Diagrama de fases. | 29 |
| 3.1.3 | Eficiência de encapsulação | 30 |
| 3.1.4 | Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)..... | 33 |
| 3.1.5 | Microscopia óptica | 33 |
| 3.1.6 | Simulação gastrointestinal <i>in vitro</i> das microcápsulas - Liberação do ferro..... | 34 |
| 3.1.7 | Bioacessibilidade da microcápsula de ferro | 35 |
| 3.1.8 | Formulação e enriquecimento de biscoitos com microcápsula de ferro | 36 |
| 3.1.9 | Análise de textura: dureza e fraturabilidade | 36 |
| 3.1.10 | Análise de cor | 37 |
| 4 | CONCLUSÃO | 39 |
| 5 | REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA | 40 |

INTRODUÇÃO

O ferro é um micronutriente biodisponível em grandes quantidades para nós seres humanos, no entanto sua deficiência pode ser considerada um problema de saúde pública, de acordo com a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde, esse índice chega a 42,6% em crianças entre 6 a 5 anos no mundo (BRASIL, 2006). No Brasil, é um problema nutricional recorrente que atinge principalmente crianças (20,9 %), mulheres em idade fértil (29,4%) e gestantes (BRASIL, 2022). Segundo a Organização Mundial da Saúde, a anemia ferropriva é a mais comum, chega a 90 % dos casos e tem como característica principal a baixa hemoglobina no sangue e sua incapacidade de transportar oxigênio através dos glóbulos vermelhos para atender as necessidades fisiológicas do ser humano (OMS, 2004). É uma doença sanguínea, conhecida ao redor do mundo, que afeta principalmente os países em desenvolvimento (HERNÁNDEZ-VÁSQUEZ et al., 2019).

Algumas estratégias podem ser utilizadas para evitar a deficiência de ferro, como ações de educação alimentar e nutricional promovendo alimentação adequada, balanceada e rica em ferro desde a introdução alimentar até a fase adulta, através da suplementação de sais de ferro para prevenção e tratamento da anemia em grupos de risco e através da fortificação de alimentos como farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico de acordo com a RDC nº344, de 13 de dezembro de 2002, da ANVISA (PNSF, 2013). No Brasil, a fortificação de alimentos foi uma iniciativa de saúde pública com finalidade de reduzir a prevalência de anemia ferropriva, a ANVISA em 2002 estabeleceu a fortificação obrigatória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico através da RDC n. 334/2002 (ANVISA, 2002).

A microencapsulação na indústria alimentícia vem sendo utilizada para armazenamento de um ingrediente bioativo, podendo ser sólido, líquido ou gasoso. Esse ingrediente é revestido pelo material de parede formando pequenas partículas de tamanho microscópico protegidos de condições ambientais adversas e que futuramente será liberado. Os principais objetivos de utilização desse método são: melhor aproveitamento do ingrediente bioativo, redução de interação com fatores ambientais, prevenção de perdas sensoriais e nutricionais, mascarar possíveis sabores indesejáveis, prolongar validade do material encapsulado, inserir em um produto novo ou já existente (PEREIRA, et al., 2018; BASTOS et al., 2020). As microcápsulas são partículas sólidas que se dividem de acordo com sua estrutura, podem ser classificadas como: microcápsulas simples, microesfera (substância distribuída uniformemente no material matriz), microcápsula irregular, multi-núcleos,

multiparedes, ou agrupamento de cápsulas (NASCIMENTO, et al., 2019; ANTUNES, 2022; PEREIRA et al., 2018;)

O processo de coacervação pode ser colocado em três etapas: a primeira etapa é a emulsificação, onde o material a ser encapsulamento é encapsulado no núcleo, a segunda etapa é a coacervação onde é adicionado o polissacarídeo junto com a água de diluição e a terceira etapa é a reticulação, onde é formada a casca externa da microcápsula (YAN; ZHANG, 2014).

É necessário em torno de 49 nutrientes para manter as necessidades do corpo humano e a nutrição é parte importante desse processo. Desses 49 nutrientes, o ferro é um metal muito presente no nosso meio ambiente, para o nosso corpo o íon Fe III é o que mais tem função, por se complexar com átomos de hidrogênio e fazer parte de processos biológicos como transporte de oxigênio (GONÇALVES, 2005).

Assim, esse trabalho estudou a formação do complexo de isolado proteico de soja e o alginato de sódio para encapsulação do sulfato ferroso e fortificação de um biscoito. Usamos o potencial zeta, diagrama de fases para chegar a melhor concentração dos biopolímeros e a melhor razão entre núcleo e material de parede. Depois estudamos a eficiência de encapsulação de cada proporção entre biopolímeros, a liberação do ferro e bioacessibilidade através da digestão *in vitro* das microcápsulas, além de adicionar no biscoito e avaliar dureza, fraturabilidade e cor do biscoito.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estudar o processo de formação do complexo coacervado do isolado proteico de soja e o alginato de sódio para encapsulação do sulfato ferroso e fortificação de um biscoito.

Objetivos Específicos

- Estudar a formação e caracterizar a interação do complexo coacervado obtido a partir do isolado proteico de soja e alginato de sódio;
- Microencapsular o sulfato de ferro pelo processo de coacervação complexa empregando os materiais de parede em estudo;
- Fabricação e enriquecimento de biscoitos adicionando as microcápsulas contendo sulfato de ferro.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Microencapsulação

Microencapsulação é uma técnica que protege ingredientes bioativos que podem ser sólidos, líquidos ou gasosos e estão suscetíveis a modificações através de ações externas, é uma técnica que vem sendo amplamente usada na área de alimentos. O encapsulamento minimiza interações que não são desejadas com a matriz alimentar, preservando os compostos bioativos e sua estabilidade, além de ser uma técnica que consegue mascarar seus sabores e odores desagradáveis (ANTUNES, 2022; PEREIRA et al., 2018).

O ingrediente a ser encapsulado é chamado de núcleo, o material que envolve esse núcleo é chamado de casca, parede ou membrana, essa membrana geralmente é insolúvel e não reativo com o núcleo. Essa membrana pode ser de diferentes materiais (YAN; ZHANG., 2014; NASCIMENTO et al., 2019). A microencapsulação pode ser utilizada quando há necessidade de adição de um ingrediente em um determinado momento do processo ou para diminuir evaporação, degradação de moléculas orgânicas e/ou voláteis, como os flavorizantes. Como podemos observar na Figura 1, as microcápsulas são partículas sólidas que se dividem de acordo com sua estrutura, podem ser classificadas como: microcápsulas simples, microesfera (substância distribuída uniformemente no material matriz), microcápsula irregular, multi-núcleos, multiparedes, ou agrupamento de cápsulas (NASCIMENTO, et al., 2019). O tipo e a forma das partículas, o material encapsulado, vão determinar como acontecerá a liberação do núcleo. Essa liberação do núcleo envolve mecanismos como: liberação controlada por difusão, ativação por degradação, ativação por solvente, controle por pH, ativação por temperatura ou pressão. Esses processos podem ser ativados em conjunto e que o material escolhido para ser encapsulado se envolve diretamente com a estabilidade das microcápsulas, solubilidade, peso molecular, cristalinidade, difusidade, propriedades emulsificantes, preservação do núcleo, liberação do material ativo, baixo custo e disponibilidade no mercado são muito importantes para melhor aproveitamento do processo (NASCIMENTO et al., 2019).

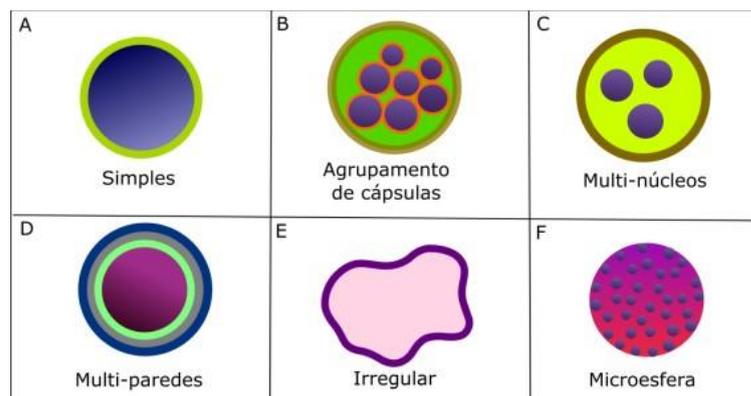


Figura 1. Configurações estruturais das microcápsulas ((A) simples, (B) agrupamento de cápsulas, (C) multi- núcleos, (D) multi-paredes, (E) irregular) e da microesfera ((F) matrix insolúvel). Adaptado de Nascimento et al.,2019.

1.1 Técnicas de microencapsulação

Hoje, diferentes técnicas são utilizadas na microencapsulação, essas técnicas vão ser classificadas de acordo com a formação das microcápsulas ou microesferas. As microesferas são formadas por meios físicos e ou químicos e as técnicas utilizadas são mostradas na Tabela 1:

Tabela 1. Métodos de microencapsulação.

| Métodos Físicos | Métodos Químicos |
|---|---------------------------|
| Spray drying | Separação de fases |
| Spray cooling/chilling | Evaporação do solvente |
| Disco rotativo | Coacervação |
| Leito fluidizado (secagem, granulação e revestimento) | Polimerização interfacial |
| Extrusão | Lipossomas |
| Coextrusão | Coextrusão |
| Encapsulação molecular | Nanoencapsulação |
| Dupla emulsão | |

Adaptado de Sobel et al, 2014.

Na indústria alimentícia a técnica de coacervação complexa vem sendo utilizada para encapsular, fornecer e proteger compostos bioativos de alto valor biológico e funcional como é mostrado na Tabela 2 (YAN; ZHANG; 2014).

Tabela 2. Aplicação da coacervação complexa na microencapsulação de compostos bioativos.

| Composto bioativo | Material de parede | método de microencapsulação | Reticulação | Referência |
|--|--|-------------------------------------|--------------------|-----------------------------|
| Óleo essencial de orégano | Goma arábica e gelatina | Coacervação complexa | NI | (MUNERATTO et al., 2021) |
| Probióticos (<i>Lactobacillus acidophilus</i> - La 5) | Gelatina e goma arábica | Coacervação complexa e liofilização | NI | (SILVA et al., 2019) |
| Óleo de polpa de pequi | Gelatina e goma arábica | Coacervação complexa | NI | (JUSTI et al., 2018) |
| <i>L.casei</i> | Alginato de sódio, proteína do soro do leite e nano cristais de celulose | Coacervação complexa | Cloreto de cálcio | (ZHANG et al., 2021) |
| Óleo de pimenta preta | Lactoferrina, e alginato de sódio | Coacervação complexa | Transglutaminase | (BASTOS et al., 2020) |
| Ácido tânico | Lactoferrina e pectina | Coacervação complexa | NI | (SOUZA; GARCIA-ROJAS, 2021) |
| Betanina | Carboximetilcelulose e isolado proteico de amaranto | Coacervação complexa | NI | (CONSTANTINO, 2022) |
| β -caroteno | Ovoalbumina e alginato de sódio | Coacervação complexa | NI | (FARIAS et al., 2023) |

NI – Não informado

1.1.1 Microencapsulação por coacervação complexa

O processo de coacervação pode ser colocado em três etapas: a primeira etapa é a emulsificação, onde o material a ser encapsulado é carregado em uma emulsão simples ou dupla, a segunda etapa é a coacervação onde é adicionado o polissacarídeo junto com a água de diluição, a terceira etapa é a reticulação, a formação da casca externa, como podemos observar na Figura 2. Cada sistema de coacervação é único, de acordo com suas condições e propriedades físicoquímicas do material encapsulado (YAN; ZHANG; 2014).

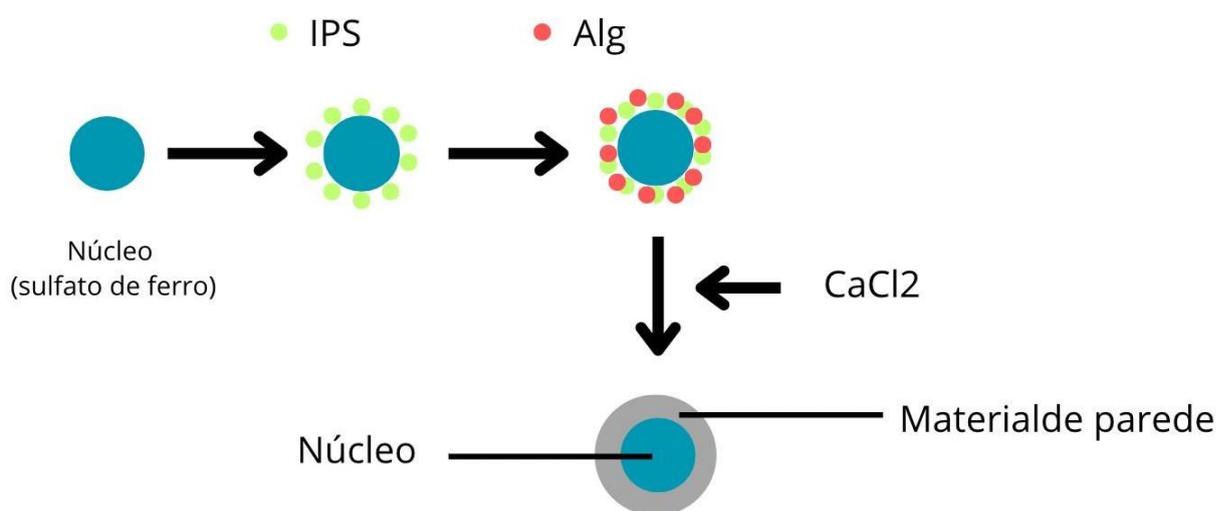


Figura 2. Processo de interação dos biopolímeros para formação do complexo coacervado utilizando o cloreto de cálcio como agente reticulante. Adaptado de Farias et al. 2023.

1.1.1.1 Emulsão

As emulsões são sistemas com estrutura de moléculas de óleo (*oil*) e água (*water*), organizados como óleo em água O/A ou água em óleo A/O. As emulsões óleo em água são as formas mais utilizadas para a microencapsulação, na entrega de ingredientes ativos lipofílicos, essa emulsão pode se formar quando há diferentes combinações de surfactantes e óleo e água são misturados em condições apropriadas, algumas vezes é necessária à adição de mais ingredientes para melhorar estabilidade e/ou ajustar as propriedades funcionais da emulsão (McCLEMENTS, 2015). A localização do ingrediente ativo dentro da emulsão tem impacto significativo na estabilidade química, influencia diretamente a reação química da fase aquosa do sistema.

Esse sistema é formado pela mistura de componentes emulsificantes óleo e água (O/W), na indústria alimentícia uma variedade de alimentos utilizam dessa técnica, como leite, sopas, bebidas, molhos como maionese, iogurte, queijo (McCLEMENTS, 2015; FREDRICK et al., 2010).

As duplas emulsões água (*water*) – óleo (*oil*) – água (*water*) ($W_1/O/W_2$), mostradas na Figura 3, são gotículas de água dentro de gotículas de óleo dispersas em fase aquosa contínua, devem ser caracterizadas como emulsões $A_1/O/A_2$, onde A_1 é a fase de água interna e A_2 é a fase de água externa, que envolve gotículas de óleo, podendo em cada fase ter composições e propriedades diferentes. Por isso, é necessário que seja utilizado dois emulsificantes para estabilizar as emulsões ($A_1/O/A_2$), um emulsificante solúvel em óleo para A_1 e um emulsificante solúvel em água para W_2 (McCLEMENTS, 2015).

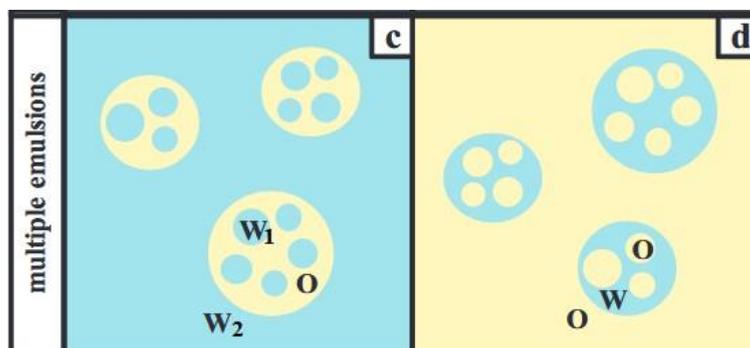


Figura 3. Representação do esquema de dupla emulsão, (c) water- oil - water (água- óleo- água) e (d) oil – water –oil (óleo – água- óleo). Adaptado de Bouyer et al., 2012.

Esses emulsificantes são substâncias capazes de adsorver em emulsões impedindo a agregação das gotas das emulsões por floculação ou convescência. Os agentes emulsificantes mais comuns são os surfactantes e os biopolímeros anfipáticos, os surfactantes são pequenas moléculas com parte hidrofóbica (afinidade ao óleo) e uma parte hidrofílica (afinidade a água), essas moléculas se adsorvem na interface da emulsão, direcionando para os pontos onde se encontra água ou óleo. Os biopolímeros anfipáticos são cadeias monoméricas, proteínas e polissacarídeo, que possuem uma parte hidrofílica e uma hidrofóbica, quando dissolvidos em solução aquosa, essas partes são expostas, a partir das interações hidrofóbicas, elas se conformam e adsorvem na superfície da emulsão (McCLEMENTS, 2015; BOUYER et al., 2012). As duplas emulsões são mais utilizadas por serem capazes de microencapsular ingredientes hidrofílicos na fase aquosa interna, e

ingredientes hidrofóbicos na fase oleosa, são capazes de distribuir vários ingredientes ativos num único sistema de distribuição (McCLEMENTS, 2015).

O balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) é um método de classificação dos emulsificantes, é um número que indica a afinidade de um emulsificante para fase aquosa e para fase de óleo. A indicação de solubilidade de um emulsificante em uma fase água ou óleo se dá através do valor de HLB. Um $HLB > 10$ é predominantemente hidrofílico, se dissolvendo em água e estabilizando emulsões em água, já um $HLB < 6$ um emulsificante hidrofóbico, solubiliza em óleo, estabilizando emulsões em óleo (METTU et al., 2018; ZAFEIRI et al., 2017).

O polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) é um emulsificante não-iônico, te um HLB entre 2 – 4, sendo classificado como emulsificante lipofílico, indicado para formações de emulsões W/O. O PGPR é um emulsificante reconhecido como seguro para sua utilização em alimentos, porém de acordo com a legislação brasileira seu uso não pode ultrapassar 0,1g/100g (METTU et al., 2018; OKURO et al., 2019; BRASIL, 2008).

Como mencionado anteriormente, os emulsificantes possuem características de natureza anfifílica (estrutura formada por uma parte hidrofóbica e uma parte hidrofílica). Essa é a principal característica e contribui para diminuição da tensão superficial na interface das fases imiscíveis, o que permite a formação da emulsão. Além do PGPR mencionado anteriormente, as proteínas são os emulsificantes mais comuns e mais utilizados quando se fala em alimentos, sua estrutura química, seu alto valor nutricional e suas propriedades físico-químicas, além de poder ser usado como ingrediente. Conseguem estabilizar emulsões de óleo-água e é muito utilizado em produtos como bebidas, produtos lácteos, molhos, produtos de panificação, chocolates (MUÑOZ et al., 2007; CARO, 2005).

1.1.1.2 Coacervação complexa

A coacervação é um sistema que é composto por duas fases líquidas, esse processo pode ser definido como simples ou complexo, o que vai distinguir um do outro é a quantidade de biopolímeros presente. A coacervação complexa tem como principal característica as interações eletrostáticas entre as soluções de cargas opostas, que resulta em duas fases líquidas imiscíveis, uma fase pobre em polímeros e uma fase densa, rica em polímeros, que é o coacervado, o revestimento do núcleo (ingrediente bioativo). A coacervação complexa é controlada pela carga dos biopolímeros, a densidade de cargas vai ser influenciada pelo

pH e a força iônica, esse é um processo que vem sendo utilizado, principalmente na microencapsulação (JAIN et al., 2016; YAN; ZHANG; 2014).

Dentre suas propriedades, proteger ingredientes funcionais, alta eficiência de encapsulação, boa característica para liberação controlada, são alguns motivos para o crescimento do seu uso na indústria alimentícia, que cada vez mais vem sendo utilizados para encapsular aditivos ou nutrientes sensíveis ou voláteis, como sabor, pró/prebióticos, antioxidantes, minerais, vitaminas, entre outros compostos, aumentando a vida útil em diferentes formas de armazenamento (YAN; ZHANG; 2014).

Alguns parâmetros intrínsecos e extrínsecos como: força iônica, ingrediente do núcleo, temperatura, proporções de material de parede, cisalhamento, nível do núcleo encapsulado, % de sólidos totais, e ajuste de pH influenciam no processo de da coacervação complexa como observamos na Figura 4.

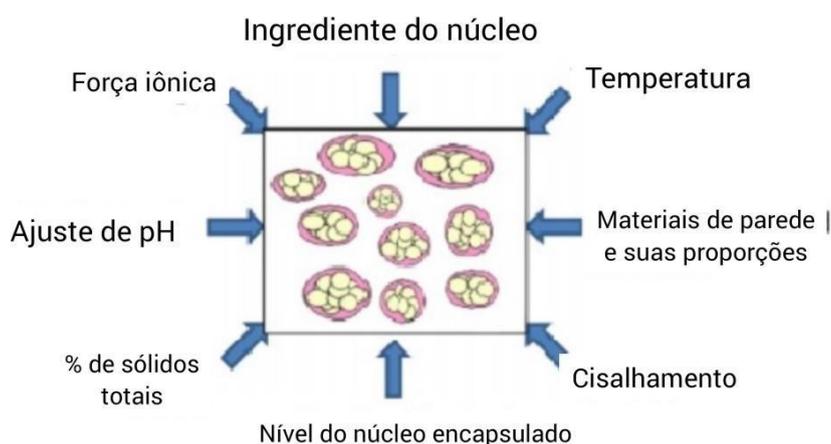


Figura 4. Parâmetros intrínsecos e extrínsecos que influenciam o processo de coacervação complexa. Adaptado de Gaonkar et al., 2014.

O processo de coacervação, a natureza das interações, os fatores que afetam são essenciais para projetar o sistema coloidal e a funcionalidade. Sinal, magnitude, força, direção, das interações podem ser modificados por fatores ambientais, na Figura 5, conseguimos observar as interações que são responsáveis por manter os biopolímeros e as respostas das mudanças em condições ambientais, estruturais, volume (YAN; ZHANG; 2014; McCLEMENTS, 2015).

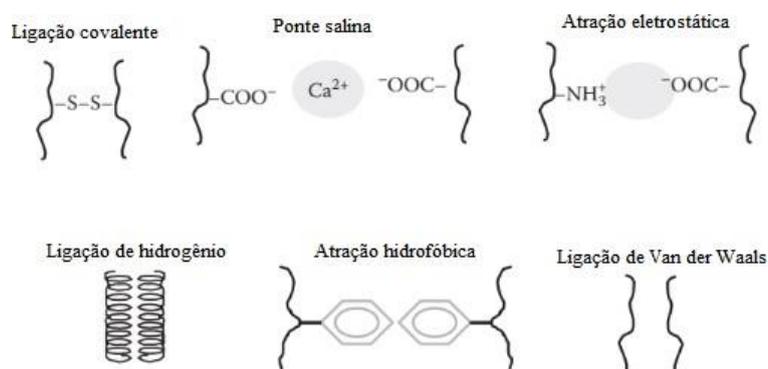


Figura 5. Interação dos biopolímeros de acordo com a variedade das diferentes interações moleculares. Adaptado de McClementes, 2015.

Entender o processo de coacervação, a natureza das interações e os fatores que afetam, é essencial para projetar o sistema coloidal e seus atributos funcionais específicos. Os fatores intrínsecos e extrínsecos, assim como a interação dos biopolímeros, vão ser responsáveis por manter a base dos biopolímeros e vão determinar como vão responder as mudanças nas condições ambientais e de solução, se as estruturas vão permanecer intactas, se vão aumentar de volume, se escolhem, corroem ou se desintegram (McCLEMENTS, 2015).

1.1.1.3 Reticulação

Anteriormente a reticulação química era uma técnica muito utilizada para estabilizar, modificar a estrutura e as propriedades dos coacervados, para refrear ou promover a liberação do ingrediente ativo. Atualmente vem sendo demonstrado uma força do complexo proteína – polissacarídeo que pode ser melhorado através da reticulação, pois endurece as paredes das cápsulas (ZHANG et al., 2021; JAIN et al., 2016). Nessa fase de reticulação, o revestimento da parede da microcápsula é submetido a um agente reticulante enzimático como a transglutaminase, a um agente natural como o genipin ou a um agente químico não tóxico como o cloreto de cálcio, que reagem com os grupamentos aminos e ácidos carboxílicos livres das proteínas e com isso irá reforçar as ligações estruturais do revestimento, resultando no seu endurecimento ao redor do núcleo (ZHANG et al., 2021; SOARES et al., 2019; JAIN et al., 2016; McCLEMENTS, 2015).

1.2 Biomoléculas ou ingredientes encapsulados

É necessário em torno de 49 nutrientes para manter as necessidades do corpo humano, a nutrição é parte importante desse processo, promove saúde, bem estar e precisa estar presente em programas de saúde pública para menores riscos de doenças, para crescimento adequado (NEGRI, 2018). Dentre esses 49 nutrientes, o ferro é um deles. Um metal muito presente no nosso meio ambiente, para o nosso corpo o íon Fe III é o que mais tem função, por se complexar com átomos de hidrogênio e fazer parte de processos biológicos como transporte de oxigênio (GONÇALVES, 2005). Esse mineral apresenta características de perda durante processamento e armazenamento do alimento, luz, temperatura, pH, umidade podem afetar a biodisponibilidade do nutriente até a chegada para o consumidor (LIMA et al., 2023).

A área de tecnologia dos alimentos vem sendo estudada e desenvolvida para o avanço da microencapsulação de compostos bioativos e funcionais. Assim a indústria de alimentos vem cada vez mais utilizando de técnicas como a microencapsulação para preservar o nutriente até chegar à mesa do consumidor. Constantino (2022) fez a microencapsulação da vitamina A, Gupta et al.(2014) encapsulou o ferro, Pratap-Singh; Leiva. (2021) encapsulou ferro e zinco.

1.3 Ferro

O ferro é um micronutriente importante para diversas funções biológicas, é obtido através da ingestão oral de alimentos ricos em ferro, sua recomendação diária é pequena em relação a outros micronutrientes e sua biodisponibilidade no nosso alimento é dificultada por fatores antinutricionais. O ferro tem como função em nosso corpo o transporte de oxigênio através dos glóbulos vermelhos, além de fazer parte do controle e crescimento da diferenciação celular e metabolismo energético (FERREIRA, 2014; HERNÁNDEZ-VÁSQUEZ et al., 2019).

É um metal que faz parte de funções vitais no corpo humano, produz enzimas como catalases, redutase e peroxidases, dependentes do ferro. Além dessas funções, a hemoglobina é dependente do ferro para transporte de oxigênio do pulmão até os tecidos periféricos, quando em deficiência compromete desenvolvimento mental, cognitivos, diminui imunidade deixando o indivíduo suscetível a infecções e aumento de doenças. É um dos metais mais presentes no corpo humano, divididos nas hemácias ligadas as hemoglobinas, na ferritina e hemossiderina presente na mucosa intestinal, macrófagos do baço e medula óssea e

na transferrina sérica – circulante no plasma (ARAÚJO et al., 2023). O ferro utilizado vem principalmente do próprio organismo, do processo de reciclagem da destruição dos macrófagos do baço e através da ingestão de alimentos fontes de ferro, como citado no item 1.3.2. Sua deficiência é assintomática, geralmente identificada mais tardiamente quando já tem a anemia ferropriva instalada, os sintomas podem aparecer como cansaço, tontura, palidez, dor de cabeça (ARAÚJO et al., 2023).

1.3.1 Absorção do ferro

A absorção do ferro acontece no duodeno e jejuno proximal e quase não é excretado, apenas em quantidades pequenas na urina, esfoliação da pele e das células gastrointestinais e na bile. Sua regulação de absorção vai acontecer de acordo com a necessidade individual de cada indivíduo e através de hormônios peptídico hepcidina, produzido no fígado e transportado pelo soro que bloqueia a absorção intestinal e inibe a liberação dos estoques (GULEC, et al., 2014).

1.3.2 Biodisponibilidade do ferro

Existem dois tipos de ferro: heme e não heme. O ferro heme é proveniente da hemoglobina e mioglobina das carnes, sua absorção é pouco influenciada por fatores antinutricionais. Já o ferro não heme é encontrado nos alimentos de origem vegetal (hortaliças verdes escuras e leguminosas) é insolúvel e tem sua absorção muito influenciada pelos fatores antinutricionais. Alimentos como a proteína da carne, alimentos fontes de vitamina C (fonte de ácido cítrico) ajudam e melhoram a biodisponibilidade e absorção do ferro não-heme, enquanto os fitatos, minerais, leite e compostos fenólicos dificultam essa biodisponibilidade e absorção (FILIPONI, 2018; ARAÚJO et al., 2023; MORTARI et al., 2021).

A alimentação e ingestão inadequada de alimentos fontes de ferro é o principal agravante para a anemia ferropriva, alimentação com alto consumo de refrigerantes, café e chás, baixo consumo de alimentos ricos em vitamina C, baixo peso ao nascer, perdas sanguíneas por doenças associadas, são fatores de risco para a anemia ferropriva (ARAÚJO et al., 2023; FILIPONI, 2018). A recomendação diária de ferro varia de acordo com faixa etária de adultos, lactentes, crianças e gestantes como podemos observar na Tabela 3.

Tabela 3. Recomendação diária de consumo de ferro em diferentes faixas etárias

| Faixa Etária | Recomendação Diária de Ferro (mg) |
|---------------------|--|
| Lactentes | |
| 0 – 6 meses | 0,27 |
| 7 – 12 meses | 11 |
| Crianças | |
| 1 – 3 | 7 |
| 4 – 8 | 10 |
| Mulheres | |
| 9 – 13 | 8 |
| 14 – 18 | 15 |
| 19 – 30 | 18 |
| 31 – 50 | 18 |
| 51 – 70 | 8 |
| >70 | 8 |
| Gestantes | |
| <18 | 27 |
| 19 – 30 | 27 |
| 31 – 50 | 27 |
| Lactantes | |
| <18 | 10 |
| 19 – 30 | 9 |
| 31 – 50 | 9 |
| Homens | |
| 9 – 13 | 8 |
| 14 – 18 | 11 |
| >19 | 8 |

FONTE: Adaptado de Krause et al, 2012 e Institute of Medicine, 2001.

A deficiência de ferro pode ser considerada um problema de saúde pública, de acordo com a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde, esse índice chega a 42,6% em crianças entre 6 a 5 anos no mundo (BRASIL, 2006). No Brasil, é um problema nutricional recorrente que atinge principalmente crianças (20,9 %), mulheres em idade fértil (29,4%) e gestantes (BRASIL, 2022).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, a anemia ferropriva é a mais comum, chega a 90 % dos casos e tem como característica principal a baixa hemoglobina no sangue e necessidades fisiológicas do ser humano (OMS, 2004). É uma doença sanguínea, conhecida ao redor do mundo, que afeta principalmente os países em desenvolvimento (HERNÁNDEZ- VÁSQUEZ et al., 2019).

1.3.3 Fortificação de alimentos

No Brasil, a fortificação de alimentos foi uma iniciativa de saúde pública com finalidade de reduzir a prevalência de anemia ferropriva, a ANVISA em 2002 estabeleceu a fortificação obrigatória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico através da RDC n. 334/2002 (ANVISA, 2002).

Essa RDC diz que, cada 100g do produto deve conter 4,2 mg de ferro e 150 µg de ácido fólico, esse teor de ferro é estabelecido com base no valor de Ingestão Diária Recomendada (IDR): 30% da IDR de ferro (14 mg), que é o critério usado para a alegação de “rico” ou “enriquecido” ou “fortificado”, previsto na legislação em vigor. Quanto a comprovação em relação a essa fortificação existe uma falta de estudos nacionais que avaliem a prevalência da anemia, porém quanto eficiência de ferro no organismo, avaliado através da ferritina há efeito através da fortificação (ANVISA, 2002). Na Tabela 4 apresenta-se alguns estudos com fortificação e suplementação do ferro que são utilizados como estratégias para diminuir essa deficiência.

1.4 Material de parede

Os materiais de parede mais utilizados na microencapsulação são polissacarídeos e proteínas, esses materiais formam camadas ao redor do princípio ativo para formação da microcápsula. Para essa formação, é necessária uma incompatibilidade entre o material de parede e o princípio ativo. O ativo hidrofóbico tem necessário um material hidrofílico para encapsular, assim como um ativo hidrofílico tem necessário de um material hidrofóbico para o material de parede. Por conta da variedade de material de parede, características do material ativo do núcleo, emulsão a ser usada e condições de secagem, os materiais de parede devem ser analisados de acordo com cada método e sua influência direta na microencapsulação (KANWAL et al., 2021; YAN; ZHANG; 2014).

Tabela 4. Metodologias de encapsulação ou fortificação do ferro em alimentos

| Material encapsulado | Material de parede | Método de encapsulação | Metodologias | Referência |
|-----------------------------|--|-------------------------------|---------------------------------|--|
| Sulfato ferroso | Goma tragacanto e ácido ascórbico | Evaporação de solvente | Encapsulação do ferro | (ASGHARI-VAVIZANCH; SHAHEDI; SHEKARCHIZADEH, 2017) |
| Sulfato ferroso | Alginato de sódio e caseinato de sódio | Emulsificação-gelificação | Fortificação da farinha de soja | (ZHANG et al., 2021) |
| Sulfato ferroso | TMS | Spray-dryer | Fortificação do pão | (BRYCZEWSKA et al., 2019) |
| Sulfato ferroso | Óleo de palma hidrogenado | Microencapsulação | Fortificação do queijo cheddar | (ARCE; USTUNOL, 2018) |
| Sulfato ferroso | Goma arábica, maltodextrina e amido modificado | Evaporação de solvente | Fortificação do leite | (GUPTA et al., 2014) |
| Sulfato ferroso | Goma tara e isolado proteico do soro do leite | Emulsão dupla | Encapsulação do ferro | (BARBOSA; GARCIA-ROJAS, 2022) |
| Sulfato ferroso | Proteína isolada do soro do leite e goma arábica | Emulsão dupla | Encapsulação do ferro | FERREIRA, 2023) |
| Sulfato ferroso | Farinha de panificação | Liofilização | Fortificação | (ANTUNES, 2022) |

1.4.1 Isolado proteico de soja

A proteína junto com o polissacarídeo tem como função dar estabilidade as emulsões por seu caráter anfifílico, uma parte hidrofílica (solúvel em água) e uma parte hidrofóbica (não solúvel em água), para essa estabilidade pode ser utilizado dois ou mais polímeros. A proteína vegetal vem ganhando destaque na indústria alimentícia, as proteínas de soja possuem um destaque por conta da sua eficiência e rentabilidade (SILVA, 2022).

O isolado proteico de soja é obtido a partir da separação das proteínas da soja, a porção solúvel e insolúvel dos carboidratos dos flocos desengordurados como pode ser observado na Figura 6. A proteína de soja é solubilizada em pH 6,8 – 10 a 27 – 66°C utilizando hidróxido de sódio e agentes alcalinos aprovados para uso alimentar. A solução de proteína é separada dos flocos ou farinhas por centrifugação, os sólidos recuperados como subprodutos contêm 16 -36% de proteína. 9 – 13% de fibra bruta e 45 – 75% de fibra dietética total. Após esse processo a solução é acidificada a pH 4,5 usando ácido clorídrico ou fosfórico e a proteína se precipita como uma coalhada, que então é lavada com água e concentrada por centrifugação, podendo ser neutralizada a pH 6,5-7,0 ou seca por spray-drying em sua forma ácida. Isolados proteicos de soja é a forma mais concentrada de proteína de soja cerca de 90% (PHILIPS; WILLIAMS, 2011).

O isolado proteico de soja é o principal componente da proteína da soja e seu teor de proteína é maior que 90%, os principais componentes dessas proteínas são as frações β -conglucina (7S) e glicina (11S) representando mais que 85% do total de proteínas do grão, alguns estudos mostram as várias propriedades funcionais do isolado proteico de soja como, gelificação, formação de espuma, emulsificação (WANG et al., 2021; FREITAS, 2018).



Figura 6. Processo para o isolamento da proteína de soja a partir da farinha de soja. Adaptado Fennema et al., 2010.

O tratamento térmico pode ser um fator necessário para eliminação de pontos adversos como os fatores antinutricionais, aumento da digestibilidade, por isso vem sendo muito estudado. O aquecimento da proteína entre 60 e 70°C faz com que aconteça a desnaturação parcial e total das frações 7S, já as frações 11S possuem desnaturação total ou parcial acima de 80°C até 100°C, essa desnaturação dessas frações promovem uma maior formação de agregados pelas interações eletrostáticas, hidrofóbicas e dissulfídicas. Por isso, o tratamento térmico das proteínas de soja é importante, entre outros motivos, mas principalmente aumentar sua capacidade emulsificante que está diretamente ligada a sua solubilidade (FERREIRA, 2020).

Na Tabela 5 podemos observar diferentes usos do isolado proteico de soja, por conta das características citadas acima, as proteínas são comuns e muito utilizadas na indústria alimentícia, por conta de sua estrutura, valor nutricional e suas propriedades

físico-químicas, é utilizada por conta da sua estrutura ou como ingrediente (MUÑOZ et al., 2007).

Tabela 5. Aplicação da coacervação complexa na microencapsulação empregando isolado proteico de soja como material de parede.

| Material bioativo | Material de parede | Referência |
|-----------------------------------|---|------------------------|
| β-caroteno | Isolado proteico de soja e amido modificado com anidrido octenilsuccínico | (DENG et al., 2014) |
| Antocianina de framboesa vermelha | Isolado proteico de soja e goma arábica | (MANSOUR et al., 2020) |
| Vanilina | Isolado proteico de soja e maltodextrina | (NOSHAD et al., 2015) |
| Curcumina | Isolado proteico de soja e maltodextrina | (CHEN et l., 2020) |
| Óleo de buriti | Isolado proteico de soja e pectina de alta metoxilação | (FREITAS, 2018) |
| Ômega 3 | Isolado proteico de soja e Isolado proteico de soro | (CONTO, 2012) |
| Óleo de açaí | Isolado proteico de soja | (SILVA, 2022) |

1.4.2 Alginato de sódio

O alginato é um componente das estruturas das algas marinhas e é bastante abundante na natureza, sua função biológica nas algas é fornecer estrutura, flexibilidade e resistência. Sua aplicação na área farmacêutica e alimentícia são suas principais áreas de mercado (HAUG; DRAGET, 2009).

Os sais de alginato são solúveis em água, suas dispersões são viscosas e suas propriedades dependem da sua estrutura, peso molecular e eletrólitos presentes no meio. O alginato forma um gel em temperatura ambiente na presença de íons de cálcio, ou outros metais bi ou trivalentes ou na ausência de íons e pH igual ou menor que 3. Na indústria alimentícia é muito utilizado para aumentar viscosidade, atribui textura e evita formações de cristais de gelo, além de ser um espessante e estabilizante de espuma (HAUG; DRAGET, 2009). O alginato é composto por polímeros lineares de resíduos de

ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G) ligados a 1 \rightarrow 4, como podemos observar na Figura 7, com grande variação e sequência. É o único polissacarídeo que naturalmente possui grupos carboxílicos no seu constituinte residual, com várias propriedades funcionais, alginatos são capazes de reagir com cátions polivalentes, especialmente íons de cálcio na produção de géis forte ou polímeros insolúveis (HAUG; DRAGET, 2009); TURBIANE et al., 2011).

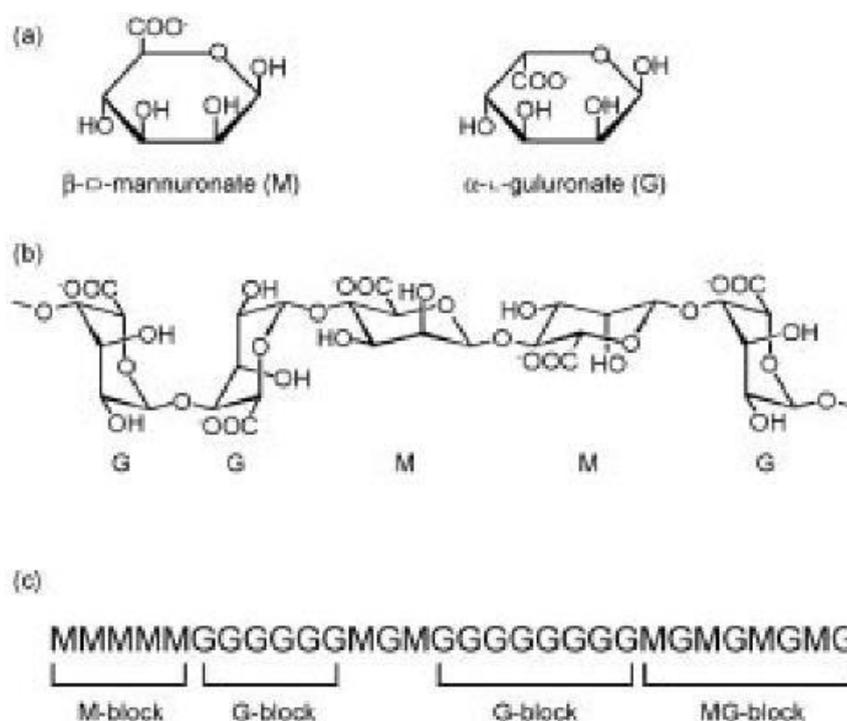


Figura 7. Característica estrutural do alginato: (a) monômeros de alginato, (b) cadeia conformação, (C) distribuição de bloqueio (HAUG; DRAGET, 2009).

A gelificação é a troca iônica entre o sódio do alginato e o cálcio do meio gelificante pela ligação química entre os dois grupos carboxila presentes nos resíduos de ácido poligulurônico. Os íons de cálcio mantem as cadeias de alginato juntas pelas interações iônicas através das pontes de hidrogênio entre as cadeias, resultando num gel com estrutura tridimensional (MIGUEL et al., 2009). O alginato de sódio é um polissacarídeo que desempenha muitas funções e seu uso vem aumentando cada vez mais, vem sendo empregado como material de parede para encapsular diferentes materiais bioativos, como podemos observar na Tabela 6.

Tabela 6. Aplicação da coacervação complexa na microencapsulação com alginato de sódio

| Material bioativo | Material de parede | Agente reticulante | Referência |
|--------------------------------------|---|---------------------------|------------------------|
| <i>L.plantarum</i> <i>L.casei</i> | Alginato de sódio | Cloreto de cálcio | (RATHER et al., 2017) |
| Canabidiol | Alginato de sódio | Cloreto de cálcio | (MAJIMBI et al., 2021) |
| <i>L.casei</i> | Alginato de sódio, proteína do soro do leite e nanocristais de celulose | Cloreto de cálcio | (ZHANG et al., 2021) |
| Óleo de pimenta preta | Lactoferrina e alginato de sódio | Transglutaminase | (BASTOS et al., 2020) |
| β -caroteno | Ovoalbumina e alginato de sódio | Cloreto de cálcio | (FARIAS et al., 2023) |
| Óleo de buriti | Gelatina e alginato de sódio | NI | (LEMOS, 2017) |
| Óleo de palma | Gelatina e alginato de sódio | NI | (MARFIL, 2014) |
| Óleo de andiroba | Alginato de sódio e gelatina | NI | (COSTA et al., 2020) |
| Óleo de Sacha Inchi | Ovalbumina, e alginato de sódio | Cloreto de cálcio | (SOARES, 2018) |

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Foi utilizado o isolado proteico de soja, adquirido na Relva Verde Alimentos EIRELI (São Paulo, Brasil), sulfato ferroso heptahidratado P.A (215422), alginato de sódio, pepsina suína (P6887), pancreatina de pâncreas suíno (P7545) e extrato de bile suína (B3883), cloreto de cálcio foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich[®]. Polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) obtido da Ingredientes Online. O óleo de milho, farinha de trigo, manteiga, bicabornato de sódio, foram adquiridos em um supermercado local (Volta Redonda, RJ). Água ultrapura (Master System R&D, Gehaka, Brazil) com 0.05 μ S/cm e reagentes de grau P.A. foram utilizados em todos os ensaios.

2.2 Estudo do material de parede formado pelo IPS e Alg

2.2.1 Tratamento térmico e diálise do IPS

O tratamento térmico e a diálise do IPS foram realizados de acordo com a metodologia descrita por O'Flynn et al., (2021). Onde foi preparado uma solução de isolado proteico de soja (5 mg/mL), o pH foi ajustado para 9,0 (NaOH 0,5 mol/L) e levado ao agitador magnético (NT 101, Novatecnica, Brasil) por 1 hora, em seguida foi levado ao banho térmico (Microprocessor Control MPC, Huber, Alemanha) a 90°C por 20 minutos, logo após a centrifuga (Digicen 21 R, Oltoalresa, Espanha) a 800 g por 10 minutos em temperatura ambiente. Após esse primeiro processo, é retirado o sobrenadante e distribuído em membranas de diálise (D9527-100FT, Sigma-Aldrich, USA) que exclui as proteínas com massa molar menor de 12 KDa. As membranas foram cortadas em 15 cm de comprimento e fechados com presilha herméticas e num Becker com 1 litro de água destilada é mantido em agitação por 2 horas e após mantido resfriado por 12 horas. Após esse processo o isolado proteico de soja é liofilizado (Terroni, Enterprise I, Brasil) por 48 horas.

2.2.2 Determinação do Potencial Zeta

Os ζ -potenciais dos biopolímeros (IPS e Alg) foram determinados por um Zetasizer (Malvern instruments, Nano ZS90, Reino Unido). O pH das soluções foi ajustado, a partir do resultado obtido ao colocar as amostras com 0,1 % (m/m) em um autotitulado MPT- 27 2 (Malvern Instruments, Reino Unido) e as análises foram

conduzidas em função das variações dos pH de 2,0 até 9,0 a 25 °C. A força da interação eletrostática (SEI) entre polieletrólitos de carga oposta será estimada de acordo com a equação 1:

$$SEI (mV^2) = |ZP_1 \times ZP_2| \quad (\text{Equação 1})$$

onde ZP_1 e ZP_2 são os potenciais zeta absolutos dos polímeros a um determinado pH.

2.2.3 Influencia da concentração de biopolímeros na formação dos complexos coacervados: Diagrama de fases

Soluções estoques de IPS a 1,5 % (m/m) e de Alg a 1,5 % (m/m) foram preparadas com solução de água ultrapura contendo 0,02 % (m/m) de azida de sódio. Quatro subgrupos foram preparados nas concentrações totais de 0,1, 0,5, 1,0 e 1,5% (m/m), em pH 4, seguindo diferentes razões (1:1, 2:1, 4:1, 6:1, 8:1 e 10:1) de concentração total dos biopolímeros e diferentes proporções de material de parede, e avaliados após 48h a 4 °C, metodologia proposta por LAN et al., (2020). O diagrama de fases dos complexos formados pela proteína e polissacarídeo em diferentes proporções e concentração total de biopolímeros será representado por □ solução turva com precipitado, ■ solução turva, ○ solução com precipitado de menor volume e ● solução com maior volume de precipitado e levemente turva (CONSTANTINO, 2022).

2.2.4 Encapsulação do sulfato ferroso

A microencapsulação do sulfato ferroso foi feita baseado nos estudos de Souza et al., 2022. Os materiais de parede foram utilizados nas concentrações 0,5 %, 0,75 % e 1,0 % (m/m) e razões de Núcleo:Material de Parede (1:1, 2:2 e 4:1). Inicialmente, emulsões óleo em água (O/A) foram preparadas usando óleo de milho e PGPR (2% m/m) e diferentes concentrações da solução de IPS. A emulsificação foi conduzida a 12.500 rpm por 4 min no ultra turrax (IKA, T25D, Alemanha).

Na segunda etapa, para obtenção das microcápsulas, foram preparadas as emulsões duplas ($A_1/O/A_2$), contendo a solução de IPS e Alg. Nesta etapa, o pH do IPS e Alg foi ajustado para 4,0 fazendo uso da concentração de ácido acético a 20 e 10 % (v/v) com auxílio de um pHmetro de bancada e lavado ao Ultraturrax a 10.000 rpm por três minutos.

Em seguida, o sistema foi colocado em banho de gelo por 1 h. Posteriormente, para induzir a reticulação, foram acrescentados 5 mL de CaCl_2 (30 mg/mL), e então mantidos refrigerados a 10 °C por 24 h. Após o sobrenadante foi retirado e os precipitados obtidos foram congelados em nitrogênio líquido e, posteriormente, sua secagem foi realizada em liofilizador (Terroni, Enterprise I, Brasil) durante 48 h. Após a secagem foram armazenadas em dessecador para realização das demais análises. Esquematização da metodologia para fabricação de microcápsulas de sulfato ferroso por coacervação complexa Figura 8.

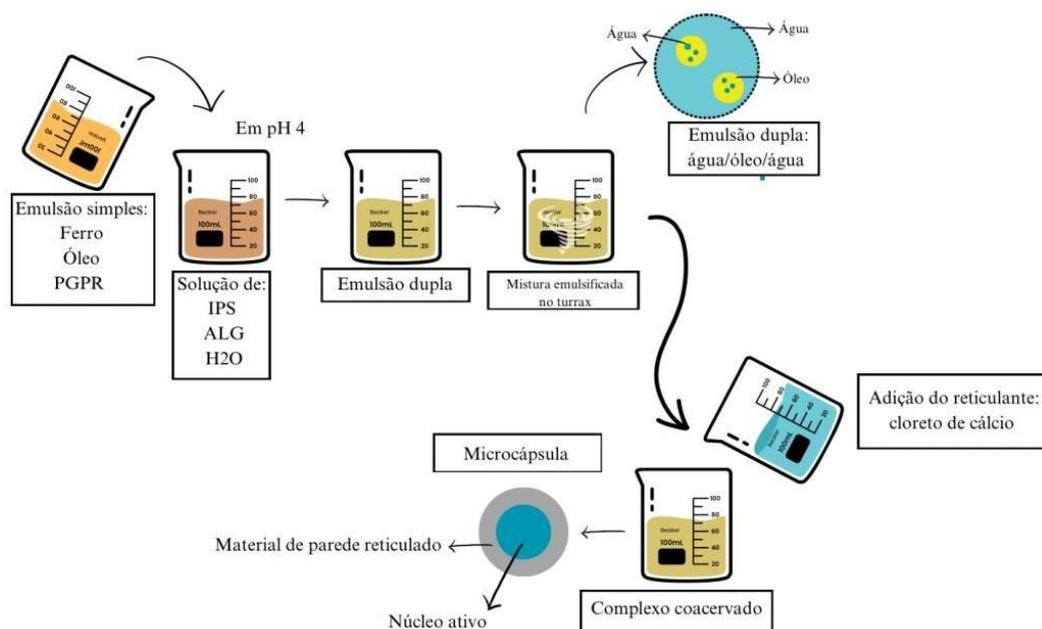


Figura 8. Esquema da fabricação das microcápsulas de sulfato ferroso através da emulsão dupla e coacervação complexa com utilização do IPS (isolado proteico de soja) e o ALG (alginato de sódio) como materiais de parede.

2.2.5 Eficiência de Encapsulação

A quantidade de ferro que se encontra na fase aquosa externa (A2) da emulsão foi mensurada através da colorimetria, utilizando o espectrofotômetro Biomate 3S (Thermo Fisher Scientific, Foi misturado 0,5 mL da emulsão dupla (centrifugada a 10.000 RPM, por 10 minutos, a 10°C) com 0,55 mL de ferrozina e agitado por 30 min à temperatura ambiente no shaker. Após agitação, a absorbância será medida em 562 nm. A eficiência de encapsulação foi feita através da equação 2:

$$EE(\%) = \frac{A_{max} - A_t}{A_{max} - A_0} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

onde A_{max} é quando todo ferro foi liberado, A_t é a absorvância da emulsão da fase aquosa externa (A2) num determinado tempo, e A_0 é a absorvância da emulsão sem sulfato ferroso (PRICHAPAN et al., 2021).

2.2.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As amostras de óleo de milho, isolado proteico de soja, alginato de sódio, microcápsulas de ferro foram analisadas, obtendo-se os espectros de infravermelho. Tais análises foram conduzidas em temperatura ambiente no espectrômetro FTIR (vertex 70, Bruker, Alemanha) suas leituras serão nas faixas de 4000 até 500 cm^{-1} .

2.2.7 Microscopia óptica

O processo de microencapsulação foi monitorado usando um microscópio óptico, foi colocada uma alíquota da amostra fresca entre a lâmina e a lamínula e observada com um microscópio óptico (K220, Kasvi, Brasil) acoplado a uma câmera Moticam (5 MP, Kasvi, Brasil).

2.2.8 Simulação gastrointestinal *in vitro* das microcápsulas

A simulação gastrointestinal *in vitro* foi feita baseada na metodologia do INFOGEST (BRODKORB et al., 2019), durante todo o processo de simulação amostras de 0,2 mL foram coletadas na fase gástrica (30, 60, 90, 120 minutos) e intestinal (150, 180, 210, 240 minutos).

A digestão foi feita com 0,3 mg de microcápsulas de ferro e adicionado 1 mL de água ultrapura. Ao iniciar a digestão, na fase oral foi adicionado 1,04 mL de fluido salivar no pH 7, 0,13 mL de amilase salivar e 6,5 μL de cloreto de cálcio em 1,3 g de amostra. Em seguida, as amostras foram agitadas a 100 rpm no shaker (Tecnal, TE-424, Brasil) por 2 min, em temperatura controlada a 37 °C. Em seguida da digestão oral, foi adicionado 2,008 mL de fluido gástrico no volume final da fase oral, o pH da solução foi ajustado para 3,0 com o pHmetro de bancada com ácido clorídrico (HCl 6 M), além disso foi adicionado 1,3 μl de cloreto de cálcio e 0,26 mL de pepsina suína e colocado de volta para agitação a 100 rpm no shaker (Tecnal, TE-424, Brasil) por 2 horas a 37°C.

Na última fase da digestão, após a digestão gástrica, foi adicionado 2,21 mL do fluido intestinal, o pH foi novamente ajustado para 7 com hidróxido de sódio (NaOH 6 M), logo após adicionado 10,4 µL de cloreto de cálcio, 1,3 de pancreatina e 0,65 mL de bile. A solução de bile foi dissolvida em fluido intestinal por 30 min a 37°C a uma concentração 10 mM. A pancreatina também foi solubilizada em fluido intestinal na concentração de 100 U/mL. A fase intestinal foi levada e agitada a 100 rpm no shaker (Tecnal, TE-424, Brasil) por 2 horas a 37°C.

2.2.9 Bioacessibilidade da microcápsula de ferro

A bioacessibilidade foi medida após a simulação do processo de digestão, as amostras coletadas foram centrifugadas a 16.000 rpm/30 minutos a 4°C, o sobrenadante límpido obtido após a centrifugação é a fração micelar. A extração e quantificação de sulfato ferroso foram realizadas na eficiência da encapsulação. A bioacessibilidade (B) do sulfato ferroso, será calculado pela Equação 3:

$$B = \frac{C_{Micelar}}{C_{Digesta}} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

onde $C_{Digesta}$ é a concentração sulfato de ferro na digestão total e $C_{Micelar}$ é a concentração de sulfato ferroso na fração de micelar.

2.2.10 Liberação do Ferro

A liberação de ferro também foi feita de acordo com Prichapan et al., 2021. A quantidade de ferro que se encontra na fase aquosa externa (A2) da emulsão foi mensurada através da colorimetria, utilizando o espectrofotômetro Biomate 3S (Thermo Fisher Scientific). Foi misturado 0,5 mL da emulsão dupla (centrifugada a 10.000 RPM, por 10 minutos, a 10°C) com 0,55 mL de ferrozina e agitado por 30 min à temperatura ambiente no shaker. Após agitação, a absorbância será medida em 562 nm. A liberação do ferro foi feita através da equação 4:

$$FSR (\%) = \frac{A_t - A_0}{A_{max} - A_0} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

2.3 Formulação e enriquecimento de biscoitos com microcápsulas de sulfato ferroso

A massa do biscoito é composta por farinha de trigo contendo ferro (0,042 mg/g), gordura, açúcar e água, como proposto por Farias et al. (2023), foi utilizado como matriz alimentar para a incorporação das microcápsulas de ferro. Foram feitas três formulações dos biscoitos: uma amostra controle, sem adição de microcápsulas, uma com adição de ferro puro e outra com adição de microcápsulas de ferro. Para preparo do biscoito, vamos utilizar a margarina, açúcar, sal e bicarbonato de sódio, misturados por 3 min, após é adicionado as microcápsulas seguidas da farinha de trigo.

Por ultimo é adicionado água e é feita uma homogeneização por 2 min, a massa foi então modelada no em placas de petri de 60 mm de diâmetro e 15 mm de espessura. No cozimento, os biscoitos foram submetidos a 170 °C no forno elétrico (Mondial, FR-20, Brasil) por 10 min, e posteriormente, resfriados à temperatura ambiente e analisados.

2.3.1 Análise de textura: dureza e fraturabilidade

A análise de textura foi realizada 24 horas após o processamento do biscoito através do texturômetro TA-XTPlus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido). A sonda utilizada foi de 2 mm (Stable Micro Systems, 2 mm Cyl. Stainless. Número 12239 – P/2), plataforma HDP/90. Foi utilizado no teste os parâmetros: velocidade pré-teste = 1,0 mm/s, velocidade de teste igual a 0,5 mm/s, velocidade pós-teste = 10,0 mm/s, distância 10 mm, com medida de força em compressão. A firmeza do biscoito foi calculada como a área sob a curva e a fraturabilidade foi a distancia linear. Os resultados de textura são expressos em newtons (N) e milímetros (mm), respectivamente, e representaram a média aritmética de 5 determinações no padrão X para 3 amostras provenientes de um mesmo experimento seguindo a metodologia de Filipčev et al. (2012).

2.3.2 Análise de cor

A análise de cor foi feita no colorímetro (MiniScan EZ, Hunterlab) e determinada de acordo com o Sistema CIE-L*a*b* (Commision Internationale L'Eclairage), foram obtidos os parâmetros luminosidade (L*), intensidade de vermelho (+a*) e intensidade de amarelo (+b*), conforme metodologia Gusmão et al, 2018.

A análise será realizada em decuplicata (n = 10).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estudos do material de parede formado pelo IPS e Alg

3.1.1 Formação do complexo coacervado: Potencial Zeta

Na Figura 9 é observado os valores do ζ -potencial e o SEI dos biopolímeros IPS e Alg em função do pH. Nos valores estudados (2,0 – 5,0) os polímeros apresentam cargas opostas até o pH 5,0, o IPS positivo e o alginato de sódio negativo, no pH 5,5 já conseguimos observar o ponto isoelétrico (pI) da proteína, onde seu valor é igual a zero. Para a formação do complexo IPS - Alg, o valor de pKa do Alg (pKa 3,38) e o pI da proteína irá influenciar. O maior valor do SEI podemos observar no pH 4,0 próximos ao valor do pKa do alginato de sodio, valores de pH e pKa próximos contribuem para que os grupos carboxílicos do Alg ganhem um hidrogênio (protonação), fazendo o balanço das moléculas protonadas e desprotonadas, o que favorece a autoagregação dos biopolímeros (PHILLIPS; WILLIAMS, 2009, FARIAS et al., 2023). O valor de pH escolhido para formação dos complexos coacervados entre os biopolímeros IPS e ALG foi o 4,0 em função da interação observada entre eles através do ζ -potencial.

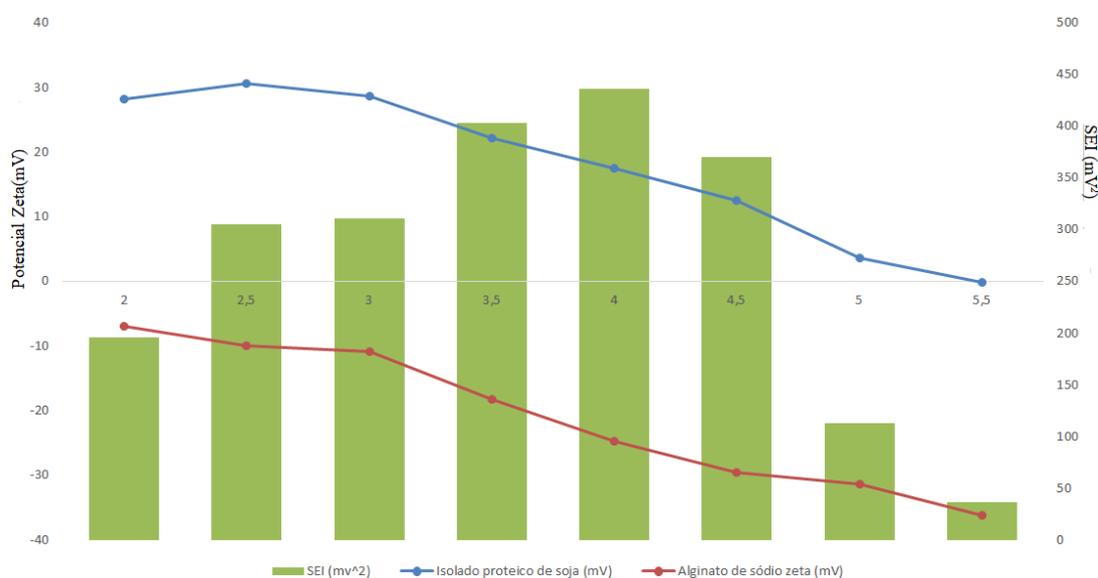


Figura 9. ζ -potencial e força de interação eletrostática (SEI) do isolado proteico de soja e de alginato de sódio.

3.1.2 Influencia da concentração de biopolímeros na formação dos complexos coacervados: Diagrama de fases.

Podemos observar na Figura 10 o diagrama de fases dos complexos coacervados IPS e ALG em suas diferentes concentrações, porcentagens totais de biopolímeros e razões. No diagrama as concentrações estão variando entre 0,1% e 1,5% (m/m) e razões entre 1:1 e 10:1, inicialmente podemos observar que quanto menor é a razão e menor a concentração apresenta uma menor turbidez e leve precipitado. Quando vamos aumentando a concentração de biopolímeros mantendo a razão de 1:1, conseguimos observar um maior volume de precipitado e uma leve turbidez. Com o diagrama de fases é possível de forma prática estudar qual melhor faixa de concentração e proporção para formação dos complexos coacervados a partir de ISP e ALG (LAN et al., 2021 e CONSTANTIO, GARCIA- ROJAS, 2022).

Nas concentrações 0,5%, 1,0% e 1,5% apresentam precipitados com maior volume em todas as outras razões de ISP:ALG do que na concentração de 0,1%. A razão 1:1 (IPS:ALG) e a concentração de 1,0% de biopolímeros foi a escolhida para dar continuidade ao trabalho, uma vez que não houve grandes mudanças aumentando a porcentagem de biopolímeros para 1,5% e em relação a razão de biopolímeros (1:1) foi onde obteve uma melhor formação de volume do complexo coacervado.

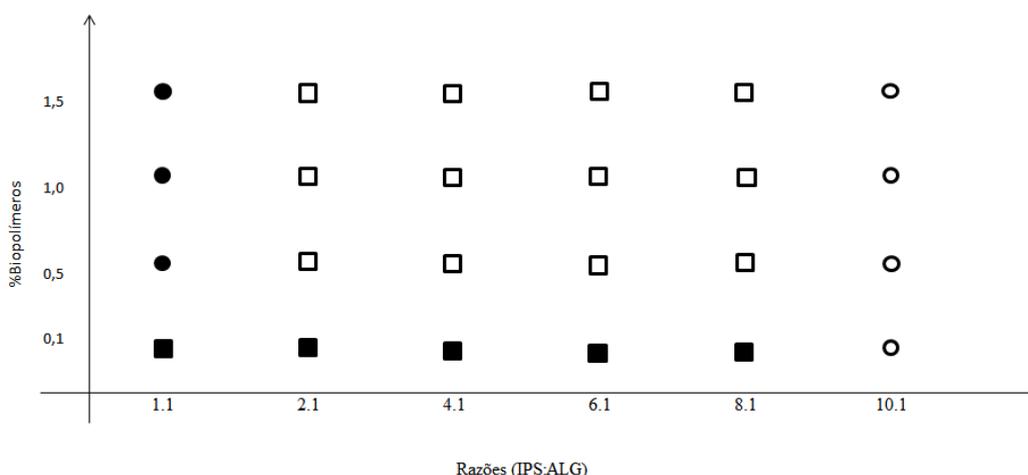


Figura 10. Diagrama de fases do IPS:ALG em diferentes razões no pH 4,0. Onde por □ solução turva com menor precipitado, ■ solução com leve precipitado sem turbidez, ○ solução com precipitado de menor volume e ● solução com maior volume de precipitado e levemente turva.

3.1.3 Eficiência de encapsulação

Na Tabela 7 podemos observar todos os tratamentos feitos em nove amostras diferentes para encapsular o sulfato ferroso, com contrações de 1%, 0,75%, 0,5% (m/m) e razões de 1:1, 2:1 e 4:1 (IPS:ALG). Os resultados obtidos apresentam eficiência de encapsulação maiores que 90% e não apresentam diferença significativa entre eles como podemos observar na Tabela 8, quando o módulo da média (média menos a diferença mínima significativa) for menor que a diferença mínima significativa (DMS), não há diferença significativa entre as amostras. Outros trabalhos na literatura também mostram uma eficiência de encapsulação por coacervação complexa acima de 60% (BASTOS et al., 2020; FARIAS et al., 2022; SOARES et al., 2019). Nesta tabela também podemos observar que as amostras A, B e G possuem os melhores valores de eficiência de encapsulação, no entanto, sem diferença significativa entre as amostras como já citado anteriormente, nas proporções de material de parede e núcleo (wall/core) 1:1 é onde temos resultados de melhor eficiência, porém, com diferentes quantidades de ferro encapsulado, por isso, considerando proporção de material de parede, concentração e eficiência de encapsulação, a amostra A é a escolhida para dar continuidade ao trabalho, uma vez que conseguimos encapsular uma maior quantidade de ferro, tendo o mais disponível na microcápsula, estando de acordo com o que a literatura nos mostra como em Soares et al., (2019).

Tabela 7. Eficiência de encapsulação das amostras para encapsular o sulfato ferroso, com contrações de 1%, 0,75%, 0,5% (m/m) e razões de 1:1, 2:1 e 4:1 (IPS:ALG)

| Amostras | MATERIAL DE PAREDE | | | Ferro (mg) | Núcleo/Material de parede | Solução CaCl ₂ (g) | EE (%) |
|----------|--------------------|---------|-------|------------|------------------------------|----------------------------------|--------|
| | IPS (g) | ALG (g) | Total | | | | |
| A | 0,050 | 0,050 | 0,1 | 5,0 | 1:1 | 5 | 99,43 |
| B | 0,050 | 0,050 | 0,1 | 2,5 | 2:1 | 5 | 99,49 |
| C | 0,050 | 0,050 | 0,1 | 1,25 | 4:1 | 5 | 98,2 |
| D | 0,038 | 0,038 | 0,076 | 3,75 | 1:1 | 5 | 98,98 |
| E | 0,038 | 0,038 | 0,076 | 1,87 | 2:1 | 5 | 99,17 |
| F | 0,038 | 0,038 | 0,076 | 0,93 | 4:1 | 5 | 96,86 |
| G | 0,025 | 0,025 | 0,05 | 2,5 | 1:1 | 5 | 99,61 |
| H | 0,025 | 0,025 | 0,05 | 1,25 | 2:1 | 5 | 97,69 |
| I | 0,025 | 0,025 | 0,05 | 0,62 | 4:1 | 5 | 98,18 |

Legenda: EE (Eficiência de Encapsulação), IPS (Isolado Proteico de Soja), ALG (Alginato de Sódio).

Tabela 8 – Análise estatística da eficiência de encapsulação do ferro

| Tratamentos | Média 1 | Média 2 | Módulo da Média | DMS |
|-------------|---------|---------|--------------------|------|
| B-A | 99,8 | 99,5 | 0,3 | 4,78 |
| C-A | 99,8 | 99,5 | 0,3 | 4,78 |
| D-A | 99,2 | 99,5 | -0,3 | 4,78 |
| E-A | 99,6 | 99,5 | 0,1 | 4,78 |
| f-A | 100 | 99,5 | 0,5 | 4,78 |
| G-A | 99,5 | 99,5 | 0,0 | 4,78 |
| H-A | 98,7 | 99,5 | -0,8 | 4,78 |
| I-A | 96,8 | 99,5 | -2,7 | 4,78 |
| C-B | 99,8 | 99,8 | 0,0 | 4,78 |
| D-B | 99,2 | 99,8 | -0,6 | 4,78 |
| E-B | 99,6 | 99,8 | -0,2 | 4,78 |
| f-B | 100 | 99,8 | 0,2 | 4,78 |
| G-B | 99,5 | 99,8 | -0,3 | 4,78 |
| H-B | 98,7 | 99,8 | -1,1 | 4,78 |
| I-B | 96,8 | 99,8 | -3,0 | 4,78 |
| D-C | 99,2 | 99,8 | -0,6 | 4,78 |
| E-C | 99,6 | 99,8 | -0,2 | 4,78 |
| f-C | 100 | 99,8 | 0,2 | 4,78 |
| G-C | 99,5 | 99,8 | -0,3 | 4,78 |
| H-C | 98,7 | 99,8 | -1,1 | 4,78 |
| I-C | 96,8 | 99,8 | -3,0 | 4,78 |
| E-D | 99,6 | 99,2 | 0,4 | 4,78 |

Legenda: DMS (Diferença Mínima Significativa).

3.1.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 11 podemos observar o resultado do FTIR das amostras de óleo de milho (OM), isolado proteico de soja (IPS), alginato de sódio (NaAlg) e a microcápsula de ferro (MIC). Através das bandas conseguimos identificar os grupos característicos de cada material de parede utilizado, no isolado proteico de soja (IPS), observamos as bandas de amida do grupo I, II e III respectivamente: ligações de hidrogênio (1632 cm^{-1}), alongamento de NH_2 (1527 cm^{-1}) e ligação de estiramento ($\text{C} - \text{N}$ e $\text{N} - \text{H}$) (1157 cm^{-1}), que são características das proteínas. No alginato (NaAlg) as bandas podem ser observadas em 1593 cm^{-1} que corresponde ao CO_2^- , dos sais de ácido carboxílico, na banda em 1407 cm^{-1} uma ligação $-\text{CO}$ do grupo ácido. Resultados esses conforme podemos observar também em Farias et al., 2023 e Bastos et al., 2020. O espectro da microcápsula é o complexo coacervado do isolado proteico de soja e alginato de sódio, na Figura 11 podemos observar a interação entre eles, as bandas características dos grupos amino e do grupo carboxila (IPS e NaAlg respectivamente). Essas características são indicativas da interação e formação do complexo coacervado.

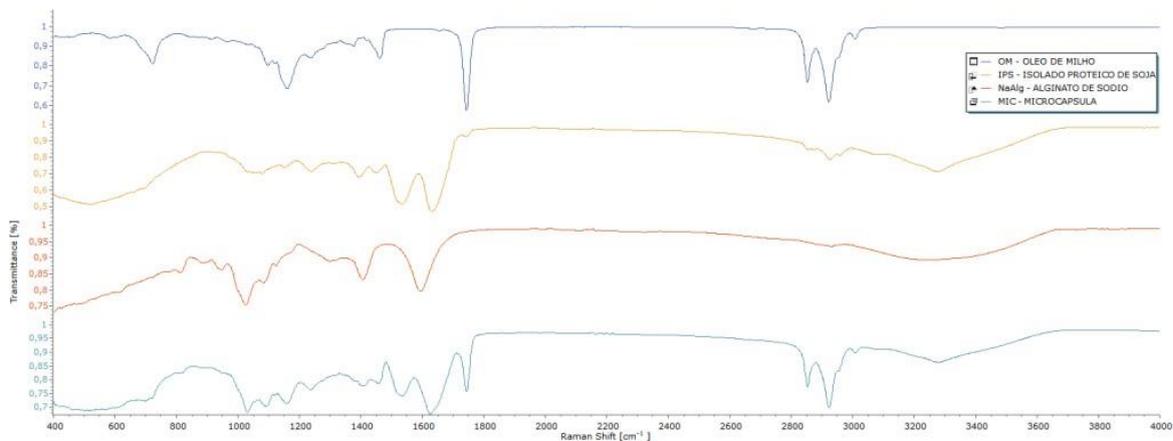


Figura 11. FTIR óleo de milho (OM), isolado proteico de soja (IPS), alginato de sódio (NaAlg) e microcápsula de ferro (MIC).

3.1.5 Microscopia óptica

A Figura 12 apresenta as partículas de emulsão dupla (A/O/A) com ferro. Elas são denominadas microcápsulas pelo tamanho das suas partículas, se enquadram na escala $1\text{ }\mu\text{m}$ a $100\text{ }\mu\text{m}$ (FARIAS et al., 2023). Nesta figura também verificamos que a razão (1:1) escolhida para fabricação das microcápsulas é eficaz. Em outro estudo usando emulsão

dupla (w/o/w), observamos uma imagem semelhante à desse estudo (CHOI et al., 2009).

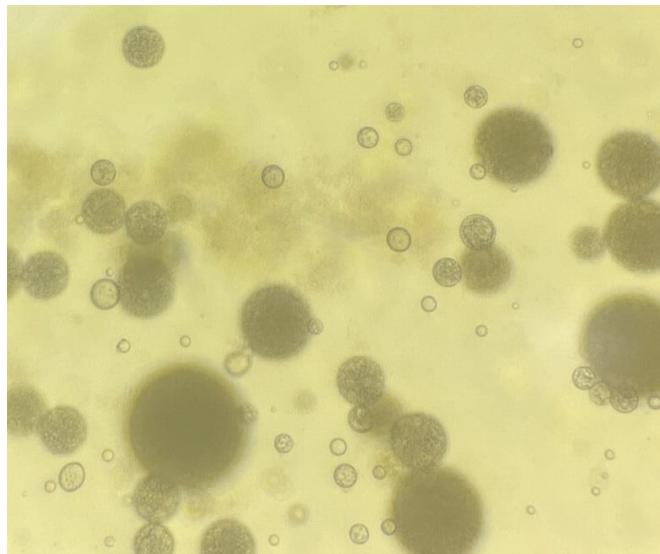


Figura 12. Microscopia ótica da emulsão dupla (w/o/w) contendo ferro utilizando isolado proteico de soja e alginato de sódio como material de parede na proporção 1:1.

3.1.6 Simulação gastrointestinal *in vitro* das microcápsulas - Liberação do ferro

A Figura 13 representa a liberação do ferro na simulação gastrointestinal *in vitro* das microcápsulas de isolado proteico de soja e alginato de sódio que ocorrem em três etapas: fase oral, gástrica e intestinal. Na fase oral iniciamos a digestão que acontece na boca por 2 minutos com adição de fluido salivar e amilase, no pH 7 (digestão fase oral), no entanto como observamos na Figura não há liberação de ferro, a microcápsula não é quebrada nesse momento, a amilase não faz com que aconteça essa quebra. Na segunda parte da digestão, que acontece no estômago, a liberação do ferro começa a acontecer, a pepsina presente nesse momento quebra o isolado proteico de soja, um dos materiais presentes na microcápsula, com isso a liberação do ferro é iniciada, porém essa liberação não é completa por conta do alginato de sódio, que não permite a quebra completa por ser um inibidor da pepsina.

Na fase intestinal, a microcápsula é quebrada totalmente e o restante do ferro é liberado, a proteína tem sua digestão continuada nessa fase, o complexo coacervado de IPS e Alg é quebrado pela ação da tripsina (BASTOS et al., 2020; FARIAS et al., 2023).

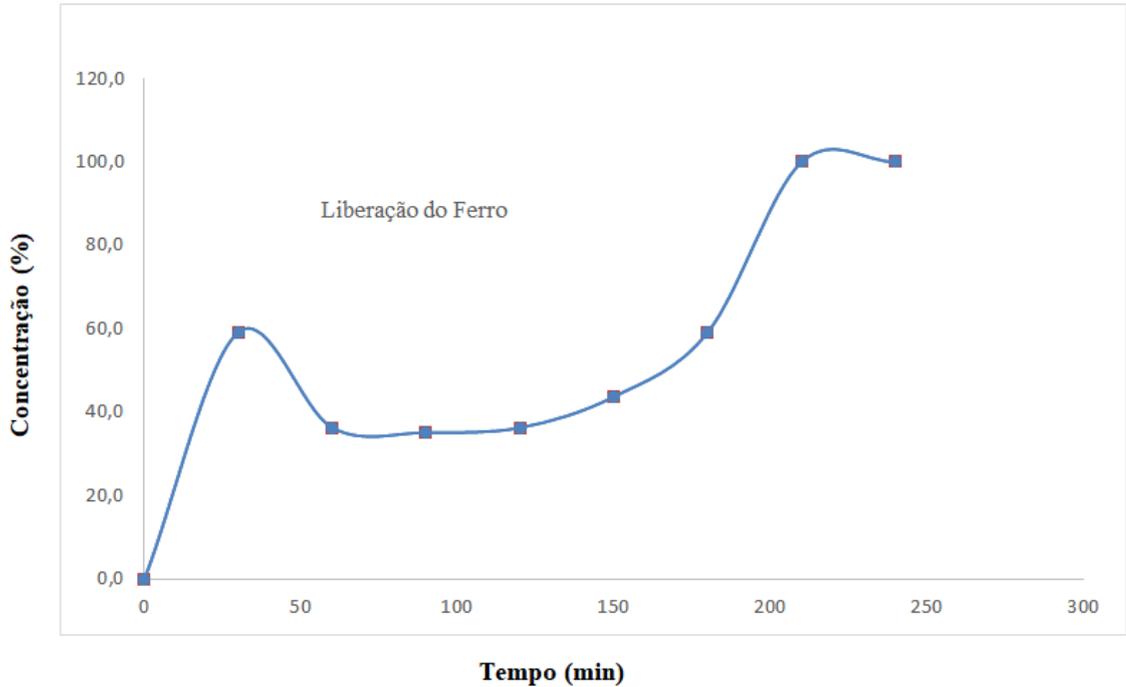


Figura 13. Liberação do ferro encapsulado nas microcápsulas de isolado proteico de soja e alginato de sódio.

3.1.7 Bioacessibilidade da microcápsula de ferro

A bioacessibilidade do ferro foi de 59,05%, essa bioacessibilidade nos indica quanto de ferro será solubilizado e ficará disponível para absorção na digestão. O ferro tem sua absorção no intestino delgado, mais especificamente no duodeno e sua absorção é dependente da sua forma química e dos fatores antinutricionais que diminuem sua biodisponibilidade (GULEC, et al., 2014). Com base nos dados da literatura, a bioacessibilidade do ferro encontrada nesse estudo está de acordo com a literatura, que encontra 49,54% (BARBOSA; GARCIA-ROJAS., 2022) e valores entre 41,17% até 52,97% (ILYASOGLU BUYUYKKESTELLI; EL., 2019).

3.1.8 Formulação e enriquecimento de biscoitos com microcápsula de ferro

Os biscoitos foram produzidos como mostra a Tabela 9. Foram feitos de três diferentes formas: amostra com ferro livre, amostra controle e amostra com microcápsulas de ferro como observamos na Figura 13. As amostras visualmente não mostram diferenças de cor, volume ou textura.

Tabela 9 – Formulação dos biscoitos com ferro livre, amostra controle e com microcápsulas de ferro.

| Ingredientes | Amostra ferro livre (g) | Amostra controle (g) | Amostra com microcápsula (g) |
|----------------------|--------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| Farinha de trigo | 22,32 | 22,32 | 22,32 |
| Açúcar | 10 | 10 | 10 |
| Margarina | 6,75 | 6,75 | 6,75 |
| Bicarbonato de sódio | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Água | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| Ferro | 0,0149 | - | - |
| Microcápsula | - | - | 0,224 |

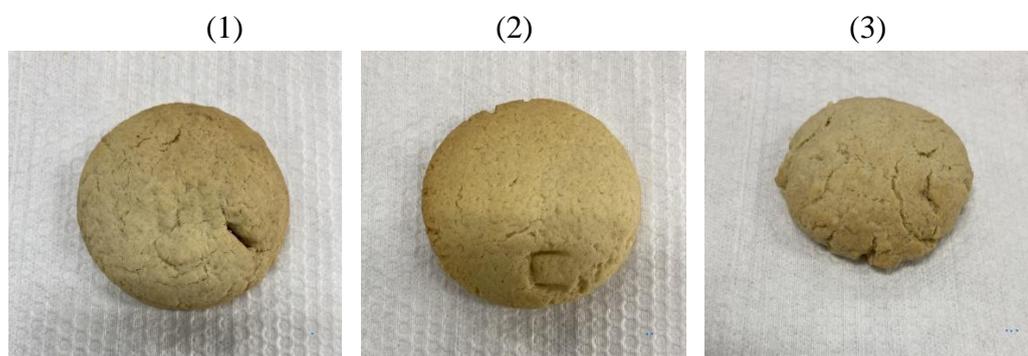


Figura 14. (1) amostra com ferro livre, (2) amostra controle, (3) amostra com microcápsula.

3.1.9 Análise de textura: dureza e fraturabilidade

Avaliamos a textura dos biscoitos contendo microcápsulas de ferro, ferro livre e amostra controle, dentre as amostras não houve diferença significativa para as análises de dureza e fraturabilidade. As Tabelas 10 e 11 nos mostram os resultados das análises de dureza e fraturabilidade respectivamente, confirmando que não há diferença significativa entre as amostras de acordo com as análises estatísticas ANOVA e TUKEY. Quando o módulo da

média for menor que a diferença mínima significativa (DMS), não há diferença significativa entre as amostras, assim como aconteceram duas análises de textura. Então, independente da adição da microcápsula no biscoito, o mesmo não será afetado em sua dureza e fraturabilidade.

Tabela 10 – Análise estatística de dureza dos biscoitos: amostra com microcápsula, amostra com ferro livre e amostra controle.

| <i>Tratamentos</i> | <i>Média 1</i> | <i>Média 2</i> | <i>Módulo da média</i> | <i>DMS</i> |
|--|----------------|----------------|------------------------|------------|
| Amostra com microcápsula - amostra Controle | 1477,643 | 1031,693 | 445,95 | 744,69 |
| Amostra com microcápsula – amostra com ferro livre | 1477,643 | 916,5933 | 561,05 | 744,69 |
| Amostra com ferro livre - amostra Controle | 916,5933 | 1031,693 | 115,10 | 744,69 |

Tabela 11 – Análise estatística de fraturabilidade dos biscoitos: amostra com microcápsula, amostra com ferro livre e amostra controle.

| <i>Tratamentos</i> | <i>Média 1</i> | <i>Média 2</i> | <i>Módulo da média</i> | <i>DMS</i> |
|--|----------------|----------------|------------------------|------------|
| Amostra com microcápsula - amostra Controle | 3621,83 | 3513,397 | 108,43 | 358,31 |
| Amostra com microcápsula - amostra com ferro livre | 3621,83 | 3390,573 | 231,26 | 358,31 |
| Amostra com ferro livre - amostra controle | 3390,573 | 3513,397 | 122,82 | 358,31 |

Em relação ao que vemos nos estudos de Filipčev et al., 2014 conseguimos observar que não há grande diferença em relação a dureza e fraturabilidade, onde a amostra com microcápsula possui um valores menores do que o biscoito de gengibre. Importante ressaltar que os valores da tabela 10 e 11 estão multiplicados por 100, cálculo feito pelo próprio programa utilizado para análise.

3.1.10 Análise de cor

Através da Figura 14, observamos as três amostras de biscoito e visualmente não conseguimos identificar diferença de cor entre as amostras. Através dos testes estatísticos

ANOVA e TUKEY confirmaram o que observamos para a análise de cor mostradas na tabela 12, 13 e 14.. As amostras foram analisadas através do Sistema CIE-L*a*b* (Commision Internationale L'Eclairage), foram obtidos os parâmetros luminosidade (L*), intensidade de vermelho (+a*) e intensidade de amarelo (+b*), conforme metodologia Gusmão et al, 2018 e Neiro et al., 2013).

Tabela 12 – Médias dos valores de luminosidade (L*)

| <i>Tratamentos</i> | <i>Média</i> | <i>DMS</i> | + | - |
|--------------------------|--------------|------------|----------|-----------------------|
| Amostra controle | 67,91583 | 5,04 | 72,95836 | 62,8733 ^a |
| Amostra com ferro livre | 64,555 | 5,04 | 69,59753 | 59,51247 ^a |
| Amostra com microcápsula | 65,94833 | 5,04 | 70,99086 | 60,9058 ^a |

Tabela 13 – Média dos valores de intensidade (a*) componente vermelho-verde)

| <i>Tratamentos</i> | <i>Média</i> | <i>DMS</i> | + | - |
|--------------------------|--------------|------------|----------|----------------------|
| Amostra controle | 2,563333 | 1,94 | 4,51 | 0,62088 ^a |
| Amostra com ferro livre | 4,323333 | 1,94 | 6,265787 | 2,38088 ^a |
| Amostra com microcápsula | 3,823333 | 1,94 | 5,765787 | 1,88088 ^a |

Tabela 14 - Média dos valores de intensidade (b*) componente amarelo-azul)

| <i>Tratamentos</i> | <i>Média</i> | <i>DMS</i> | + | - |
|--------------------------|--------------|------------|----------|-----------------------|
| Amostra controle | 28,945 | 4,83 | 33,77626 | 24,11374 ^a |
| Amostra com ferro livre | 25,755 | 4,83 | 30,58626 | 20,92374 ^a |
| Amostra com microcápsula | 28,01583 | 4,83 | 32,8471 | 23,18457 ^a |

Para os parâmetros utilizados (L*a*b*) não houve diferenças significativas entre as amostras para as variáveis de luminosidade e intensidade de cor. Nos estudos de Nascimento, 2018 os biscoitos acrescidos de microcápsulas de própolis vermelha apresentaram valores diferentes, para luminosidade (L*) e intensidade (b*) apresentou um valor menor, para intensidade (a*) um valor maior, o que aponta para uma cor mais avermelhada. Quando comparado com a Figura 14, observamos essa diferença, uma vez que a amostra com microcápsula apresenta uma cor mais amarelada.

4 CONCLUSÃO

Nesse estudo o sulfato ferroso foi encapsulado através do processo de microencapsulação por coacervação complexa usando o IPS e Alg como material de parede. Dentre as análises, conseguimos confirmar a afinidade entre os biopolímeros através do diagrama de fases, a alta eficiência de encapsulação nas proporções escolhidas. Na simulação gastrointestinal *in vitro* observa-se que a liberação do ferro encapsulado não acontece na boca, pois a microcápsula não é quebrada com a amilase. Somente a partir da segunda etapa da digestão, no estômago, que a liberação de ferro começa a acontecer devido a ação da pepsina quebrando o IPS presente na microcápsula, e a partir da terceira etapa da digestão, no intestino, que o ferro é totalmente liberado com a ação da tripsina, que faz a quebra total dos materiais de parede IPS e Alg liberando o ferro totalmente. Na aplicação das microcápsulas no biscoito através das análises de textura e cor conseguimos observar que não há diferença significativa de cor e textura entre as amostras de biscoitos sem microcápsulas (controle) e com microcápsula adicionado. Levando em consideração a quantidade de ferro adicionada na emulsão, a quantidade de microcápsula adicionada no biscoito, para atingir a recomendação diária de uma criança na faixa etária entre 4 – 8 anos (10 mg ferro/dia) somente através dos biscoitos, deveria ser consumido em média 9 biscoitos por dia. Através desse estudo e de todas as análises aplicadas, conseguimos observar a importância da microencapsulação do ferro para fortificação do biscoito, uma vez que o biscoito é um produto muito consumido e bem aceito em diversas faixas etárias. Sendo assim, o processo de microencapsulação por coacervação complexa é uma forma de empregar o sulfato ferroso para fortificação de alimentos, como o biscoito, auxiliando na prevenção da deficiência de ferro e posteriormente a anemia.

5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ANTUNES, P. I. C. Desenvolvimento e caracterização de um *blend* de farinhas para panificação fortificado em ácido fólico e ferro por microencapsulação. **Tese de doutorado**. Faculdade de Ciência e Tecnologia NOVA e Universidade NOVA de Lisboa. Setembro, 2022.

ARAÚJO. M. C. F. et al. Fluxograma para diagnóstico precoce, tratamento e monitorização da deficiência de ferro na criança. **Residência Pediátrica**, 2023.

ARCE, A; USTUNOL, Z. Effect off microencapsulated ferrous sulfate particle size on Cheddar cheese composition and quality. **American Dairy Science Association**, 2018.

ASGHARI-VARZANEH, E. et al. Iron microencapsulation in gum tragacanth using solvent evaporation method. 05;047. **International Journal of Biological Macromolecules**http., 2017.

BARBOSA, B. S. T; GARCIA-ROJAS, E. E. Double emulsions as delivery systems for iron: Stability kinetics and improved bioaccessibility in infants and adults. **Current Research in Food Science**. 5;718–725, 2022.

BASTOS, L. P. H. et al. Encapsulation of the black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil by lactoferrin-sodium alginate complex coacervates: Structural characterization and simulated gastrointestinal conditions. **Food Chemistry**, January, 2020.

BOUYER, E. et al. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? **International Journal of Pharmaceutics**. 436; 359–378, 2012.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria N° 64, 16/09/2008**. Aprova Regulamento Técnico sobre Atribuição de aditivos e seus limites máximos para alimentos, 2008.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - **RDCN° 64, 22/09/2005**. Aprova Regulamento Técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais, 2005.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - **RDCN° 334, 13/12/2002**. Aprova o Regulamento Técnico para a Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Biblioteca Virtual de Saúde. Organização Mundial da Saúde, 2004.
Acesso em: 18/07/2022 <
<https://bvsm.sau.gov.br/bvs/dicas/69anemia.html#:~:text=Anemia%20%C3%A9%20definida%20pela%20Organiza%C3%A7%C3%A3o,for%20a%20causa%20dessa%20defici%C3%A7%C3%A3o.>>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Biblioteca Virtual de Saúde. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da criança e da Mulher**, PNDS, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Departamento de Atenção Básica. Programa Nacional de Suplementação de Ferro:** manual de condutas gerais / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRODKORB, A. et al. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**, v. 14, n. 4, p. 991–1014, 2019.

BRYZSEWSKA, M. A. et al. *In vitro* bioaccessibility and bioavailability of iron from breads fortified with microencapsulated iron. **LWT – Food Science**, 2019.

BUYUKKESTELLI, H. Y; EL, S. N. Development and characterization of double emulsion to encapsulate iron. **Journal of Food Engineering**, 2019.

CARO, A. L. Propiedades Interfaciales de Emulsionantes Alimentarios: Fosfolípidos y Proteínas. **Tese de doutorado**. Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química. Sevilla, 2005.

CASTRO, I. et al. Prevalência de anemia e deficiência de vitamina A e consumo de ferro e deitamina A entre crianças usuárias do Sistema Único de Saúde na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **Cad. Saúde Pública** 2021.

CHEN, F. -P. et al. Spray-drying microencapsulation of curcumin nanocomplexes with soy protein isolate: Encapsulation, water dispersion, bioaccessibility and bioactivities of curcumin. **Food Hydrocolloids**, 2020.

CHOI, S. J. et al. Impact of iron encapsulation within the interior aqueous phase of water-in- oil-in-water emulsions on lipid oxidation. **Food Chemistry**, 2009.

CONSTANTINO, Augusto Bene Tomé. Obtenção de proteínas e amido de amaranto e sua aplicação em coacervação complexa para carregamento de compostos bioativos em produtos alimentícios. **Tese de Doutorado** (Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

CONTO, L. C. Produção de microcápsulas contendo éster etílico e de ácidos graxos polinsaturados ômega 3 de óleo de peixe. **Tese de Doutorado**. Universidade de Campinas. Campinas, 2012.

COSTA, J. C. M. et al. Desenvolvimento de microcápsulas de óleo de andiroba (*carapa guianensis*) por coacervação complexa em matrizes de goma arábica/ gelatina e alginato/ gelatina. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, 2020.

GONÇALVES, V. L. Desenvolvimentos de Sistemas de Ferro a partir de Complexos Orgânicos – Minerais a base de Quitosanas a serem aplicados no tratamento de Anemia Ferropriva. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Santa Catarina, 2005.

DENG, X. et al. Spray-Drying Microencapsulation of β -carotene by soy protein isolate and/or OSA-modified starch. **J. PPL. POLYM. SCI.** 2014.

FARIAS, A. M. et al. Ovalbumin and sodium alginate complex coacervates as delivery system of β -carotene: Formation, characterization, and cookies fortification. **Food Hydrocolloids for Health**, 2023.

FILIPČEV, B. et al. Quality of ginger nut type biscuits as affected by varying fat content and partial replacement of honey with molasses. **J Food Sci Technol.** 2012.

FERREIRA, B. S. Microencapsulamento de sulfato ferroso: aperfeiçoamento do processo de produção, caracterização e aplicação em uma preparação típica brasileira. **Dissertação de mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

FERREIRA, L. D. S. Desenvolvimento de géis de isolado proteico de soja carregados com emulsões de óleo de castanha do Brasil para veiculação de vitamina D3. **Dissertação de mestrado**. Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2020.

FERREIRA, S. R. et al. Microencapsulação de ferro por coacervação complexa para fortificação de bebida láctea fermentada. Instituto de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Alimentos e Saúde. Universidade Federal de Minas Gerais, 2023.

FILIPONI, M. P. Desenvolvimento e caracterização de micropartículas contendo complexos de ferro e peptídeos. Dissertação de mestrado. Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2018. FREDRICK, E. et al. Factors governing partial coalescence in oil-in-water emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, 2010.

FREITAS, M. L. F. Preparo e caracterização de emulsões e microcapsulas de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa*) utilizando isolado proteico de soja e pectina de alta metoxilação como estabilizante. 2018. 180p. **Tese de Doutorado** (Doutor em Ciência dos Alimentos). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, SP, 2018.

GAONKAR, A. et al. Microencapsulation in the food Industry: A Practical Implementation Guide. **San Diego: Academic Press**, 2014.

GONÇALVES, V.L. Desenvolvimento de Sistemas de Liberação de Ferro a partir de Complexos Orgânicos – Minerais a base de Quitosanas a serem aplicados no Tratamento de Anemia Ferropriva. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

GULEC, S. Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** 307: G397–G409, 2014.

GUPTA, C. et al. Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method – Milk fortification, **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 622-628, 2014.

GUSMÃO, R. P. et al. Caracterização tecnológica de cookies produzidos com diferentes concentrações de farinha de algaroba durante armazenamento por 120 dias. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2018.

HAUG, I. J; DRAGET, K.I. In: Phillips, G.O., Williams, P.A. (Eds.), **Handbook of Food Proteins**. Woodhead Publishing, Cambridge, UK. 2009.

HERNÁNDEZ-VÁSQUEZ, A. et al. Is anemia a public health problem among children under five years ago in Peru? Findings from a national healthcare administrative database (2012 and 2016) using Geographic Information Systems. **Rev Chil Nutr**, 2019.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington, DC: The National Academies Press. IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**. Gold Book ed, 2001.

JAIN, A. et al. Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2016.

JUSTI, P. N. et al. Microencapsulation of Pequi pulp oil by complex coacervation, **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, 2018.

KANWAL. S. et al. Development of chitosan based microencapsulated spray dried powder of tuna fish oil: oil load impact and oxidative stability. **Brazilian Journal of Biology**, 2021.

LAN, Y. et al. Microencapsulation of hemp seed oil by pea protein isolate – sugar beet pectin complex coacervation: Influence of coacervation pH and wall/core ratio. **Food Hydrocolloids**, 2021.

LE MOS, Y. P. Microencapsulação de óleo de buriti por coacervação complexa em matrizes de gelatina/alginato. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, 2017.

LIMA, N. G. et al. O limiar entre farmácia e alimentos: Microencapsulação de vitamina B12 para enriquecimento de alimentos plant-based. **Research, Society and Development**, 2023.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. ; RAYMOND, J.L. Krause: **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 13ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

MAJIMBI, M. et al. Sodium alginate microencapsulation improves the short-term oral bioavailability of cannabidiol when administered with deoxycholic acid. **Plos One**. 17 de junho, 2021.

MANSOUR, M. et al. Effect of microencapsulation using soy protein isolate and gum arabic as wall material on red raspberry anthocyanin stability, characterization, and simulated gastrointestinal conditions. **Ultrasonics – Sonochemistry**, 2020.

MARFIL, P. H. M. Microencapsulação de óleo de palma por coacervação complexa em matrizes de gelatina/goma arábica e gelatina/alginato. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, 2014.

McCLEMENTS, D. J. Nanoparticle- and microparticle-based delivery systems: Encapsulation, protection and release of active compounds, 2015.

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

MIGUEL, A. C. A. et al. Pós-colheita de uva ‘Itália’ revestida com filmes à base de alginato de sódio e armazenada sob refrigeração. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 2009.

MORTARI, I.F. et al. Estudo de correlação da anemia ferropriva, deficiência de ferro, carência nutricional e fatores associados: Revisão de literatura. **Research, Society and Development**, 2021.

MUNERATTO, V. M. et al. Oregano essential oil encapsulation following the complex coacervation method: Influence of temperature, ionic strength, and pH on the release kinetics in aqueous medium. **Ciência e Agrotecnologia**, 2021.

MUÑOZ, J. et al. Avances en la formulación de emulsiones. **Departamento de Ingeniería Química**. Facultad de Química. Sevilla, 2007.

NASCIMENTO, L. D. DO et al. Microencapsulamento de óleos essenciais: conceitos e aplicações. In: **A Produção do Conhecimento na Engenharia Química**. [s.l.] Atena Editora, 2019.

NASCIMENTO, N. M. Desenvolvimento e caracterização de cookie sem glúten enriquecido com extrato e microencapsulados de própolis vermelha. **Trabalho de Dissertação**. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal do Sergipe, São Cristovão, Sergipe, 2018.

NEGRI, T. C. Bioacessibilidade de ferro na farinha de trigo com adição de ácido ascórbico proveniente de subprodutos de frutas. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2018.

NOSHAD, M. et al. Microencapsulation of vanillin by spray drying using soy protein isolate-maltodextrin as wall materials. **Flavour and Fragrance Journal**, 2015.

O'FLYNN, T. D. et al. Rheological and Solubility Properties of Soy Protein Isolate. **Molecules**, 2021.

OKURO, P. K. et al. Formation and stability of W/O-high internal phase emulsions (HIPEs) and derived O/W emulsions stabilized by PGPR and lecithin. **Food Research International**, 2019.

PEREIRA, K. C. et al. Microencapsulation and release controlled by the diffusion of food ingredients produced by spray drying: a review. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, 2018.

PHILLIPS, G. O; WILLIAMS. **Handbook of food proteins**. Woodhead Publishing, Walnut Street, Suite 1100, Philadelphia, USA, 2011.

PRATAP-SINGH, A; LEIVA, A. Double fortified (iron and zinc) spray-dried microencapsulated premix for food fortification. **LWT - Food Science and technology**, v. 115, 2021.

PRICHAPAN, N. et al. Utilization of multilayer-technology to enhance encapsulation efficiency and osmotic gradient tolerance of iron-loaded W1/O/W2 emulsions: Saponin-chitosan coatings. **Food Hydrocolloids**, 2021.

RATHER, S. A. et al. Effect of double alginate microencapsulation on *in vitro* digestibility and thermal tolerance of *Lactobacillus plantarum* NCDC201 and *L. casei* NCDC297. **LWT - Food Science and Technology**, 2017.

SANTOS, M. B. et al. Microencapsulation of vitamin D3 by complex coacervation using carboxymethyl tara gum (*Caesalpinia spinosa*) and gelatin A. **Food Chemistry**, v. 343, 2021. SARES, B. DA S. et al. Microencapsulation of sacha inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) using complex coacervation: Formation and structural characterization. **Food Chemistry**, 2018.

SILVA, P. A. S. Microencapsulação de óleo de açaí em emulsões estabilizadas com isolado proteico de soja para incorporação em iogurte. **Dissertação de mestrado**. Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2022.

SILVA, T. M. DA et al. Development, characterization and viability study of probiotic microcapsules produced by complex coacervation followed by freeze-drying. **Ciencia Rural**, 2019.

SOARES, B. DA S. et al. Microencapsulation of Sacha Inchi Oil by Complex Coacervates using Ovalbumin-Tannic Acid and Pectin as Wall Materials. **Food and Bioprocess Technology**, 2021.

SOBEL, R. In: **Microencapsulation in the food Industry: A Practical Implementation Guide**. Introduction to Microencapsulation and Controlled Delivery in Food. San Diego: Academic Press: [s.n.]. 2014.

SOUZA, C. F. S. Processo de coacervação complexa empregando biopolímeros como sistema de carreamento do ácido tânico. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2022.

SOUZA, C. J. F.; GARCIA-ROJAS, E. E. Effects of salt and protein concentrations on the association and dissociation of ovalbumin-pectin complexes. **Food Hydrocolloids**, 2015.

TURBIANE, F. R. B. et al. Liberação de Benzoato de Cálcio de Filmes de Alginato de Sódio Reticulados com Íons Cálcio. **Polímeros**, 2011.

WANG, N. et al. Effect of high intensity ultrasound on the structure and solubility of soy protein isolate-pectin complex. **Ultrasonics sonochemistry**, 2021.

YAN, C; ZHANG, W. In: **Microencapsulation in the food Industry: A Practical Implementation Guide**. Coacervation Processes. San Diego: Academic Press, 2014.

ZAFEIRI, I. et al. Emulsions Co-Stabilised by Edible Pickering Particles and Surfactants: The Effect of HLB Value. **Colloids and Interface Science Communications**, 2017.

ZHANG, H. et al. Development of double layer microcapsules for enhancing the viability of *Lactobacillus casei* LC2W in simulated gastrointestinal fluids. **Lwt**, v. 145, n. March, 2021.