

ALEXANDRE GUIMARÃES INÁCIO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE CHIA
MICROENCAPSULADO**

CAMPO MOURÃO

2017

ALEXANDRE GUIMARÃES INÁCIO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE CHIA
MICROENCAPSULADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Ailey Aparecida Coelho Tanamati

Campo Mourão

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

I135a Inácio, Alexandre Guimarães

Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de chia
microencapsulado / Alexandre Guimarães Inácio – 2017.
51 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Odinei Hess Gonçalves

Coorientadora: Ailey Aparecida Coelho Tanamati

Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal
do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de
Alimentos. Campo Mourão, 2017.

Inclui bibliografias.

1. Ácidos graxos Ômega-3. 2. Ácidos graxos Ômega-6 3.
Espectroscopia de infravermelho. 4. Alimentos – Dissertações. I.
Gonçalves, Odinei Hess, orient. II. Tanamati, Ailey Aparecida
Coelho coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do
Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de
Alimentos. III. Título.

CDD: 664

Biblioteca Câmpus Medianeira
Marci Lucia Nicodem Fischborn CRB 9/1219



Termo de aprovação

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE CHIA
MICROENCAPSULADO**

Por

Alexandre Guimarães Inácio

Essa dissertação foi apresentada as nove horas, do dia vinte e dois de fevereiro de dois mil e dezessete, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Linha de Pesquisa Ciência e Tecnologia de Produtos Alimentícios, no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos – PPGTA, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves (Orientador – PPGTA)

Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé (UTFPR – Campus Apucarana)

Prof.^a Dr.^a Roberta de Souza Leone (UTFPR – Campus Campo Mourão)

*A via original com as assinaturas encontra-se na secretaria do programa.

Agradecimentos

Agradeço a todos que tornaram possível a realização deste trabalho, com especial atenção:

Minha mãe Vera Lucia, e meus irmãos André e Andreia, que me deram apoio e condições para eu chegar até aqui;

Meu orientador Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves pela oportunidade, paciência e orientação durante a pesquisa, tenho muito orgulho e satisfação em conhecê-lo;

Minha co-orientadora, Prof^a. Dr^a. Ailey Aparecida Coelho Tanamatti, pelas relevantes sugestões e pela disponibilidade. Foi excelente poder trabalhar com a senhora;

Aos professores Roberta de Souza Leone, Evandro Bona, Fernanda Vitória Leimann, Paulo Henrique Março, Patrícia Valderrama, Aline Coqueiro, Rafael Porto Ineu, Ângela Maria Gozzo, Carlos Grosso e Paulo Bittencourt pelas considerações, parceria e colaboração durante a realização deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas de mestrado Gustavo, Larissa, Jéssica, Fernanda, Valquiria, Priscila, Melina, Luiza, Cristhian, Marcos, Thaysa e Carlos pelo incentivo e colaboração, agradeço por fazerem parte do meu dia a dia e da minha história.

À UTFPR e todos os servidores, em especial aqueles envolvidos com Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos – PPGTA, pela oportunidade e auxílios imprescindíveis;

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos. A todos que direta ou indiretamente colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

Muito obrigado!

Resumo

O óleo de chia vem sendo amplamente estudado devido aos seus benefícios para a saúde humana, sendo fonte de ácidos graxos essenciais como o ômega-3 e ômega-6, além de diversos compostos antioxidantes. Contudo, assim como outros óleos ricos em ácidos graxos insaturados, ele possui baixa estabilidade oxidativa. A encapsulação do óleo de chia é uma alternativa para protegê-lo da luz e do oxigênio, fatores determinantes para o início das reações de degradação. O impacto da encapsulação sobre a proteção do óleo deve ser mensurado e no estudo de óleos e gorduras as técnicas de análise térmica vem ganhando destaque nos últimos anos devido a rapidez, precisão e facilidade de operação. Neste trabalho, o óleo de sementes de chia foi microencapsulado em cera de carnaúba e sua estabilidade térmica foi avaliada. Primeiramente, as micropartículas foram caracterizadas por Espectroscopia no Infravermelho Médio, Difração de Raios-X, Cromatografia Gasosa e Microscopia Eletrônica de Varredura, sendo verificado um alto índice de eficiência de encapsulação (97%), apresentando tamanhos micrométricos, formato esférico e sem fissuras. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) foi utilizada nos modos isotérmico e não isotérmico a fim de determinar os parâmetros de Arrhenius do óleo *in natura* e microencapsulado. Foi possível verificar a efetiva proteção do óleo de chia conferida pelas micropartículas de cera de carnaúba, sendo detectado um aumento na temperatura de indução oxidativa de até 26° C nos ensaios não isotérmicos. As micropartículas contendo o óleo também foram submetidas ao ensaio de estabilidade acelerada em estufa. Os espectros obtidos através do Uv-Vis foram utilizados para análise quimiométrica e na determinação dos coeficientes de extinção a 232 e 270 nm, corroborando o aumento da estabilidade oxidativa observado nos ensaios calorimétricos.

Palavras chave: DSC, encapsulação, ômega 3, ômega 6, espectroscopia, composição de ácidos graxos.

Abstract

Chia oil has been widely studied because of its benefits to human health, being source of important fatty acids like omega-3 and omega-6, in addition to several antioxidant compounds. However, like other oils rich in unsaturated fatty acids, it has low oxidative stability. The encapsulation of chia oil is an alternative to protect it from light and oxygen, factors that determine the beginning of degradation reactions. The impact of encapsulation on oil protection should be measured and in the study of oils and fats the techniques of thermal analysis have been gaining prominence in recent years due to the speed, precision and ease of operation. In this work, the oil of chia seeds was microencapsulated in carnauba wax and its thermal stability was evaluated. Firstly, the microparticles were characterized by Medium Infrared Spectroscopy, X-Ray Diffraction, Gas Chromatography and Scanning Electron Microscopy. A high encapsulation efficiency index (97%) was verified, presenting micrometric sizes, spherical shape without cracks. Differential Scanning Calorimetry (DSC) was used in isothermal and non-isothermal modes in order to determine the Arrhenius parameters of the natural and microencapsulated oil. It was possible to verify the effective protection of the chia oil conferred by the microparticles of carnauba wax, and an increase in the oxidative induction temperature of up to 26° C was detected in non-isothermal tests. The microparticles containing the oil were also subjected to the schaal oven test and the spectra obtained through Uv-vis were evaluated by chemometrics and determination of the extinction coefficients at 232 and 270 nm, corroborating the increase in the oxidative stability observed in the calorimetric assays.

Keywords: DSC, encapsulation, omega 3, omega 6, spectroscopy, fatty acid profile.

Lista de figuras

Figura 1: Cromatogramas (a) do óleo de chia <i>in natura</i> e (b) das micropartículas contendo o óleo de chia	30
Figura 2: Imagem das micropartículas de carnaúba contendo o óleo de chia obtidas por microscopia eletrônica	31
Figura 3: Termogramas obtidos pelo DSC em atmosfera de nitrogênio gasoso	32
Figura 4: (a) Espectros de infravermelho (FTIR-ATR) e (b) difratogramas de Raios-X das micropartículas contendo o óleo de chia e as micropartículas branco	33
Figura 5: Ensaio não isotérmico obtido por DSC para (a) o óleo de chia <i>in natura</i> e (b) as micropartículas contendo o óleo de chia	35
Figura 6: Gráficos utilizados para obtenção dos parâmetros de Arrhenius (não isotérmico)	36
Figura 7: Gráficos utilizados na obtenção dos parâmetros cinéticos de Arrhenius (isotérmico) para o (a) óleo <i>in natura</i> e (b) óleo encapsulado	38
Figura 8: Análise termogravimétrica representada pela curva (a) TGA e (b) ΔTGA	39
Figura 9: Espectros no UV-vis obtidos durante o ensaio de estabilidade acelerada	41
Figura 10: Concentrações relativas de tocoferol (- - -) e produtos de degradação (—)....	42
Figura 11: Espectros UV-Vis recuperados por MCR-ALS relativos ao (- - -) tocoferol e (—) aos produtos de degradação para o (a) óleo <i>in natura</i> e (b) micropartículas	42
Figura 12: Coeficiente de extinção específica (a) em 232 nm (K_{232}) e (b) 270 nm (K_{270}) obtidos durante o teste de estabilidade acelerada em estufa	43

Lista de tabelas

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos do óleo de chia	29
Tabela 2: Quantificação dos ácidos graxos majoritários presentes no óleo e nas micropartículas contendo o óleo de chia	30
Tabela 3: Temperatura de início da oxidação para o óleo de chia e para as micropartículas contendo o óleo de chia	35
Tabela 4: Tempos de indução oxidativa para o óleo de chia e para as micropartículas...	37
Tabela 5: Temperatura, tempo de indução da oxidação e variação de massa registradas na análise termogravimétrica	40

Sumário

1. Introdução Geral	10
2. Objetivos.....	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3. Revisão Bibliográfica	13
3.1. Chia (<i>Salvia hispanica L.</i>).....	13
3.2 Microencapsulação	15
3.3 Métodos de caracterização de óleos e de micropartículas	16
3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	18
3.4.1 Ensaios não isotérmicos	20
3.4.2 Ensaios isotérmicos	21
3.5 Análise espectroscópica na determinação da qualidade de óleos	22
4. Material e Metodologia	24
4.1 Material	24
4.2 Metodologia	24
4.2.1 Obtenção das micropartículas	24
4.2.2 Análises de caracterização do óleo e das micropartículas	25
4.2.3 Análise de estabilidade por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA).....	27
4.2.4 Teste de estabilidade acelerada	28
5.Resultados e discussão	29
5.1 Encapsulação e caracterização do óleo de chia e das micropartículas.....	29
5.1.1 Análises físico-químicas	29
5.1.2 Cromatografia gasosa e eficiência de encapsulação.....	29
5.1.3 Caracterização das micropartículas.....	31
5.2 Estabilidade oxidativa através de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	34
5.2.1 Ensaios não isotérmicos	34
5.2.2 Ensaios isotérmicos	37
5.2.3 Análise termogravimétrica	39
5.3 Teste de estabilidade acelerada e espectroscopia no UV-Vis	41
6. Conclusões	45
7. Referências bibliográficas	46

1. Introdução Geral

A chia (*Salvia hispanica L.*) é uma planta de ocorrência anual originalmente cultivada pelos povos Maias e Astecas na região do México, foi muito usada por eles como fonte de energia na alimentação ou como bebida refrescante, as sementes e as frutas eram utilizadas tanto nos alimentos quanto no preparo de sucos (GROMPONE et al., 2013). Hoje, é comercialmente disponível para o consumo humano na forma de sementes inteiras, farinha, óleo e formulações alimentares, estando sua distribuição presente nas Américas, Austrália, Europa e Sudeste da Ásia (MOHD ALI et al., 2012).

O óleo da semente de chia é uma rica fonte de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI). Ele contém a maior proporção do ácido α -linolênico (aproximadamente 60%) quando comparada a outras fontes vegetais conhecidas (SANDOVAL-OLIVEROS; PAREDES-LÓPEZ, 2013). Este ácido graxo compõe o grupo ômega 3 e seu consumo é essencial para o crescimento e desenvolvimento do corpo humano, além de auxiliar na prevenção de doenças da artéria coronária, hipertensão, diabetes, artrite e outros processos inflamatórios. (SIMOPOULOS, 2002).

Apesar de apresentar um perfil nutricional favorável para a saúde, o óleo da semente de chia contém um alto percentual de ácidos graxos insaturados, o que pode resultar em baixa estabilidade oxidativa e curta vida de prateleira (IXTAINA et al., 2012). Surge então a microencapsulação de óleos como uma alternativa que vem sendo estudada a fim de proteger ácidos graxos insaturados presentes em grandes quantidades nos óleos vegetais. Esta tecnologia consiste em envolver um componente sólido, líquido ou gasoso dentro de uma estrutura (micropartículas) que protege o núcleo contra agentes externos como o oxigênio, água e luz (AGHBASHLO et al., 2012; FUCHS et al., 2006).

A estabilidade conferida pelas micropartículas pode ou não ser efetiva, por isso há a necessidade de avaliar a eficiência desta proteção. Na análise de óleos em geral, a maioria dos estudos utilizam o teste em Rancimat para as pesquisas. Este método é realizado pelo aquecimento da amostra e mensuração do tempo de rancificação através da detecção dos produtos voláteis da reação de oxidação. É um teste que geralmente leva várias horas, e o resultado do tempo de indução da oxidação não pode ser facilmente transformado em parâmetros cinéticos, importante dado no estudo da estabilidade dos óleos. Além disso, as conclusões retiradas a partir da detecção de um produto volátil pode ser enganosa, devido às

variadas classes de lipídios cuja formação de produtos gasosos podem ocorrer em diferentes graus de auto oxidação (HOSSEINI et al., 2013; ROOZEN; FRANKEL; KINSELLA, 1994).

Como o processo de oxidação resulta em uma reação exotérmica, as análises térmicas vêm sendo muito usadas para seguir o curso da reação através do monitoramento contínuo e total dos efeitos térmicos da oxidação de lipídios. Além disso, os métodos térmicos de análise são simples, diretos e considerados mais eficientes do que os demais (ADHVARYU et al., 2000; PARDAUIL et al., 2011).

Além das análises térmicas, diversas técnicas de espectroscopia têm sido utilizadas na avaliação da degradação de óleos comestíveis (GONÇALVES; MARÇO; VALDERRAMA, 2014), como técnicas espectroscópicas no ultravioleta-visível (UV-Vis), na região do infravermelho próximo (NIR) e infravermelho médio (FTIR) combinadas a métodos quimiométricos (FERREIRA et al., 2014; WÓJCICKI et al., 2015). Métodos quimiométricos são ferramentas computacionais que permitem avaliar simultaneamente um grande número de informações geradas por uma análise química, seja a altura de picos em perfis cromatográficos, comprimentos de onda em perfis espectroscópicos ou até mesmo imagens (MARÇO et al., 2014). Como exemplo, foi demonstrado que a espectroscopia no infravermelho médio é uma ferramenta importante no monitoramento do envelhecimento de óleos de semente de uva, jojoba, girassol e amendoim (LE DRÉAU et al., 2009a, 2009b).

A presente dissertação foi estruturada da seguinte forma. Primeiramente, uma breve introdução ao tema e os objetivos são apresentados. Na sequência, uma revisão bibliográfica é apresentada sobre o óleo de chia, sua encapsulação e as principais análises realizadas no trabalho. Em seguida, a metodologia utilizada nos experimentos é delineada. Logo após, os resultados obtidos são apresentados inicialmente pela caracterização e encapsulação do óleo, seguido pelos dados das análises térmicas e finalmente os resultados dos testes de estabilidade acelerada. Finalmente são apresentadas, respectivamente, as conclusões obtidas e as referências bibliográficas pertinentes.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho teve como objetivo encapsular óleo de chia em partículas micrométricas de cera de carnaúba e avaliar sua estabilidade oxidativa quando encapsulado e *in natura*.

2.2 Objetivos Específicos

São objetivos específicos do trabalho:

- Caracterizar o óleo de chia através das análises físico-químicas de acidez, índice de peróxido e umidade e cromatografia gasosa;
- Encapsular o óleo utilizando a cera de carnaúba como material de parede pela técnica de homogeneização a quente;
- Caracterizar as micropartículas através das análises de Difração de Raios – X, Espectroscopia no Infravermelho Médio (FTIR) e Microscopia Eletrônica de Varredura;
- Utilizar as técnicas de Calorimetria Diferencial de Varredura, Análise Termogravimétrica e Espectroscopia no Ultravioleta-Visível (UV-vis), para avaliar a estabilidade do óleo de chia e do encapsulado;
- Determinar os parâmetros cinéticos envolvidos na reação de oxidação através dos dados calorimétricos;
- Realizar ensaios de estabilidade acelerada em estufa do óleo de chia *in natura* e encapsulado;

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Chia (*Salvia hispanica L.*)

A chia foi utilizada durante séculos como alimento pelos índios do Oeste e do Sul do México. Os Astecas, ofereciam as sementes da chia aos deuses durante as cerimônias religiosas e também as usavam como alimento básico, ficando o seu uso atrás apenas do milho e do feijão, mas com maior destaque que outras culturas como o amaranto. Esse costume desapareceu a mais de 500 anos, após a conquista do território pelos espanhóis, que acabaram substituindo a chia pelas suas culturas preferidas, trazidas da Europa (AYERZA; COATES, 2004). A ligação da chia com a religião ia de encontro à cultura espanhola que viam a cerimônia como um ritual pagão. Com isso, seu cultivo foi extinto por muitos anos e sobreviveu apenas em áreas montanhosas e isoladas do México e da Guatemala, onde a planta foi cultivada e permanece sendo até os dias atuais. A produção em grande escala só foi retomada a partir do início da década de 90, pois um grupo de pesquisadores argentinos em parceria com a Universidade do Arizona (EUA) começou a estudar o grão, o que despertou o interesse da comunidade científica para mais pesquisas (AYERZA; COATES, 2004).

O alto teor de óleo, proteínas, antioxidantes e minerais encontrados nas sementes de chia fazem com que muitos nutricionistas recomendem o consumo da chia durante os processos de reeducação alimentar. O grande destaque deve-se ao fato de ela apresentar alto teor de ácidos graxos insaturados quando comparada com outros alimentos (CAHILL, 2003) e também por ser uma das melhores fontes saudáveis de fibras conhecida (AYERZA, 1995). Atualmente, as sementes de chia são utilizadas como suplementos nutricionais, bem como na fabricação de barras, cereais matinais e biscoitos nos Estados Unidos, América Latina e Austrália. Possuem uma quantidade significativa de lipídios (cerca de 40% do peso total da semente, sendo quase 60% como ácido α -linolênico) e também fibra dietética (mais de 30% do peso total), ambos componentes importantes da dieta humana, e proteínas de elevado valor biológico (cerca de 19% do peso total). Além disso, contém minerais, vitaminas e antioxidantes naturais como tocoferóis (238-427 mg.kg⁻¹) e polifenóis, sendo os principais compostos fenólicos o ácido clorogênico, ácido cafeico, quercetina e kaempferol (IXTAINA et al., 2011), que auxilia os consumidores contra algumas condições adversas, tais como doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (AYERZA; COATES, 2004).

Justo et al. (2007) desenvolveram pão integral adicionado de farinha de soja (10%), chia (5%), linhaça (5%) e ácido fólico com a finalidade de obter produtos de maior valor nutritivo e melhores características funcionais. Os pães produzidos com soja adicionados de chia e linhaça tiveram grande aceitação dos consumidores revelada pela avaliação sensorial. Além disso, foram registrados maiores teores de proteína (25% a 30%) em comparação com pães comerciais (21%). Os pães adicionados de chia são ricos em fibra dietética (4% a 5%) e os resultados sugerem que os pães apresentam reduções na captação de glicose no trato digestivo.

Em trabalho semelhante, Rendon-Villalobos e colaboradores (2012) desenvolveram tortilhas de milho com adição de 5%, 10%, 15% e 20% de farinha de chia. Todas as formulações apresentaram maiores teores de fibras, proteínas e lipídios quando comparadas as tortilhas de milho puras, sendo as formulações mais significativas as com 15% e 20% de adição de farinha de chia.

Apesar do rico valor nutricional, durante o processamento, distribuição e manuseio, estes óleos podem facilmente oxidar devido ao seu alto grau de insaturação. Os agentes envolvidos na oxidação de lipídios são: oxigênio, luz, umidade e calor que são responsáveis pela formação de radicais livres dando início à reação de oxidação composta por 3 etapas: iniciação, propagação e terminação (PARDAUIL et al., 2011). Estas etapas incluem a formação de hidroperóxidos, que por sua vez reagem formando produtos de oxidação de lipídios secundários ou terciários, acarretando na decomposição dos ácidos graxos (AGs). Assim, a oxidação de lipídios conduz à formação de aromas e produtos de degradação que são desagradáveis ao consumidor e podem ser prejudiciais para a saúde. Além disso, a reação de oxidação dos AGs modifica sua estrutura química, invalidando os benefícios trazidos à saúde por esse tipo de lipídio (TONON; GROSSO; HUBINGER, 2011).

Para evitar o início dessa reação, a microencapsulação aparece como uma alternativa que protege o óleo de chia das influências adversas do ambiente. A proteção conferida pela matriz evita o contato do óleo com agentes agressores (oxigênio e luz) o que retarda o processo oxidativo (IXTAINA et al., 2015).

3.2 Microencapsulação

A microencapsulação pode ser definida como um processo no qual uma matriz envolve pequenas partículas de sólido, líquido ou gás com o objetivo de proteger o material das condições adversas do meio e interações com outros compostos, estabilizando o produto e aumentando sua vida útil. A capacidade de retenção do composto encapsulado é regulada por sua funcionalidade química, solubilidade, volatilidade e polaridade (GHARSALLAOUI et al., 2007). Então, a micropartícula atua como um filme protetor, isolando a substância ativa (neste caso o óleo de chia) evitando o efeito de sua exposição inadequada (SILVA et al., 2014).

A microencapsulação é uma técnica utilizada em diversas áreas, como na indústria de alimentos, farmacêutica (odor e sabor, liberação controlada) e agrícola (pesticidas, insumos, sêmen, alimentação animal) e tem como finalidades transportar o encapsulado até o local onde deverá agir, proteger o material encapsulado de degradações química ou biológica, mascarar as propriedades indesejáveis da substância encapsulada ou controlar sua liberação (GAN; CHENG; EASA, 2008). A variedade de aplicações da técnica está também associada com as muitas possibilidades de materiais a serem encapsulados. Esse número tende a continuar crescendo visto que também há novos materiais e novas técnicas de encapsulação surgindo. A escolha do método mais adequado dependerá do tipo do material a ser encapsulado, da aplicação e do mecanismo de liberação desejado. A diferença entre os métodos já existentes está no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante, visto que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química (WATTS; DAVIES; MELIA, 1990).

O processo de encapsulação pode ser realizado por diferentes métodos, destacando-se as técnicas de *spray drying*, *spray chilling*, *spray cooling*, cobertura por *spray* em leito fluidizado, extrusão, co-cristalização, liofilização, coacervação, envolvimento por lipossomas, nanoprecipitação, emulsificação, nanoemulsificação, inclusão molecular e polimerização interfacial (NEDOVIC et al., 2011). Dentre os métodos mais usados para microencapsulação de AGs podemos citar a microencapsulação por *spray drying*, por coacervação e liofilização (KAUSHIK et al., 2015). Além do método de encapsulação, a escolha dos agentes encapsulantes também está diretamente associada à substância a ser encapsulada. Os materiais de parede mais comuns são as proteínas, gomas, carboidratos, lipídios, gorduras, ceras e fibras (GHARSALLAOUI et al., 2007). As ceras naturais são sólidos que apresentam boas características para o encapsulamento, também são consideradas fáceis de manipular, estáveis,

inertes e seguras. Além disso, ceras naturais são de grau de pureza alimentar e ceras como a de abelhas, de carnaúba e a de candelilla são aditivos alimentares permitidos para uso em vários países inclusive na União Europeia (MILANOVIC et al., 2010).

A cera de carnaúba, entre as ceras naturais comerciais, apresenta consistência satisfatória para o processo de encapsulação e alto ponto de fusão (em torno de 82°C). É extraída de uma árvore brasileira conhecida como carnaubeira (*Copernicia cerifera*), sua composição é quase inteiramente de ésteres C24 e ácidos carboxílicos C28, C32 e C34. Em comparação com outras ceras (tal como a de abelha), a cera de carnaúba é menos viscosa (portanto mais fácil de manipular durante a confecção da cápsula), mais elástica, e mais resistente a deformações. Em alimentos, é usada como auxiliar de formulação, lubrificante, agente de liberação, antiaglomerante e também na indústria farmacêutica como veículo para medicamentos (MILANOVIC et al., 2010).

3.3 Métodos de caracterização de óleos e de micropartículas

As análises bromatológicas desempenham um importante papel avaliador na qualidade e segurança dos alimentos. As análises clássicas, como índice de peróxidos, acidez e umidade, são comumente utilizadas no controle de qualidade de óleos vegetais (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Porém, não é possível eleger apenas um método que melhor caracterize e indique o estado de degradação oxidativa dos óleos vegetais. Por essa razão, o estudo da estabilidade oxidativa requer o uso de outros métodos e técnicas de análises (ORO et al., 2009).

O índice de acidez mensura o estado de conservação do óleo, visto que a decomposição do triacilglicerol é acelerada pelo aquecimento e pela luz e a rancidez é acompanhada pela formação do ácido graxo livre. A acidez livre de uma gordura não é uma constante ou característica, mas é uma variável relacionada com a natureza, qualidade da matéria-prima, grau de pureza da gordura, com o processamento e, principalmente, com as condições de conservação do óleo (GROSSI et al., 2014).

Já o índice de peróxido determina quantitativamente os peróxidos orgânicos formados no início da rancificação, pois a oxidação lipídica envolve a formação contínua de hidroperóxidos como produtos primários da oxidação que podem ser quebrados em uma variedade de produtos não voláteis e voláteis secundários (GUILLÉN; CABO, 2002). A umidade representa para óleos, gorduras e sementes oleaginosas um importante parâmetros de

controle, já que a estabilidade desses alimentos diminui com o aumento do teor de umidade (KAJISER; DUTTA; SAVAGE, 2000).

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação de substâncias voláteis ou volatilizáveis. Os tempos de retenção de cada componente dão origem a um cromatograma onde é possível identificar os compostos através da comparação com padrões pré-analisados. É normalmente aplicada para caracterizar a composição da amostra, quantificar analitos informativos, tais como compostos tóxicos, identificar substâncias regulamentadas, compostos aromáticos e detectar adulterações (CORDERO et al., 2015; VISENTAINER, 2012). É uma técnica amplamente usada no estudo de lipídios, com ela é possível determinar a composição dos AGs em um curto espaço de tempo. Para tal, os lipídios devem ser convertidos em um derivado mais volátil, geralmente ésteres metílicos, apesar de outros ésteres também serem usados para fins específicos. A preparação destes ésteres, favorece o processo de separação da amostra, pois diminui o ponto de ebulição e evita as reações entre os AGs, presente nos óleos, e a fase estacionária das colunas capilares utilizadas nos cromatógrafo (CHRISTIE, 1993). Como exemplo, um estudo realizado por Peng e colaboradores (2015) investigou a adulteração de óleo de gergelim adicionado de outros óleos vegetais de menor valor. Os autores associaram os cromatogramas obtidos com análise quimiométrica e conseguiram discriminar a diferença entre os óleos de gergelim autênticos e óleos de gergelim adulterados.

Outra aplicação da cromatografia gasosa foi realizada por Vavrouš e colaboradores., (2016), identificando simultaneamente 68 possíveis compostos contaminantes presentes nas embalagens primárias dos alimentos e concluíram que o método utilizado teve sucesso na identificação dos compostos em amostras reais. Além dessas aplicações, estudos com microencapsulação de óleos geralmente envolvem a análise cromatográfica para mensurar a eficiência de encapsulação, caracterizar o óleo e as micropartículas, sendo uma ferramenta muito valiosa nesse tipo de pesquisa (CHEN et al., 2013; KEENAN et al., 2015; MARTÍNEZ et al., 2015; PHUNPEE et al., 2016).

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma análise que permite a determinação das características microestruturais de materiais sólidos. As imagens obtidas fornecem informações sobre as características morfológicas das microesferas, tais como a presença de fissuras e poros, permitindo uma análise rápida e direta da eficiência do processo de encapsulação. A presença de fissuras e rachaduras na superfície das microesferas pode comprometer a proteção oferecida ao encapsulado. Pode-se também, verificar a partir do MEV, a homogeneidade do tamanho das microesferas formadas (ROSENBERG et al., 1995).

A análise espectroscópica no infravermelho tem como principal função a identificação de grupos funcionais em amostras orgânicas ou inorgânicas através dos valores peculiares de absorção de cada elemento (SKOOG et al., 2005). O espectrofotômetro com transformada de Fourier expõe a amostra a um único pulso de radiação que contém todos os comprimentos de onda de interesse. Como o sinal medido no interferômetro é de difícil interpretação, é necessário aplicar a transformação matemática de Fourier para converter sinais modulados de luz em dados espectrais. Esta transformação é realizada através de softwares específicos que apresentam ao usuário as informações desejadas para a análise do espectro (KIM; HIMMELSBACH; KAYS, 2007).

Na análise de Difração de Raios-X, a amostra é incidida por um feixe de Raios-X que é parcialmente absorvido, outra parte se espalha e o restante é transmitido sem qualquer modificação. O espalhamento dos raios-X ocorre como um resultado da interação do feixe com os elétrons da amostra. Os raios-X espalhados sofrem interferência e produzem um padrão de difração que varia com o ângulo de espalhamento. A variação da intensidade espalhada e difratada em função do ângulo de incidência dos Raios-X fornece informações sobre a distribuição de densidade eletrônica e, portanto, das posições atômicas dentro do material, caracterizando se o mesmo é amorfo ou cristalino (FARAGO et al., 2008).

3.4 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A Calorimetria Diferencial de Varredura é um método eficiente para determinar os parâmetros cinéticos durante a reação de oxidação de óleos e gorduras (MUSIALIK; LITWINIENKO, 2007). Os equipamentos mais comuns têm seu princípio de funcionamento baseado na medição do fluxo de calor gerado pela amostra. Durante o aquecimento ou resfriamento, o fluxo de calor é medido e comparado com uma referência (porta amostras vazio) e através dos picos apresentados no gráfico é possível estabelecer a entalpia, a temperatura máxima, temperatura de início e a temperatura final (*offset*) das reações e transições térmicas que ocorrem durante a análise (CUVELIER; LACOSTE; COURTOIS, 2012). Uma vez que a oxidação de lipídios é uma reação exotérmica, a liberação de calor pode ser medida pelo DSC.

Além desta metodologia, outros métodos estão disponíveis para a medição da oxidação lipídica. As alterações nas propriedades químicas e físicas dos óleos e gorduras durante a oxidação também pode ser monitorada, por exemplo, pelo método Rancimat, o índice de

peróxido, índice de anisidina, espectrofotometria e cromatografia (ARAIN et al., 2009; TAN et al., 2002). Embora tais métodos sejam amplamente utilizados, pontos fracos como a subjetividade, imprecisão, dificuldade no preparo da amostra ou da metodologia os tornam menos atrativos para esta análise. Através da Calorimetria Diferencial de Varredura é possível acompanhar a decomposição termo-oxidativa de óleos e gorduras de maneira precisa e rápida, com pouco ou nenhum preparo da amostra e ainda mensurar o nível da degradação através dos parâmetros cinéticos (KOWALSKI, 1991).

Outro método térmico utilizado nesse tipo de estudo é a análise termogravimétrica (TGA), é uma técnica que acompanha a variação de massa em função do tempo ou temperatura. Já a termogravimetria derivada (DTG) é a derivada primeira da TGA, é um arranjo matemático que aperfeiçoa a resolução da medida e facilita a comparação com outros dados. As análises térmicas combinadas, tais como DSC e TGA, são frequentemente utilizadas para descrever o comportamento de uma amostra em função da temperatura. Além disso, essas análises são capazes de revelar transições térmicas, processos de degradação, determinação de parâmetros cinéticos e são frequentemente utilizadas nos estudos de estabilidade térmica (EL-SAYED et al., 2011).

Litwinienko e Kasprzycka-Guttman (1998) estudaram a estabilidade térmica do óleo de mostarda, utilizando o DSC através de ensaios não isotérmicos para determinar os parâmetros cinéticos da reação de oxidação. Através de diferentes taxas de aquecimento os autores conseguiram determinar o valor da energia de ativação, o ponto inicial da oxidação além dos parâmetros de Arrhenius. Concluíram que os experimentos e os cálculos realizados são úteis para a determinação do efeito de aditivos e antioxidantes, sendo então uma ferramenta eficaz na avaliação destes protetores do óleo contra a oxidação.

Utilizando também ensaios não isotérmicos, Ulkowski e colaboradores em 2005 avaliaram o processo de oxidação do ácido linoleico e da lecitina de soja. Através do método OFW (Ozawa-Flynn-Wall) os autores monitoraram o processo de oxidação destes compostos e concluíram que a temperatura de indução da oxidação (marcadas pelo início da reação exotérmica) são os dados mais confiáveis para a rápida estimativa da estabilidade oxidativa de materiais lipídicos.

Ensaio isotérmico também vêm sendo utilizados com a mesma finalidade, Pardauil e colaboradores (2011) compararam o método Rancimat com o DSC isotérmico ao estudar a estabilidade oxidativa do óleo de maracujá, seringueira e de buriti. As curvas obtidas no DSC

indicaram boa correlação com os valores obtidos no índice de estabilidade oxidativa (Rancimat). O autor finaliza destacando o DSC pela praticidade e também por consumir menos tempo e amostra.

Em trabalho semelhante (MICIC et al., 2015), a cinética de oxidação do óleo de amora e framboesa pelo DSC foi estudada através de ensaios isotérmicos e não isotérmicos. Os autores determinaram as constantes de velocidade de reação e a energia de ativação do processo de oxidação do óleo para ambas as condições de análise (isotérmicas e não isotérmicas). O óleo de amora mostrou ter maior estabilidade oxidativa quando comparado ao de framboesa devido à menor quantidade de ácido linoleico (menor quantidade de ligações insaturadas).

Cuvelier e colaboradores em 2012 utilizaram uma metodologia para mensurar o total de compostos polares presentes em óleos vegetais termo-oxidados através da Calorimetria Diferencial de Varredura. O método foi comparado com os resultados obtidos por cromatografia como análise de referência, apresentando correlação entre os dados obtidos.

Dados os exemplos e por se tratar de um método simples, com baixo tempo de análise e que não requer o uso de produtos químicos no preparo das amostras, o DSC mostra ser mais vantajoso quando comparado com os demais métodos. Esse equipamento pode ser utilizado tanto para as análises de rotina na indústria quanto no estudo de óleos e gorduras.

Apesar de serem realizados pelo mesmo equipamento, os ensaios envolvidos na análise do DSC (isotérmico e não isotérmico) apresentam diferenças não só no modo de execução, mas também nos dados obtidos. Enquanto o isotérmico apresenta a informação do tempo de indução da oxidação, o ensaio não isotérmico fornece a temperatura de início da oxidação. Para transformar os dados obtidos em resultados concretos diferentes métodos também são utilizados, abaixo estão apresentados os métodos utilizados para ambos ensaios.

3.4.1 Ensaios não isotérmicos

O método OFW (FLYNN; WALL, 1966; OZAWA, 1970) é capaz de calcular a energia de ativação (E_a) e o fator pré exponencial de Arrhenius envolvidos na reação de oxidação lipídica através das seguintes equações:

$$\log\beta = aT^{-1} + b \quad (1)$$

$$Ea = -2,19R \frac{d\log\beta}{dT^{-1}} \quad (2)$$

$$A = \beta \exp\left(\frac{Ea}{RT}\right)/RT^2 \quad (3)$$

Nelas, T é a temperatura (K), R é a constante universal dos gases (8,3143 J.mol⁻¹K⁻¹), β é a taxa de aquecimento (°C.min⁻¹), A é o fator pré-exponencial (s⁻¹) e a Ea é a energia de ativação (kJ.mol⁻¹).

A temperatura de oxidação (Te) é determinada a partir do ponto de inflexão da curva do fluxo de calor *versus* temperatura obtida a uma taxa de aquecimento constante de uma amostra. Ao plotar o log β *versus* 1/Te é possível verificar a dependência linear presente na Equação 1 proposta pelo método OFW e, a partir da inclinação obtida nos gráficos ($a = d\log\beta/dT^{-1}$) e das equações 2 e 3, é possível determinar, respectivamente, a energia de ativação e o fator pré exponencial de Arrhenius.

3.4.2 Ensaios isotérmicos

De maneira semelhante ao ensaio não isotérmico, ensaios isotérmicos também são úteis para calcular os parâmetros cinéticos das reações de oxidação lipídica. A partir do ponto de inflexão da curva do fluxo de calor *versus* o tempo de análise obtido a uma temperatura constante, é possível calcular os parâmetros do óleo partindo da equação de Arrhenius seguindo as seguintes equações:

$$k = A e^{-\frac{Ea}{RT}} \quad (4)$$

$$\ln k = \ln A - \frac{Ea}{RT} \quad (5)$$

$$\ln \frac{1}{Ot} = \ln A - \frac{Ea}{RT} \quad (6)$$

Nas equações acima, O_t representa o tempo de indução da oxidação (minutos), T a temperatura (K), R a constante universal dos gases ($8,3143 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$), k é a constante de velocidade (s^{-1}), A o fator pré-exponencial (s^{-1}) e a E_a é a energia de ativação ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).

Grompone e colaboradores (2013), realizaram ambos ensaios (isotérmicos e não isotérmicos) através do DSC para estudar a estabilidade do óleo de chia comercialmente vendido no Uruguai e na Argentina. Os autores citam que as condições experimentais variam conforme o método e por isso diferentes metodologias são muitas vezes utilizadas simultaneamente para proporcionar uma avaliação global da estabilidade oxidativa de um óleo.

3.5 Análise espectroscópica na determinação da qualidade de óleos

A técnica de análise que utiliza a interação da radiação eletromagnética com a matéria e objetiva coletar informações físicas e químicas de um certo material analisado é denominada espectroscopia (SKOOG et al., 2005). A espectroscopia no UV-Vis permite determinar a absorção da luz no intervalo de comprimentos de onda entre 200 e 800 nm. As variações da absorção nessas regiões correspondem à diferença entre o estado eletrônico das moléculas que compõem a amostra. A absorção da luz depende do número e do arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes. Como consequência, o pico de absorção pode ser correlacionado com o tipo de ligação que existe na amostra estudada (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 2006).

As técnicas espectroscópicas quando combinadas são de grande utilidade na análise de produtos alimentares. Os alimentos são compostos por conjunto de substâncias complexas e dinâmicas, onde as reações químicas não são suficientemente conhecidas e compreendidas. Portanto, a comparação de várias técnicas instrumentais independentes e procedimentos diferentes é favorável e muitas vezes necessário (LANKMAYR et al., 2004). A análise de óleos comestíveis através dos métodos espectroscópicos já vem sendo usada em muitos trabalhos (CASAL et al., 2010; GARDETTE; BABA, 2013; GUILLÉN; CABO, 1999; INNAWONG et al., 2004), porém o grande número de informações geradas por esse tipo de análise pode ser um problema durante a interpretação dos dados. Tal tarefa leva à necessidade de uma abordagem de análise de dados organizada que evidencie as relações entre as amostras e suas variáveis. Neste caso a utilização de métodos matemáticos avançados, como a quimiometria, favorece a interpretação dos dados revelando características importantes das amostras. Também é possível

detectar os componentes essenciais para a caracterização do alimento sendo uma ferramenta essencial na interpretação dos espectros (LANKMAYR et al., 2004).

O teste de estabilidade acelerada em estufa (*Schaal oven test*), utiliza temperaturas entre 60-80°C que estimulam o mecanismo de reação oxidativa de forma similar àquele que ocorre em condições de temperatura ambiente e tem sido um dos métodos mais utilizados para determinar a estabilidade oxidativa dos óleos. Desta forma, os resultados observados após esse teste tendem a apresentar uma boa correlação com a vida de prateleira dos óleos vegetais (FRANKEL, 1993).

Além dos produtos de degradação, o monitoramento do estado de conservação dos óleos também pode ser mensurado através da concentração relativa de tocoferol. Os tocoferóis ocorrem naturalmente em alimentos de origem vegetal, como nas frutas, vegetais verde escuros, nas sementes oleaginosas e nos óleos vegetais (SETIADI et al., 2003). A atividade antioxidante dos tocoferóis se deve principalmente à sua capacidade de doar hidrogênio aos radicais livres lipídicos, inibindo a oxidação. Esses compostos desempenham um papel importante, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários, formados pela ação desses antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentado por tais substâncias (HUNG et al., 2009).

Portanto, considerando a formação dos produtos primários e secundários de degradação e a concentração relativa de tocoferol dos óleos vegetais durante o teste de estabilidade acelerada, o monitoramento do estado de degradação do óleo e das micropartículas pode ser mensurado a partir das alterações observadas nos espectros do UV-Vis.

4. Material e Metodologia

4.1 Material

O óleo de chia prensado a frio foi adquirido da empresa Veris do Brasil, armazenado protegido da luz e armazenado a -18°C para preservação das características do produto. Água destilada foi utilizada como meio contínuo na obtenção das micropartículas. Cera de carnaúba (Sigma Aldrich, grau técnico) foi usada como material de parede para a encapsulação e o caseinato de sódio (Sigma Aldrich, grau técnico) como estabilizante. Para as análises de caracterização foram preparadas soluções de éter-álcool (2:1 v/v) neutra; solução de fenolftaleína (1%); solução de hidróxido de sódio $0,01\text{ mol.L}^{-1}$; tricostanoato de metila (23:0 Me, padrão cromatográfico); isoctano (Dinâmica, grau cromatográfico); reagente esterificante (2,0 g de cloreto de amônio, 60,0 mL de metanol e 3,0 mL de ácido sulfúrico concentrado); solução metanólica de hidróxido de sódio $0,5\text{ mol.L}^{-1}$ e solução saturada de cloreto de sódio.

4.2 Metodologia

4.2.1 Obtenção das micropartículas

As micropartículas contendo o óleo de chia foram obtidas pelo método de homogeneização à quente proposto por Gonzalez-Mira et al (2010), com modificações. A fase aquosa foi preparada dissolvendo caseinato de sódio (0,0550 g) em água (50 g) e aquecendo até 95°C sob agitação branda. Separadamente, um frasco de borossilicato encamisado foi conectado a um banho termostático a 95°C e, em seguida, cera de carnaúba (3,350 g) foi adicionada para ser fundida. Posteriormente, óleo de chia (1,650 g) foi adicionado ao frasco sob agitação branda mantida durante 1 minuto. Na sequência, foi adicionada a fase aquosa sob agitação (16,000 rpm, 5 minutos) utilizando um dispersor de alta eficiência (Ultraturrax IKA, T25). Ao término desta etapa, a dispersão obtida foi levada a um banho de gelo para resfriamento rápido e solidificação das micropartículas. Por fim, as micropartículas dispersas foram liofilizadas e armazenadas a 4°C ao abrigo da luz até sua utilização. O mesmo procedimento também foi realizado na obtenção de micropartículas sem a adição de óleo de chia para compor o grupo controle (micropartículas branco).

4.2.2 Análises de caracterização do óleo e das micropartículas

Análises físico-químicas:

Os parâmetros físico químicos de acidez, índice de peróxido e umidade para o óleo de chia antes da encapsulação (*in natura*), foram realizadas em triplicata, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

Transesterificação dos ácidos graxos e cromatografia gasosa:

A preparação de ésteres metílicos de AGs das amostras de óleo de chia e *in natura* e das micropartículas foi realizada de acordo o método descrito por Hartman & Lago (1973). O procedimento foi realizado em triplicata, utilizando o tricosenoato de metila (23:0Me) como padrão interno.

Em um tubo com tampa rosqueável foram adicionados 300 μL de solução de padrão interno em isoctano (grau cromatográfico) a $1,00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Após evaporação do solvente sob fluxo de nitrogênio, aproximadamente 20 mg de amostra foram pesados no mesmo tubo. Em seguida foram adicionados 4 mL de solução metanólica de NaOH $0,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e agitou-se vigorosamente por 30 segundos. Logo após, o tubo foi aquecido em banho a 100°C durante 5 minutos e resfriado em água corrente até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados 5 mL de reagente esterificante e foi promovida agitação vigorosa por 30 segundos. Procedeu-se aquecimento por 5 minutos e em seguida o resfriamento em água corrente. Foi adicionado 1 mL de solução saturada de NaCl e 2 mL de isoctano, promovendo agitação por 30 segundos entre as adições. A amostra esterificada foi deixada em repouso na geladeira para uma melhor separação das fases. O sobrenadante contendo os ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAGs) foi recolhido, acondicionado em um vial e mantido a -20°C até o momento das análises no cromatógrafo a gás.

Os EMAGs foram separados utilizando um cromatógrafo a gás (Shimadu, GC-2010 Plus AF) equipado com injetor *Split/Splitless*, utilizando o método de injeção Split 40 partes, detector de ionização por chama (FID), controlador de fluxo e pressão automáticos e coluna capilar com fase 70% cianopropil polisilfenileno, modelo BPX70 (60 m x 0,25 mm x 0,25 μm). A identificação dos AGs foi realizada por comparação do tempo de retenção e adição de padrões (Sigma-Aldrich, F.A.M.E. Mix C14-C22). O fluxo de gases (White Martins) foi de $1,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para o gás de arraste foram $40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e $400 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, respectivamente. A temperatura da coluna foi de 180°C por 15 minutos, sendo elevada até 225°C a uma taxa de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos. A temperatura do ionizador e detector foi de

240 °C. As injeções foram realizadas em triplicata, e o volume de injeção foi de 1 µL. As áreas dos picos foram integradas utilizando software GC solution versão 2.41 (Shimatzu).

Os AGs foram quantificados em relação ao padrão interno, tricosanoato de metila e os cálculos realizados segundo método de Joseph e Ackman (1992), citado em Visentainer e Franco, (2006). As concentrações dos AGs foram expressas em mg.g⁻¹ de óleo.

Eficiência de encapsulação e distribuição dos tamanhos das micropartículas:

A eficiência da encapsulação foi mensurada através da concentração real dos AGs nas micropartículas. Para isso, as micropartículas (entre 20 e 30 mg) foram liofilizadas e esterificadas para serem analisadas pelo cromatógrafo a gás. Separadamente, uma alíquota da dispersão das micropartículas foi lavada com etanol absoluto em filtros quantitativos (3 µm de porosidade) para remoção do óleo superficial não encapsulado. Então, as micropartículas lavadas também foram esterificadas e analisadas por Cromatografia Gasosa. Através da relação entre a concentração do ácido graxo total presente nas micropartículas ($[AG]_{total}$) e a concentração do ácido graxo nas micropartículas lavadas ($[AG]_{encapsulado}$), foi possível determinar a eficiência da encapsulação ($EE\%$) conforme a Equação 7.

$$EE(\%) = 100 \frac{[AG]_{encapsulado}}{[AG]_{total}} \quad (7)$$

O tamanho e morfologia das micropartículas foram analisadas em um microscópio eletrônico (Carl Zeiss - EVO MA15) operando a 15 kV com detector de elétrons secundários. O software Sizer foi utilizado para determinar os diâmetros médios das micropartículas através das imagens obtidas.

Determinação do ponto de fusão, difração de raios X e FTIR:

Para a determinação da temperatura de fusão das micropartículas, o ensaio no calorímetro diferencial de varredura (DSC, Perkin Elmer 4000) foi realizado na taxa de aquecimento de 20 °C.min⁻¹ em uma faixa de temperatura de 0°C a 440°C sob atmosfera de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹ com o porta-amostras de alumínio fechado.

Os ensaios de Difração de Raios-X (DRX) foram realizados em um difratômetro (Bruker, D8 Advance), operando com radiação de Cu-K α , gerada a 40 KV e 35 mA, variando de 3° a 60° (2 θ) a uma taxa de 5.9°.min⁻¹.

Os espectros no infravermelho médio do óleo de chia e das micropartículas foram obtidos em um espectrofotômetro equipado com o acessório de refletância total atenuada (ATR) (FTIR-ATR, Perkin Elmer Frontier Spectrum 100). As amostras do óleo *in natura* foram lidas diretamente sobre o suporte de leitura do ATR, já as micropartículas foram dissolvidas em ciclohexano e levadas a um banho (60°C) momentos antes da leitura. A dissolução teve por objetivo quebrar as micropartículas a fim de expor o óleo presente no interior. As micropartículas branco passaram pelo mesmo teste como grupo controle.

4.2.3 Análise de estabilidade por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises térmicas foram realizadas em um calorímetro diferencial de varredura (DSC 4000, Perkin Elmer) acoplado à um banho de arrefecimento (9100, Polyscience). A coleta e tratamento de dados foram realizadas pelos *softwares* Pyris – Instrument Managing e OriginPro8 (OriginLab). As amostras (5-10 mg) foram pesadas em balança de precisão analítica e submetidas a ensaios isotérmico e não isotérmico. As taxas de aquecimento do ensaio não isotérmico foram de 1, 5, 10 e 20 °C.min⁻¹ em uma faixa de temperatura de 0°C a 440°C. O teste isotérmico foi realizado em quatro temperaturas (110, 120, 130 e 140°C) durante 220 minutos. Em ambos testes, o porta-amostra e a referência utilizados foram de alumínio e o material não foi tampado. Ar sintético foi utilizado durante as análises a taxa de 100 mL.min⁻¹ tanto para o encapsulado quanto para o óleo *in natura*.

As análises termogravimétricas foram realizadas em uma termobalança (TGA-50, Shimadzu). As amostras do óleo de chia, das micropartículas contendo o óleo e das micropartículas vazias (branco) com (4 ± 0,5) mg foram acondicionadas em porta amostra de alumínio e submetidas a uma atmosfera de ar sintético (150 mL.min⁻¹) em uma faixa de temperatura que variou de 30 a 650°C à razão de aquecimento de 10°C min⁻¹.

4.2.4 Teste de estabilidade acelerada

Amostras das micropartículas e do óleo de chia *in natura* foram acondicionadas em um recipiente de vidro, aberto e levadas à estufa para avaliação da estabilidade acelerada de Schaal (*Schaal oven test*).

Em um primeiro conjunto de experimentos, as amostras foram avaliadas a 60 °C e alíquotas foram retiradas nos tempos 0, 1, 5, 10, 24, 29, 34, 48, 53 e 58 horas, as amostras foram protegidas da luz e mantidas a -20°C até o momento das análises em UV-Vis (Ocean Optics, Red Tide USB 650 UV, cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico). Para a obtenção dos espectros foram preparadas, em tubos de tampa rosqueável, soluções de 1 mg.mL⁻¹ de óleo de chia e de 0,3 mg.mL⁻¹ de micropartículas ambas em ciclohexano, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Os espectros foram avaliados por análise multivariada (*Multivariate Curve Resolution Alternating Least-Squares*, MCR-ALS) conforme descrito por Gonçalves et al (2014), através do software Matlab R2007b. Os espectros foram atribuídos aos seus respectivos compostos de acordo com Valderrama et al. (2011).

Em um segundo conjunto de experimentos, amostras foram armazenadas em estufa a 80 °C e retiradas de 6 em 6 horas durante um total de 66 horas de análise. As amostras foram protegidas da luz e mantidas a -20°C até o momento das análises de coeficiente de extinção específico por UV-Vis. Foram utilizadas alíquotas do óleo de chia e das micropartículas (0,25 ± 0,5) g diluídos em ciclohexano. O preparo das amostras e os cálculos do coeficiente foram realizados conforme metodologia descrita pela AOCS (2009). As micropartículas solubilizadas foram aquecidas em um banho termostático (60°C) por 1 minuto momentos antes da leitura, com o objetivo de romper a parede das micropartículas a fim de expor o óleo presente no interior.

5.Resultados e discussão

5.1 Encapsulação e caracterização do óleo de chia e das micropartículas

5.1.1 Análises físico-químicas

A Tabela 1 apresenta os parâmetros físico-químicos determinados para o óleo de chia usado na microencapsulação.

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos do óleo de chia.

Análise	Valor encontrado	Valores máximos estabelecidos (<i>codex alimentarius</i>)
Acidez (g _{ac.oleico} .100g _{óleo} ⁻¹)	0,050 ± 0,002	0,4
Índice de peróxido (meq.kg _{óleo} ⁻¹)	0,784± 0,195	15
Umidade (%)	0,381± 0,125	*

*Valor não estabelecido.

As análises físico-químicas são importantes para mensurar o estado de conservação do óleo, determinando sua qualidade sendo possível detectar possíveis alterações (GROSSI et al., 2014; KAIJSER; DUTTA; SAVAGE, 2000; RITA; GARBI, 2008). Ixtaina et al. (2011), ao estudarem as características físico-químicas do óleo de chia, encontram uma variação no índice de acidez de 0,07 até 0,20 g_{ac.oleico}.100g_{óleo}⁻¹. Em trabalho semelhante, Segura-Campos et al. (2014), ao determinarem a acidez (0,02 g_{ac.oleico}.100g_{óleo}⁻¹) e o índice de peróxido (17,5 meq.kg_{óleo}⁻¹) do óleo de chia, também encontram pequenas variações quando comparam seus resultados a de outros estudos e sugeriram que essa diferença pode ser influenciada pelo local de cultivo da chia e o modo de extração do óleo. Porém, tanto os autores citados quanto no presente trabalho os valores encontrados estão dentro dos padrões estabelecidos pelo Codex Alimentarius (Codex Alimentarius Commission, 1999).

5.1.2 Cromatografia gasosa e eficiência de encapsulação

Na Figura 1 são apresentados os cromatogramas obtidos com os devidos tempos de retenção e na Tabela 2, estão presentes tanto a composição do óleo de chia quanto das micropartículas contendo o óleo de chia.

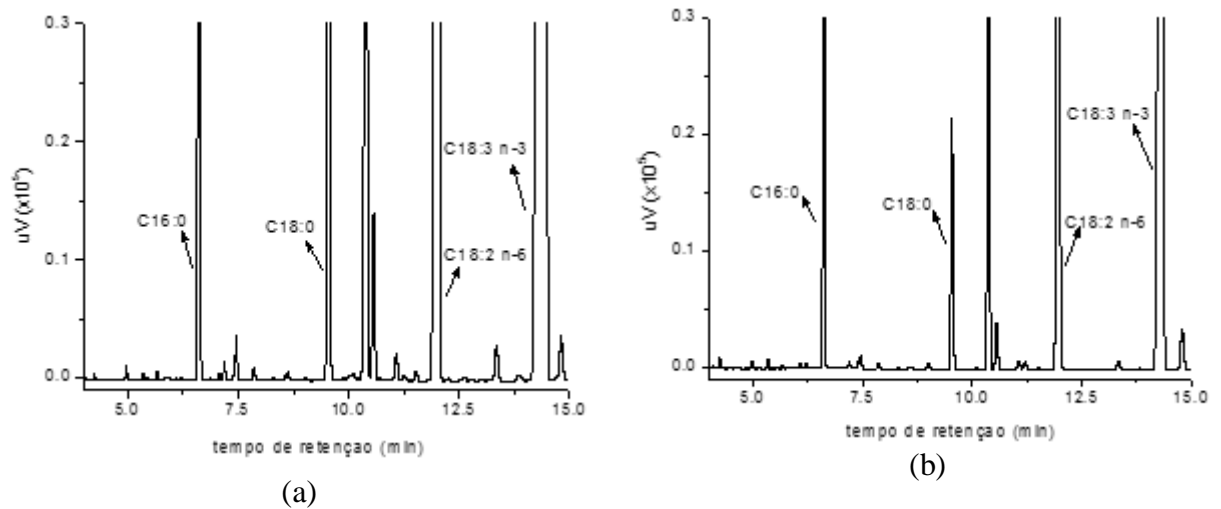


Figura 1. Cromatogramas (a) do óleo de chia *in natura* (antes da encapsulação) e (b) das micropartículas contendo o óleo de chia.

Tabela 2. Quantificação dos ácidos graxos majoritários presentes no óleo e nas micropartículas contendo o óleo de chia.

Ácido graxo	Concentração ($\text{mg}_{\text{AG}} \cdot \text{g}_{\text{óleo}}^{-1}$)	
	Óleo de chia <i>in natura</i>	Óleo de chia nas micropartículas
C16:0	72,78 ± 1,58	72,54 ± 2,12
C18:0	30,06 ± 0,52	33,91 ± 0,61
C18:1 n-9	59,10 ± 1,34	57,14 ± 2,18
C18:2 n-6c	200,80 ± 5,35	179,01 ± 6,64
C18:3 n-3	643,64 ± 18,93	545,27 ± 20,62
Total*	1006,69 ± 27,64	955,08 ± 33,63
SFA (%)	11,8	18,1
MUFA (%)	5,9	5,9
PUFA (%)	83,8	75,8
PUFA: SFA	7,1	4,1
n6:n3	0,3	0,3

*Soma de todos os ácidos graxos identificados nas amostras (alguns não apresentados na tabela).

Os cromatogramas exibem os picos correspondentes aos ácidos linoléico (ômega-6) e alfa-linolênico (ômega-3) nos tempos de retenção de aproximadamente 12 minutos e 14 minutos, respectivamente. O processo de transesterificação pôde ser considerado eficiente já que o valor total de AGs encontrado tanto para o óleo quanto para as micropartículas se situou em torno de $1000 \text{ mg}_{\text{AG}} \cdot \text{g}_{\text{óleo}}^{-1}$. A concentração de ômega 3 encontrada foi de 63,8% em relação ao total de AGs, resultado condizente aos dados disponíveis na literatura (GONZÁLEZ et al., 2016; JULIO et al., 2015).

A eficiência da encapsulação mensurada através da concentração dos AGs ômega 3 e 6 foi de $(96,4 \pm 0,9)$ e $(96,6 \% \pm 1,0) \%$, respectivamente. Em trabalho semelhante, Ixtaina et al. (2015), também com a encapsulação do óleo de chia, encontraram eficiências de encapsulação acima de 90% ao pesquisar dois tipos de materiais encapsulantes. Ambos resultados foram considerados eficientes e demonstram a afinidade existente entre o óleo e a matriz encapsulante.

5.1.3 Caracterização das micropartículas

A Figura 2 contém a imagem obtida através de Microscopia Eletrônica de Varredura das micropartículas contendo o óleo de chia e a Figura 3 apresenta o termograma obtido sob fluxo de nitrogênio tanto das micropartículas contendo o óleo de chia quanto das micropartículas sem óleo (branco).

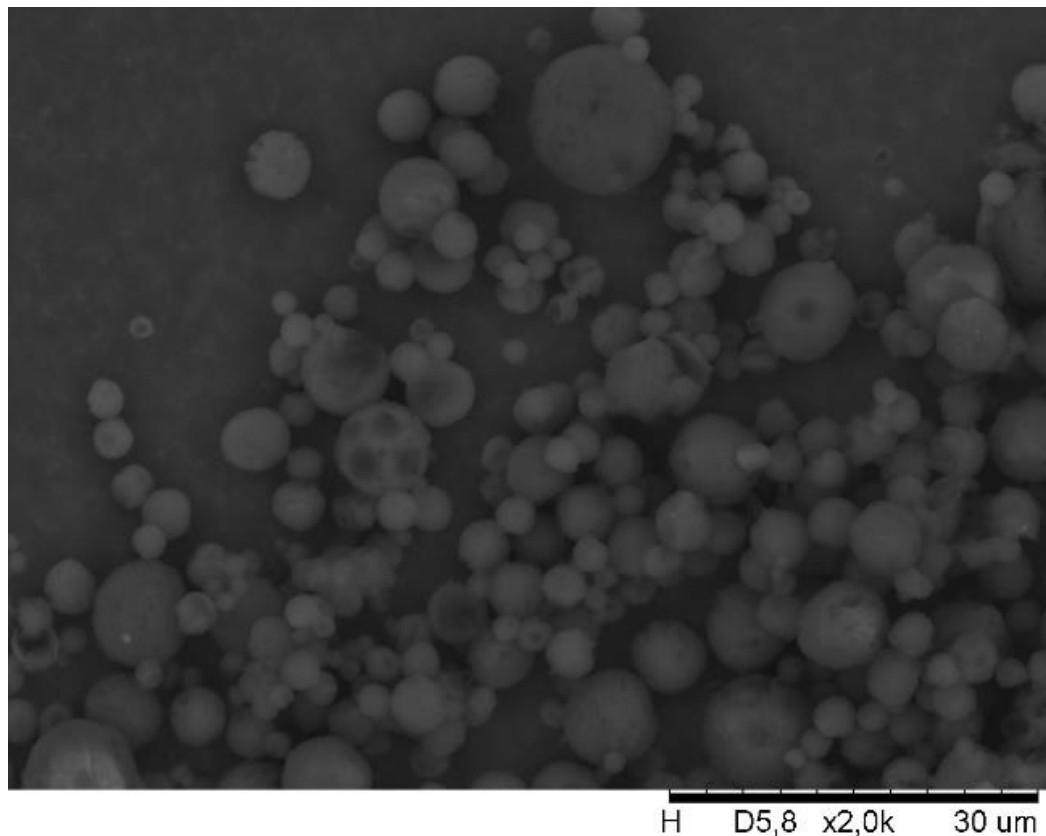


Figura 2. Imagem das micropartículas de carnaúba contendo o óleo de chia obtidas por microscopia eletrônica.

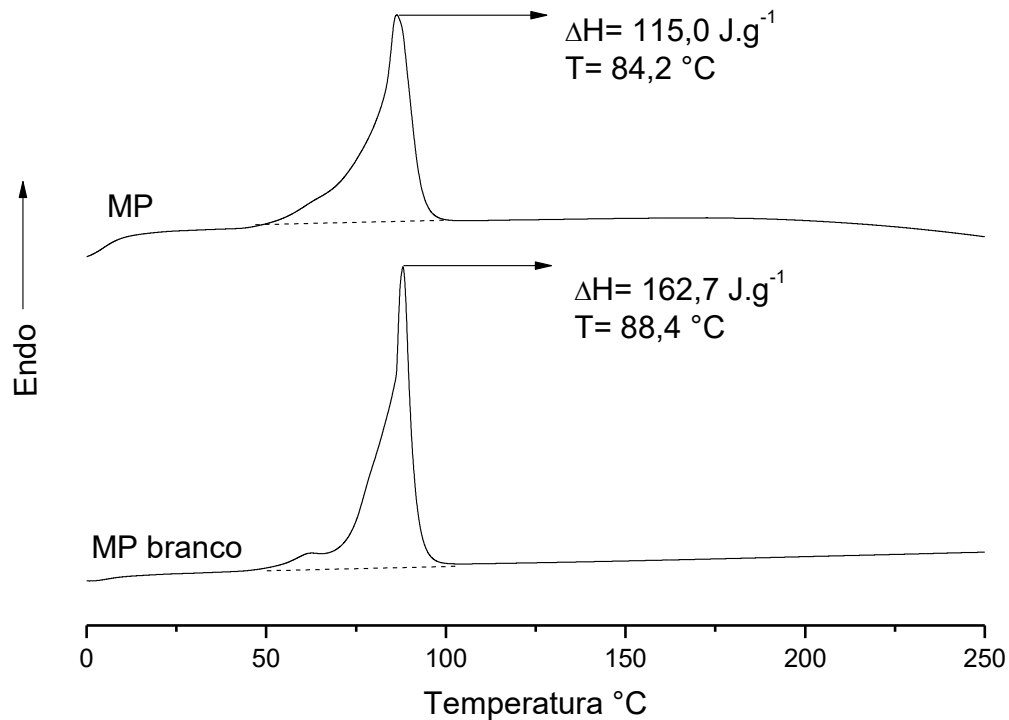


Figura 3. Termogramas obtidos pelo DSC em atmosfera de nitrogênio gasoso (MP: micropartículas contendo o óleo de chia; MP branco: micropartículas sem o óleo de chia).

As micropartículas apresentaram morfologia esférica, superfície contínua, sem fraturas aparentes e distribuição de tamanhos monomodal variando de 1,5 a 15 μm com valor médio de $(3,71 \pm 1,85) \mu\text{m}$. O tamanho e a morfologia das micropartículas são importantes parâmetros para determinar a estabilidade da dispersão, estabilidade, molhabilidade e dispersibilidade das micropartículas (TIMILSENA et al., 2016). Anwar e Kunz (2011), ao avaliarem a influência dos métodos de secagem na confecção de micropartículas, confirmaram essa importância na proteção contra a oxidação. Os autores relatam que uma estrutura porosa e irregular é indesejável pois contribui para a difusividade do oxigênio. Da mesma maneira, pode ocorrer a migração do óleo contido no núcleo para a superfície, acelerando o processo de oxidação devido a exposição ao oxigênio.

Vale ressaltar que, sob a atmosfera de nitrogênio, os eventos registrados no DSC não envolvem a oxidação dos lipídios, sendo úteis para o monitoramento do seu estado físico. As temperaturas de mudança de fase e as energias envolvidas nessa transição originam informações

sobre as propriedades físicas dos compostos puros e de sua interação com os materiais o revestimento (ÖZDEMIR; GÖKMEN, 2015).

Foi observada uma diminuição na temperatura de fusão (de 88,4 para 84,2°C) e na entalpia de fusão (de 162,7 para 115,0 J.g⁻¹) pela presença do óleo, o que pode ser relacionado à diminuição da cristalinidade do encapsulante, fato este que indica uma efetiva interação do óleo com o material de parede e uma encapsulação bem-sucedida. Ribeiro e colaboradores (2012), observaram situação semelhante ao produzirem micropartículas lipídicas utilizando diferentes proporções do ácido oleico e do ácido esteárico. Por possuir temperatura de fusão próximo aos 6°C, o ácido oleico diminuiu a temperatura e a entalpia de fusão quando adicionado ao ácido esteárico no processo de encapsulação.

A Figura 4 (a) apresenta os espectros no infravermelho e a Figura 4 (b) os difratogramas de Raios-X para as micropartículas contendo o óleo de chia e para as micropartículas branco.

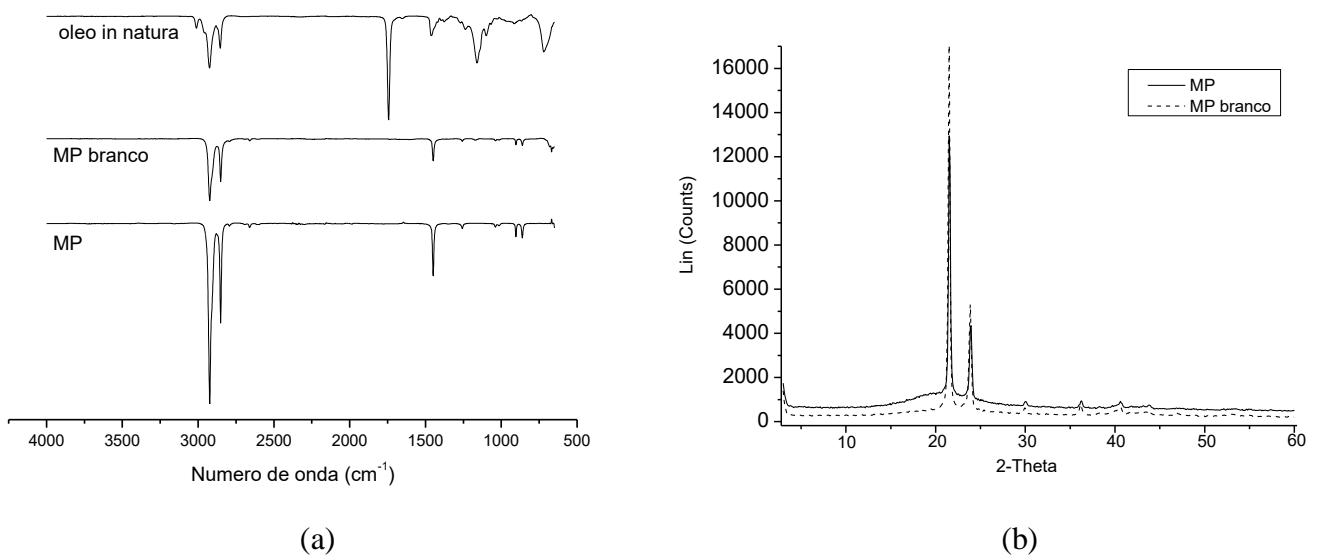


Figura 4. (a) Espectros de infravermelho (FTIR-ATR) e (b) difratogramas de Raios-X das micropartículas contendo o óleo de chia (MP) e as micropartículas branco (MP branco).

A análise de óleos por FTIR apresentou como principais bandas formadas as correspondentes aos grupos $-\text{CH}$, $-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}_3$, que se originam das cadeias de AGs, do grupo glicerol da molécula de triacilglicerol e das moléculas de fosfolipídios ou de outros componentes presentes na amostra (MOROS et al., 2009). Na Figura 4 (a) é possível observar bandas intensas em 4 regiões (2800 a 3000 cm⁻¹, 1457 cm⁻¹, 1160 e 720 cm⁻¹). A primeira região (2800 a 3000 cm⁻¹) apresenta poucas bandas de absorção que correspondem às ligações do tipo

C-H, podendo ser observado diferentes bandas correspondentes ao alongamento assimétrico (CH_2 a 2926 cm^{-1}) e ao alongamento simétrico (CH_2 a 2853 cm^{-1}). A região abaixo dos 1600 cm^{-1} é correspondente a *fingerprint region* apresentando um perfil mais complexo de absorção de várias bandas em 1450 , 1256 , 1040 , 902 e 860 cm^{-1} que equivalem à absorção dos grupos funcionais $-\text{C}-\text{H}_2$, $-\text{C}-\text{H}_3$, $-\text{C}-\text{O}$ (éster), $-\text{HC}=\text{CH}$ (cis) e $=\text{CH}_2$ (ZHANG et al., 2012). As micropartículas contendo o óleo apresentaram bandas de maior intensidade quando comparada com as micropartículas branco. Hosseini e colaboradores (2013), ao encapsular o óleo essencial de orégano e caracterizar as micropartículas também através do FTIR observou situação semelhante. A maior intensidade de absorção nas bandas características do óleo foi atribuída à interação com o material de parede e a eficiente encapsulação do óleo.

Na Figura 4 (b), os picos intensos entre 20° e 25° indicam a natureza cristalina das micropartículas. Esse mesmo estado morfológico foi observado por Freitas e colaboradores (2016) e também por Villalobos-hernández e Müller-Goymann (2006), quando analisaram a cera de carnaúba, a qual foi utilizada como material de parede constituinte das micropartículas confeccionadas. É possível observar uma redução no grau de cristalinidade ao comparar as micropartículas com as micropartículas branco, denotada pelo alargamento do difratogramas das micropartículas na região de 15 a 20° , corroborando as demais técnicas em relação à eficiente encapsulação do óleo.

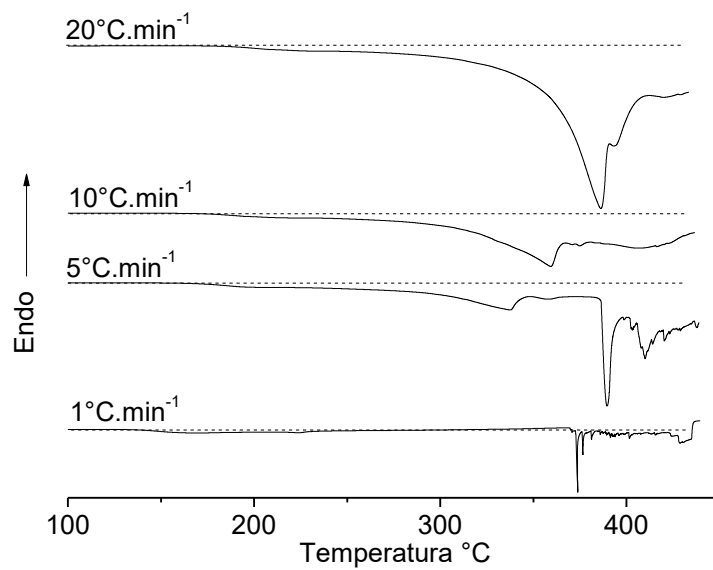
5.2 Estabilidade oxidativa através de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

5.2.1 Ensaios não isotérmicos

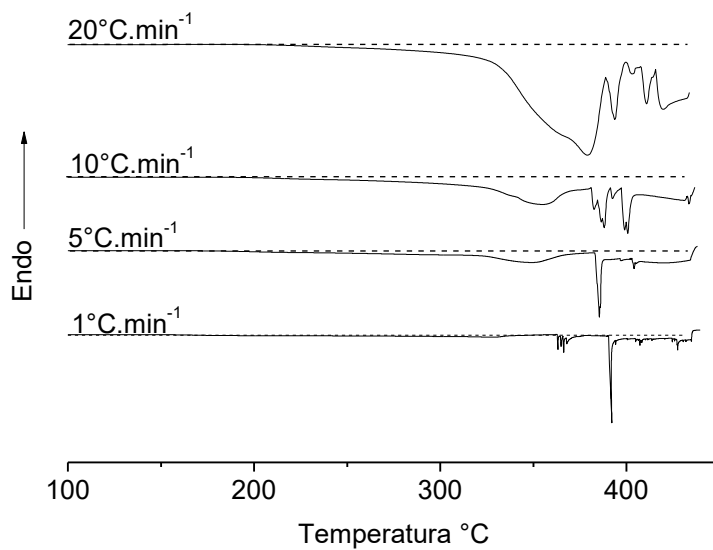
A Tabela 3 contém as temperaturas de início de oxidação (T_e) do óleo de chia *in natura* e das micropartículas contendo o óleo de chia além das energias de ativação envolvidas. A Figura 5 apresenta os termogramas obtidos através do DSC em diferentes taxas de aquecimento (β) para (a) o óleo de chia e (b) para as micropartículas. Na Figura 5 estão apresentados os gráficos utilizados para obtenção dos parâmetros cinéticos envolvidos.

Tabela 3. Temperatura de início da oxidação para o óleo de chia e para as micropartículas contendo o óleo de chia.

β ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$)	Te para o óleo de chia ($^{\circ}\text{C}$)	Te para o óleo de chia microencapsulado ($^{\circ}\text{C}$)
1	132,33	156,96
5	154,07	179,41
10	169,79	191,27
20	181,51	207,93
Ea ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)	87,37	97,26
R²	0,993	0,991



(a)



(b)

Figura 5. Ensaio não isotérmico obtido por DSC para (a) o óleo de chia *in natura* e (b) as micropartículas contendo o óleo de chia.

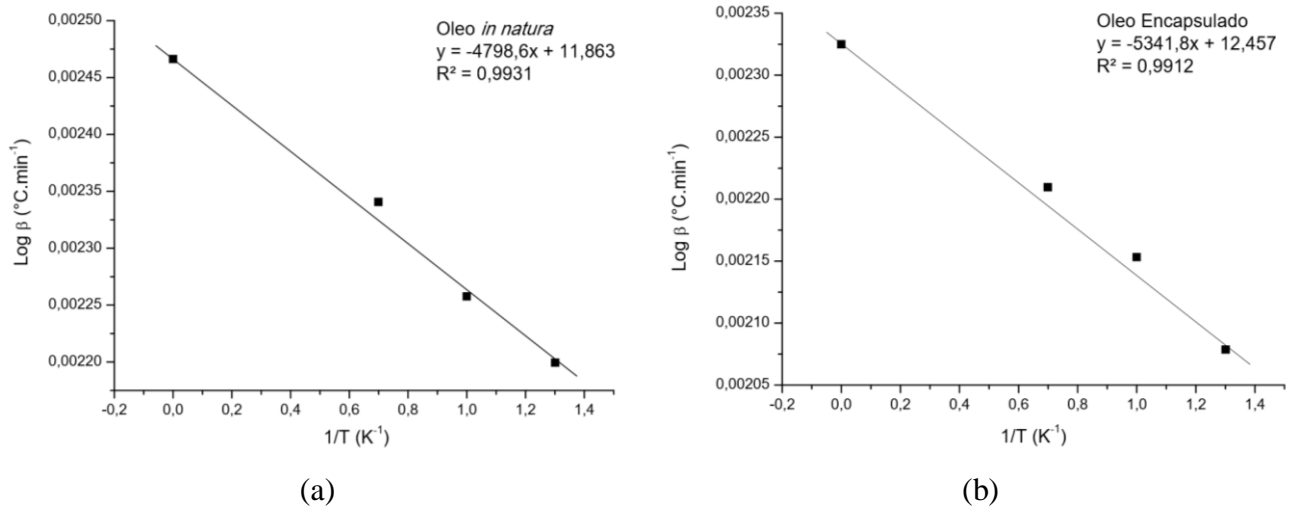


Figura 6. Gráficos utilizados para obtenção dos parâmetros de Arrhenius (DSC não isotérmico).

A oxidação de lipídios é uma reação em cadeia que é iniciada pela formação de radicais livres. O acúmulo desses compostos leva à progressão da reação e então uma menor energia de ativação é exigida para a manutenção após este início. Por estes motivos, os cálculos dos parâmetros cinéticos utilizam a temperatura e o tempo de indução da oxidação presentes na curva do DSC e são determinantes para avaliação da estabilidade oxidativa de óleos (MICIC et al., 2015).

Os valores para a E_a do óleo de chia *in natura* e do encapsulado foram de 87,37 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ e 97,26 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, respectivamente. Grompone et al (2013), ao trabalharem também com o óleo de chia encontraram valor semelhante (97 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$). Outros óleos ricos em compostos insaturados também apresentaram E_a próximos como o de amora (101 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), framboesa (102 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, MICIC et al., 2015), toogga (123 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, GARDETTE; BABA, 2013), mostarda (90,6 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ LITWINIENKO; KASPRZYCKA-GUTTMAN, 1998), canola, milho e soja (88,4 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 77,7 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ e 79,6 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, respectivamente, ADHVARYU et al., 2000).

Ao comparar os dados do óleo *in natura* com o óleo encapsulado é possível observar um acréscimo tanto nas temperaturas de indução (aumento de até 26°C) quanto nas energias de ativação (aumento de 9,89 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, ou 11,3% de aumento). Isso denota uma maior resistência do óleo em oxidar, sugerindo uma eficiente proteção conferida pelo material encapsulante (cera de carnaúba) ao óleo. Pode ser observada uma variação na temperatura de início da oxidação tanto para o óleo quanto para as micropartículas conforme varia-se a taxa de aquecimento, fato também observado por Grompone et al (2013). Estes autores realizaram testes não isotérmicos e encontraram diferentes temperaturas de indução para o óleo de chia daqueles descritos na

Tabela 3. Tal variação pode ser associada às diferentes condições de análise, naquele trabalho o gás de arraste utilizado foi o oxigênio puro, já no presente trabalho foi utilizado ar sintético. Litwinienko e Kasprzycka-Guttman (1998) também citam em seu trabalho a influência exercida pelo tipo de atmosfera aplicada durante a análise no mecanismo de oxidação que modifica a forma do sinal apresentado pelo DSC causando estas variações. A variação na energia de ativação entre um mesmo tipo de óleo também pode estar relacionada à região de cultivo da planta e ao método de extração do óleo. Tanto o método de extração quanto as características intrínsecas da planta alteram as proporções dos ácidos graxos constituintes do óleo, levando a variações na estabilidade oxidativa. Já a taxa de aquecimento colabora com esta variação devido aos diferentes mecanismos de deterioração existentes (GROMPONE et al., 2013; IXTAINA et al., 2012).

5.2.2 Ensaios isotérmicos

A Tabela 4 apresenta os tempos de indução da oxidação (O_t) do óleo de chia, e das micropartículas em diferentes temperaturas (110, 120, 130 e 140°C), além da energia de ativação (E_a) e do coeficiente de determinação obtidos com o auxílio dos gráficos da Figura 7.

Tabela 4. Tempos de indução oxidativa para o óleo de chia e para as micropartículas

Temperatura (°C)	O_t para o óleo de chia (min)	O_t para o óleo de chia microencapsulado (min)
110	186,92	*
120	88,96	166,67
130	56,64	84,92
140	33,9	42,8
E_a (kJ.mol ⁻¹)	73,47	91,77
R^2	0,991	0,999

*Não apresentou degradação durante o tempo de análise de 220 minutos.

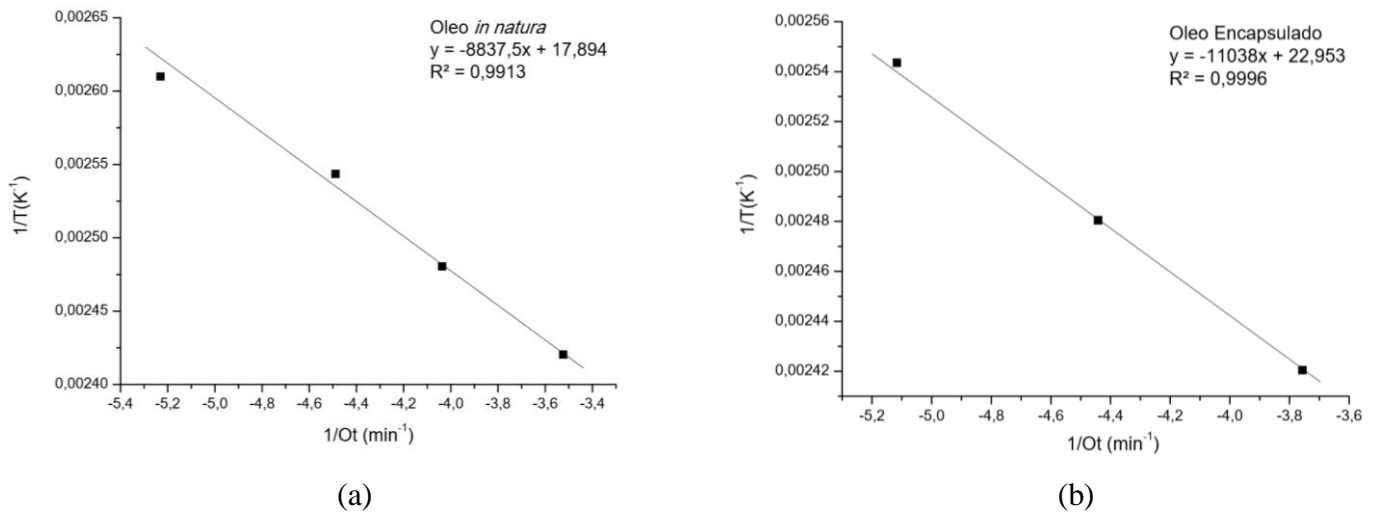


Figura 7. Gráficos utilizados na obtenção dos parâmetros cinéticos de Arrhenius (isotérmico) para o (a) óleo in natura e (b) óleo encapsulado.

De forma similar ao ensaio não isotérmico, o ensaio isotérmico também utiliza o ponto de inflexão da curva obtida no DSC para mensurar a estabilidade oxidativa em lipídios. Porém neste tipo de análise, o gráfico obtido apresenta a variação do fluxo de calor em função do tempo de aquecimento, onde o tempo de indução da oxidação é o parâmetro utilizado para o cálculo da energia de ativação.

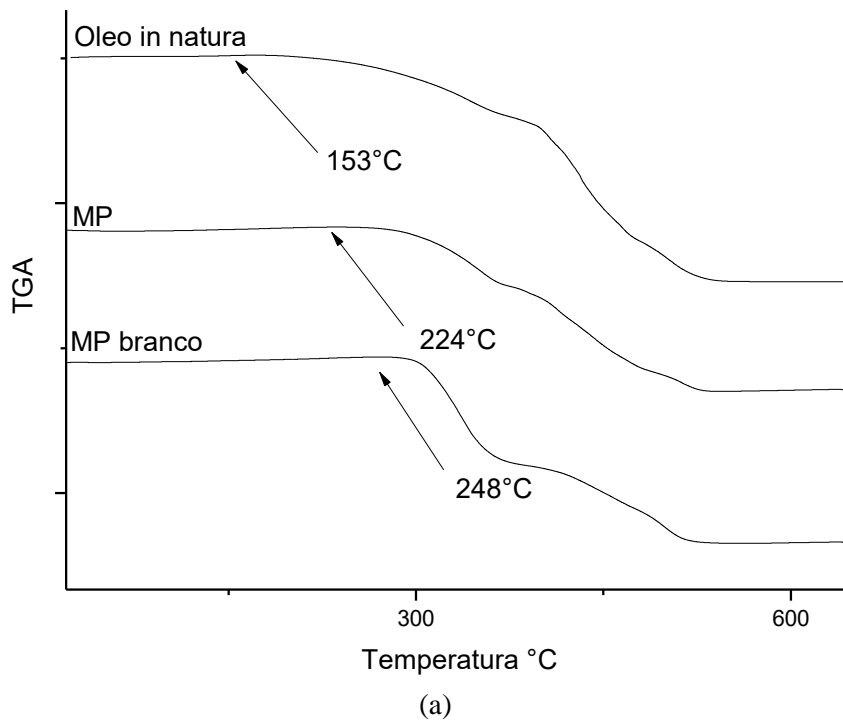
A partir dos tempos de indução oxidativa obtidos foram encontradas energias de ativação de 73,47 e 91,77 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para o óleo de chia e para as micropartículas, respectivamente, demonstrando maior estabilidade do óleo encapsulado. Porém diferenças nos parâmetros cinéticos podem ser encontradas quando ao comparar o ensaio isotérmico com o não isotérmico devido aos mecanismos envolvidos na oxidação, que se alteram juntamente com as mudanças na temperatura e tempo durante a análise (ADHVARYU et al., 2000; LITWINIENKO; KASPRZYCKA-GUTTMAN, 1998). Grompone et al (2013), ao estudarem a estabilidade oxidativa de óleos comerciais de chia, também observaram diferenças ao compararem o ensaio isotérmico com o não isotérmico, os autores relataram que diferentes mecanismos de oxidação atuam quando a temperatura é constante ou quando é variável.

Assim como observado no ensaio não isotérmico, o aumento da energia de ativação observado durante o ensaio isotérmico indica a efetiva proteção do óleo pelas micropartículas. Além disso, foi possível observar na Tabela 4 um aumento de até 77 minutos no tempo de indução da oxidação para na análise a 120°C. O ensaio a 110°C das micropartículas não apresentaram sinal de oxidação durante todo o tempo de análise (220 min) confirmando junto com os demais dados a proteção do óleo pelas micropartículas. Pardauil e colaboradores (2011)

analisaram a estabilidade oxidativa de diferentes óleos vegetais da região amazônica e observaram, assim como no presente estudo, grande variação nas O_t conforme aumento das temperaturas nos diferentes ensaios.

5.2.3 Análise termogravimétrica

A Figura 8 apresenta (a) os gráficos termogravimétricos e (b) a primeira derivada para o óleo de chia *in natura*, micropartículas contendo o óleo de chia (MP) e micropartículas sem o óleo (branco). Logo abaixo, a Tabela 5 apresenta as temperaturas, tempos e variações de massa ocorridas durante a análise.



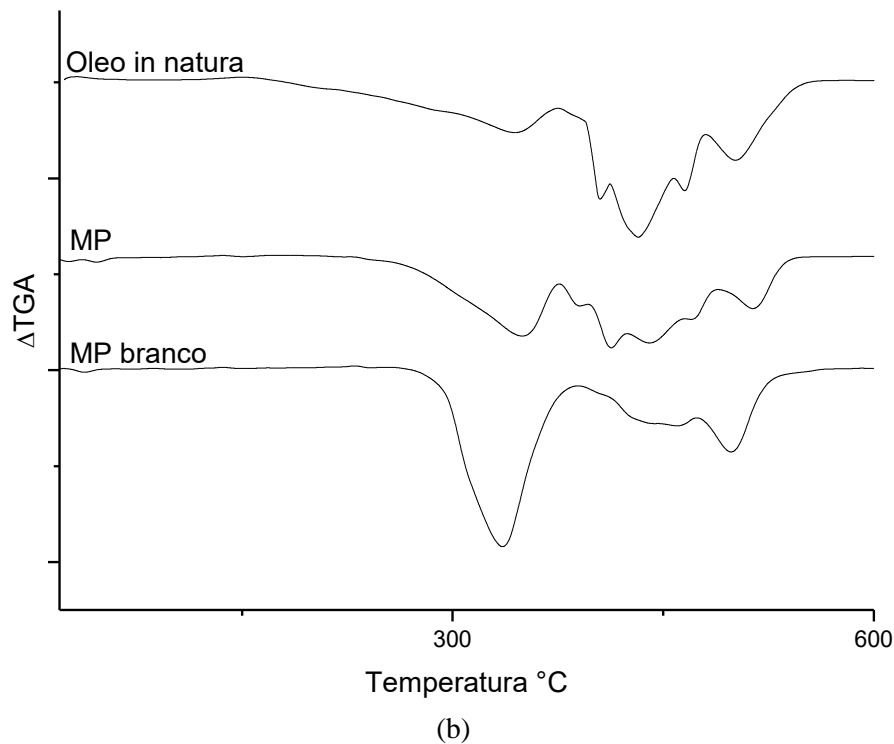


Figura 8. Análise termogravimétrica representada pela curva (a) TGA e (b) Δ TGA.

Tabela 5. Temperatura, tempo de indução da oxidação e variação de massa registradas na análise termogravimétrica.

	Temperatura de início da oxidação (°C)	Tempo de início da oxidação (min)
Óleo de chia	153,05	13,67
Micropartículas contendo o óleo de chia	224,41	22,13
Micropartículas branco	248,96	23,72

A primeira etapa de decomposição térmica dos óleos vegetais é a mais importante no estudo de estabilidade térmica pois é neste passo que a decomposição dos ácidos graxos insaturado inicia (SANTOS et al., 2002). Pode ser observada na Figura 8 a perda de massa das amostras no decorrer do ensaio, indicando o início da degradação térmica do material. Nota-se também que a degradação ocorreu em temperatura maior para o óleo microencapsulado do que para o óleo *in natura*, demonstrando o ganho em estabilidade conferido pela encapsulação.

Woranuch e Yoksan (2013), ao avaliarem a estabilidade térmica do óleo de cravo microencapsulado também perceberam esses aumentos. Antes da encapsulação a temperatura

de indução oxidativa foi de 159°C e após a encapsulação aumentou para 209°C. Ao concluir, os autores destacam a eficiente melhora na estabilidade oxidativa do óleo pela encapsulação em nanopartículas de quitosana.

Ao encapsular óleo de echium (*Echium plantagineum*), Comunian et al (2015) obtiveram resultados condizentes com os apresentados na Tabela 5. As demais perdas de massa podem ser associadas ao processo de degradação da amostra. Santos et al (2002) associaram as seguidas variações de massa ao processo de degradação térmica que ocorre em três passos, correspondendo provavelmente à degradação dos ácidos graxos poli-insaturados (200-380°C), monoinsaturados (380 a 480°C), e saturados (480 a 600°C) respectivamente.

5.3 Teste de estabilidade acelerada e espectroscopia no UV-Vis

Amostras do óleo *in natura* e das micropartículas contendo o óleo de chia foram avaliadas em testes de estabilidade acelerada em estufa, sendo obtidos espectros de UV-Vis ao longo do tempo de armazenamento. A Figura 9 apresenta os espectros de UV-Vis do óleo de chia e das micropartículas obtidos durante o ensaio de estabilidade acelerada. A Figura 10 contém os resultados da resolução multivariada de curvas (MCR) para tais amostras e a Figura 11 apresenta os espectros no UV-Vis recuperados pela MCR-ALS.

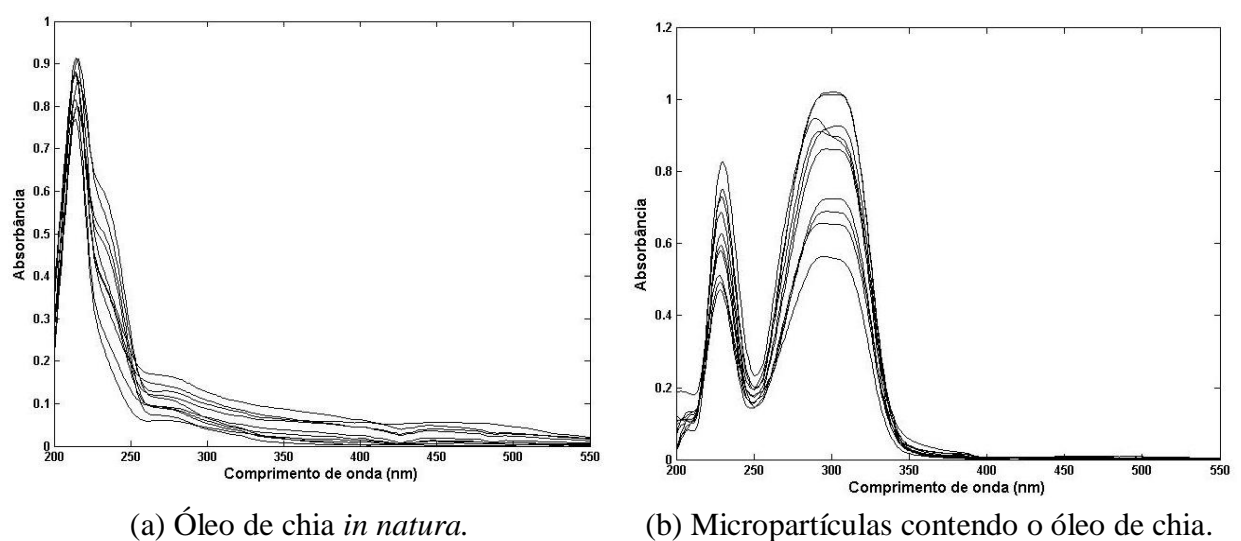
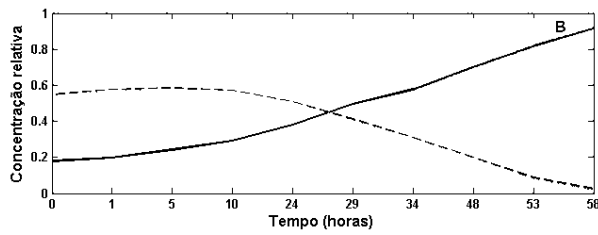
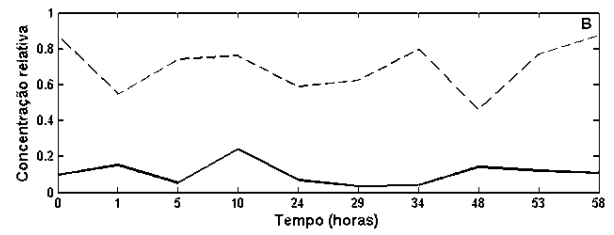
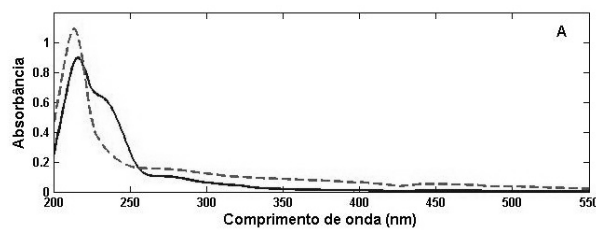
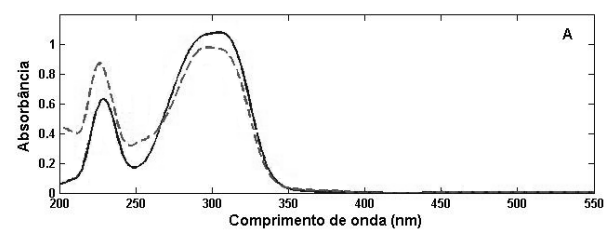


Figura 9. Espectros no UV-vis obtidos durante o ensaio de estabilidade acelerada.

(a) Óleo de chia *in natura*.

(b) Micropartículas contendo o óleo de chia.

Figura 10. Concentrações relativas de tocoferol (- - -) e produtos de degradação (—).

(a) óleo *in natura*.

(b) micropartículas contendo o óleo de chia.

Figura 11. Espectros UV-Vis recuperados por MCR-ALS relativos ao (- - -) tocoferol e (—) aos produtos de degradação.

A oxidação dos ácidos graxos polinsaturados é acompanhada por um aumento de absorção na região do ultravioleta (VIEIRA; REGITANO-D'ARCE, 1999). Os lipídios contendo dienos e polienos apresentam mudanças na região ultravioleta durante a oxidação devido à formação de conjugação e isomerização. Os dienos conjugados apresentam absorção intensa em 234 nm enquanto os trienos absorvem em 268 nm. Para o óleo de chia *in natura*, esse perfil de absorção é condizente com o perfil espectral recuperado pelo MCR-ALS (Figura 11). A concentração relativa referente a esse perfil mostra que a oxidação se iniciou após uma hora de aquecimento e aumentou ao longo do tempo de exposição do óleo à temperatura. O perfil espectral em linha tracejada pode ser atribuído ao perfil de tocoferol que começou a sofrer degradação após 10 horas de exposição.

Com relação ao perfil de concentração relativa para as micropartículas, os resultados mostram que não houve modificação ao longo do tempo de exposição a temperatura, embora se verifique através do gráfico uma variação contínua nas concentrações, possivelmente devido à falta homogeneidade das amostras. Os resultados quantitativos da concentração relativa no tempo zero e após 58 horas de exposição, apresentados na Figura 10, mostram que não houve mudança na concentração durante esse período de tempo. Esse resultado sugere que o

encapsulamento protegeu o óleo dos processos oxidativos quando este é submetido ao calor por um longo do tempo.

A proteção conferida pelas micropartículas também foi avaliada através dos coeficientes de extinção específica (K). Na Figura 12, pode ser observado a variação dos valores de K em ambas amostras testadas.

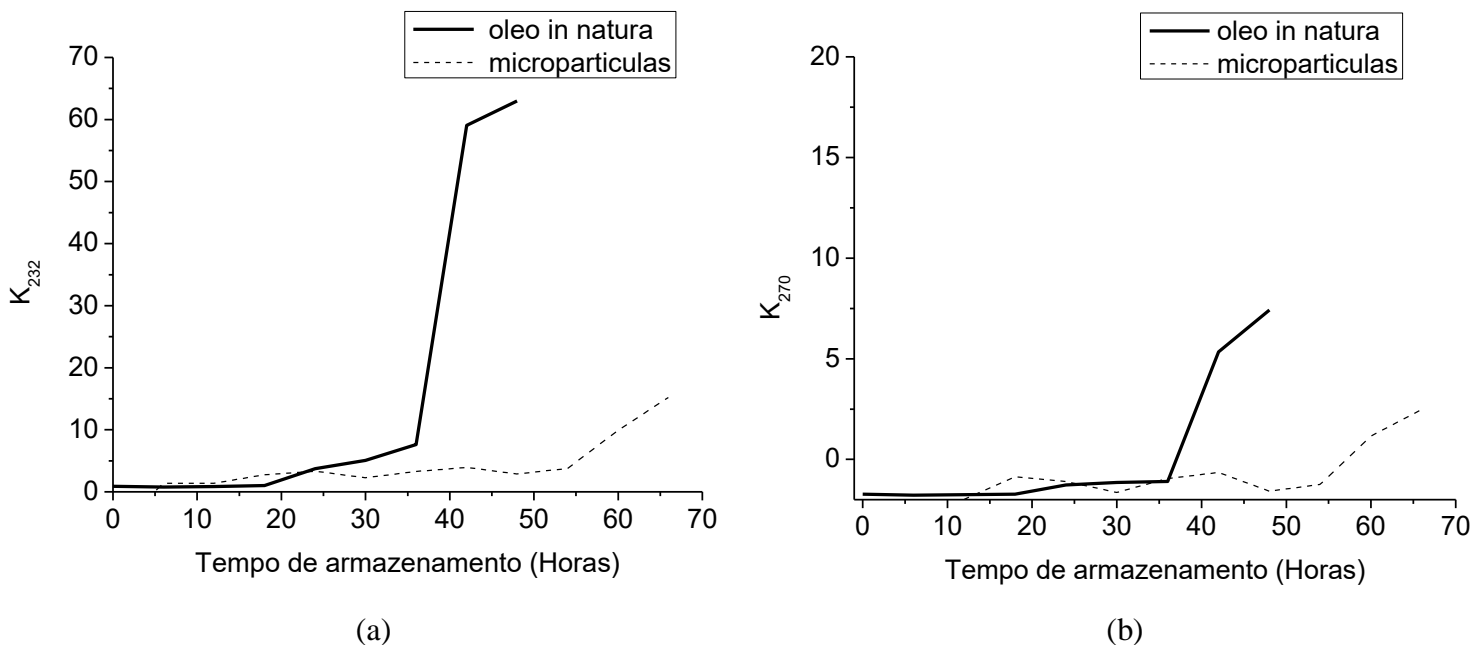


Figura 12. Coeficiente de extinção específica (a) em 232 nm (K_{232}) e (b) 270 nm (K_{270}) obtidos durante o teste de estabilidade acelerada em estufa.

Os coeficientes de extinção específica indicam a presença de compostos primários de oxidação (peróxidos, hidroperóxidos e dienos conjugados em 232 nm) e de compostos secundários de oxidação (cetonas, aldeídos, álcoois em 270 nm) (AOCS, 2009). As micropartículas branco (sem o óleo) também foram avaliadas, apresentando um coeficiente de extinção médio 15,5 para o K_{232} e 13,17 para o K_{270} e que se mantiveram constantes ao longo do armazenamento, o que pode ser atribuído ao encapsulante, já que a cera de carnaúba é uma matriz natural complexa composta de uma mistura de ésteres. Freitas e colaboradores (2016), ao caracterizarem a cera de carnaúba, observaram elevados valores de absorção entre 250-350 nm. Esta constatação também foi observada por Villalobos-Hernández; Müller-Goymann, (2006) que confirmaram a alta capacidade dos ésteres presentes na cera em absorver a radiação ultravioleta.

O valor referente ao encapsulante foi empregado no ajuste dos valores para as micropartículas. Também é preciso destacar que para tempos maiores que 48 horas não foi possível analisar as amostras de óleo *in natura* pois estas se tornaram insolúveis, indicando seu alto grau de deterioração. O óleo *in natura* apresentou variação no coeficiente de extinção após 36 horas de armazenamento em estufa, enquanto que para o óleo microencapsulado foi detectada variação apenas em torno de 60 horas.

Os resultados apresentados por Bodoira et al (2017), ao estudar o efeito de diferentes antioxidantes no óleo de chia, mostraram a mesma tendência observada no presente estudo de proteção do óleo ao longo do tempo. Os autores observaram um retardo na degradação do óleo ao comparar os valores de K com o grupo controle (sem a adição de antioxidante). Contudo, em estudo realizado por Martínez e colaboradores (2015), também com a encapsulação do óleo de chia, os resultados não foram satisfatórios. O processo de encapsulação por spray dryer afetou a estabilidade do óleo *in natura*, devido as altas temperaturas utilizadas. As cápsulas produzidas com o óleo (já oxidado) apresentaram valores de K superiores ao do óleo *in natura*. Os autores concluíram que a metodologia de encapsulação utilizada é ineficiente para a encapsulação de óleos ricos em AGPI.

6. Conclusões

A microencapsulação do óleo de chia utilizando a cera de carnaúba como material encapsulante foi bem-sucedida e eficiente, já que eficiências de encapsulação em torno de 97% foram encontradas para importantes ácidos graxos insaturados como os ômega 3 e 6. Através das análises físico-químicas e cromatográfica foi possível caracterizar tanto o óleo quanto as micropartículas produzidas. As imagens da microscopia eletrônica mostraram micropartículas com tamanhos micrométricos, formato esférico e sem fissuras.

O ganho em estabilidade térmica foi verificado em análises calorimétricas isotérmicas e não isotérmicas em DSC, pois houve aumento da energia de ativação do processo degradativo devido à encapsulação do óleo. Durante o ensaio de estabilidade acelerada em estufa também o óleo microencapsulado apresentou maior estabilidade, desfavorecendo o aparecimento de produtos de degradação como peróxidos, hidroperóxidos e dienos conjugados conforme detectado pelo coeficiente de extinção. A análise multivariada dos espectros UV-Vis também demonstrou a eficácia da encapsulação em proteger os tocoferóis presentes no óleo.

7. Referências bibliográficas

- ADHVARYU, A. et al. Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Thermochimica Acta**, v. 364, p. 87–97, 2000.
- AGHBASHLO, M. et al. Influence of Wall Material and Inlet Drying Air Temperature on the Microencapsulation of Fish Oil by Spray Drying. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 6, p. 1561–1569, 10 fev. 2012.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**. 6. ed. Chicago: AOCS, 2009.
- ANWAR, S. H.; KUNZ, B. The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 367–378, 2011.
- ARAIN, S. et al. Oxidative stability assessment of Bauhinia purpurea seed oil in comparison to two conventional vegetable oils by differential scanning calorimetry and Rancimat methods. **Thermochimica Acta**, v. 484, n. 1–2, p. 1–3, 2009.
- AYERZA, R.; COATES, W. Composition of chia (*Salvia hispanica*) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. **Tropical Science**, v. 44, n. 3, p. 131–135, set. 2004.
- AYERZA (H), R. Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 72, n. 9, p. 1079–1081, set. 1995.
- BAUTISTA JUSTO, M. et al. Desarrollo de pan integral con soya, chía, linaza y ácido fólico como alimento funcional para la mujer. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 57, n. 1, 2007.
- BODOIRA, R. M. et al. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 107–113, 2017.
- CAHILL, J. P. Ethnobotany of Chia, *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). **Economic Botany**, v. 57, n. 4, p. 604–618, nov. 2003.
- CASAL, S. et al. Olive oil stability under deep-frying conditions. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 10, p. 2972–2979, 2010.
- CHEN, Q. et al. Co-encapsulation of fish oil with phytosterol esters and limonene by milk proteins. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 505–512, 2013.
- CHRISTIE, W. W. Preparation of Ester Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis. **Advances in Lipid Methodology**, p. 69–111, 1993.
- CODEX ALIMENTARIUS. **Codex Standard for Edible Fats and Oils Not Covered By Individual Standards**. Codex Alimentarius Commission, 1999.
- COMUNIAN, T. A. et al. Protection of echium oil by microencapsulation with phenolic compounds. **Food Research International**, 2015.
- CORDERO, C. et al. Potential of the reversed-inject differential flow modulator for comprehensive two-dimensional gas chromatography in the quantitative profiling and fingerprinting of essential oils of different complexity. **Journal of Chromatography A**, v. 1417, p. 79–95, 2015.

- CUVELIER, M.-E.; LACOSTE, F.; COURTOIS, F. Application of a DSC model for the evaluation of TPC in thermo-oxidized oils. **Food Control**, v. 28, n. 2, p. 441–444, 2012.
- EL-SAYED, S. et al. DSC, TGA and dielectric properties of carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol blends. **Physica B: Condensed Matter**, v. 406, n. 21, p. 4068–4076, 2011.
- FARAGO, P. V. et al. Physicochemical characterization of a hydrophilic model drug-loaded PHBV microparticles obtained by the double emulsion/solvent evaporation technique. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 7, p. 1298–1305, 2008.
- FERREIRA, D. S. et al. Comparison and application of near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy for determination of quality parameters in soybean samples. **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 227–232, 2014.
- FLYNN, J. H.; WALL, L. A. A quick, direct method for the determination of activation energy from thermogravimetric data. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters**, v. 4, n. 5, p. 323–328, maio 1966.
- FRANKEL, E. N. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. **Trends in Food Science & Technology**, v. 4, n. 7, p. 220–225, jul. 1993.
- FREITAS, C. A. S. et al. Carnauba wax p-methoxycinnamic diesters: Characterisation, antioxidant activity and simulated gastrointestinal digestion followed by in vitro bioaccessibility. **Food Chemistry**, v. 196, p. 1293–1300, 2016.
- FUCHS, M. et al. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, v. 75, n. 1, p. 27–35, 2006.
- GAN, C.-Y.; CHENG, L.-H.; EASA, A. M. Evaluation of microbial transglutaminase and ribose cross-linked soy protein isolate-based microcapsules containing fish oil. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 4, p. 563–569, 2008.
- GARDETTE, J. L.; BABA, M. FTIR and DSC studies of the thermal and photochemical stability of *Balanites aegyptiaca* oil (Toogga oil). **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 170–171, p. 1–7, 2013.
- GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, nov. 2007.
- GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal edible oil evaluation by UV-Vis spectroscopy and chemometrics. **Food chemistry**, v. 163, p. 83–6, 2014.
- GONZALEZ-MIRA, E. et al. Design and ocular tolerance of flurbiprofen loaded ultrasound-engineered NLC. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 81, n. 2, p. 412–21, 2010.
- GONZÁLEZ, A. et al. Study of the preparation process and variation of wall components in chia (*Salvia hispanica* L.) oil microencapsulation. **Powder Technology**, v. 301, p. 868–875, 2016.
- GROMPONE, M. A. et al. Assessing the Oxidative Stability of Commercial Chia Oil. **Journal of Food Science and Engineering**, v. 3, p. 349–356, 2013.
- GROSSI, M. et al. A novel electrochemical method for olive oil acidity determination. **Microelectronics Journal**, v. 45, n. 12, p. 1701–1707, 2014.
- GUILLÉN, M. D.; CABO, N. Usefulness of the Frequency Data of the Fourier Transform Infrared Spectra to Evaluate the Degree of Oxidation of Edible Oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, p. 709–719, 1999.

GUILLÉN, M. D.; CABO, N. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. **Food Chemistry**, v. 77, n. 4, p. 503–510, 2002.

HARTMAN, L.; LAGO, R. Rapid preparation of fatty acids methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, p. 474–476, 1973.

HOSSEINI, S. F. et al. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 50–56, 2013.

HUNG, P. VAN et al. Total phenolic compounds and antioxidant capacity of wheat graded flours by polishing method. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 185–190, jan. 2009.

INNAWONG, B. et al. The determination of frying oil quality using Fourier transform infrared attenuated total reflectance. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 23–28, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4^a ed. São Paulo, 2008.

IXTAINA, V. Y. et al. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166–174, 2011.

IXTAINA, V. Y. et al. Physicochemical characterization and stability of chia oil microencapsulated with sodium caseinate and lactose by spray-drying. **Powder Technology**, v. 271, p. 26–34, 2015.

IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Oxidative Stability of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil: Effect of Antioxidants and Storage Conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, n. 6, p. 1077–1090, 2012.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, n. 3, p. 488–506, 1992.

JULIO, L. M. et al. Chia seed oil-in-water emulsions as potential delivery systems of ω -3 fatty acids. **Journal of Food Engineering**, v. 162, p. 48–55, 2015.

KAIJSER, A.; DUTTA, P.; SAVAGE, G. Oxidative stability and lipid composition of macadamia nuts grown in New Zealand. **Food Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 67–70, 2000.

KAUSHIK, P. et al. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 868–881, 2015.

KEENAN, D. F. et al. The effect of partial-fat substitutions with encapsulated and unencapsulated fish oils on the technological and eating quality of beef burgers over storage. **MESC**, v. 107, p. 75–85, 2015.

KIM, Y.; HIMMELSBACH, D. S.; KAYS, S. E. ATR-Fourier transform mid-infrared spectroscopy for determination of trans fatty acids in ground cereal products without oil extraction. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 11, p. 4327–33, 30 maio 2007.

KOWALSKI, B. Thermal-oxidative decomposition of edible oils and fats. DSC studies. **Thermochimica Acta**, v. 184, n. 1, p. 49–57, 1991.

LANKMAYR, E. et al. Chemometrical classification of pumpkin seed oils using UV–Vis, NIR and FTIR spectra. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 61, n. 1, p. 95, 2004.

- LE DRÉAU, Y. et al. Infrared study of aging of edible oils by oxidative spectroscopic index and MCR-ALS chemometric method. **Talanta**, v. 77, n. 5, p. 1748–1756, 2009a.
- LE DRÉAU, Y. et al. Study of jojoba oil aging by FTIR. **Analytica Chimica Acta**, v. 642, n. 1–2, p. 163–170, 2009b.
- LITWINIENKO, G.; KASPRZYCKA-GUTTMAN, T. A DSC study on thermoxidation kinetics of mustard oil. **Thermochimica Acta**, v. 319, n. 1–2, p. 185–191, 1998.
- MARÇO, P. H. et al. Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. **Química Nova**, v. in press, p. 1–9, 2014.
- MARTÍNEZ, M. L. et al. Oxidative stability of walnut (*Juglans regia* L.) and chia (*Salvia hispanica* L.) oils microencapsulated by spray drying. **Powder Technology**, v. 270, p. 271–277, 2015.
- MICIC, D. M. et al. Kinetics of blackberry and raspberry seed oils oxidation by DSC. **Thermochimica Acta**, v. 601, p. 39–44, 2015.
- MILANOVIC, J. et al. Microencapsulation of flavors in carnauba wax. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 1, p. 901–12, 25 jan. 2010.
- MOHD ALI, N. et al. The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, p. 1–10, 2012.
- MOROS, J. et al. Preliminary studies about thermal degradation of edible oils through attenuated total reflectance mid-infrared spectrometry. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1529–1536, 2009.
- MUSIALIK, M.; LITWINIENKO, G. DSC study of linolenic acid autoxidation inhibited by BHT, dehydrozingerone and olivetol. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 88, n. 3, p. 781–785, 2007.
- NEDOVIC, V. et al. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806–1815, 2011.
- ORO, T. et al. Physicochemical and Sensory Quality of Crude Brazilian Pecan Nut Oil during Storage. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, n. 10, p. 971–976, 11 out. 2009.
- OZAWA, T. Kinetic analysis of derivative curves in thermal analysis. **Journal of Thermal Analysis**, v. 2, n. 3, p. 301–324, 1970.
- ÖZDEMİR, K. S.; GÖKMEN, V. Effect of microencapsulation on the reactivity of ascorbic acid, sodium chloride and vanillin during heating. **Journal of Food Engineering**, v. 167, p. 204–209, 2015.
- PARDAUIL, J. J. R. et al. Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 5873–5877, 2011a.
- PARDAUIL, J. J. R. et al. Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area. **Bioresource technology**, v. 102, n. 10, p. 5873–7, 2011b.
- PENG, D. et al. Detection and quantification of adulteration of sesame oils with vegetable oils using gas chromatography and multivariate data analysis. **Food Chemistry**, v. 188, p. 415–421, 2015.
- PHUNPEE, S. et al. International Journal of Biological Macromolecules A comparison of eugenol and menthol on encapsulation characteristics with water-soluble quaternized ⁿ -

cyclodextrin grafted chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 84, p. 472–480, 2016.

RENDÓN-VILLALOBOS, R. et al. Formulation, Physicochemical, Nutritional and Sensorial Evaluation of Corn Tortillas Supplemented with Chia Seed (*Salvia hispanica* L.). **Czech J. Food Sci**, v. 30, n. 2, p. 118–125, 2012.

RIBEIRO, M. D. M.; ARELLANO, D. B.; GROSSO, C. R. F. The effect of adding oleic acid in the production of stearic acid lipid microparticles with a hydrophilic core by a spray-cooling process. **Food Research International**, v. 47, p. 38–44, 2012.

RITA, M.; GARBI, C. Alterações físico-químicas em óleos de soja submetidos ao processo de fritura em unidades de produção de refeição no distrito federal. **Com. Ciências Saúde**, v. 19, n. 2, p. 115–122, 2008.

ROOZEN, J. P.; FRANKEL, E. N.; KINSELLA, J. E. Enzymic and autoxidation of lipids in low fat foods: model of linoleic acid in emulsified hexadecane. **Food Chemistry**, v. 50, n. 1, p. 33–38, 1994a.

ROOZEN, J. P.; FRANKEL, E. N.; KINSELLA, J. E. Enzymic and autoxidation of lipids in low fat foods: model of linoleic acid in emulsified triolein and vegetable oils. **Food Chemistry**, v. 50, n. 1, p. 39–43, 1994b.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. A Scanning Electron Microscopy Study of Microencapsulation. **Journal of Food Science**, v. 50, n. 1, p. 139–144, 1995.

SANDOVAL-OLIVEROS, M. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 1, p. 193–201, 2013.

SANTOS, J. C. O. et al. Thermal Stability and Kinetic Study on Thermal Decomposition of Commercial Edible Oils by Thermogravimetry. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 4, p. 1393–1398, 2002.

SEGURA-CAMPOS, M. R. et al. Physicochemical characterization of chia (*Salvia hispanica*) seed oil from Yucatán, México. **Agricultural Sciences**, v. 5, n. 3, p. 220–226, 2014.

SETIADI, D. H. et al. Vitamin E models. Shortened sidechain models of alfa, beta, gama and delta tocopherol and tocotrienol - A density functional study. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 637, p. 11–26, 2003.

SILVA, V. M.; VIEIRA, G. S.; HUBINGER, M. D. Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. **Food Research International**, v. 61, p. 132–143, 2014.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7^a ed. Rio de Janeiro, 2006.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 495–505, dez. 2002.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. Thomson ed. São Paulo, 2005.

TAN, C. P. et al. Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. **Food Chemistry**, v. 76, n. 3, p. 385–389, 2002.

TIMILSENA, Y. P. et al. Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.

91, p. 347–357, 2016.

TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 282–289, 2011.

ULKOWSKI, M.; MUSIALIK, M.; LITWINIENKO, G. Use of differential scanning calorimetry to study lipid oxidation. 1. Oxidative stability of lecithin and linolenic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 23, p. 9073–9077, 2005.

VALDERRAMA, P. et al. A procedure to facilitate the choice of the number of factors in multi-way data analysis applied to the natural samples: Application to monitoring the thermal degradation of oils using front-face fluorescence spectroscopy. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 106, p. 166–172, 2011.

VAVROUŠ, A. et al. Method for analysis of 68 organic contaminants in food contact paper using gas and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. **Food Control**, v. 60, p. 221–229, 2016.

VIEIRA, T. M. F. S.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Ultraviolet Spectrophotometric Evaluation of Corn Oil Oxidative Stability during Microwave Heating and Oven Test. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 6, p. 2203–2206, 1999.

VILLALOBOS-HERNÁNDEZ, J. R.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. Sun protection enhancement of titanium dioxide crystals by the use of carnauba wax nanoparticles: The synergistic interaction between organic and inorganic sunscreens at nanoscale. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 322, n. 1–2, p. 161–170, 2006.

VISENTAINER, J.; FRANCO, M. R. **Ácidos Graxos em Óleos e Gorduras: identificação e quantificação**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2006.

VISENTAINER, J. V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. **Química Nova**, v. 35, n. 2, p. 274–279, 2012.

WATTS, P. J.; DAVIES, M. C.; MELIA, C. D. Microencapsulation using emulsification/solvent evaporation: an overview of techniques and applications. **Critical reviews in therapeutic drug carrier systems**, v. 7, n. 3, p. 235–59, 1990.

WÓJCICKI, K. et al. Near and mid infrared spectroscopy and multivariate data analysis in studies of oxidation of edible oils. **Food Chemistry**, v. 187, p. 416–423, 2015.

WORANUCH, S.; YOKSAN, R. Eugenol-loaded chitosan nanoparticles: I. Thermal stability improvement of eugenol through encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 96, n. 2, p. 578–585, 2013.

ZHANG, Q. et al. Authentication of edible vegetable oils adulterated with used frying oil by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1607–1613, 2012.