

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MATEUS FERREIRA DE SOUZA

**PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE CHIA ENCAPSULADO  
EM PARTÍCULAS DE ÁCIDO ESTEÁRICO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO  
2014

MATEUS FERREIRA DE SOUZA

**PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE CHIA ENCAPSULADO  
EM PARTÍCULAS DE ÁCIDO ESTEÁRICO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos, do Departamento de Alimentos – DALIM– da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves

Co-orientadora: Prof. Dra. Ailey Aparecida Coelho Tanamati

CAMPO MOURÃO  
2014

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**TERMO DE APROVAÇÃO**

MATEUS FERREIRA DE SOUZA

**PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE CHIA ENCAPSULADO  
EM PARTÍCULAS DE ÁCIDO ESTEÁRICO**

Este trabalho de conclusão de Curso (TCC) foi apresentado no dia 11 de agosto de 2014, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos 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. Paulo Henrique MarçoProf.

---

Dra. Stéphanie Caroline Beneti

---

(Orientador) Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves

---

(Coorientadora) Prof. Dra. Ailey Aparecida Coelho Tanamati

Dedico este trabalho a Gerson Benedito de Souza e Margarete Ferreira de Souza, pois sem eles jamais este caminho poderia ter sido percorrido.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus que sempre têm me guiado.

Agradeço a Gerson Benedito de Souza e à Margarete Ferreira de Souza por me ensinarem tudo que precisei saber para conseguir enfrentar a vida.

Agradeço ao meu orientador Dr. Odinei Hess Gonçalves, por me dar a chance de acompanhar suas pesquisas e por ser um grande exemplo dentro de minha estadia na UTFPR, e à Dra. Ailey Aparecida Coelho Tanamati, por sua valiosa contribuição para realização deste trabalho.

Agradeço também à Karine Cristine Kaufmann por me acompanhar em todas as horas e sempre cuidar de mim, e através de nossas diferenças e semelhanças sempre me fortalece como pessoa.

Agradeço a minha “turma”, em especial à Jéssica Thaís do Prado e Ana Gabriela Anthero pela parceria nos trabalhos durante a graduação, à Alini, Rayssa e Marília por sempre escutarem minhas filosofias loucas, a Amanda, Fernanda e Mariana as quais sempre me ajudaram quando isto foi possível.

Agradeço em especial a Jorge L. Sanchez, que além da amizade e companheirismo, sempre me auxiliou no laboratório e na busca de novos livros para nosso acervo de engenharia de alimentos.

Por fim agradeço a todos os exemplos bons e ruins que tive durante a graduação, aos bons por ser algo a basear-me, e aos ruins por nunca repeti-los.

“Diga-me e eu vou ouvir,  
Mostre-me e eu vou entender,  
Envolva-me e eu vou aprender.”  
(Antigo Provérbio Chinês)

## RESUMO

SOUZA, Mateus Ferreira. **Perfil de ácidos graxos do óleo de chia encapsulado em partículas de ácido esteárico**. 2014.31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

A encapsulação de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA, PolyUnsaturatedFattyAcid) é descrita na literatura como uma alternativa para aumentar sua estabilidade durante processamento e armazenamento. Fontes alternativas de PUFAs, como a chia (*Salviahispanica L.*), possuem propriedades promissoras, contudo a encapsulação do seu óleo necessita ser melhor avaliada. Nesse trabalho, óleo de chia foi extraído e encapsulado em micropartículas lipídicas (ácido esteárico como encapsulante) obtidas por homogeneização a quente utilizando ultrassom (120 W, 3 minutos de sonicação). Após liofilização, o perfil de ácidos graxos das partículas foi analisado por Cromatografia Gasosa (padrão interno de tricosanoato de metila) e comparado ao perfil do óleo de chia *in natura*. O óleo *in natura* apresentou elevados teores de ômega-3 e ômega-6, que foram efetivamente encapsulados nas partículas de ácido esteárico.

**Palavras chave:** micropartículas sólidas lipídicas (SLM), microencapsulação, aditivos alimentares, ômega-3, ômega-6.

## ABSTRACT

SOUZA, Mateus Ferreira. **Fat acids profile of chia oil encapsulated in stearic acid particles.**2014.31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

The encapsulation of polyunsaturated fatty acids (PUFA) is described in the literature as an alternative to increase their stability during processing and storage. Alternative sources of PUFAs, such as chia (*Salvia hispanica L.*), have promising properties, but their encapsulation needs further evaluation. In this work, chia oil was extracted and encapsulated in lipid microparticles (stearic acid as encapsulant) obtained using the hot homogenization technique using ultrasound (120 W, 3 min sonication). After lyophilization, the fatty acids profile of the particles was analyzed by Gas Chromatography (methyl tricosanoateas internal standard) and compared to the *in natura* chia oil. The *in natura* oil presented high levels of omega-3 and omega-6 which were effectively encapsulated in the stearic acid particles.

**Keywords:**solid lipid microparticles, SLM, microencapsulation, food additives, ômega-3, ômega-6.



## LISTADE FIGURAS

Figura 1 – Perfil de concentração relativa de tocoferol, dienos e trienos conjugados e produtos de hidrólise em relação à temperatura para o óleo de chia <i>in natura</i> .....	22
Figura 2 – Cromatograma do óleo de chia <i>in natura</i> (antes da encapsulação) .....	23
Figura 3 – Cromatogramas do óleo de chia <i>in natura</i> e das partículas contendo o óleo de chia encapsulado .....	24
Figura 4 – Cromatogramas do óleo de chia não encapsulado e das partículas contendo o óleo de chia encapsulado .....	25
Figura 5 – Imagem de microscopia ótica das partículas contendo óleo de chia.....	26
Figura 6 – Espectros do óleo de chia <i>in natura</i> , das partículas contendo o óleo encapsulado e de partículas de ácido esteárico obtidas sem a adição do óleo de chia .....	27

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentrações de ácidos graxos no óleo de chia <i>in natura</i> (antes da encapsulação) .....	23
Tabela 2 – Recuperação percentual e eficiência de encapsulação do ômega-3 e ômega 6 .....	25

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2	OBJETIVOS .....	12
2.1	OBJETIVO GERAL .....	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	13
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	17
4.1	MATERIAL .....	17
4.2	EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA .....	17
4.3	DEGRADAÇÃO TÉRMICA .....	18
4.4	OBTENÇÃO DAS PARTÍCULAS .....	18
4.5	ESPECTROSCOPIA E MICROSCOPIA ÓPTICA .....	19
4.6	ESTERIFICAÇÃO E CROMATOGRAFIA GASOSA .....	19
4.7	RECUPERAÇÃO E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DE ÔMEGA-3 E ÔMEGA-6 .....	20
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
5.1	DEGRADAÇÃO TÉRMICA .....	22
5.2	PERFIS CROMATOGRÁFICOS .....	23
5.3	CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS .....	26
6	CONCLUSÕES .....	28
7	REFERÊNCIAS .....	29

## 1. INTRODUÇÃO

A opção por adquirir alimentos funcionais tem direcionado o mercado no sentido de ampliar a oferta de produtos acrescidos de ômega-3, antioxidantes, fibras dietéticas e outros componentes com alto valor nutritivo. As sementes da *Salvia hispanica L.* ou chia tem sido estudada principalmente por causa da qualidade de seu óleo (CAPITANI et al., 2012; RODEA-GONZÁLEZ et al., 2012), pois a maior parte de seus constituintes são triglicérides, nos quais ácidos graxos poli-insaturados estão presentes em maiores proporções, como por exemplo, o conteúdo de ácido linolênico (Ômega-3) está entre 60 e 68% (CAPITANI et al., 2012). Os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) tais como o Ômega-3 têm ajudado na redução de triacilglicerol e concentração de colesterol no soro sanguíneo, além disso, apresenta efeito benéfico em relação a doenças coronárias, hipertensão, e desordens inflamatórias, tais como a colite ulcerativa (BORNEO et al., 2007).

Contudo, os ácidos graxos poli-insaturados são suscetíveis à oxidação durante o processamento e armazenamento, resultando em diminuição do valor nutricional e da qualidade sensorial. A encapsulação mostra-se como uma alternativa de proteção destes lipídios contra a oxidação (GÖKMEN et al., 2011) já que através da encapsulação, aditivos reativos, sensíveis ou voláteis como os PUFAs podem tornar-se estáveis. Existem várias metodologias para obtenção de micropartículas ou nanopartículas lipídicas tais como a homogeneização de alto cisalhamento e ultrassom, homogeneização sob alta pressão, homogeneização a quente, homogeneização fria e emulsificação com evaporação de solvente (TAMJIDI et al., 2013; MEHNERT; MÄDER, 2001), cada uma com as suas vantagens e possibilidades para a indústria de alimentos.

No caso do óleo de chia, é preciso determinar a eficiência de encapsulação dos seus principais ácidos graxos, o ômega-3 e o ômega-6, a fim de verificar se ambos são encapsulados nas mesmas proporções na matriz sólida. Além disso, é preciso verificar ainda se as condições de obtenção como a aplicação de ultrassom, podem levar à degradação de algum destes compostos.

## 2.OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Encapsular o óleo de chia em partículas de ácido esteárico.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o óleo de chia a partir das sementes;
- Avaliar a degradação térmica na temperatura em que as partículas são obtidas;
- Caracterizar as partículas em relação ao tamanho e morfologia;
- Comparar o perfil de ácidos graxos do óleo encapsulado com o perfil do óleo antes da encapsulação (*in natura*);

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nos últimos anos a tendência dos consumidores sobre a escolha de alimentos funcionais ou nutracêuticos apresentou um aumento associado principalmente à busca pela saúde e bem estar (MARTÍNEZ et al., 2012). Esta tendência pode ser vista claramente no mercado com o fornecimento de produtos que se distingue pelo seu teor de ômega-3, antioxidantes, fibras dietéticas e outros componentes com alto valor nutritivo, e que podem contribuir para prevenir doenças cardiovasculares, respiratórias, cancerígenas, entre outros (CARRILLO-NAVAS et al., 2012).

A *Salvia hispanica L.* ou chia é nativa da região que se estendia do centro oeste do México até o norte da Guatemala onde foi amplamente utilizada pelos povos nativos para diversos fins, dentre eles a alimentação (MARTÍNEZ et al., 2012; CAPITANI et al., 2012; RODEA-GONZÁLEZ et al., 2012; AYERZA; COATES, 2011). A chia tem sido estudada principalmente por causa da composição de seu óleo (MARTÍNEZ et al., 2012). A chia tem aproximadamente 30g de óleo para cada 100g de semente (MARTÍNEZ et al., 2012), a maior parte dos constituintes de seu óleo são triglicerídeos, nos quais ácidos graxos poli-insaturados estão presentes em maiores proporções (URIBE et al., 2011), como por exemplo, o conteúdo de ácido linolênico (Ômega-3) está entre 60 e 68% (MARTÍNEZ et al., 2012; AYERZA; COATES, 2011; IXTAINA et al., 2011) e o conteúdo de ácido linoleico (Ômega-6) está por volta de 20% (AYERZA; COATES, 2011).

Os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) tais como o Ômega-3 tem ajudado na redução de triacilglicerol e concentração de colesterol no soro sanguíneo. Observou-se seu efeito benéfico em relação a doenças coronárias, hipertensão, arritmia, e desordens inflamatórias, tais como a colite ulcerativa (BORNEO et al., 2007). Contudo, os ácidos graxos poli-insaturados são suscetíveis à oxidação durante o processamento e armazenamento, resultando em diminuição do valor nutricional e da qualidade sensorial. A encapsulação é útil no desenvolvimento de produtos alimentares funcionais através da administração de compostos bioativos, tais como vitaminas, antioxidantes e enzimas (GÖKMEN et al., 2011; GOUIN, 2004). Através da encapsulação, aditivos reativos, sensíveis ou voláteis (ex: Ômega-3 e Ômega-6) podem tornar-se estáveis (GOUIN, 2004). Portanto, a encapsulação mostra-se como uma alternativa de proteção destes lipídios contra a oxidação (GÖKMEN et al., 2011; ZIMET; LIVNEY, 2009).

Existem várias metodologias para obtenção de micropartículas sólidas lipídicas (SLM) tais como a homogeneização de alto cisalhamento e ultrassom, homogeneização à alta pressão, homogeneização quente, homogeneização fria e a emulsificação com evaporação de solvente (TAMJIDI et al., 2013; MEHNERT; MÄDER, 2001).

Na encapsulação utilizando lipídios sólidos como matriz, o processo de cristalização ou recristalização do lipídio reduz a solubilidade do composto a ser encapsulado, levando geralmente à sua expulsão quando em altas concentrações. No caso da incorporação de PUFA's, a cristalização completa do lipídio sólido encapsulante é desfavorecida pela presença do óleo, gerando uma estrutura cristalina menos ordenada ou uma estrutura de um sólido amorfo (TAMJIDI et al., 2013). O método de homogeneização a quente tem a vantagem de não necessitar de solventes orgânicos que poderiam contaminar o produto final. Contudo, a degradação térmica do óleo encapsulado deve ser avaliada com cautela, apesar de o tempo de exposição a temperaturas elevadas ser relativamente curto (MÜLLER, RADTKE; WISSING, 2002).

Vários trabalhos têm mostrado que moléculas de ácido graxo podem ser protegidas da oxidação através da encapsulação. Bornéu et al. (2007) aplicaram ácidos graxos ômega-3 encapsulados em biscoitos recheados com creme, os trabalhos demonstraram que foi possível produzir alimentos fortificados com vida de prateleira estável contendo altos níveis de ômega-3, sem qualquer efeito adverso sobre as propriedades sensoriais.

Carrillo-Navas et al. (2012) observaram boa estabilidade da emulsão contendo óleo de chia como fase orgânica para nanoencapsulação de ácido ascórbico, utilizando a técnica de emulsão dupla (fase aquosa/fase orgânica/fase aquosa) e utilizando Panodan SKD como surfactante solúvel em água e PGPR 90 como surfactante solúvel na fase orgânica. Gökmen et al. (2011) observaram uma redução na termoxidação dos ácidos graxos ômega-3 nanoencapsulados provindos de óleo de linho durante a confecção de produtos de panificação. Partículas manométricas contendo óleo de peixe foram produzidas utilizando a técnica homogeneização à alta pressão (MUCHOW et al., 2009), e apresentaram diâmetro que podem favorecer a absorção no intestino. Os autores comentaram que a encapsulação também minimizou o odor e sabores indesejáveis de peixe.

Rodea-González et al. (2012) produziram micropartículas contendo óleo de chia através da técnica de encapsulação por spray dry, utilizando proteína de soro de leite e polissacarídeo concentrado como matrizes. Este estudo fornece dados importantes sobre a obtenção de emulsões estáveis de óleo de chia em água, que após a secagem por pulverização proporcionam microcápsulas com boa eficiência de encapsulação.

Salminen e colaboradores (2013) produziram nanopartículas contendo óleo de peixe pela técnica de homogeneização à alta pressão, utilizando lecitina de soja como surfactante e taurodeoxicolato de sódio como co-surfactante. Os autores foram capazes de inibir significativamente a oxidação dos lipídios instáveis incorporados (ômega-3) sem a utilização de antioxidantes, somente alterando o comportamento de cristalização da partícula sólida. Além disso, são citados outros estudos relacionados à concepção de encapsulação de compostos bioativos lipofílicos suscetíveis à oxidação que indicam que a encapsulação pode aumentar o tempo de armazenamento dos ácidos graxos ômega-3 em alimentos e permitir a sua suplementação em uma maior variedade de alimentos em concentrações mais elevadas.

Ainda em relação à degradação térmica do óleo encapsulado, esta deve ser avaliada na temperatura de obtenção das micropartículas lipídicas. Técnicas como a espectroscopia ultravioleta-visível tem a vantagem de serem rápidas e baratas, contudo os espectros UV-Vis de óleos degradados apresentam uma variedade de sinais misturados. Isso ocorre devido aos vários compostos formados durante a degradação de óleos comestíveis. Tais sinais podem ser separados entre si através de métodos quimiométricos como a Resolução Multivariada de Curvas (MCR, do inglês *Multivariate Curve Resolution*). Esses métodos possuem a capacidade de recuperar valores de concentração relativa de compostos e seus respectivos espectros puros dentro da amostra (MARÇO et al., 2014). O comportamento térmico de óleos pode ser avaliado em relação a produtos de degradação como dienos e trienos conjugados e outros produtos de hidrólise (GONÇALVES; MARÇO; VALDERRAMA, 2014)

É possível perceber que a proteção de compostos oxidáveis através da encapsulação é uma alternativa promissora, contudo é preciso avaliar se todos os ácidos graxos presentes em um óleo complexo como o caso da chia são encapsulados da mesma forma. É preciso ainda avaliar se o óleo de chia não sofre



degradação devido à temperatura necessária para a encapsulação pelo método de homogeneização a quente.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. MATERIAL

As sementes de chia (app. 200g) foram adquiridas no comércio local. Ácido esteárico (Vetec, 95%) e Tween 80 (Dinâmica, 97%) foram utilizados como lipídio sólido e surfactante na formulação das partículas, respectivamente. Água destilada, fosfato de sódio monobásico e dibásico (Vetec, 99,5%) foram utilizados no preparo da solução tampão, que foi utilizado como fase contínua na produção das partículas. Metanol (Isofar, 99,8%), clorofórmio (Proquimicos, 99,8%), cloreto de amônio (Proquimicos, PA), ácido sulfúrico (Vetec, 95%) foram utilizados na esterificação e brometo de potássio (Sigma-Aldrich, padrão espectrofotométrico) foi empregado nas análises no FTIR. Tricosanoato de metila (C 23:0) (Sigma-Aldrich, padrão cromatográfico) foi utilizado como padrão na cromatografia gasosa. Os padrões utilizados para identificação dos ácidos graxos presentes nas amostras (óleo de chia *in natura* e partículas) na cromatografia gasosa foram: miristato de metila (C 14:0), palmitato de metila (C 16:0), estearato de metila (C 18:0), éster metílico de ácido oleico (C 18:1), éster metílico de ácido elaídico (C 18:1), éster metílico de ácido linoleico (C 18:2), linoleilaidato de metila (C 18:2), linolenato de metila (C 18:3), araquidato de metila (C 20:0) e behenato de metila (C 22:0) (Sigma-Aldrich, F.A.M.E.mix C 14-C 22).

### 4.2. EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA

Primeiramente a umidade das sementes de chia triturada foi determinada através de uma balança com infravermelho (Gehaka, IV2000). A umidade foi corrigida para 80% pela adição de água destilada. Em seguida, a extração foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Bligh&Dyer (1959). Pesou-se 15g de semente de chia triturada e acrescentou-se 30 mL de metanol e 15 mL de clorofórmio sob agitação magnética por 5 minutos. Posteriormente, foram adicionados 15 mL de clorofórmio e agitou-se novamente por 2 minutos; por fim, 15 mL de água foram acrescentados e agitou-se por 5 minutos. A solução foi filtrada em funil de Büchner adicionando-se 10 mL de clorofórmio na torta e agitando-se por 5 minutos e, em seguida, filtrando novamente a torta. Esse procedimento foi realizado duas vezes, com a finalidade de extrair o óleo restante presente na torta. Por fim, o

filtrado foi transferido a um funil de separação e o sistema foi mantido em repouso por 24h, quando a fase orgânica foi separada e evaporada em evaporador rotativo (-400 mmHg e 35°C). O óleo de chia foi armazenado em frasco protegido da luz a -10°C.

#### 4.3. DEGRADAÇÃO TÉRMICA

O objetivo dessa análise é avaliar a degradação do óleo na temperatura em que as partículas serão produzidas (75°C).

As amostras de óleo de chia foram aquecidas da temperatura ambiente até a temperatura de 75°C e alíquotas foram retiradas nas temperaturas de 30, 40, 50, 60, 70 e 75°C. Espectros na região ultravioleta-visível (OceanOptics, Red Tide USB 650 UV) foram obtidos e a formação de produtos de degradação foi avaliada. Os espectros do óleo de chia nessas temperaturas foi avaliado pelo método de Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (MCR-ALS, do inglês *Multivariate Curve Resolution with Alternating Least-Squares*) conforme descrito por Gonçalves, Março e Valderrama (2014). As bandas do espectro recuperado pelo MCR foram atribuídas aos respectivos compostos conforme Valderrama et al. (2011).

#### 4.4. OBTENÇÃO DAS PARTÍCULAS

A obtenção de partículas contendo óleo de chia encapsulado foi realizada pela técnica de dispersão a quente conforme descrito por Gonzalez-Mira et al. (2010) com algumas modificações. A fase aquosa foi preparada dissolvendo-se 0,300 g de Tween 80 em 25 g de solução tampão fosfato (pH = 7,4) e aquecendo a 75°C sob agitação branda. Separadamente, um reator encamisado de borossilicato foi conectado a um banho termostático a 75°C e 0,625 g de ácido esteárico foi adicionado e fundido. O óleo de chia (0,625 g) foi então adicionado ao reator e mantido sob agitação branda por 1 minuto. Em seguida, a fase aquosa foi adicionada ao reator e mantida sob agitação branda por 3 minutos a fim de se formar a macroemulsão da fase lipídica na fase aquosa. A sonicação (Fisher-Scientific – Ultrasonic Dismembrator 120 W com ponta de 1/8”) foi realizada por 3

minutos em regime de pulsos (30 segundos ligada e 10 segundos desligada). A mistura sonicada foi vertida em b quer em banho de gelo para resfriamento e forma o das partículas, o resfriamento ocorre até 40  C, pois a esta temperatura o ácido esteárico está totalmente no estado sólido. Parte da dispersão das partículas foi liofilizada para análise. Partículas foram também obtidas pelo mesmo procedimento, porém sem a adi o do óleo de chia para as análises de FTIR e Cromatografia Gasosa.

#### 4.5.ESPECTROSCOPIA E MICROSCOPIA ÓPTICA

A espectroscopia de infravermelho foi utilizada para avaliar qualitativamente a presença do óleo de chia nas partículas. Para preparar as pastilhas foram adicionados 100 mg de KBr seco e 1 mg de amostra liofilizada (ou do óleo *in natura*). A análise foi realizada em espectrofot metro Shimadzu (IR Affinity-1) de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  com 32 varreduras acumuladas para formar o espectro final. Foram produzidas 3 pastilhas para cada amostra. Imagens das partículas foram obtidas por microscopia  ptica (BIOVAL, L2000A) acoplado a uma câmera digital (DCM130E) utilizando o software ScopePhoto.

#### 4.6.ESTERIFICA O E CROMATOLOGRAFIA GASOSA

A quantifica o dos ácidos graxos nas amostras foi realizada por Cromatografia Gasosa (CG) com o uso de tricosenoato de metila (23:0) como padrão interno de acordo com o método de transesterifica o de Hartman e Lago (1973), descrita em Milinsk (2007). Os  steres met licos de ácidos graxos (EMAGs) foram separados no cromatógrafo e identificados por compara o do tempo de reten o e adi o de padrões (Sigma-Aldrich, F.A.M.E. Mix C14-C22). Foi utilizado um cromatógrafo gasoso (Shimadzu, GC-2010 Plus AF) equipado com injetor capilar Split/Splitless, detector de ioniza o por chama (FID), controlador de fluxo e pressão automáticos e coluna capilar com fase 100% dimetil-polisiloxano, modelo Rtx-1 (30 m X 0,25mm X 0,25 m). Outras condi oes de inje o dos ésteres, bem como os fluxos dos gases (White Martins) de arraste (hidrog nio), do auxiliar (nitrogênio) e os da chama (hidrog nio/ar sint tico) foram realizados conforme Milinsk (2007).

Inicialmente foram adicionados num tubo de ensaio 1000 µL do padrão 1mg/mL em isoctano, sendo o solvente evaporado sob fluxo de nitrogênio. Na sequência, foram pesados entre 20 a 30 mg de óleo, sendo adicionado 4 mL de solução aquosa de NaOH 0,5 mol/L em metanol, agitando-se por 30 segundos e aquecido em refluxo por 5 minutos. Posteriormente, foram adicionados 5,0 mL do reagente de esterificação, e a mistura foi agitada por 30 segundos e novamente aquecida em refluxo por mais 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 4mL de solução saturada de NaCl e agitação por 30 segundos. A fase orgânica foi coletada, o solvente evaporado em evaporador rotativo e o resíduo foi removido sob fluxo de nitrogênio gasoso. Os ésteres metílicos foram solubilizados em n-heptano para posterior injeção no cromatógrafo gasoso. As transesterificações foram realizadas em triplicata.

#### 4.7.RECUPERAÇÃO E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DE ÔMEGA-3 E ÔMEGA-6

A recuperação percentual (Rec%) de ácidos graxos é definida como a relação entre a quantidade adicionada (teórica) e a quantidade realmente presente ao final da encapsulação, avaliando possíveis perdas durante o processo. Para tanto, a dispersão das partículas em água foi liofilizada e uma alíquota de 20 a 30 mg das partículas secas foi esterificada conforme descrito acima. Na Equação 1,  $[AG]_{real}$  é a concentração do ácido graxo total presente nas partículas e  $[AG]_{teórico}$  é a concentração de ácidos graxos adicionado para a obtenção das partículas. Ambas foram determinadas por Cromatografia Gasosa.

$$Rec (\%) = 100 \frac{[AG]_{real}}{[AG]_{teórico}} \quad (1)$$

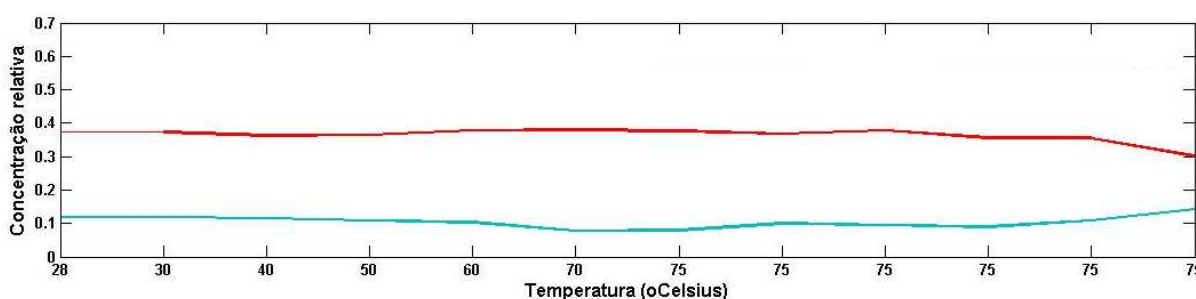
Para o cálculo da eficiência de encapsulação (EE%, Equação 2), uma alíquota da dispersão de partículas foi filtrada em filtros Amicon (100 kDa de diâmetro de corte) utilizando uma centrífuga de eppendorf (Minispin Eppendorf) a 14500 rpm por 15 min. O líquido filtrado contendo os ácidos graxos não encapsulados foi pesado e esterificado conforme descrito anteriormente. Na Equação 2,  $[AG]_{real}$  é a concentração do ácido graxo total presente nas partículas e  $[AG]_{não\ encapsulado}$  é a concentração de ácido graxo que atravessou o filtro, ou seja, não foi encapsulado nas partículas.

$$EE(\%) = 100 \frac{[AG]_{real} - [AG]_{não\ encapsulado}}{[AG]_{real}} \quad (2)$$

## 5.RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. DEGRADAÇÃO TÉRMICA

A Figura 1 apresenta os dados de degradação térmica do óleo de chia *in natura* (antes da encapsulação) em relação ao aquecimento. Os dados foram obtidos através dos espectros do óleo de chia nas temperaturas de 28, 30, 40, 50, 60, 70 e 75 °C e posteriormente obteve-se espectros ao longo do tempo mantendo o óleo de chia à 75 °C durante 2 horas. Os dados obtidos foram avaliados pelo método de Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (MCR-ALS, do inglês *Multivariate Curve Resolution with Alternating Least Squares*) (Valderrama et al. 2011).



**Figura 1 - Perfil de concentração relativa de (—) tocoferol, dienos e trienos conjugados e produtos de hidrólise (—) em relação à temperatura para o óleo de chia *in natura*.**

Vale ressaltar que a preocupação com a degradação do óleo existe porque o método de encapsulação escolhido necessita de aquecimento e o óleo de chia é rico em ácidos graxos insaturados. Foi possível determinar a presença de tocoferol (IXTAINA et al., 2011) e que sua concentração iniciou a decair após aquecimento a 75°C por duas horas. Também foi detectada a formação de produtos de degradação dienos e trienos conjugados e produtos de hidrólise (VALDERRAMA et al., 2011), apenas no último ponto experimental, ou seja, após a amostra ser aquecida a 75°C por duas horas, Valderrama et al. (2011) também detectou a formação de produtos de degradação em óleo vegetais. Levando em conta que o óleo de chia permanece aquecido por aproximadamente 7 minutos, os dados demonstram que não ocorre degradação apreciável do óleo de chia durante o procedimento de obtenção das micropartículas.

## 5.2. PERFIS CROMATOGRÁFICOS

Óleo de chia in natura. O cromatograma do óleo de chia antes da encapsulação (*in natura*) é apresentado na Figura 2. As concentrações dos ácidos graxos (AG) identificados são apresentados na Tabela 1.

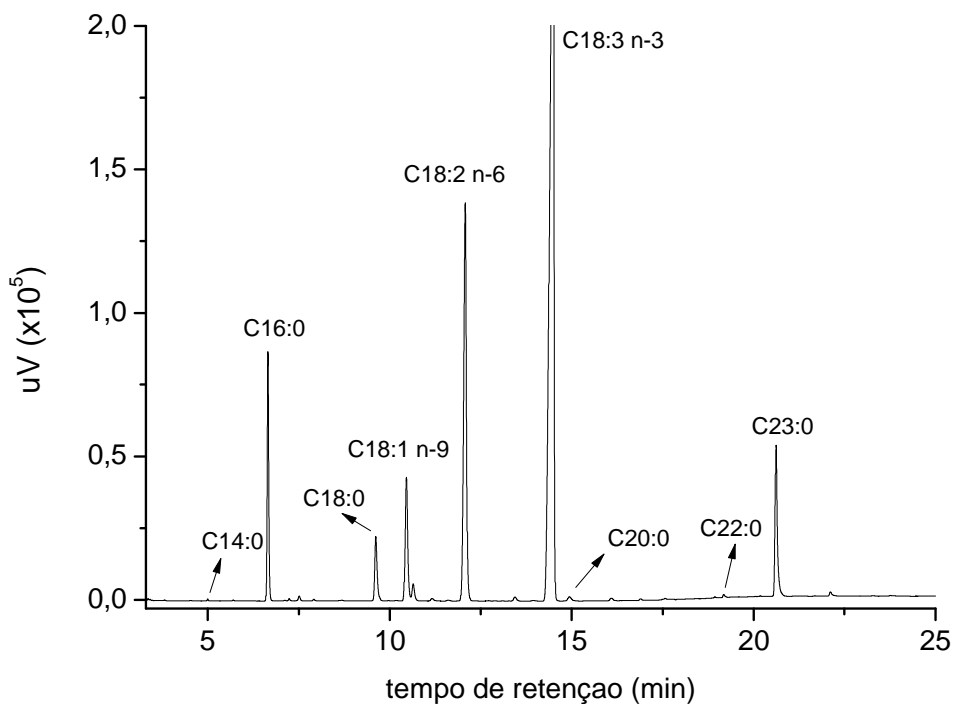


Figura 2 - Cromatograma do óleo de chia *in natura* (antes da encapsulação).

Tabela 1 – Concentrações de ácidos graxos no óleo de chia *in natura* (antes da encapsulação).

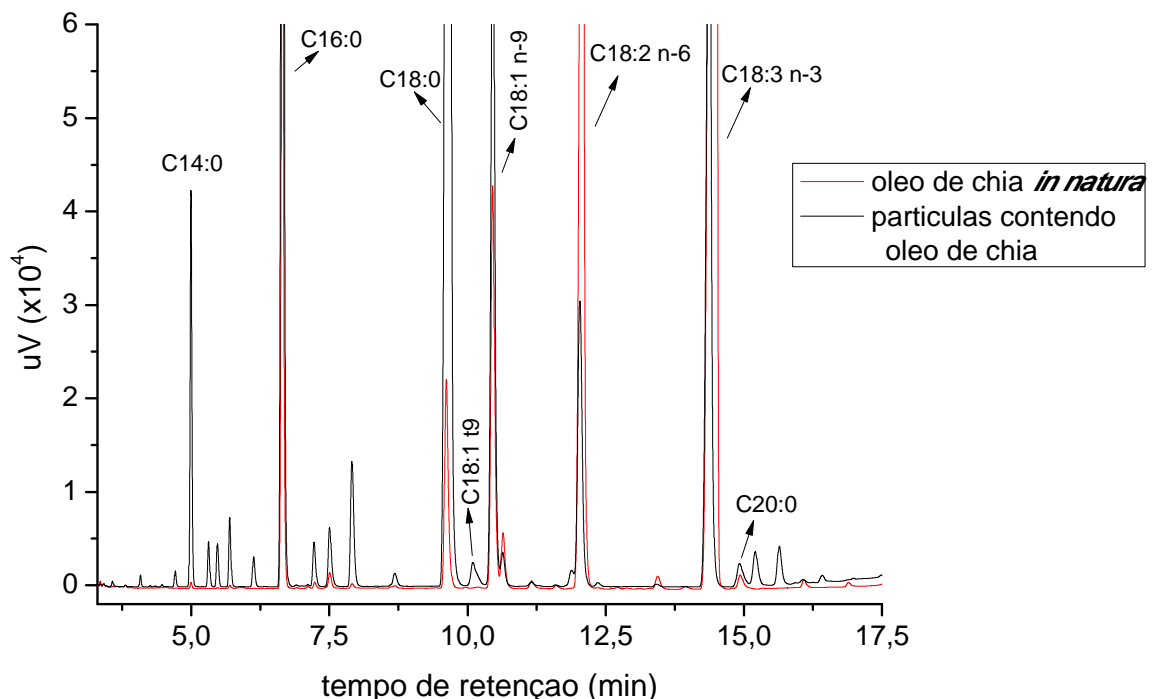
Ácido graxo	Concentração (mg <sub>AG</sub> /g <sub>óleo</sub> )
C14:0	0,1 ± 0,0
C16:0	12,3 ± 1,0
C18:0	4,9 ± 0,4
C18:1 n-9	9,2 ± 0,1
C18:2 n-6	33,1 ± 2,1
C18:3 n-3	107,2 ± 10,6
C20:0	0,4 ± 0,0
C22:0	0,1 ± 0,1
C23:0 <sup>†</sup>	-

<sup>†</sup> padrão interno (tricosanoato de metila).



A extração do óleo das sementes de chia resultou em um rendimento de 19,8%. É possível observar na Figura 2 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. Como esperado, as sementes de chia possuem altas concentrações de ômega 3 e 6, sendo consideradas fontes valiosas desses ácidos graxos insaturados. A concentração de ômega-3 encontrada foi em torno de 64% em relação ao total de ácidos graxos, resultado condizente com o descrito na literatura (CAPITANI et al., 2012).

Encapsulação do óleo de chia. As Figuras 3 e 4 apresentam os perfis de ácidos graxos das partículas liofilizadas contendo óleo de chia e o perfil de ácidos graxos não encapsulados, respectivamente. O cromatograma do óleo de chia antes da encapsulação é rerepresentado para melhor comparação. Os valores de recuperação percentual (Rec%) e eficiência de encapsulação (EE%) para o ômega-3 e ômega-6 são apresentados na Tabela 2.



**Figura 3 – Cromatogramas do óleo de chia *in natura* (vermelho) e das partículas contendo o óleo de chia encapsulado (preto).**

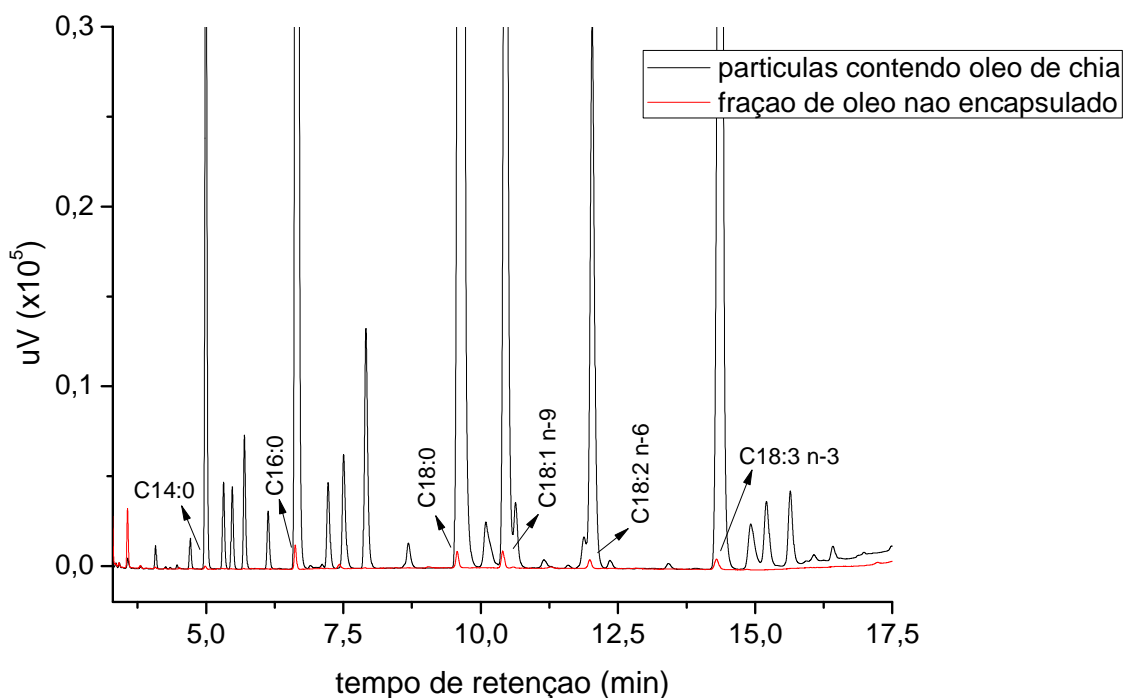


Figura 4 – Cromatogramas do óleo de chia não encapsulado (vermelho) e das partículas contendo o óleo de chia encapsulado (preto).

Tabela 2 – Recuperação percentual e eficiência de encapsulação do ômega-3 e ômega-6.

Ácido graxo	Recuperação(Rec%)	Eficiência de Encapsulação(EE%)
C18:3 n-3(ômega-3)	98,6 ± 1,1	82,1 ± 0,3
C18:2 n-6 (ômega-6)	98,4 ± 1,6	64,6 ± 1,8

É possível observar (Figura 3) que os picos referentes ao ômega-3 e ômega-6 estão presentes nas partículas, contudo em menor intensidade já que estas são compostas por ácido esteárico (encapsulante) e óleo de chia na proporção 1:1 (m:m). No cromatograma das partículas contendo o óleo de chia (Figura 4), o pico do ácido esteárico (C18:0) apresentou-se bem pronunciado, assim como ocorreu o aparecimento de picos de ácidos graxos não identificados, provavelmente impurezas contidas no ácido esteárico utilizado como encapsulante. A recuperação percentual de ômega-3 e ômega-6 apresentou valores altos, comprovando que não ocorreu perda desses compostos durante a obtenção das partículas, quer seja por degradação devido ao aquecimento a 75°C ou pela aplicação do ultrassom. Esse resultado indica que a técnica utilizada é interessante na obtenção de partículas lipídicas contendo ácidos graxos insaturados.

A eficiência de encapsulação foi maior para o ômega-3 do que para o ômega-6, o que pode estar relacionado com a conformação molecular dos ácidos graxos no interior das partículas. Devido ao menor número de insaturações, o ômega-6 possui estrutura molecular menos compacta, o que pode prejudicar sua estabilização dentro da estrutura semi-cristalina do ácido esteárico.

### 5.3.CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS

A Figura 5 apresenta as imagens de microscopia ótica das partículas contendo o óleo de chia e na Figura 6 são apresentados os espectros de infravermelho do óleo de chia, das partículas contendo o óleo encapsulado e de partículas obtidas sem a adição do óleo de chia. Os espectros foram normalizados a fim de possibilitar a comparação.

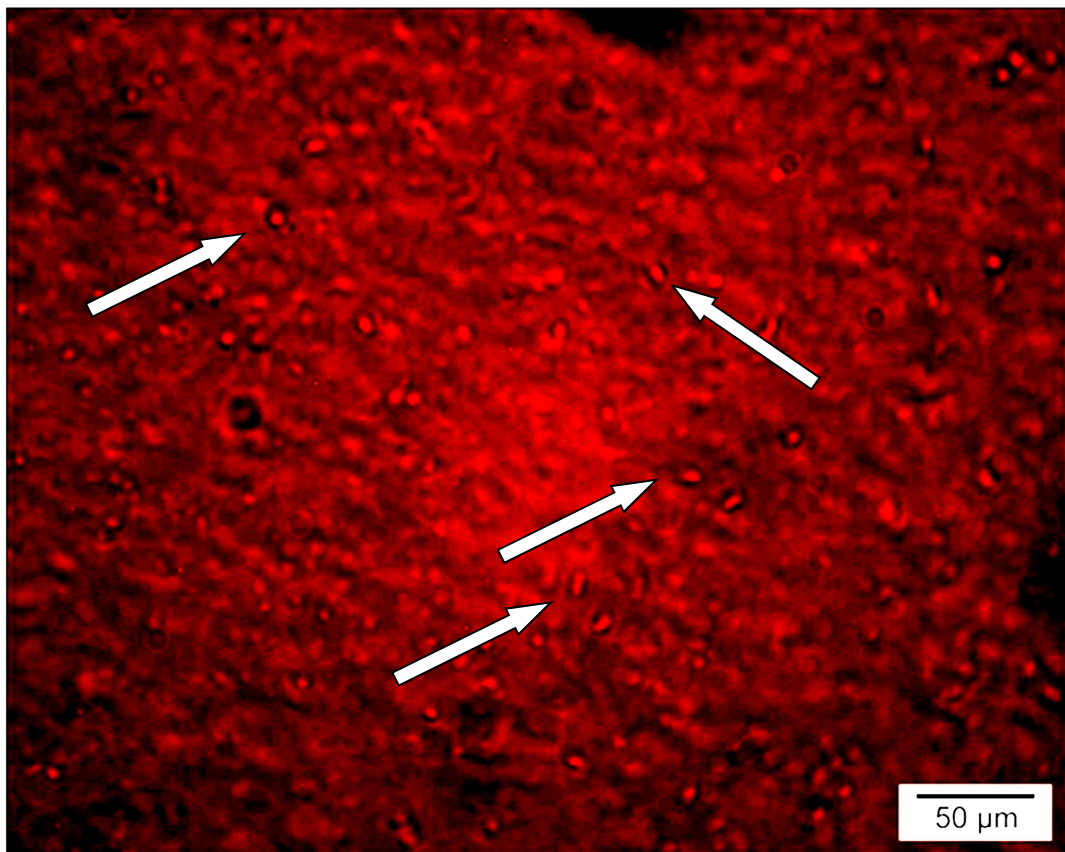
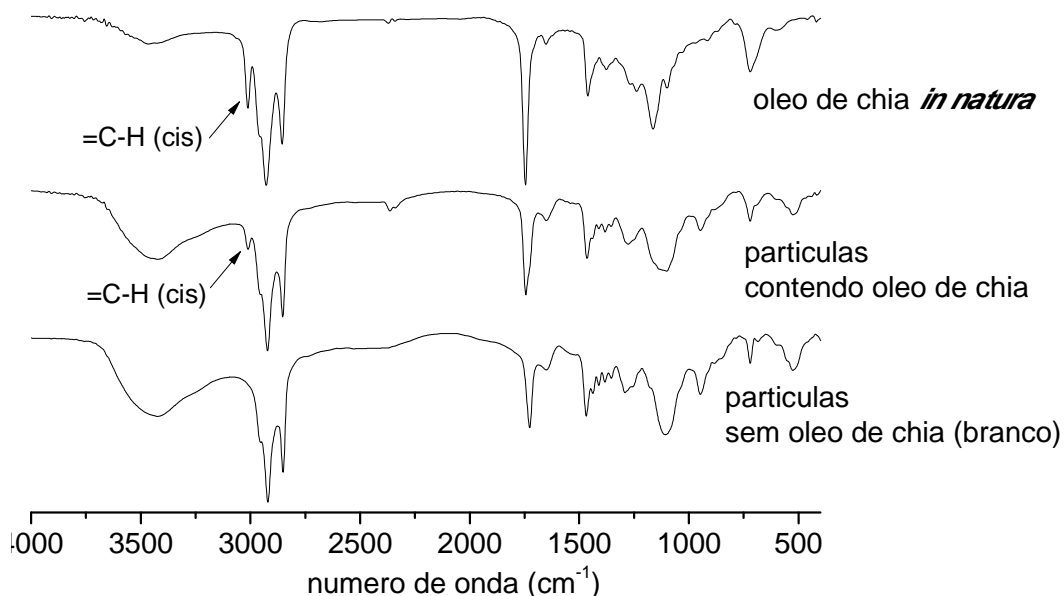


Figura 5 - Imagem de microscopia ótica das partículas contendo óleo de chia.



**Figura 6 – Espectros (Transmitância) do óleo de chia *in natura*, das partículas contendo o óleo encapsulado e de partículas de ácido esteárico obtidas sem a adição do óleo de chia.**

Apesar do baixo aumento utilizado, é possível perceber que as partículas possuem tamanhos da ordem de 5 a 10 micrômetros, o que é esperado devido ao baixo tempo e potência de sonicação aplicados. O espectro de FTIR do óleo de chia apresentou a banda de absorção em 3010 cm<sup>-1</sup> característico do estiramento da ligação =C-H (VIDAL et al., 2014). Essa banda em particular é de interesse, pois o encapsulante utilizado não apresenta insaturações na cadeia carbônica. Essa banda está presente também nas partículas, contudo com menor intensidade, sugerindo que o óleo esteja localizado no interior das partículas de ácido esteárico. Esse resultado corrobora aqueles obtidos por cromatografia gasosa, indicando que a técnica de encapsulação foi eficiente em encapsular o óleo de chia.

## 6. CONCLUSÕES

Óleo de chia foi extraído e encapsulado em partículas micrométricas de ácido esteárico. O método de Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (MCR-ALS, do inglês) foi aplicado comprovando que não ocorreu degradação térmica do óleo de chia na temperatura e tempo utilizados na encapsulação. Apesar da baixa resolução das imagens de microscopia ótica, foram observadas partículas de tamanhos micrométricos. As análises de cromatografia gasosa e FTIR demonstraram que o óleo foi efetivamente encapsulado nas partículas e que a técnica de dispersão a quente é promissora para a encapsulação de óleos vegetais e ácidos graxos. A eficiência de encapsulação foi maior para o ômega-3 do que para o ômega-6, possivelmente devido à conformação molecular favorável causada pelas ligações carbono insaturadas do ômega-3.

## 7. REFERÊNCIAS

AYERZA, Ricardo; COATES, Wayne. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). **Ind. Crops Prod.** v. 34, n. 2, p. 1366–1371, Sep. 2011.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology.** V. 37, n.8, p. 911-917, 1959.

BORNEO, R.; KOCER, D.; GHAI, G.; TEPPER, B.; J. KARWE, M. V. Stability and consumer acceptance of long-chain omega-3 fatty acids (eicosapentaenoic acid, 20:5, n-3 and docosahexaenoic acid, 22:6, n-3) in cream-filled sandwich cookies. **J. Food Sci.** v. 72, n. 1, p. S049–54, Jan. 2007.

CAPITANI, M. I.; SPOTORNO, V.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. **LWT - Food Sci. Technol.** v. 45, n. 1, p. 94–102, Jan. 2012.

CARRILLO-NAVAS, Hector; CRUZ-OLIVARES, Julian; VARELA-GUERRERO, Victor; ALAMILLA-BELTRÁN, Liliana; VERNONCARTER, Eduardo J.; PÉREZ-ALONSO, César. Rheological properties of a double emulsion nutraceutical system incorporating chia essential oil and ascorbic acid stabilized by carbohydrate polymer – protein blends. **Carbohydr. Polym.** v. 87, n. 2, p. 1231–1235, 2012.

GÖKMEN, Vural; MOGOL, Burçe A.; LUMAGA, Roberta B.; FOGLIANO, Vincenzo; KAPLUN, Zoya; SHIMONI, Eyal. Development of functional bread containing nanoencapsulated omega-3 fatty acids. **J. Food Eng.** v. 105, p. 585–591, 2011.

GONÇALVES, Rhayanna P.; MARÇO, Paulo H.; VALDERRAMA, Patrícia. Thermal edible oil evaluation by UV–Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry.** n. 163, p. 83-86, 2014.

GONZALEZ-MIRA, E.; EGEE, M. A.; GARCIA, M.L.; SOUTO, E.B. Design and ocular tolerance of flurbiprofen loaded ultrasound-engineered NLC. **Journal of Colloids and Surfaces B: Bio interfaces.** v. 81, p. 412421, 2010.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends Food Sci. Technol.** v. 15, n. 7–8, p. 330–347, Jul. 2004.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl from lipids. **Lab. Pract.** V. 22, p. 474-476. 1973.

IXTAINA, Vanesa Y.; MARTÍNEZ, Marcela. L.; SPOTORNO, Viviana; MATEO, Carmen. M.; MAESTRI, Damián. M.; DIEHL, Bernd. W. K.; NOLASCO, Susana. M.; TOMÁS, Mabel. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **J. Food Compos. Anal.** v. 24, n. 2, p. 166-174, Mar. 2011.

MARÇO, Paulo H.; VALDERRAMA, Patrícia; ALEXANDRINO, Guilherme L.; POPPI, Ronei J.; TAULER, Romà. Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. **Química Nova.** *inpress.* 2014.

MARTÍNEZ, Marcela L.; MARÍN, María A.; SALGADO FALLER, Camila M.; REVOL, Juliana; PENCI, María C.; RIBOTTA, Pablo D. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. **LWT -Food Sci. Technol.** v. 47, n. 47, p. 78-82, Jun. 2012.

MEHNERT, Wolfgang; MÄDER, Karsten. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. **Adv. Drug Deliv. Rev.** v. 47, n. 2–3, p. 165–96, Apr. 2001.

MILINSK, M. C. Análise comparativa entre oito métodos de esterificação na determinação quantitativa de ácidos graxos em óleo vegetal. Programa de Pós-graduação em Química. **Departamento de Química do centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá.** Maringá, Nov. 2007.

MUCHOW, M.; SCHMITZ, E. I.; DESPATOVA, N.; MAINCENT, P.; MU, R. H. Omega-3 fatty acids-loaded lipid nanoparticles for patient-convenient oral bioavailability enhancement. pp. 499–504, 2009.

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Adv. Drug Deliv. Rev.** v. 54 Suppl. 1, p. 131–155, Nov. 2002.

RODEA-GONZÁLEZ, Dulce. A.; CRUZ-OLIVARES, Julian; RAMÁN-GUERRERO, Angélica; RODRÍGUEZ-HUEZO, María. E.; VERNON-CARTER, Eduardo. J.; PÉREZ-ALONSO, César. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. **J. Food Eng.** v. 111, n. 1, p. 102–109, Jul. 2012.

SALMINEN, Hanna; HELGASON, Thrandur; KRISTINSSIN, Bjarki; KRISTBERGSSON, Kristberg; WEISS, Jochen. Formation of solid shell nanoparticles with liquid  $\omega$ -3 fatty acid core. **Food Chem.** v. 141, n. 3, p. 2934–43, Dec. 2013.

TAMJIDI, Fardin; SHAHEDI, Mohammad; VARSHOSAZ, Jaleh; NASIRPOUR, Ali. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.** v. 19, p. 29–43, Jul. 2013.

URIBE, Jose. A. R.; PEREZ, Jorge. I. N.; KAUIL, Henry. C.; RUBIO, Gabriel. R.; ALCOCER, Carlos.G. Extraction of oil from chia seeds with supercritical CO<sub>2</sub>. **J. Supercrit. Fluids.** v. 56, n. 2, p. 174–178, Mar. 2011.

VALDERRAMA, P.; MARÇO, P. H.; LOCQUET, N.; AMMARI, F.; RUTLEDGE, D. N. 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.**n.106 p.166-172, 2011.

VIDAL, N. P.; ENCARNACIÓN, G.; MANZANOS, M. J.; GUILLÉN, M. D. Fourier transform infrared spectroscopy as a tool to study farmed and wild sea bass lipid composition. **J Sci Food Agric.** v. 94(7), p 1340-1348, 2013.

WEISS, Jochen; DECKER, Eric. A.; MCCLEMENTS, Decker. J.; KRISTBERGSSON, Kristberg; HELGASON, Thrandur; AWAD, Tarek. Solid Lipid Nanoparticles as Delivery Systems for Bioactive Food Components. **Food Biophys.** v. 3, n. 2, p. 146–154, Mar. 2008.

ZIMET, Patricia; LIVNEY, Yoav. D. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids. **Food Hydrocoll.** v. 23, n. 4, p. 1120–1126, Jun. 2009.