

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

Camila Carolina Veiga

**Encapsulamento de óleo de café em microcápsulas de gelatina/goma arábica reticuladas  
por transglutaminase**

Trabalho de Conclusão de Curso

Campo Mourão

2014

Camila Carolina Veiga

**Encapsulamento de óleo de café em microcápsulas de gelatina/goma arábica reticuladas  
por transglutaminase**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado a disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Fernanda Vitória Leimann

Campo Mourão

2014



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Campo Mourão  
Coordenação de Tecnologia e Engenharia de Alimentos  
Curso Superior de Tecnologia em Alimentos



## TERMO DE APROVAÇÃO

**Encapsulamento de óleo de café em microcápsulas de gelatina/goma arábica reticuladas por transglutaminase.**

por

Camila Carolina Veiga

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 07 de Março de 2014 como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O candidato foi avaliado pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **Aprovado**.

**Membro 1** – Prof<sup>a</sup>. Msc. Mirian Sousdaleff Laczkowski  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR-CM  
Coordenação de Tecnologia e Engenharia de Alimentos

**Membro 2** – Prof<sup>o</sup>. Dr. Odinei Hess Gonçalves  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR-CM  
Coordenação de Tecnologia e Engenharia de Alimentos

**Orientadora** – Prof<sup>a</sup>. Dra. Fernanda Vitória Leimann  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR-CM  
Coordenação de Tecnologia e Engenharia de Alimentos

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação de Tecnologia e Engenharia de Alimentos da UTFPR Campus Campo Mourão.

*À minha bisa Rita Polizel Greco (in memoriam) por estar  
ao meu lado em todos os momentos da minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois tudo o que foi aprendido e conquistado é graças a Ele. Pelo amparo nos momentos difíceis, pela força interior para superar as dificuldades e por me mostrar o caminho certo nas horas incertas.

Aos meus pais Marisa da Mata Veiga e Rubens Veiga pelo apoio e a toda a minha família pelo amor e carinho.

Ao meu namorado Julio Cesar Rosetim pela paciência, ajuda, apoio incondicional, compreensão e amor durante esses anos e especialmente durante a elaboração desse trabalho.

À minha professora orientadora Dr.<sup>a</sup> Fernanda Vitória Leimann pela oportunidade de trabalhar nesse projeto e por toda a dedicação que com certeza foram fundamentais tanto para elaboração desse trabalho como também para o meu crescimento e desenvolvimento pessoal. Um exemplo de pessoa que seguirei para o resto da vida.

Aos meus amigos Isabela de Souza Celloni, Wallace José Maia, Tiago Faquineti de Aragão, Thaynara Ferrari, Jessica Caroline Vitória, Jéssica de Souza e Mayara de Oliveira Shork pela ajuda e por todos os momentos que passamos juntos.

Agradeço também a minha banca examinadora pelos sábios conselhos e a todos os professores da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, por todos os ensinamentos durante o curso e dicas na elaboração desse trabalho.

*Desconfie do destino e acredite em você, gastem mais horas realizando  
que sonhando, fazendo que planejando, vivendo que esperando,  
por que embora quem quase morre esteja vivo,  
quem quase vive já morreu.*

*Luís Fernando Veríssimo.*

## RESUMO

VEIGA, Camila Carolina. Encapsulamento de óleo de café em microcápsulas de gelatina/goma arábica reticuladas por transglutaminase. 2014. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo devido principalmente ao seu aroma agradável quando recém-preparado. Porém os componentes responsáveis pelo aroma do café são altamente voláteis e esses são perdidos após sua preparação. O processo de obtenção de café solúvel causa grandes perdas aromáticas, o que gera um impacto negativo quando comparado ao café preparado de forma convencional. Uma forma de recuperação dos aromas perdidos seria a incorporação direta do óleo de café torrado que subproduto constituído por uma mistura de componentes voláteis que são responsáveis pelo aroma do café. Porém, alguns trabalhos já comprovaram dificuldades de se obter bons resultados devido à alta volatilidade do óleo e também da oxidação dos lipídios presentes. Para minimizar essas perdas, muitos estudos vêm sendo desenvolvidos utilizando técnicas de microencapsulamento do óleo de café torrado para a recuperação de aroma. Com isso, o presente trabalho tem como objetivo principal obter microcápsulas de gelatina e goma arábica reticuladas por via enzimática contendo óleo de café torrado pela técnica da coacervação complexa. As microcápsulas obtidas em quatro experimentos com formulações diferentes, onde o objetivo foi verificar o efeito das variáveis, quantidade de óleo e a taxa de agitação, no diâmetro médio, na recuperação do óleo e na eficiência de encapsulamento. Foram obtidas microcápsulas com diâmetro médio de até 21  $\mu\text{m}$  e com distribuições de tamanho estreitas. A recuperação percentual e a eficiência de encapsulação foram mais afetadas pela taxa de agitação e pela quantidade de óleo variando de 80 a 100 % e 33 a 68% respectivamente. Por fim a interação do óleo com a casca polimérica, bem como a reticulação da gelatina pela enzima transglutaminase foram avaliados por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).

Palavras-chave: óleo de café torrado, microcápsulas, coacervação complexa, transglutaminase.

## ABSTRACT

VEIGA, Camila Carolina. Encapsulation of roasted coffee oil in microcapsules of gelatin and gum arabic cross-linked by transglutaminase. 2014. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

Coffee is one of the most consumed beverages in the world mainly due to its pleasant aroma when recently prepared. However, the components that are responsible to promote coffee aroma are highly volatile being lost after coffee preparation. The instant coffee production process causes great aromatic losses leading a negative impact when compared to the conventionally prepared coffee. An alternative way to recover the lost aroma is the direct incorporation of roasted coffee oil on instant coffee. The roasted coffee oil is a coffee industry byproduct composed by a great number of compounds including the volatiles, responsible by coffee aroma. Nevertheless, some researches have already showed the difficulty in obtaining good results due to the oil high volatility and by lipid oxidation. To minimize this losses many works have been developed using microencapsulation techniques to aroma recovery. In this way, the main objective of the present works to produce gelatin and arabic gum microcapsules enzymatically cross-linked containing roasted coffee oil by complex coacervation technique. The microcapsules were obtained in four experimental conditions with the intent to verify the effect of the roasted coffee oil amount used and the stirring rate on the average diameter, oil recovery and encapsulation efficiency. The microcapsules obtained presented average diameter up to 21  $\mu\text{m}$  with narrow size distributions. The percent recovery and encapsulation efficiency were more affected by stirring rate and oil amount than the average diameter. The results varied from 80 to 100 % (recovery) and 33 to 68% (encapsulation efficiency). Finally, the interaction of roasted coffee oil with the polymeric shell as well as the cross-linking reaction were investigated by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR).

Key-words: roasted coffee oil, microcapsules, complex coacervation, transglutaminase.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Exemplo da coacervação complexa (a) dispersão do recheio em solução de gelatina e goma arábica, (b) início da coacervação dos polímeros após a adição do agente de coacervação (redução do pH), (c) término da coacervação, (d) formação da casca reticulada na interface entre o óleo e a fase aquosa .....	17
<b>Figura 2</b> – Molécula de gelatina. ....	18
<b>Figura 3</b> - Compostos voláteis encontrados no óleo de café torrado. ....	19
<b>Figura 4</b> - Gráfico referente a curva de calibração .....	24
<b>Figura 5</b> - Resultado do teste de Turvamento/Precipitação. ....	27
<b>Figura 6</b> - Micrografias das microcápsulas obtidas nas seguintes condições (a) Exp. 1: 350 RPM e 0,8250 g óleo; (b) Exp. 2: 350 RPM e 0,4125 g óleo; (c) Exp. 3: 500 RPM e 0,4125 g óleo; (d) Exp. 4: 500 RPM e 0,8250 g óleo.....	30
<b>Figura 7</b> - Distribuição de tamanho das microcápsulas (a) Exp. 1: 350 RPM e 0,8250 g óleo; (b) Exp. 2: 350 RPM e 0,4125 g óleo; (c) Exp. 3: 500 RPM e 0,4125 g óleo; (d) Exp. 4: 500 RPM e 0,8250 g óleo. ....	31
<b>Figura 8</b> - Espectros de Infravermelho dos componentes puros utilizados na preparação das microcápsulas. ....	33
<b>Figura 9</b> - Espectros de Infravermelho das microcápsulas, mistura física dos componentes e óleo do café torrado. ....	35

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Formulações utilizadas para preparação das microcápsulas contendo óleo de café torrado. ....	23
<b>Tabela 2</b> – Níveis codificados e reais dos fatores avaliados. ....	26
<b>Tabela 3</b> - Resultados de recuperação e da eficiência de encapsulamento do óleo de café torrado. ....	28
<b>Tabela 4</b> – Valores determinados para diâmetro médio, desvios e índices de polidispersão (IPD).....	31
<b>Tabela 5</b> – Bandas características dos componentes das microcápsulas identificados por FTIR .....	34

## SUMÁRIO

1	Introdução.....	12
2	Revisão Bibliográfica.....	14
2.1	O Café.....	14
2.2	Microcápsulas .....	15
2.3	Microencapsulamento por Coacervação Complexa.....	16
2.3.1	Gelatina.....	17
2.3.2	Goma Arábica .....	18
2.3.3	Transglutaminase.....	19
3	Objetivos .....	21
4	Materiais e Métodos.....	22
4.1	Materiais .....	22
4.2	Métodos .....	22
4.2.1	Teste de Turvamento/Precipitação .....	22
4.2.2	Obtenção das microcápsulas .....	23
4.2.3	Determinação do tamanho das microcápsulas e índice de polidispersão (IPD) .....	24
4.2.4	Determinação da recuperação do óleo e eficiência de encapsulamento .....	24
4.2.5	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	26
4.2.6	Análises estatísticas .....	26
5	Resultados e Discussões.....	27
5.1	Teste de Turvamento/Precipitação.....	27
5.2	Determinação da recuperação do óleo e eficiência de encapsulamento.....	28
5.3	Determinação do tamanho das microcápsulas.....	29
5.4	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier.....	33
6	Conclusão .....	36
7	Sugestões para Trabalhos Futuros .....	37
8	Referencias Bibliográficas .....	38

## 1 Introdução

O café recém preparado é apreciado pelo consumidor devido ao seu aroma agradável. No entanto, este aroma não é estável, e muda rapidamente logo após a preparação do café (HOFMANN e SCHIEBERLE, 2002). Constituído por uma mistura de compostos voláteis (CLARKE *et al.*, 2001) e obtido a partir da torrefação e prensagem dos grãos, o óleo de café contém propriedades que podem potencializar o *flavor* de produtos à base de café, como por exemplo na sua versão solúvel, produto cujo aroma é parcialmente perdido no processamento (HOFMANN e SCHIEBERLE, 2002).

Os métodos mais utilizados para preparação de café solúvel são a liofilização (*freeze drying*) e a secagem por *spray dryer*. A secagem por *spray dryer*, apesar de permitir uma produção em larga escala e com menor custo, causa alterações na composição dos aromas devido ao aquecimento elevado e oxidação do extrato de café. Por outro lado, no processo de liofilização poucas alterações ocorrem já que o extrato é sublimado a vácuo (BASSOLI *et al.*, 1993), contudo seu alto custo se apresenta como uma barreira à popularização da utilização desse método.

Por esse motivo muitos estudos vêm sendo feitos para a recuperação de aromas perdidos durante a produção do café solúvel. Sua abordagem é um desafio tecnológico e envolve o uso do óleo de café torrado. Estão disponíveis na literatura trabalhos onde se propõe o realce do sabor do café com a incorporação do óleo de café torrado diretamente ao café solúvel (OLIVEIRA *et al.*, 2009), o que se mostrou ineficiente devido à alta volatilidade dos compostos presentes no óleo e também a oxidação dos lipídios. Por essa razão, propõe-se o uso de técnicas de microencapsulamento para evitar esse processo de degradação do óleo de café.

A coacervação complexa é um exemplo dessas técnicas, pois é uma tecnologia de microencapsulamento promissora devido às possibilidades de liberação controlada baseada no estresse mecânico, temperatura ou liberação modulada sendo geralmente utilizada para encapsular óleos aromáticos (GOUIN, 2004). A gelatina é largamente utilizada na coacervação complexa associada a polissacarídeos que neutralizam suas cargas e assim formam um complexo. Normalmente a gelatina é positivamente carregada e a coacervação é induzida por colóides aniônicos como pectina, alginato, carboxi metil celulose e goma arábica (DUCCEL *et al.*, 2006), sendo essa última utilizada para a elaboração das microcápsulas. O coacervado formado (gelatina e goma arábica)

tem pouca resistência mecânica e por isso precisa que seja endurecido pela adição de um agente reticulante. O uso da transglutaminase tem sido proposto como o reagente de ligação cruzada para proteínas para realizar o papel de agente reticulante, além disso, essa enzima pode ser utilizada na indústria de alimentos, pois diferentemente do glutaraldeído que também é utilizado como agente reticulante, ela não possui toxicidade (PRATA *et al.*, 2008).

O presente trabalho trata das condições de obtenção de microcápsulas de gelatina e goma arábica reticulada por via enzimática contendo óleo de café torrado.

## 2 Revisão Bibliográfica

### 2.1 O Café

O nome café é proveniente do nome da província de Keffa, onde pastores da Abissínia (Etiópia) descobriram os grãos de café no século VI. No século XIII os efeitos reparadores do café eram conhecidos e difundidos pelo mundo Islâmico. Duzentos anos mais tarde, o café era vendido na Europa, introduzindo assim a nova bebida na vida e nos costumes ocidentais (RINCON, 2011). No Brasil, o café chegou em 1727, vindo da Guiana Francesa e tornou-se um dos produtos mais importantes do país. Aqui encontrou clima ideal para o seu desenvolvimento (ABICS, 2007). Considerado como uma das grandes riquezas brasileiras, o café acelerou o desenvolvimento e a inserção do Brasil no comércio internacional. Além de fomentar o surgimento de cidades, construções de ferrovias e portos para o escoamento do grão, trouxe imigrantes para o país e intensificou movimentos culturais. Atualmente, o Brasil é responsável por 30% da produção mundial, sendo o primeiro produtor de café e o segundo mercado consumidor. A bebida de café cria ambientes sociais, estimula a troca de ideias e a comunicação entre as pessoas (TSUKUI, OIGMAN e REZENDE, 2013).

O café solúvel surgiu como uma solução para absorver o excedente de café na safra por ser uma forma de conservar o produto. Além disso, esse produto é prático e rápido para quem gosta de café, mas não tem muito tempo para prepara a bebida da forma convencional. O crescimento constante da participação do café solúvel no consumo mundial de café é uma consequência natural e direta do processo de urbanização das populações. O café solúvel apresenta aproximadamente 12% do consumo total de café atualmente (SAES e NISHIJIMA, 2007). As primeiras tentativas para se obter um extrato seco de café solúvel foram feitas no século XIX nos Estados Unidos. O produto era caro, de baixa qualidade e altamente higroscópico. Em 1930, o governo brasileiro incentivou a produção do café solúvel para absorver o excesso de café na safra. O processo foi desenvolvido pela Nestlé que, em 1938, obteve um produto de sabor mais agradável, cor clara, composto de 50% de sólidos solúveis de café e 50% de maltodextrina. Em 1950 a General Foods aperfeiçoou o processo tecnológico e obteve um produto com 100% de sólidos solúveis de café (ADANS e DOUGAN, 1985).

O café é caracterizado principalmente pelo impacto aromático que proporciona aos consumidores. A fração de componentes voláteis do aroma do café é formada por

uma mistura complexa de inúmeros compostos que apresentam diferentes qualidades de aroma, intensidade e concentrações variadas. A contribuição de cada um desses compostos voláteis para o aroma final do café é bem variada, podendo ainda ocorrer interações sinérgicas e antagônicas entre esses diferentes compostos. Atualmente já foram identificados aproximadamente mais de mil compostos voláteis nesse produto (FELIPE *et. al.*, 2000; AMSTALDEN *et. al.*, 2001; FLAMENT *et. al.*, 2002).

Durante o processamento de obtenção de café solúvel ocorrem transformações e perdas aromáticas, que modificam quantitativamente e qualitativamente a fração de compostos voláteis. Algumas destas transformações exercem impacto negativo no sabor e aroma do café solúvel quando comparado ao café preparado de forma convencional (CARPINÉ, 2011). De acordo com a Resolução - CNNPA nº 12, de 1978 da ANVISA, não são toleradas quaisquer adições de conservadores ou aditivos no café solúvel (BRASIL, 1978). Dessa forma uma das alternativas para a recuperação de aromas perdidos durante a produção do café solúvel seria o uso de técnicas de microencapsulamento de óleo de café torrado.

O óleo de café representa um importante subproduto para a indústria, pois tem várias aplicações diferentes. No Brasil, o óleo de café torrado é obtido por prensagem dos grãos torrados antes da extração de café solúvel. Ele é composto por uma grande fração lipídica (cerca de 75 %) (LUCAS e COCERO, 2006), o que o torna suscetível à oxidação lipídica, além de uma fração típica de compostos voláteis responsáveis pelo aroma de café e pigmentos que proporcionam-lhe um aspecto castanho-escuro (OLIVEIRA *et. al.*, 2005).

Uma vez que a exposição do óleo para o ar atmosférico pode levar a oxidação de lipídios e, conseqüentemente, para a formação de desagradáveis gostos e odores, as técnicas de microencapsulamento têm sido propostas como uma alternativa para evitar este tipo de processos de degradação e também para aumentar o potencial aromático do café solúvel (FRASCARELIA, *et. al.*, 2012).

## 2.2 Microcápsulas

Encapsulamento significa envolvimento ou captura de uma substância por outra. O material encapsulado (núcleo) pode ser um líquido ou um sólido, e o material encapsulante (cobertura, parede ou matriz) é geralmente um polissacarídeo (CLARK,

2002) e/ou polímeros (GOUIN, 2004). O conceito de microcápsula surgiu da idealização do modelo celular. Neste, a membrana que envolve e protege o citoplasma e os demais componentes exerce ao mesmo tempo outras funções, como controlar a entrada e saída de material da célula. De modo semelhante, uma microcápsula consiste, em geral, em uma camada que atua como um filme protetor, isolando a substância ativa e evitando os efeitos de sua exposição inadequada (RÉ, 2000).

### 2.3 Microencapsulamento por Coacervação Complexa

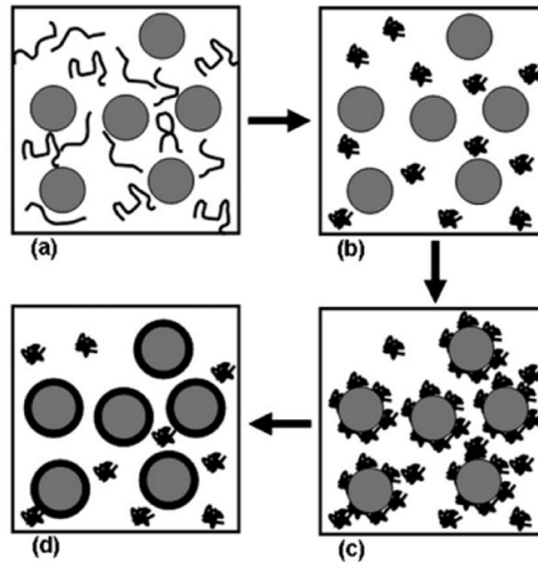
O microencapsulamento por coacervação é a separação de fases de um ou mais hidrocolóides a partir da solução inicial e a deposição subsequente da fase de coacervato recém-formada em torno do ingrediente ativo suspenso ou emulsionado no mesmo meio de reação. As microcápsulas produzidas por coacervação são insolúveis em água, possuindo excelentes características de liberação controlada e as propriedades de resistência ao calor (DONG, *et. al.*, 2008).

O processo de coacervação complexa envolve pelo menos dois polímeros carregados de forma diferente sob condições definidas. Na maioria dos casos, inclui uma molécula proteica e uma molécula de polissacarídeo, como por exemplo a gelatina e a goma arábica respectivamente. O mais clássico sistema de coacervação complexa é aquele no qual a gelatina é utilizada como o polieletrólito positivo e a goma arábica é utilizada como o polieletrólito negativo (JUN-XIA, HAI-YAN, JIAN, 2011). Para que a separação de fases (coacervação) dos polímeros ocorra é necessário que fatores como temperatura e pH sejam alterados, permitindo a dessolvatação dos mesmos (AUGUSTIN e HEMAR, 2009).

Para aumentar a robustez dos coacervados eles devem ser reticulados. O glutaraldeído é um agente reticulante efetivo, mas existem problemas com a legislação para o seu uso. Agentes de reticulação enzimáticos, tais como a transglutaminase são mais aceitáveis na indústria de alimentos e recentemente polifenóis provenientes de plantas também tem sido utilizados (AUGUSTIN e HEMAR, 2009).

Na Figura 1 é apresentado um esquema representativo do mecanismo de coacervação complexa para preparação de microcápsulas.





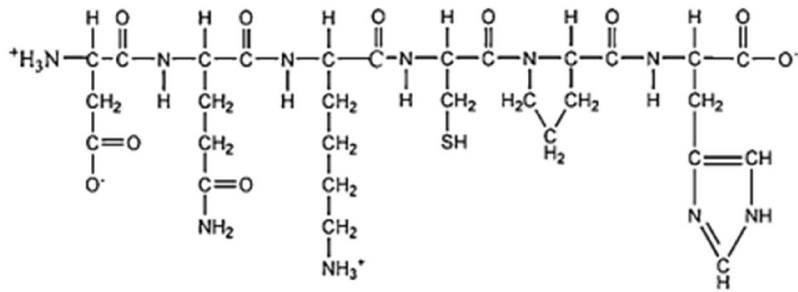
**Figura 1** - Exemplo da coacervação complexa (a) dispersão do recheio em solução de gelatina e goma arábica, (b) início da coacervação dos polímeros após a adição do agente de coacervação (redução do pH), (c) término da coacervação, (d) formação da casca reticulada na interface entre o óleo e a fase aquosa.

Fonte: Adaptado de Augustin e Hemar, 2009.

De acordo com a Figura 1 (AUGUSTIN e HEMAR, 2009) inicialmente uma emulsão contendo a substância a ser encapsulada é preparada em um meio contínuo constituído por uma solução aquosa de hidrocolóides solubilizados e carregados opostamente. Na sequência as condições do meio são alteradas (pH, temperatura, etc.) e a coacervação (precipitação do hidrocolóide) ocorre e os polímeros são depositados sobre as gotas da emulsão. Finalmente um agente de reticulação (glutaraldeído, transglutaminase, etc.) é adicionado ao meio e a casca polimérica é então reticulada.

### 2.3.1 Gelatina

A gelatina é uma proteína linear derivada da hidrólise parcial do colágeno e tem sido amplamente utilizada como um material fundamental para preparação de microesferas, selantes, adesivos de tecido e veículos para sistemas de liberação controlada. A gelatina também tem sido amplamente utilizada em combinação com outros polímeros para encapsulamento (DEVI e MAJI, 2010; LIU, LOW, NICKERSON, 2010). Na Figura 2 é apresentada a molécula de gelatina.



**Figura 2** – Molécula de gelatina.  
Fonte: Liu, Liu e Wang, 2011.

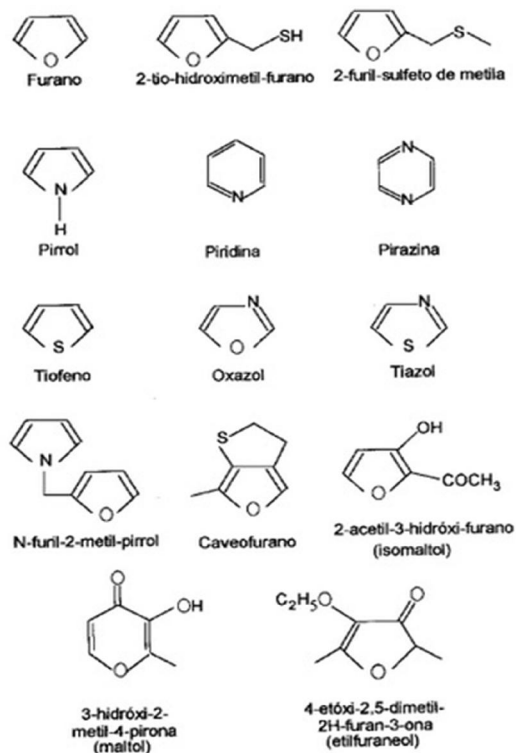
### 2.3.2 Goma Arábica

A goma arábica é uma resina natural composta por polissacarídeos e glicoproteínas, que é extraída de duas espécies de acácia da região subsaariana, mais especificamente das espécies *Acacia senegal* e *Acacia seyal*. É frequentemente usada como espessante e estabilizante para vários alimentos, na manufatura de colas e como espessante de tintas de escrever. A goma arábica é constituída principalmente por arabina, mistura complexa de sais de cálcio, magnésio e potássio do ácido arábico. Esse ácido é um polissacarídeo que produz L-arabinose, D-galactose, ácido D-glucorônico e L-ramnose, após hidrólise (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2014).

### 2.3.3 Óleo de Café Torrado

O óleo de café obtido por prensagem após a torração dos grãos é atualmente destinado para compor recheios de balas e doces ou para simples aspersão sobre o café solúvel, com o objetivo de realçar seu sabor e aroma, além de evitar fragmentação de grânulos (HOFMANN e SCHIEBERLE, 2002; OLIVEIRA *et. al.*, 2005).

Sua composição química pode variar devido a fatores genéticos como espécie e variedade do grão de origem, o clima de cultivo dos grãos, as condições do solo (umidade e pH), forma de colheita (manual ou mecanizada), secagem, armazenamento e condições operacionais, tais como o tempo de torrefação. Na Figura 3 são apresentadas as estruturas químicas de alguns dos compostos voláteis possíveis de serem encontrados no óleo de café torrado.



**Figura 3** - Compostos voláteis encontrados no óleo de café torrado.  
Fonte: Maria, Moreira, Trugo, 1999.

De acordo com a literatura disponível, comumente estão presentes no óleo de café torrado as pirazinas, piridinas e derivados de furano (BAREL e JACQUET, 1994; OLIVEIRA et al., 2005; FRASCARELI, 2010). Mais precisamente, em torno de 800 compostos já foram expostos na literatura como presentes na fração volátil (OLIVEIRA et al., 2005) e alguns compostos heterocíclicos têm sido considerados de alto impacto para o aroma do café, dentre estes, destacam-se o 2-furil-metanotiol, o caveofurano, o N-furil-2-metil-pirrol, o 2- etilfurano, o N-etil-2-formil-pirrol, a tio-butirilactona e o 2-acetil-3-metil-tiofeno (OLIVEIRA, 2001; OLIVEIRA et al., 2005).

### 2.3.3 Transglutaminase

A transglutaminase é uma enzima presente naturalmente na maioria dos tecidos animais e fluidos corporais e tem um papel importante na formação da coagulação sanguínea. (LORAND, 2002). Ela é capaz de catalisar reações de acil-transferência entre grupos  $\gamma$ -carboxiamídico e resíduos de glutamina da cadeia polipeptídica (acil-doadores) e uma variedade de aminas primárias (acil-receptores), incluindo os grupos  $\epsilon$ -

amino de resíduos de lisina em certas proteínas. É usado como um agente de reticulação comestível e tem sido amplamente utilizado na fabricação de queijo, processamento de carne, e produção de filmes comestíveis (DONG, *et. al.*, 2008).

Durante o processo de microencapsulamento, os coacervatos formados (gelatina e goma arábica) geralmente têm menor resistência mecânica devido à natureza iônica da interação entre as camadas poliméricas e eles são geralmente reticulados e endurecidos pela adição de um agente reticulante. Para ultrapassar as limitações na utilização de agentes de reticulação tóxicos como o glutaraldeído e o formaldeído, a transglutaminase tem sido proposta como um reagente de ligação cruzada para proteína, já que a sua utilização não introduz problemas de toxicidade (PRATA, *et. al.*, 2008).

### 3 Objetivos

Este trabalho de conclusão de curso tem como objetivo principal obter microcápsulas de gelatina e goma arábica reticuladas por via enzimática contendo óleo de café torrado.

Objetivos específicos:

- Caracterizar o diâmetro médio das microcápsulas por microscopia;
- Determinar a recuperação do óleo e a eficiência de encapsulamento;
- Determinar a interação do óleo com a casca polimérica por FTIR.

## 4 Materiais e Métodos

### 4.1 Materiais

Foram utilizados os seguintes materiais para produção das microcápsulas: gelatina (P.A., Vetec Química Fina), goma arábica (P.A., Vetec Química Fina), transglutaminase (100 unidades/g proteína; sendo que a mistura em pó da enzima possui atividade de 50 unidades/g. Activa GS, Ajinomoto), ácido clorídrico (HCl, Vetec Química Fina), fitas indicadoras de pH (Macherey-Nagel) e o óleo de café torrado, gentilmente cedido pela CIA. Iguaçú de Café Solúvel.

Para as demais análises foram empregados: hidróxido de sódio (NaOH, Vetec Química Fina), brometo de potássio (KBr, Sigma Aldrich) e diclorometano (P.A., Vetec Química Fina).

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Teste de Turvamento/Precipitação

O teste de turvamento/precipitação foi realizado com o intuito de determinar o pH ideal para a separação de fase que acontece entre a gelatina e a goma arábica de acordo com a metodologia de Bachtisi e Kiparissides (1996), com modificações.

Para o teste, foram solubilizadas separadamente 1,875g de goma arábica e 1,875g de gelatina em 75 ml de água destilada à 50°C. Em seguida as duas soluções foram misturadas e foi verificado o pH da mesma. É de grande importância que o pH da água utilizada seja verificado antes do preparo dessa solução e que esteja em torno de sete, pois valores muito baixos de pH podem interferir no resultado do experimento.

O volume de solução produzido foi distribuído em 4 beakers onde o pH de cada um foi corrigido para 2, 4, 6 e 8 utilizando soluções de HCl 0,25 mol/L para abaixar o pH e NaOH 0,01 N para aumentar o pH. Em seguida, as soluções foram distribuídas em tubos de ensaio e levadas ao banho termostatizado (Tecnal) a 10°C por 10 minutos. O resultado de pH ideal foi observado no tubo que obteve maior precipitação e turvamento verificado visualmente.

#### 4.2.2 Obtenção das microcápsulas

A produção de microcápsulas utilizando a técnica de coacervação complexa foi realizada de acordo com a metodologia descrita em Lamprecht, Schafer e Lehr (2001) com modificações. Inicialmente 0,825 g de gelatina e 0,825 g goma arábica foram solubilizadas separadamente em 33 ml de água destilada à 90° C. Em seguida as duas soluções foram misturadas com agitação mecânica (Fisatom) em um reator de borosilicato encamisado com temperatura de 50°C mantida por um banho termostático (Tecnal) a uma rotação constante que variou em cada experimento (350 ou 500 RPM). À essa solução foram adicionados mais 166 ml de água destilada e logo na sequência foi adicionado o óleo de café (0,825 g ou 0,4125 g). Tomou-se o cuidado para que o pH tanto das soluções de goma e gelatina, quanto da água adicionada se mantivesse neutro (7,0). Após a mistura foi feita a redução lenta do pH da solução até atingir o pH determinado no teste de turvamento/precipitação (pH 4,0) com adição de HCl 0,25 mol/L, sendo que o controle foi feito com o uso de fitas indicadoras de pH (Macherey-Nagel). Em seguida a solução foi resfriada lenta e gradualmente de 50°C até 10°C por 30 minutos. Ao final desse tempo a temperatura foi novamente alterada para 25°C (temperatura ideal para a ação da transglutaminase) e nesse momento foram adicionados 0,667 g de transglutaminase (100 unidades/g proteína; sendo que a mistura em pó da enzima possui atividade de 50 unidades/g) e a agitação foi mantida durante aproximadamente 13 horas. A solução final foi armazenada em geladeira.

Foram feitos 4 experimentos onde em cada um deles foram utilizados valores variáveis para a rotação e também para o peso do óleo de café conforme estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1** – Formulações utilizadas para preparação das microcápsulas contendo óleo de café torrado.

	Rotação (RPM)	Óleo de Café (g)	Goma (g)	Gelatina(g)	Transglutaminase (g)	H2O (ml)
<b>Exp. 1</b>	350	0,8250	0,8250	0,8250	0,6670	232
<b>Exp. 2</b>	350	0,4125	0,8250	0,8250	0,6670	232
<b>Exp. 3</b>	500	0,4125	0,8250	0,8250	0,6670	232
<b>Exp. 4</b>	500	0,8250	0,8250	0,8250	0,6670	232

#### 4.2.3 Determinação do tamanho das microcápsulas e índice de polidispersão (IPD)

A determinação do tamanho das microcápsulas foi obtida através das imagens de um microscópio ótico tri nocular Bioval (modelo L-2000A) e o diâmetro das mesmas foi determinado com o uso do software *Size Meter* de acordo com a metodologia descrita por Leimann *et. al.* (2008). As imagens obtidas foram analisadas com aumento de 100 vezes. O índice de polidispersão (IPD) foi determinado com o uso da Equação 1.

$$IPD = \left( \frac{\sigma^2}{d^2} \right) \quad \text{Equação (1)}$$

Onde:

- d - Diâmetro médio das microcápsulas ( $\mu\text{m}$ );
- $\sigma$  - Desvio padrão das medidas de diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ ).

#### 4.2.4 Determinação da recuperação do óleo e eficiência de encapsulamento

Inicialmente uma curva de calibração de óleo de café torrado foi preparada utilizando as seguintes concentrações de óleo em diclorometano (0,02; 0,04; 0,06; 0,1; 0,14; 0,2 mg/mL) em Espectrofotômetro de Ultravioleta-Visível (UV-Vis Ocean Optics). Uma cubeta de quartzo foi utilizada para que a absorbância fosse tomada na faixa de 200 a 900 nm. O pico de maior absorbância foi tomado como referência para determinação da concentração das soluções (285 nm) (FREIBERGER, 2013). A Figura 4 apresenta o gráfico obtido por análise de UV-VIS com a curva de calibração.

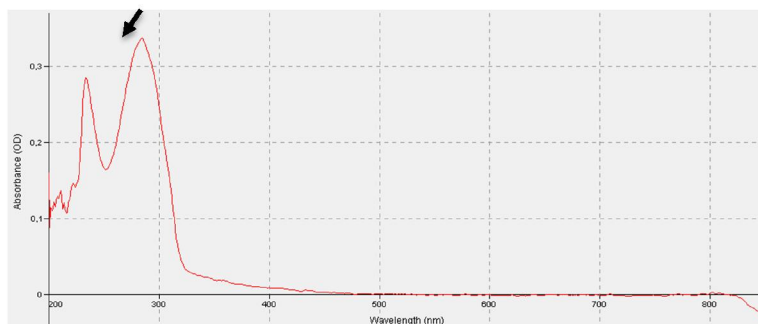


Figura 4 - Gráfico referente a curva de calibração



A recuperação do óleo e a eficiência da encapsulação foram determinadas de acordo com a metodologia descrita por Sibanda *et. al.* (2004) com modificações. As dispersões dos quatro experimentos foram secas por liofilização (L101, LIOTOP). Para a recuperação, de cada amostra seca foram retiradas 50 mg e em seguida a mesma foi moída em um almofariz para a liberação do óleo. Após esse procedimento foram adicionadas 10 ml de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) e homogeneização com o pistilo foi aplicada por mais 1 minuto. Em seguida foi utilizada uma seringa estéril para filtração da amostra em um filtro de seringa de nylon ( $0,45 \mu\text{m}$ , Maxcrom). Com o auxílio de uma micropipeta 1 ml do filtrado foi transferido para um balão volumétrico de 10 ml. Por fim, o volume do balão foi completado com diclorometano e as amostras foram analisadas em espectrofotômetro. Para o cálculo da recuperação percentual foi utilizada a Equação 2.

$$R(\%) = \frac{C_{\text{real}} \cdot 100}{C_{\text{teórica}}} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde:

- R% - Percentual de recuperação (%);
- $C_{\text{real}}$  - Concentração de óleo de café torrado determinada na análise por Uv-Vis ( $\text{mg}_{\text{óleo}}/\text{mL}$  dispersão de microcápsulas).
- $C_{\text{teórica}}$  - Concentração de óleo de café torrado adicionada na formulação ( $\text{mg}_{\text{óleo}}/\text{mL}$  dispersão de microcápsulas).

Para a análise da eficiência de encapsulamento, em um filtro de buchner acoplado a uma bomba à vácuo, foram filtradas 25 ml da solução de microcápsulas e prosseguiu-se com duas lavagens de 10 ml cada de diclorometano para remoção do óleo livre. O papel filtro utilizado no procedimento foi seco em estufa e em seguida a metodologia utilizada foi a mesma da análise da recuperação. Para o cálculo da eficiência de encapsulamento foi utilizada a Equação 3.

$$E(\%) = \frac{C_{\text{ef}} \cdot 100}{C_{\text{real}}} \quad \text{Equação (3)}$$

Onde:

- E% - Percentual de eficiência (%);
- $C_{ef}$  - Concentração de óleo de café torrado determinada na análise por Uv-Vis (mg<sub>óleo</sub>/mL dispersão de microcápsulas).
- $C_{real}$  - Concentração de óleo de café torrado adicionada na formulação (mg<sub>óleo</sub>/mL dispersão de microcápsulas).

#### 4.2.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Para a análise de FTIR foi utilizada a metodologia descrita por Leimann (2011), com modificações. Foram preparadas pastilhas de brometo de potássio (KBr, 100 mg) contendo as microcápsulas secas por liofilização (10 mg) dispersas com o mesmo. Essas pastilhas foram então analisadas em espectrômetro Shimadzu (IR AFFINITY-1) e foram obtidos espectros na faixa de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  utilizando 32 acumulações e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Para comparação, além da análise dos quatro experimentos também foram analisados cada constituinte da mistura separadamente e ainda foi feita uma mistura física dos mesmos.

#### 4.2.6 Análises estatísticas

Os resultados foram aplicados em um planejamento experimental  $2^2$  e avaliados no *software* Statistica 7.0. Na Tabela 2 estão apresentados os níveis codificados e reais dos fatores avaliados.

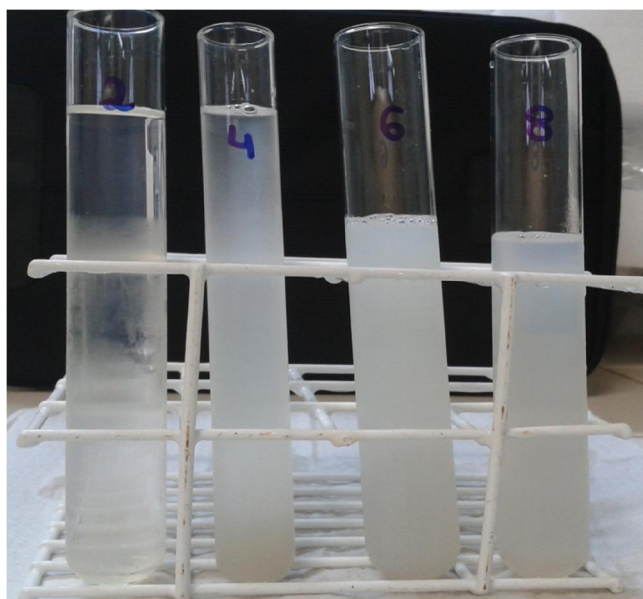
**Tabela 2** – Níveis codificados e reais dos fatores avaliados.

Experimento	RPM	Óleo (g)	RPM	Óleo
	Níveis reais		Níveis codificados	
1	350	0,8250	-1	+1
2	350	0,4125	-1	-1
3	500	0,4125	+1	-1
4	500	0,8250	+1	+1

## 5 Resultados e Discussões

### 5.1 Teste de Turvamento/Precipitação

A determinação do ponto de turvamento da solução de gelatina e goma arábica foi previamente realizada para definir em que condições as microcápsulas seriam produzidas. Na Figura 5 está apresentada a imagem que representa a análise do ponto de turvamento.



**Figura 5** - Resultado do teste de Turvamento/Precipitação.

É possível observar com a imagem da Figura 4 que a maior precipitação devido ao turvamento da solução foi obtido com o pH 4. A solução com pH 2 não apresentou turvamento relevante e as soluções com pH 6 e 8 apresentaram turvamento porém sem precipitação. Para que ocorra a formação da casca polimérica ao redor das gotas dispersas de óleo no microencapsulamento é importante que haja uma separação de fases efetiva, que foi obtido com o pH 4. De acordo com Raposo, Pinto e Nunes (2003) a gelatina possui seu ponto isoelétrico em torno do pH 4.7. Como toda proteína, a gelatina torna-se menos solúvel em meio aquoso em valores de pH próximos ao do seu ponto isoelétrico e conseqüentemente ocorre um aumento na estabilidade da emulsão

pela melhora no poder emulsificante da gelatina, com uma boa formação do filme ao redor das gotículas do óleo essencial.

## 5.2 Determinação da recuperação do óleo e eficiência de encapsulamento

A eficiência de encapsulamento e o percentual de recuperação do óleo de café torrado foram determinados por espectrofotometria UV-Vis e os resultados estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** - Resultados de recuperação e da eficiência de encapsulamento do óleo de café torrado.

	Óleo (g)	Rotação (RPM)	Recuperação (%)	Eficiência (%)
<b>Exp. 1</b>	0,8250	350	104,4	33,4
<b>Exp. 2</b>	0,4125	350	80,2	68
<b>Exp. 3</b>	0,4125	500	87,6	46,8
<b>Exp. 4</b>	0,8250	500	82,2	35

Todos os valores de recuperação obtidos foram satisfatórios, acima de 80 %. Freiburger (2013) ao encapsular óleo de café torrado em nanocápsulas de PLLA também obteve valores de recuperação acima de 80% utilizando a técnica de miniemulsificação/evaporação do solvente. Nos experimentos 2, 3 e 4 os resultados obtidos em torno de 80% são explicados pela alta volatilidade de alguns compostos do óleo de café torrado e pelo tempo de permanência da mistura sob agitação para a reticulação da casca polimérica.

No caso da eficiência de encapsulação o experimento 2 apresentou maior resultado. Maji e Hussain (2009) também utilizaram a técnica de microencapsulamento por coacervação complexa para encapsular óleo *Zanthoxylum limonella* em gelatina e quitosana e obtiveram eficiência de encapsulamento máxima de 60% o que está de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho.

As equações 4 e 5 apresentam os modelos de ajuste (variáveis codificadas) obtidos com os resultados de recuperação e eficiência de encapsulação de acordo com o planejamento experimental  $2^2$ .

$$Rec (\%) = 88,6 + 4,7 \cdot \text{óleo} - 3,7 \cdot \text{rotação} - 7,4 \cdot \text{óleo} \cdot \text{rotação} \quad (\text{Equação 4})$$

$$E (\%) = 45,8 - 11,6 \cdot \text{óleo} - 4,9 \cdot \text{rotação} + 5,7 \cdot \text{óleo} \cdot \text{rotação} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

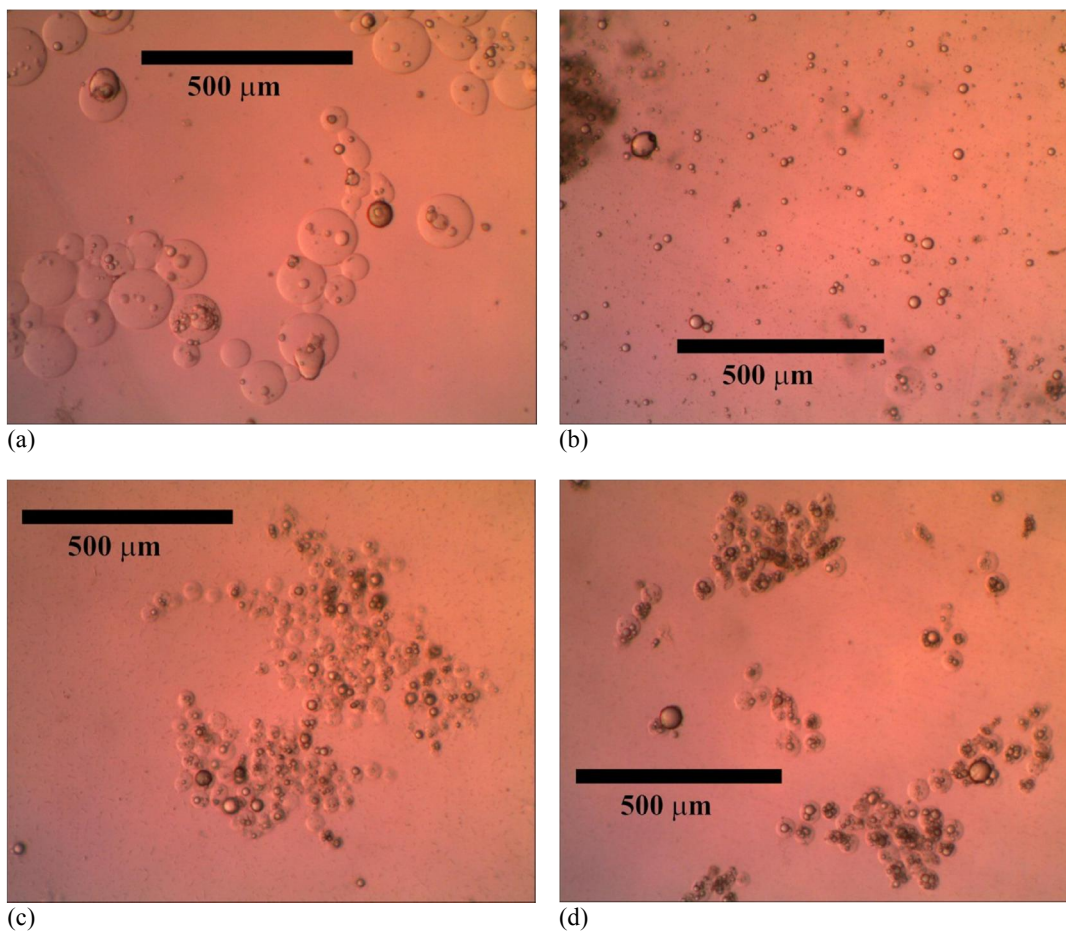
Rec - Recuperação (%);

E - Eficiência (%);

Os efeitos dos fatores massa de óleo e da combinação entre massa de óleo e rotação foram sinérgicos para a recuperação e para a eficiência, respectivamente. Os demais efeitos são considerados antagônicos para os dois casos. Em ambos os casos os coeficientes de ajuste dos modelos obtidos foram iguais a 1.

### 5.3 Determinação do tamanho das microcápsulas

O efeito da taxa de agitação e da quantidade de óleo utilizado no microencapsulamento no diâmetro médio e distribuição de tamanhos das microcápsulas foram avaliados. As imagens apresentadas na Figura 6 representam as microcápsulas obtidas em cada experimento.



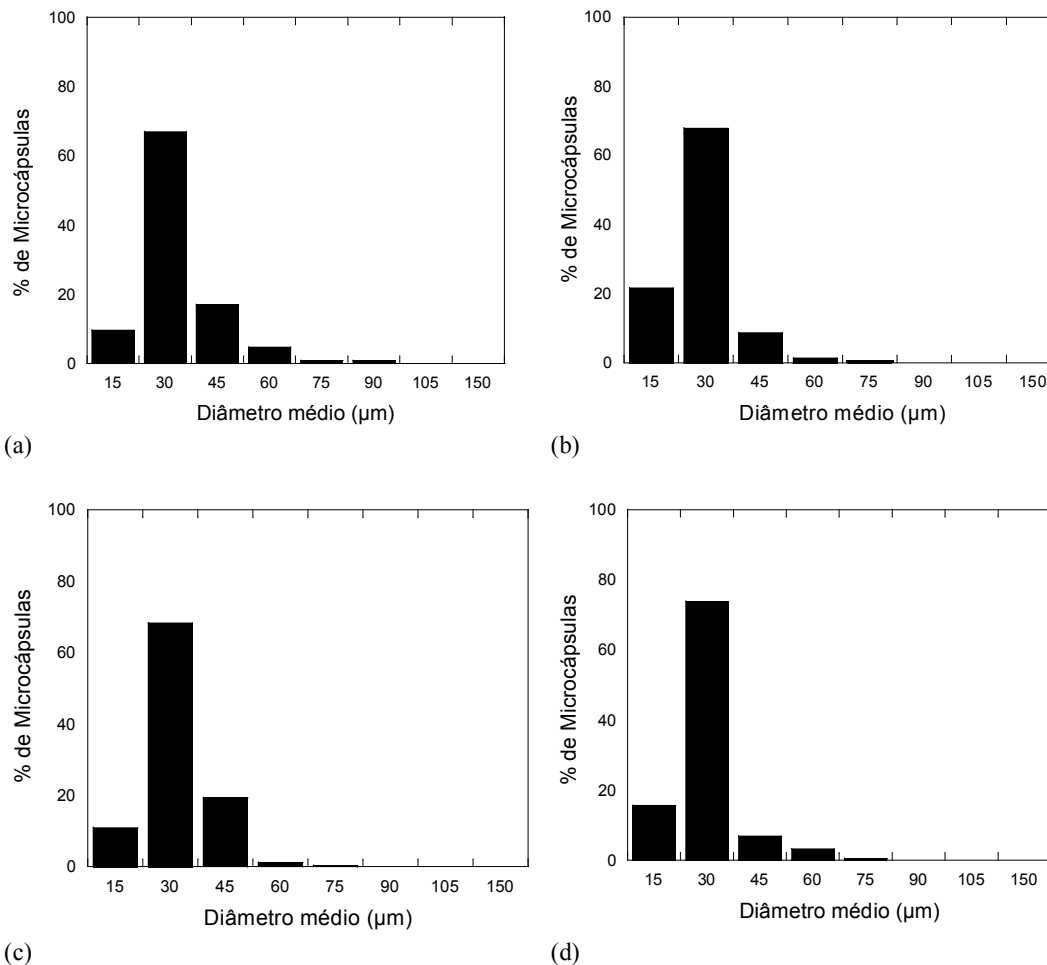
**Figura 6** - Micrografias das microcápsulas obtidas nas seguintes condições (a) Exp. 1: 350 RPM e 0,8250 g óleo; (b) Exp. 2: 350 RPM e 0,4125 g óleo; (c) Exp. 3: 500 RPM e 0,4125 g óleo; (d) Exp. 4: 500 RPM e 0,8250 g óleo.

Em todos os casos foram obtidas microcápsulas com forma esférica bem definida. Para os experimentos 1, 3 e 4 (Figura 6 a, c e d) as microcápsulas apresentaram aglomeração. O experimento 2 também resultou em certo grau de aglomeração porém menor que os demais. Quanto ao tamanho das microcápsulas é possível observar que no experimento 1 foram obtidos tamanhos maiores e os menores tamanhos para o experimento 2.

Na Tabela 4 são apresentados os valores de diâmetro médio e desvio padrão encontrados, bem como na Figura 7 são apresentados os gráficos de distribuição de tamanho dos 4 experimentos.

**Tabela 4** – Valores determinados para diâmetro médio, desvios e índices de polidispersão (IPD).

	Óleo (g)	Rotação (RPM)	Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )	Desvio Padrão ( $\mu\text{m}$ )	IPD (-)
<b>Exp. 1</b>	0,8250	350	25,7	10,9	0,17
<b>Exp. 2</b>	0,4125	350	21,0	7,6	0,13
<b>Exp. 3</b>	0,4125	500	22,9	8,2	0,12
<b>Exp. 4</b>	0,8250	500	21,5	8,6	0,16



**Figura 7** - Distribuição de tamanho das microcápsulas (a) Exp. 1: 350 RPM e 0,8250 g óleo; (b) Exp. 2: 350 RPM e 0,4125 g óleo; (c) Exp. 3: 500 RPM e 0,4125 g óleo; (d) Exp. 4: 500 RPM e 0,8250 g óleo.

Em todos os casos a distribuição de tamanho mais recorrente é a da faixa de 30  $\mu\text{m}$ , ficando assim entre 60 e 70% de microcápsulas em cada caso o que é confirmado na Tabela 4 pela média apresentada. Segundo Bachtzi, Boutris e Kiparissides (1996), o comportamento observado na Tabela 4 com relação ao diâmetro médio se deve ao mesmo já se encontrar em um valor limitante onde o aumento da taxa

de agitação ou a variação de outras condições não afeta mais o mesmo. Provavelmente se fosse utilizado uma taxa de agitação menor que 350 RPM a média de diâmetro obtidas poderia ser maior.

No experimento 2 é possível observar que se tem a maior quantidade de microcápsulas na faixa de 15  $\mu\text{m}$ . Isso também pode ser observado nos dados da tabela 4, onde o desvio do experimento 2 é o menor.

No experimento 1 se tem uma distribuição mais larga também confirmado pelos dados de IPD, encontrado na Tabela 4. Esse experimento possui incidência de microcápsulas até o diâmetro médio de 90  $\mu\text{m}$ . O índice de polidispersão (IPD) é utilizado como uma medida indireta da largura da distribuição do tamanho das partículas. Assumindo uma distribuição gaussiana unimodal de tamanhos das nanopartículas (MALVERN, 2002). Dessa forma, maiores valores de IPD significam distribuições mais largas dos tamanhos das microcápsulas.

Outro ponto importante a ser observado na Figura 7 é o fato de todas as distribuições de tamanho se apresentarem como monomodais. Essa característica é observada, quando em um gráfico se tem apenas um pico.

No caso dos experimentos 1 e 4 onde a quantidade de óleo era maior e a taxa de agitação era variável foi possível observar que no experimento que teve a rotação maior a distribuição de tamanho ficou mais estreita e a quantidade de microcápsulas na faixa de 15 e 30  $\mu\text{m}$  aumentou. Esses resultados estão de acordo com os resultados obtidos por Xing *et. al.* (2004) e Bachtzi, Boutris e Kiparissides (1996). De acordo com Bachtzi, Boutris e Kiparissides (1996), em geral o diâmetro médio das gotas (de óleo de café torrado) em uma dispersão líquido-líquido é determinado pelo balanço entre as forças turbulentas que tendem a quebra das gotas e a tensão interfacial e forças viscosas que tendem a manter as gotas unidas, ou seja coalesçam. A coalescência ocorre quando a energia de adesão entre duas gotas é igual ou maior que a energia turbulenta causadora da dispersão (SHINNAR e CHURCH, 1960). É aparente que com o aumento da agitação a distribuição de tamanhos mude para diâmetros menores já que a energia cinética turbulenta associada com o quebramento das gotas aumenta.

Já no caso dos experimentos 2 e 3 nos quais a quantidade de óleo era menor, o aumento da taxa de agitação causou um aumento das microcápsulas na faixa de 45  $\mu\text{m}$  e diminuição na faixa de 15  $\mu\text{m}$ , porém não houve mudança no tamanho da distribuição. De acordo com Xing *et.al.* (2004), o aumento na taxa de agitação pode desestabilizar a

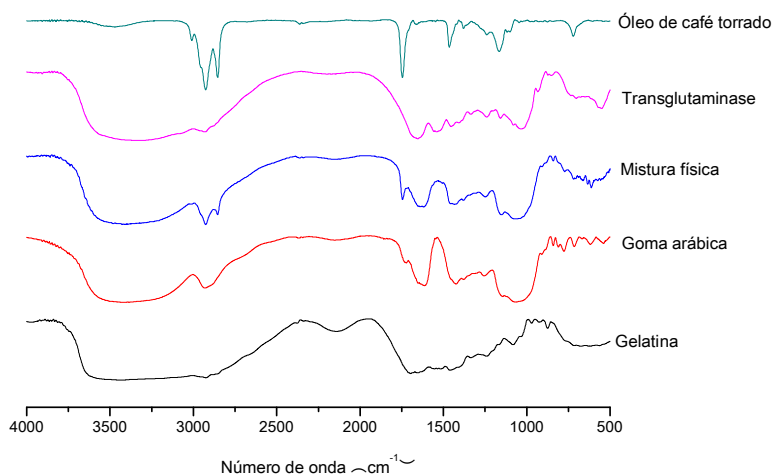


emulsão de óleo em água resultando em uma distorção das microcápsulas o que pode ter acontecido nesse caso.

Quando a taxa de agitação foi mantida constante (350 RPM) nos experimentos 1 e 2 foi possível observar que a maior quantidade de óleo apresentou uma distribuição de tamanhos mais larga e com tamanhos menores. Essas características também foram observadas por Bachtisi, Boutris e Kiparissides (1996). No caso dos experimentos 3 e 4 que a taxa de agitação era de 500 RPM foi obtido uma distribuição de tamanho igual aumentando somente a fração de 60  $\mu\text{m}$  no experimento 4. Provavelmente o efeito não foi tão evidente pela alta taxa de agitação.

#### 5.4 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Na Figura 8 são apresentados os espectros de infravermelho dos componentes puros das microcápsulas bem como a mistura física dos mesmos.



**Figura 8** - Espectros de Infravermelho dos componentes puros utilizados na preparação das microcápsulas.

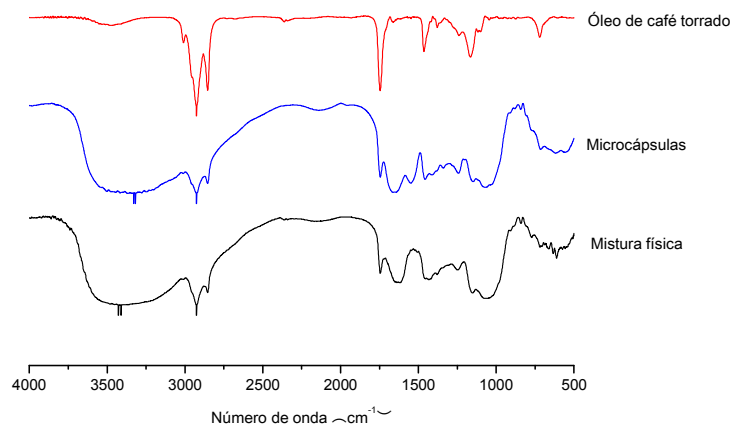
Pela Figura 7 é possível observar que há uma sobreposição das bandas dos componentes, principalmente nas regiões de 2.800 a 4.000  $\text{cm}^{-1}$  e de 750 a 2000  $\text{cm}^{-1}$ . Na Tabela 5 estão discriminadas as principais bandas características dos componentes puros utilizados na preparação das microcápsulas.

**Tabela 5** – Bandas características dos componentes das microcápsulas identificados por FTIR

Fonte: Skoog, 2000.

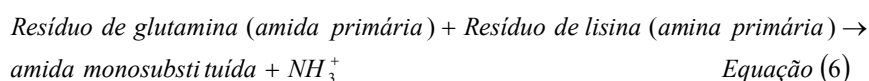
Componente	Banda (cm <sup>-1</sup> )	Ligação	Composto característico/grupamento
<b>Óleo de Café Torrado</b>	3.472	CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	Amina 1°
	3.010	>C=CH	Ácido cafeico, ácido clorogênico
	1.745	C=O	Maltol
	1.850 – 1.640	C=O	
	1.660	C=N-C	2,3 dimetil-pirazina, 2,5 dimetil-pirazina, 2 etil-3metil pirazina, 2 acetilpiridina
	1.566	C=N estiramento	
	1.710	C=C estiramento	Ácido cafeico, ácido clorogênico
	1.165	C-O-C	Maltol, 2-furfuritiol
	874	S-H	2-furfuritiol
	2.377	S-H	
1.200 - 900	S-H		
	2.361	S-H	2,tio-hidroxi metil-furano (2-furfuriltiol)
<b>Gelatina</b>	1.800 – 1650	-CO-NH-R	Amida monosubstituida
	1.560 – 1480		
	1.800 – 1680	CO-N R <sub>2</sub>	Amida disubstituida
	1.650 – 1550	CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	Amina 1°
	1.700 – 1.620	CO-NH <sub>2</sub>	Amida
	1.650 – 1.550		
	1.200 – 1.100		
3.000 – 2.600	CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	Amina 1°	
3.500 – 3.200	CO-NH <sub>2</sub>	Amida	
3.300 – 3.000	-CO-NH-R	Amida monosubstituida	
<b>Goma</b>	3.550 – 2.850	OH (estiramento)	
	1.150 – 1.050	CH-OH	Álcool Secundário
	1.350 – 1.255		
	1.450 – 1.380		
	3.500 – 3.100		
	3.500 – 2.900	COOH	Ácido carboxílico
	1.750 – 1.650		
1.450 – 1.350			
950 – 860			
<b>Transglutaminase</b>	Idem gelatina		Composição transglutaminase: NaCl, gelatina, fosfatotrisódico, maltodextrina, óleo de cártomo.
	Maltodextrina	C-O-C CH <sub>2</sub> – OH	

Na Figura 9 são apresentados os espectros do óleo, das microcápsulas e da mistura física dos componentes.



**Figura 9** - Espectros de Infravermelho das microcápsulas, mistura física dos componentes e óleo do café torrado.

Na Figura 9 é possível notar que para a mistura física, foi detectada a banda correspondente ao grupamento S-H presente em  $2.359\text{ cm}^{-1}$  referente ao 2-furfuriltiol. Nas microcápsulas analisadas (Exp. 4) a banda presente em  $1.550\text{ cm}^{-1}$  referente a amida monosubstituída tem sua intensidade aumentada quando comparado com a mistura física, devido à reação de reticulação promovida pela transglutaminase. Dessa forma é possível confirmar que a transglutaminase agiu como agente de reticulação na formação das microcápsulas. O modo geral de ação da enzima transglutaminase na reticulação da gelatina ocorre de acordo com a descrição de Macedo e Sato (2005) apresentada na Equação 6:



A gelatina apresenta tanto resíduos de grupamento glutamina e quanto de lisina (FUCHSBAUER *et. al.*, 1996; CARVALHO e GROSSO, 2006; CORTESI *et. al.*, 1999). Dessa forma o produto da reação de reticulação é a formação de um grupamento amida monosubstituída bem como amônia.

Também é possível observar o desaparecimento da banda S-H em  $2.359\text{ cm}^{-1}$  possivelmente em função da volatilização durante a produção das cápsulas ou por encontrar-se no interior das mesmas, conseqüentemente não aparecendo no espectro. A outra banda referente ao grupamento S-H do 2-furfuriltiol possivelmente continua presente no espectro porém sobreposta por outras bandas.

## 6 Conclusão

Com base nos resultados apresentados e na revisão bibliográfica é possível concluir que as microcápsulas de gelatina e goma árabica reticulada enzimaticamente com transglutaminase contendo óleo de café torrado foram produzidas de forma satisfatória.

Os resultados obtidos na análise de recuperação do óleo mostraram que a perda de óleo nos experimentos foi aceitável, pois apresentaram resultados acima de 80%. A eficiência de encapsulação também mostrou-se adequada de acordo com resultados da literatura.

Com as micrografias obtidas foi possível observar que nos quatro experimentos as microcápsulas se apresentaram de forma esférica e bem definida. Além disso, com os gráficos de distribuição de tamanhos pode-se notar que quanto maior era a taxa de agitação a distribuição de tamanhos mudava para diâmetros menores, isso se dá por que está associada com o quebraamento das gotas. Também é possível observar que quanto maior é a quantidade de óleo se tem uma distribuição de tamanhos mais larga e com tamanho de microcápsulas menores.

Através dos espectros obtidos pelas análises de FTIR foi possível observar que houve a reticulação promovida pela transglutaminase já que se tem um aumento da intensidade da banda referente à amida monosubstituída que é o produto da reação de reticulação da enzima. Quanto ao desaparecimento da banda que representa o S-H em  $2359\text{ cm}^{-1}$ , pode ser explicado por uma provável volatilização durante a produção das cápsulas, ou também pode ser que as mesmas não se mostraram no espectro por estarem no interior das microcápsulas.

## **7 Sugestões para Trabalhos Futuros**

Como sugestões para trabalhos futuros podem ser considerados os seguintes pontos:

- Avaliação da concentração de goma arábica e de gelatina na recuperação do óleo de café torrado;
- Verificação da influência da temperatura na reticulação da casca polimérica pela transglutaminase;
- Adição de um surfactante para tentar evitar a formação de aglomerados nas microcápsulas;
- Aplicação das microcápsulas em café solúvel para avaliação do aroma e aspecto visual;

## 8 Referencias Bibliográficas

ABICS. **História do Café**. 2007. Disponível em: <<http://www.abics.com.br/historiacafe.htm>>. Acesso em: 06 de jan. 2014

ADANS, M. R.; DOUGAN, Waste Products In: CLARKE, R.J. & MACRAE, R. **Coffee: Technology**, v.2, Elsevier Applied Science, London, p. 282-291, 1985.

ADITIVOS E INGREDIENTES. **Goma arábica ou goma acácia: um grande clássico**. p.30-35, 2014.

AMSTALDEN, L. C.; LEITE, F.; MENEZES, H. C. **Identificação e quantificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução/ espectrometria de massas empregando um amostrador automático de “Headspace”**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 21, p. 123-128, 2001.

ASPINALL, G. O. **Pectins, plant gums, and other plant polysaccharides**. In The carbohydrates, ed. W. Pigman et. al. New York: Academic Press. 515-536, 1970.

AUGUSTIN, M. A.; HEMAR, Y. **Nano-and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients**. Chemical society reviews, v. 38, n. 4, p. 902-912, 2009.

BACHTSI, A. R.; BOUTRIS, C. J.; KIPARISSIDES, C. **Production of oil-containing crosslinked poly (vinyl alcohol) microcapsules by phase separation: Effect of process parameters on the capsule size distribution**. Journal of applied polymer science, v. 60, n. 1, p. 9-20, 1996.

BACHTSI, A. R.; KIPARISSIDES, C. **Synthesis and Release Studies of Oil-Containing Poly(vinyl alcohol) Microcapsules Prepared by Coacervation**. Journal of Controlled Release, v. 38, p. 49-58, 1996.

BAREL, M.; JACQUET, M. **La qualité du café ses causes son appréciation, son amelioration.** Plantation, Recherche, Developpement, Juillet-Aôut, p. 5-13, 1994.

BASSOLI, D. G.; SUMI, A. P.; AKASHI, Y.; UCHIDA, H.; CASTRO, A. S.; OHTANI, N.; OBAYASHI, T.; NAKAYAMA, M.; SHIGEKANE, A.; TAMURA, Y.; TOMITA, M.; TAKAHASHI, M.; NARUI, N. **Instant Coffee with Natural Aroma by Spray-Drying.** In: International Scientific Coloquium on Coffee, p. 712-718, 1993

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Padrão de Identidade e Qualidade para Alimentos. **Resolução - CNNPA nº 12, de 1978.** Ministério da Saúde, 1978.

CARPINÉ, D. **Recuperação do aroma álcool feniletílico por adsorção em batelada e em coluna.** Dissertação de mestrado. 2011. Disponível em: <<http://www.posalim.ufpr.br/Pesquisa/pdf/dissertaDANIELLEcarpine.pdf>>. Acesso em: 08 jan. 2014

CARVALHO, R. A. de; GROSSO, C. R. F. **Efeito do tratamento térmico e enzimático nas propriedades de filmes de gelatina.** Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, 2006.

CORTESI, R.; ESPOSITO, E.; OSTI, M.; SQUARZONI, G.; MENEGATTI, E.; DAVIS, S. S. NASTRUZZI, C. **Dextran cross-linked gelatin microspheres as a drug delivery system.** European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics, v. 47, n. 2, p. 153-160, 1999.

CLARK, J. P. **Food encapsulation:** capturing one substance by another. Food Technology, v.56, n. 11, p. 63-65, 2002.

CLARKE, R. J. in **Coffee: Recent Developments.** R. J. CLARKE; O. G. VITZTHUM, Ed.; Blackwell Science: Londres, p. 130, 2001.

DEVI, N.; MAJI, T. K. **Genipin crosslinked microcapsules of gelatin A andj-carrageenan polyelectrolyte complex for encapsulation of Neem (Azadirachta Indica A.Juss.) seed oil.** Springer-Verlag, 2010.

DONG, Z-J; XIA, S-Q; HUA, S.; HAYAT, K.; ZHANG, X-M; XU, S-Y. **Optimization of cross-linking parameters during production of transglutaminase-hardened spherical multinuclear microcapsules by complex coacervation.** Colóides e Superfícies B: Biointerfaces , v 63, n. 1, p. 41-47, 2008.

DUCEL, V.; RICHARD, J.; SAULNIERA, P.; POPINEAUC, Y.; BOURY, F. **Evidence and Characterization of Complex Coacervates Containing Plant Proteins: Application to the Microencapsulation of Oil Droplets.** Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects , v. 232, p. 239-247, 2006.

FELIPE, R.; MOREIRA, A.; TRUGO, L. C. **Componentes voláteis do café torrado. Parte II. Compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos.** Química Nova, v. 23, p. 195-203, 2000.

FLAMENT. I. **Coffee Flavor Chemistry.** England: John Wiley and Sons LTD, 2002.

FRASCARELIA, E. C.; SILVA, V. M.; TONON, R. V.; HUBINGERA, M. D. **Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying.** Food and Processing Bioproducts , v 90, n. 3, p. 413-424, 2012.

FRASCARELI, E. **Microencapsulação de óleo de café através de secagem por atomização: avaliação das propriedades da emulsão e do tipo de material de parede sobre as características do pó.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, 2010.

FREIBERGER, E. B. **Nanocápsulas de poli(L-ácido láctico) contendo óleo de café torrado.** Dissertação de Mestrado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013.



FUCHSBAUER, H.L.; GERBER, U; ENGELMANN, J.; SEEGER, T.; SINKS, C.; HECHT, T. **Influence of gelatin matrices cross-linked with transglutaminase on the properties of an enclosed bioactive material using P-galactosidase as model system.** *Biomaterials*, p. 1481-1488, 1996.

GOUIN, S. **Microencapsulation:** industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science & technology*, v. 15, n. 7, p. 330-347, 2004.

HOFMANN, T.; SCHIEBERLE, P. **Chemical Interactions between Odor-Active Thiols and Melanoidins Involved in the Aroma Staling of Coffee Beverages.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 50, p. 319-326, 2002.

JUN-XIA, X.; HAI-YAN, Y.; JIAN, Y. **Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic.** *Food Chemistry*, v 125, n. 4, p. 1267-1272, 2011.

LAMPRECHT, A.; SCHÄFER, U.F.; LEHR, C.M. **Influences of process parameters on preparation of microparticle used as a carrier system for  $\dot{U} - 3$  unsaturated fatty acid ethyl esters used in supplementary nutrition.** *Journal of Microencapsulation*, v.18, n.3, p.347-357, 2001.

LEIMANN, F.V. **Nanopartículas híbridas de polímero natural (phbv)/polímero sintético.** Tese de Doutorado - Universidade Federal de Santa Catarina. SC, 2011.

LEIMANN, F.V. **Microencapsulação de óleo essencial de capim limão utilizando o processo de coacervação simples.** Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina. SC, 2008.

LIU, S.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. **Entrapment of Flaxseed Oil Within Gelatin-Gum Arabic Capsules.** *Jornal da Sociedade da American Oil Chemists*, v. 87, n. 7, p. 809-815, 2010.

LIU, Y.; LIU, X.; WANG, X. **Biomimetic synthesis of gelatin polypeptide-assisted noble-metal nanoparticles and their interaction study.** *Nanoscale Res Lett*, v. 6, n. 22, p. 1-11, 2011.

LORAND, L. **Transglutaminase: Remembering Heinrich Waelsch.** *Neurochemistry International*, v. 40, p. 7-12, 2002.

LUCAS, S.; COCERO, M. J. **Improvement of soluble coffee aroma using an integrated process of supercritical CO<sub>2</sub> extraction with selective removal of the pungent volatiles by adsorption on activated carbon.** *Braz. J. Chem. Eng.* p.197–203, 2006.

MACEDO, J. A.; SATO, H. H. **Propriedades e aplicações da transglutaminase microbiana em alimentos.** Tese de Doutorado – UNICAMP. SP, 2005.

MAJI, T. K.; HUSSAIN, M. R. **Microencapsulation of Zanthoxylum Limonella oil (ZLO) in genipin crosslinked chitosan–gelatin complex for mosquito repellent application.** *Journal of Applied Polymer Science*, v. 111, n. 2, p. 779-785, 2009.

MALVERN. **Malvern Instruments Worldwide.** What Does Polydispersity Mean? Frequently asked question, 2002, p. 1-3. Disponível em: <[http://www.malvern.com/malvern/kbase.nsf/allbyno/KB000792/\\$file/MRK656-01\\_An\\_Introduction\\_to\\_DLS.pdf](http://www.malvern.com/malvern/kbase.nsf/allbyno/KB000792/$file/MRK656-01_An_Introduction_to_DLS.pdf)>

MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. **Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos.** *Química Nova* v. 22 n. 2, 1999.

OLIVEIRA, A. L.; CABRAL, F. A.; EBERLIN, M. N.; CORDELLO, H. M. A. B. **Sensory evaluation of black instant coffee beverage with some volatile compounds present in aromatic oil from roasted coffee.** v. 29, p. 76-80, 2009.

OLIVEIRA, A. L.; CRUZ, P. M.; EBERLIN, M. N.; CABRAL, F. A.; **Brazilian roasted coffee oil obtained by mechanical expelling: compositional analysis by GC–MS.** *Ciênc. Tecnol. Aliment.* p.677–682, 2005.

OLIVEIRA, A. L. **Extração supercrítica de óleo aromático de café torrado**. 2001. 142f. Dissertação de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

PRATA, A. S.; ZANIN, M. H.A.; RÉ, M. I.; GROSSO, C. R.F. **Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelatin-gum Arabic microparticles containing a fluorescent probe plus vetiver essential oil**. Colóides e Superfícies B: Biointerfaces , v 67, n. 2, p. 171-178, 2008.

RAPOSO, J. R.; PINTO, C. S.; NUNES, R. de S. **Desenvolvimento de sistemas microencapsulados contendo óleo essencial de espécies aromáticas da família verbenaceae com ocorrência no semi-árido sergipano para controle larvicida do Aedes aegypti**. Seminário de Pesquisa FAP-SE, 2003.

RÉ, M. I. **Microencapsulação** – em busca de produtos ‘inteligentes’ *Ciência hoje*, v.27, n.162, p. 24-29, 2000.

RINCON, M. A. D. **Fracionamento do Óleo de Café Verde por Destilação Molecular**. Tese de Doutorado - Universidade Estadual de Campinas. SP, 2011.

SAES, M. S. M; NISHIJIMA, M. **Drawback para o café solúvel brasileiro: Uma análise de mercado**. *Revista da Economia Mackenzie*. v. 5, n. 5, 2007.

SHINNAR, R.; CHURCH, J.M. **Predicting particle size in agitated dispersions**. *Ind. Engng Chem*, 52, p. 253-256, 1960.

SIBANDA, W.; PILLAY, V.; DANCKWERTS, M. P.; VILJOEN, A. M.; VUUREN, S. van; KHAN, R. A. **Experimental Design for the Formulation and Optimization of Novel Cross Linked Oilispheres Developed for In Vitro Site-Specific Release of Mentha piperita Oil**. *AAPS PharmSciTech* , v.5, n. 1, p. 128-141, 2004.

SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J., **Analytical Chemistry. An Introduction**, 7.ed. Fort worth: Harcourt College Publishers, 2000

SMITH, F.; MONTGOMERY, R. **The chemistry of plant gums and mucilages.** New York: Reinhold Publishing Corporation, 1959.

TSUKUI, A.; OIGMAN, S. S.; REZENDE, C. M. **Óleo de Grãos de Café Cru: Diterpenos Cafestol e Caveol.** Revista Virtual de Química, 2013.

XING, F.; CHENG, G.; YANG, B.; MA, L. **Microencapsulation of capsaicin by the complex coacervation of gelatin, acacia and tannins.** Journal of Applied Polymer Science, v. 91, n. 4, p. 2669-2675, 2004.