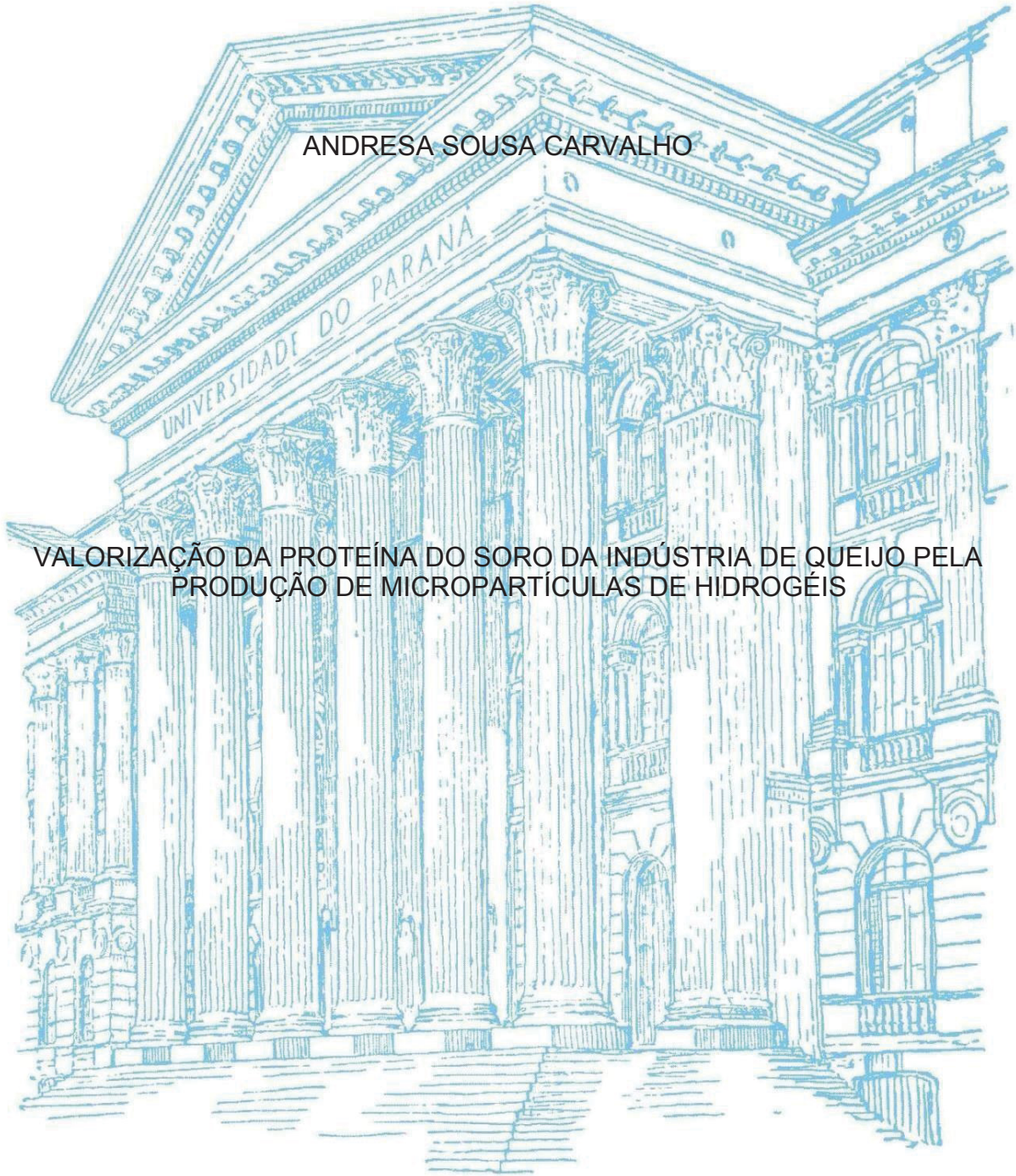


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANDRESA SOUSA CARVALHO

VALORIZAÇÃO DA PROTEÍNA DO SORO DA INDÚSTRIA DE QUEIJO PELA
PRODUÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE HIDROGÉIS



CURITIBA

2020

ANDRESA SOUSA CARVALHO

VALORIZAÇÃO DA PROTEÍNA DO SORO DA INDÚSTRIA DE QUEIJO
PELA PRODUÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE HIDROGÉIS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL), Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Alvaro Luiz Mathias

Coorientadora: Profa. Dra. Regina Maria Matos Jorge

CURITIBA

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE – SIBI/UFPR

C331v

Carvalho, Andresa Sousa

Valorização da proteína do soro da indústria de queijo pela produção de micropartículas de hidrogéis [recurso eletrônico]/ Andresa Sousa Carvalho, 2020.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL), Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Alvaro Luiz Mathias

Coorientadora: Profa. Dra. Regina Maria Matos Jorge

1. Queijo. 2. Leite - proteínas. I. Mathias, Alavro Luiz. II. Jorge, Regina Maria Matos. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 637.3

Bibliotecária: Vilma Machado CRB9/1563



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
ALIMENTOS - 40001016019P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ANDRESA SOUSA CARVALHO** intitulada: **VALORIZAÇÃO DA PROTEÍNA DO SORO DA INDÚSTRIA DE QUEIJO PELA PRODUÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE HIDROGÉIS**, sob orientação do Prof. Dr. ALVARO LUIZ MATHIAS, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Maio de 2020.

Assinatura Eletrônica

28/05/2020 14:18:32.0

ALVARO LUIZ MATHIAS

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

28/05/2020 11:24:18.0

THAISA CARVALHO VOLPE BALBINOTI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO DO SUL)

Assinatura Eletrônica

28/05/2020 20:31:46.0

LUCIANA IGARASHI MAFRA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Francisco Heráclito dos Santos, 100 - Centro Politécnico - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 81531-980 - Tel: (41) 3361-3232 - E-mail: posalim@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 42330

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 42330

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que concedeu a oportunidade e me garantiu forças para enfrentar as dificuldades;

A toda minha família, em especial meus pai, Aldrin e Conceição, por todo apoio, carinho, paciência e incentivo durante essa caminhada. Por todas as inúmeras ligações aos prantos acalentadas com palavras de aconchego e por todas as vezes que não tinha força pra enfrentar os desafios, vocês me ampararam e me deram as suas pra tornar isso possível;

A minha irmã, Juliana, que mesmo com a distância não deixava de me arrancar sorrisos e cuidar de mim, como se fosse a irmã mais velha;

Ao meu orientador e à minha coorientadora, Professor Dr. Álvaro Luiz Mathias e Professora Dr.^a Regina Maria Matos Jorge, respectivamente por todo suporte, orientação, compreensão e ensinamentos;

Aos meus colegas de laboratório pela ajuda e apoio técnico, bem como a companhia;

E em especial aqueles que sempre me estendiam a mão, que tinham um conselho e um abraço nas horas mais difíceis, tornando isso mais fácil e não me deixando desistir;

Ao laboratório Emultec, Central Analítica e Centro de Microscopia e aos técnicos pelos serviços prestados;

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, pelo apoio dado para minha formação;

Agradeço também a CAPES, pela bolsa concedida.

RESUMO

Considerado como um subproduto, o soro do leite é resultante da fabricação de queijos. Um grande volume de efluentes é gerado e pode provocar um imenso impacto ambiental. Para a valorização desse resíduo, diversos produtos podem ser gerados de forma a utilizá-la como matéria-prima aplicando princípios de tecnologia verde. Por exemplo, a recuperação de suas proteínas, podem ser usadas para produzir micropartículas de hidrogéis, que podem ser empregadas nos ramos alimentícios e farmacêuticos. O alginato de sódio (Ca) é um polissacarídeo natural de encapsulamento usado para incorporar aditivos. Ele pode ser substituído pela proteína isolada do soro do leite (WPI, *whey protein isolate*) para gerar partículas ricas em proteína e, eventualmente, mudar as propriedades estruturais finais. A secagem ou o congelamento das hidroesferas podem minimizar sua degradação na forma de hidrogel e, conseqüentemente, aumentar seu tempo de vida de prateleira. Este estudo avalia a viabilidade de substituição parcial (A20%, A40%, A60% e A80%) ou total (A0%) de alginato (A100%) e suas características por TGA, DSC, FTIR-ATR, MEV e EDS. O diâmetro das micropartículas úmidas (3,0-4,0 mm) foi reduzido pela secagem (1,0-2,0 mm). O uso da A0% como material de parede para encapsulação com liberação dirigida era inviável por ter alta friabilidade. Contudo, a adição parcial é viável, embora a esfericidade e a transparência fossem gradativamente reduzidas. A100% perde facilmente sua umidade, o que sugere perda de água superficial e depois de regiões mais internas, com valores superiores (96,5%) ao da A0% e suas associações com média de 17,5%. Similarmente, a variação de massa ($\Delta m_{200-500^{\circ}\text{C}}$) para pirólise foi menor (1,5%) do que as demais (41,9%). A60% parece ser um composto segundo TGA e DSC, contrariando o não acoplamento das biomoléculas previsto pela FTIR-ATR. O congelamento destruiu a parede de contenção das micropartículas A100%, devido ao processo de cristalização da água, sendo assim não recomendado para extensão de sua vida de prateleira. De forma pontual ou por mapeamento, as micropartículas contendo WPI são fonte de aminoácidos tendo, a microanálise confirmou a presença de N, P e S.

Palavras-chave: Queijaria. Valorização de resíduo. Economia circular. Proteína isolada do leite. Hidrogéis.

ABSTRACT

That is considered as a by-product whey is the result of cheese production. A large volume of effluents is generated, causing an environmental impact. For the valorization of this residue, in order to be reincorporated as a raw material of green technology principles. For example, the recovery of its proteins, can be used to produce microparticles of hydrogels, which can be used in the food and pharmaceutical sectors. Sodium alginate (Ca) is a natural encapsulating polysaccharide extracted from brown algae used to modify physicochemical properties, used as an additive in the food and pharmaceutical industries. It can be replaced by whey protein isolate (WPI). The drying or freezing of the hydrospheres can minimize their degradation in the form of hydrogel and, consequently, increase their shelf life. This study evaluates the feasibility of partial substitution (A20%, A40%, A60% e A80%) or total alginate (A100% and A100%) and its characteristics by TGA, DSC, FTIR- ATR, MEV and EDS. The diameter of the wet microparticles (3.0-4.0 mm) was reduced by drying (1.0-2.0 mm). The use of A0% as wall material for encapsulation with directed release was unfeasible because of its high friability. However, partial addition is feasible, although sphericity and transparency were gradually reduced. A100% easily loses its moisture, which suggests loss of surface water and after more internal regions, with values higher (96.5%) than A0% and its associations with an average of 17.5%. Similarly, the mass variation ($\Delta m_{200-500^{\circ}\text{C}}$) for pyrolysis was lower (1.5%) than the others (41.9%). A60% seems to be a composite according to TGA and DSC, contrary to the non coupling of biomolecules predicted by FTIR-ATR. Freezing destroyed the A100% microparticle containment wall due to the water crystallization process, thus not being recommended to extend its shelf life. In a punctual way or by mapping, the microparticles containing WPI are source of amino acids having, the microanalysis confirmed the presence of N, P and S.

Keywords: Cheese factory. Waste valorization. Circular economy. Whey protein isolate. Hydrogels.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	DISTRIBUIÇÃO DAS MICRORREGIÕES DE ACORDO COM A PRODUÇÃO DE LEITE POR ÁREA NA REGIÃO.....	19
FIGURA 2 -	ESTRUTURA MOLECULAR DO ALGINATO	22
FIGURA 3 -	DESENHO ESQUEMÁTICO DO MODELO DE “CAIXA DE OVOS” PARA A FORMAÇÃO DE GEL DE ALGINATO.....	23
FIGURA 4 -	CURVA DE DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA TGA E DTG.....	31
FIGURA 5 -	EVENTOS TÉRMICOS IDENTIFICADOS NA DSC.....	32
FIGURA 6 -	ESPECTROS INFRAVERMELHOS.....	35
FIGURA 7 -	MEV E EDS.....	36
FIGURA 8 -	ESQUEMA DE MICROENCAPSULAÇÃO.....	38
FIGURA 9 -	PerkinElmer TGA.....	40
FIGURA 10 -	PerkinElmer DSC 8500.....	40
FIGURA 11 -	ESPECTRÔMETRO FTIR-ATR.....	41
FIGURA 12 -	MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (TESCAN VEGA3).....	42
FIGURA 13 -	SUORTE COM MICROPARTÍCULAS COBERTAS DE OURO.....	42
FIGURA 14 -	TAMANHO DE MICROPARTÍCULAS.....	46
FIGURA 15 -	TGA DAS MICROPARTÍCULAS NA REGIÃO DE SECAGEM DE 30° - 240°C.....	47
FIGURA 16 -	dTG DAS MICROPARTÍCULAS NA REGIÃO DE SECAGEM DE 30° - 240°C.....	48
FIGURA 17 -	dTG E TGA DAS MICROPARTÍCULAS CALG100% E A0% ENTRE 30° - 240°C.....	48
FIGURA 18 -	OCLUSÃO DE ELEMENTOS NO MODELO “CAIXA DE OVOS” DO ALGINATO.....	49
FIGURA 19 -	TGA DAS MICROPARTÍCULAS ENTRE 240° - 650°C.....	53

FIGURA 20 -	dTGA DAS MICROPARTÍCULAS DE 240° - 650°C.....	53
FIGURA 21 -	DSC DAS MICROPARTÍCULAS.....	59
FIGURA 22 -	DSC DAS MICROPARTÍCULAS A100%, A60%, A0% E DO PRODUTO DE CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO (ÍNDIO).....	59
FIGURA 23 -	CURVAS OBTIDAS PELO MÉTODO DE OZAWA.....	61
FIGURA 24 -	ESPECTROS FTIR-ATR PARA AS MICROPARTÍCULAS.....	62
FIGURA 25 -	MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES EXTERNAS DE MICROPARTÍCULAS DE A100% CONGELADAS (B) OU NÃO (A).....	66
FIGURA 26 -	MICROIMAGEM INTERNA DAS MICROPARTÍCULAS A100%.....	68
FIGURA 27 -	MICROIMAGEM INTERNA DAS MICROPARTÍCULAS A100%.....	69
FIGURA 28 -	MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES EXTERNAS DE MICROPARTÍCULAS DE A0% CONGELADAS (B) OU NÃO (A).....	70
FIGURA 29-	MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A0%.....	72
FIGURA 30-	MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A0%.....	72
FIGURA 31-	EFEITO DO CONGELAMENTO PREVIO OU NÃO NA SUPERFÍCIES DAS MICROPARTÍCULAS A80% E A60% (continua).....	74
FIGURA 31-	EFEITO DO CONGELAMENTO PREVIO OU NÃO NA SUPERFÍCIES DAS MICROPARTÍCULAS A40% E A20%.....	74
FIGURA 32-	AUMENTO DA DENSIDADE INTERNA DE MATÉRIA DEVIDO A SUBSTITUIÇÃO DO ALGINATO PELO WPI.....	76
FIGURA 33-	MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A80%.....	77
FIGURA 34-	MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A60%.....	77

FIGURA 35-	MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A40%.....	78
FIGURA 36-	MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A20%.....	78
FIGURA 37-	TEOR DE CÁLCIO MÉDIO (n=5) ENTRE AS MICROPARTÍCULAS....	80
FIGURA 38-	ESPECTROS A100%.....	80
FIGURA 39-	ESPECTROS A80%.....	81
FIGURA 40-	ESPECTROS A60%.....	81
FIGURA 41-	ESPECTROS A40%.....	82
FIGURA 42-	ESPECTROS A20%.....	82
FIGURA 43-	ESPECTROS A0%.....	83
FIGURA 44-	MAPEAMENTO SUPERFICIAIS DE Ca, O, Cl, Na e C.....	85

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ESTUDOS UTILIZANDO DIFERENTES MATRIZES E MÉTODOS DE MICROENCAPSULAÇÃO.....	26
TABELA 2 - PRINCIPAIS VANTAGENS, DESVANTAGENS E APLICAÇÕES DOS MÉTODOS DE MICROENCAPSULAÇÃO...	27
TABELA 3 - CONCENTRAÇÕES (%) DE WPI E ALGINATO USADAS NA PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS.....	39
TABELA 4 - TAMANHO EM mm DAS MICROPARTÍCULAS.....	45
TABELA 5 - PARÂMETROS TERMOGRAVIMÉTRICOS MICROPARTÍCULAS DE WPI E ALGINATO DE CÁLCIO.....	50
TABELA 6 - TERMOESTABILIDADE DE ALGINATO DE CÁLCIO (continua).....	54
TABELA 6 - TERMOESTABILIDADE DE ALGINATO DE CÁLCIO.....	55
TABELA 7 - TERMOESTABILIDADE DO WPI.....	57
TABELA 8 - PARÂMETROS DSC DAS MICROPARTÍCULAS DE WPI E ALGINATO DE CÁLCIO.....	60
TABELA 9 - VALORES DE E_a DAS MICROPARTÍCULAS.....	61
TABELA 10 - FREQUÊNCIA DE ABSORÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS.....	64
TABELA 11 - PICOS DE VIBRAÇÕES DE AGRUPAMENTOS PARA ALGINATO NO FTIR-ATR.....	64
TABELA 12 - PICOS DE VIBRAÇÕES DE AGRUPAMENTOS PARA WPI NO FTIR-ATR.....	65
TABELA 13 - VALORES DOS PICOS REFERENTES AS VIBRAÇÕES AGRUPAMENTOS.....	65
TABELA 14 - CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM DE A100%.....	80
TABELA 15 - CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A80%.....	81
TABELA 16 - CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A60%.....	82
TABELA 17 - CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A40%.....	82
TABELA 18 - CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A20%.....	83
TABELA 19 - CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A0%.....	83
TABELA 20 - CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM %	84

LISTA DE SIGLAS

- WPI – *Whey Protein Isolate*
- ALG – Alginato
- CaALG – Alginato de Cálcio
- NaALG – Alginato de Sódio
- TGA – Análise Termogravimétrica
- DSC – Calorimetria Diferencial de Varredura
- FTIR – Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier
- ATR – Acessório de Refletância Total Atenuada
- MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
- EDS – Espectroscopia por energia dispersiva

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	16
1.1.	OBJETIVO GERAL.....	18
1.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
2.	REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1.	GERAÇÃO DO WPI NA INDÚSTRIA DE LATICÍNIO.....	19
2.2.	SORO DE LEITE.....	20
2.3.	WHEY PROTEIN ISOLATE.....	21
2.4.	ALGINATO.....	22
2.5.	MÉTODOS DE PRODUÇÃO DE MICROPARTÍCULAS.....	24
2.5.1.	Coacervação.....	28
2.5.2.	<i>Spray-dryer</i>	28
2.5.3.	Liofilização.....	29
2.5.4.	Extrusão.....	29
2.5.5.	Gelificação iônica.....	29
2.6.	SECAGEM E TERMOESTABILIDADE	30
2.6.1.	Análise Termogravimétrica	31
2.6.2.	Calorimetria Diferencial de Varredura	32
2.6.3.	Parâmetros Cinéticos de Secagem.....	33
2.7.	INTERAÇÃO MOLECULAR DE ALGINATO E WPI.....	34
2.8.	MICROMORFOLOGIA E MICROCOMPOSIÇÃO	35
2.8.1.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	35
2.8.2.	Espectroscopia por energia dispersiva (EDS).....	35
2.9.	Contribuição do estudo	37
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.1.	HIDROGELIFICAÇÃO DE ALGINATO E WPI	38
3.2.	ASPECTO DAS MICROPARTÍCULAS	39
3.2.1.	Tamanho das Micropartículas.....	39
3.3.	SECAGEM E TERMOESTABILIDADE	39
3.4.	PARÂMETROS CINÉTICOS DE SECAGEM POR OZAWA.....	41
3.5.	INTERAÇÃO MOLECULAR DE ALGINATO E WPI.....	41

3.6.	MICROMORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS	42
3.6.1.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	42
3.6.2.	Espectroscopia por energia dispersiva (EDS).....	43
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	44
4.1.	ASPECTO DAS MICROPARTÍCULAS	44
4.1.1.	Tamanho das Micropartículas	44
4.2.	SECAGEM E TERMOESTABILIDADE	47
4.2.1.	Secagem das micropartículas	47
4.2.2.	Termoestabilidade	52
4.2.3.	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	58
4.3.	PARÂMETROS CINÉTICOS DE SECAGEM POR OZAWA.....	60
4.4.	INTERAÇÃO MOLECULAR DE ALGINATO E WPI.....	61
4.5.	MICROMORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS (PONTUAL E POR MAPEAMENTO)	66
4.5.1.	Efeito do congelamento na micromorfologia externa e interna das micropartículas	66
4.5.1.1.	Efeito do congelamento na micromorfologia externa de micropartículas de alginato puro	66
4.5.1.2.	Micromorfologia interna de micropartículas congeladas de alginato puro	67
4.5.1.3.	Efeito do congelamento na micromorfologia externa de micropartículas de WPI puro	70
4.5.1.4.	Micromorfologia interna de micropartículas congeladas de WPI puro	71
4.5.1.5.	Efeito do congelamento na micromorfologia de associações das micropartículas	73
4.5.2.	Microanálise pontual das micropartículas.	79
4.5.3.	Microanálise por mapeamento das micropartículas	84
5.	CONCLUSÕES	86
	REFERÊNCIAS.....	87

1. INTRODUÇÃO

Industrialmente os produtos lácteos desempenham papel importante na atividade econômica em muitos países desenvolvidos. As maiores empresas do mundo são Nestlé (sede na Suíça), Danone e Lactalis (sede na França), Fonterra (sede em Nova Zelândia), FrieslandCampina (sede na Holanda), Dairy Farmers of America e Dean Foods (Sede nos EUA), Arla Foods (sede na Dinamarca), Saputo (sede no Canadá) e Yili (sede na China). Embora o Brasil seja o quarto produtor mundial de leite, atrás da Índia, Estados Unidos e Paquistão, a alta demanda nacional e a baixa produtividade justificam a frequente importação desse insumo e de seus produtos industrializados. Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina são os maiores produtores de leite em ordem decrescente de produção (EMBRAPA, 2018), o que revela a importância para o estado do Paraná. Ainda, uma enorme parcela desse leite é destinada a produção de queijos (NICOLÁS et al, 2019). A produção de queijo, gera um grande volume de efluente, soro de leite, com alta carga orgânica que pode ser utilizada na economia circular com a produção de produtos de alto valor agregado (ECKERT et al, 2018).

O soro de leite de queijaria, necessita ser tratado para evitar danos aos corpos hídricos receptores deste efluente. Um produto de alto valor agregado que pode ser recuperado são as proteínas do soro do leite que podem ser isoladas (*whey protein isolate*, WPI) por técnicas de filtração associado a outras operações unitárias (NICOLÁS et al, 2019). Assim, o soro de leite pode ser considerado um subproduto lácteo devido às suas propriedades nutricionais, funcionais e bioativas. O uso da tecnologia enzimática pode ser uma estratégia interessante para converter o soro de leite em produtos de valor agregado. A hidrólise de proteínas de soro de leite pode gerar peptídeos bioativos, descritos para desempenhar efeitos fisiológicos *in vivo*, como atividades antioxidantes, antimicrobiais, anti-hipertensivas e antidiabéticas. Os peptídeos bioativos derivados das proteínas do soro de leite também foram associados a atividades imunomoduladoras, anticancerígenas, opioides e hipocolesterolêmicas (BRANDELLI et al, 2015).

No uso direto, o WPI pode ser um substituto do alginato para produção de hidrogéis (CENDON et al., 2017) para microencapsulação. A microencapsulação pode ser definida como um processo alternativo de aprisionamento de células em uma membrana encapsuladora, o qual é denominado material de revestimento ou de parede (MARTÍN et al., 2015). Substâncias também podem ser encapsuladas nesses materiais de parede. Assim, essa tecnologia tem sido desenvolvida para serem aplicados em distintos ramos industriais, como farmacêutica, de cosméticos, química, agrícola e de alimentos, com crescente elaboração de vacinas, protetores solares, pesticidas agrícolas e aditivos alimentares, entre outros (CHAMBI et al., 2008). A seleção do método de microencapsulação é estabelecida de acordo com as aplicações e os parâmetros do processo, como propriedades físico-químicas do revestimento e dos materiais do núcleo, tamanho de partícula, mecanismos de liberação e custo do processo (SUN; CAMERON; BAI, 2019).

Neste sentido, estudos de recuperação e do emprego de WPI como material de parede têm sido relatados, principalmente para conter probióticos (RAJAM et al, 2012; ETCHEPARE et al, 2020). Seja para substituição completa ou parcial do alginato como material de parede. O alginato é extraído das paredes celulares das algas marrons e é comercializado na forma de sódio. Sua gelificação com íons cálcio tem sido preferida para produção de material de parede para encapsulamento por ser atóxico, biocompatível e relativamente barato (SUN; CAMERON; BAI, 2019). Contudo, o alginato possui baixa capacidade emulsificante, baixa resistência mecânica, tamanho grande de poros e perdas de biomoléculas encapsuladas (DÉAT-LAINÉ et al., 2012; VOLIĆ et al., 2018).

A hidrogelificação do alginato de cálcio utiliza duas soluções aquosas, uma de alginato de sódio e outra de cloreto de cálcio, ou outro sal deste cátion. Assim, materiais hidrofóbicos precisam ser adequados para criar uma mistura miscível com o alginato, por exemplo proteínas do soro do leite (VOLIĆ et al., 2018).

Dentro deste contexto, o emprego de WPI pode possibilitar a independência de importação por países não produtores de alginato. Aditivamente, evitando a emissão e gases de efeito estufa e outros poluentes

no transporte desnecessário de uma matéria-prima que teria substituta (CAMPOS et al, 2019). Ainda, as proteínas do leite do soro, bem como a caseína, têm excelentes propriedades de superfície, pois suas estruturas anfífilas favorecem as interações com compostos hidrofílicos e lipofílicos. Esses biopolímeros auxiliam na estabilidade da estrutura dos hidrogéis devido as suas características de flexibilidade e estado de agregação (ECKERT et al, 2018).

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o emprego de WPI como substituto de alginato para produção de micropartículas de hidrogéis *in natura* e secos. Isto valorizaria o resíduo da indústria de queijaria, a qual vem crescendo de maneira intensa e conquistando cada vez mais espaço no mercado.

1.1. OBJETIVO GERAL

Produzir micropartículas de hidrogéis a partir do resíduo da indústria queijeira, promovendo a valorização deste.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

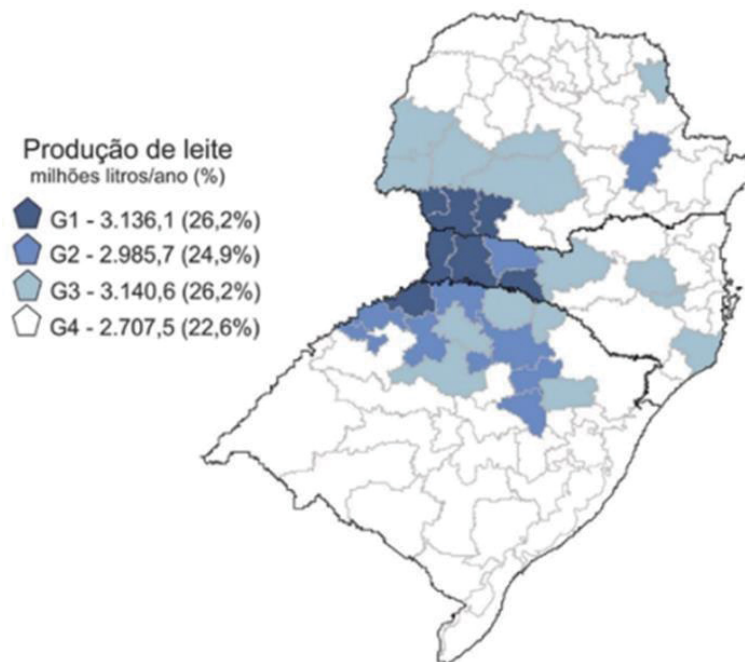
- a. Produzir micropartículas de CaALG ou de WPI e suas associações para substituição parcial ou total de NaALG;
- b. Avaliar o efeito da associação ou não das micropartículas na temperatura de velocidade máxima de secagem;
- c. Examinar a termoestabilidade das diferentes micropartículas;
- d. Verificar se há interações das matrizes do hidrogel com base na vibração atômica de grupamento molecular e da micromorfologia superficial e interna; e
- e. Inferir o efeito da substituição do alginato pelo WPI na distribuição atômica nas micropartículas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. GERAÇÃO DO WPI (*WHEY PROTEIN ISOLATE*) NA INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS

O Brasil é o quarto produtor mundial de leite, embora algumas vezes importe esse insumo. Minas Gerais é o líder brasileiro (26,6%) de produção de leite, seguido por Paraná (14,6%), Rio Grande do Sul (14,0%) e Santa Catarina (9,6%) (EMBRAPA, 2018). Os estados do sul têm sua produção maior na região oeste, embora este insumo seja abundante em todas as regiões (FIGURA 1)

FIGURA 1- DISTRIBUIÇÃO DAS MICRORREGIÕES DE ACORDO COM A PRODUÇÃO DE LEITE POR ÁREA NA REGIÃO.



FONTE: Adaptada de EMBRAPA (2019).

A produtividade de leite da região sul é superior às demais, sendo que Castro (PR) é similar as melhores do mundo, e deve ultrapassar a região Sudeste em breve. O Brasil exporta e importa leite como produto de maior valor agregado, sendo leite em pó (61,5%), queijos (18,8%) e soro de leite em pó (13,9%). No entanto, o Brasil tem condições de aumentar sua produção leiteira e se tornar independente com o desenvolvimento e aplicação de tecnologias nacionais (EMBRAPA, 2019). A produção de queijos (NICOLÁS et al, 2019) gera grande volume de efluente com alta carga orgânica, o que é um problema

ambiental e com tratamento relativamente caro (KISPERGHER et al, 2017). No entanto, a recuperação do WPI pode reintroduzi-lo na cadeia produtiva com aplicação da filosofia de economia circular com a produção de produtos de alto valor agregado (ECKERT et al, 2018), por exemplo, para microencapsulação de compostos e células (MARTÍN et al., 2015; (SUN; CAMERON; BAI, 2019; DÉAT-LAINÉ et al., 2012). Ainda, a microencapsulação é realizada com alginato, uma matéria-prima não gerada no Brasil, mas que pode ser produzida plenamente com WPI, ou pelo menos com a sua substituição parcial pelo WPI.

2.2. SORO DE LEITE

Considerado como um subproduto, o soro do leite é resultante da fabricação de queijos pela fermentação do leite através de ação bacteriana ou ainda pela ação de agentes coagulantes (LUZ, 2016). É considerado um resíduo preocupante devido sua alta taxa de matéria orgânica, principalmente pela lactose e pelas proteínas, o que provoca impacto ambiental ao ser lançado ao meio ambiente sem tratamento (BRASIL,2005).

Durante a produção de queijos, ele representa de 80 a 90% do volume total do leite utilizado, sendo responsável por compor aproximadamente 55% dos nutrientes do leite: proteínas solúveis, lactose, vitaminas, minerais e uma quantidade mínima de gordura (PEREIRA, 2009). Apresenta sabor ligeiramente ácido ou doce, com coloração amarelo-esverdeado e sua composição varia de acordo com a qualidade do leite utilizado e com o tipo de queijo do qual foi originado (BRASIL,2005).

Suas proteínas apresentam altos teores tecnológicos e nutricionais, fazendo com que haja interesse em sua utilização como matéria-prima para fabricação de diversos produtos, entre eles os isolados e concentrados proteicos (LUZ, 2016). Em sua forma original pode ser aplicado para produção de bebidas lácteas. Porém, devido o seu alto teor de água e a finalidade de agregar valor ao produto e a seus derivados, o soro pode ser concentrado. De acordo com o teor de proteína, o produto pode ser classificado, apresentando então, diversas aplicações, como ingrediente alimentício e na produção de medicamentos (ALVES et al, 2014).

2.3. WHEY PROTEIN ISOLATE

A proteína isolada de soro de leite (WPI, *whey protein isolate*) é um subproduto indústria de laticínios. O soro de leite é a porção aquosa do leite que foi coagulado durante a fabricação de queijo, sendo que esta é a fração sólida. O soro de leite apresenta elevado volume, 9 litros para cada de 1 kg de queijo, e rica composição nutricional (ALVES et al, 2014). Diversos nutrientes podem ser usados para obtenção de produtos alimentares; como soro de leite em pó, soro em pó desmineralizado, pó de permeado, lactose de grau alimentício e WPI ou concentrado proteico (WPC) (NICOLÁS et al; 2019). Para a obtenção das proteínas, o processo mais utilizado é a ultrafiltração. Nela, ocorre a permeação de sais e moléculas de açúcar e retenção do WPI; o qual contém mais de 90% de proteína em sua composição. Alternativamente, a permeação pode produzir o WPC, que contém de 35 a 80% de proteínas (LUZ, 2016).

As proteínas do soro são um grupo de biomoléculas recuperáveis (WEN-QIONG et al, 2013), como a Lactoferrina, a β -lactoglobulina, a α -lactalbumina, as imunoglobulinas, a lactoperoxidase e a albumina sérica láctea. Elas têm distintas funcionalidades e, conseqüentemente, grau de interesse específicos (NICOLÁS et al, 2019). Essas proteínas são amplamente utilizadas em indústrias alimentícias e farmacêuticas devido às suas propriedades nutricionais e tecnológicas, como solubilidade, emulsificação, formação de espuma e formação de géis após aquecimento (RAEI et al, 2018; ROSHANGHIAS; MADADLOU, 2018; SOARES, 2018). Por exemplo, apresentam grande capacidade de se ligarem a vários compostos hidrofóbico e anfífilos, como aditivos de sabor, ácidos graxos e vitaminas, e apresentam outras propriedades desejáveis, como o aumento da foto-estabilidade para diferentes ingredientes bioativos (LIU et al, 2016).

A proteína de soro de leite é um dos ingredientes mais usados para formar partículas de biopolímero. As interações entre o WPI e outra matriz podem ser distinguidos em função do pH, da força iônica e da concentração relativa do biopolímero no meio aquoso (FIORAMONTI et al, 2014).

As partículas formadas por WPI podem ser obtidas por meio de gelificação a frio ou por desnaturação térmica. Neste caso, o aquecimento deve ser compatível com as condições de pH e força iônica para que ocorra a desnaturação. Outros métodos são descritos para produção de partículas, como *sprays dryer*, coacervação

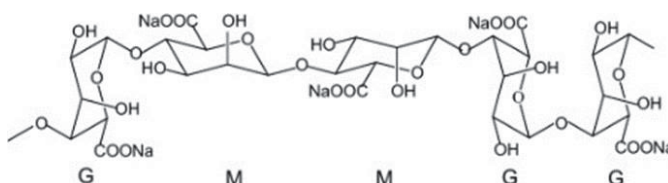
complexa, liofilização, etc. (JOYE; MCCLEMENTS, 2014).

A gelificação a frio de proteínas do soro pode ser potencializada adicionando Ca^{2+} à uma suspensão proteica pré-aquecida. Esta adição forma uma rede com interações. Evocando a gelificação do alginato de cálcio pela associação dimérica de ácido gulurônico e o Ca^{2+} na formação da “caixa de ovo” (BEAULIEU et al, 2002). No entanto, a rede WPI- Ca^{2+} é decorrente das interações de resíduos de aminoácidos e do cálcio e que pode refletir diferentemente nas propriedades de interação com a água de hidratação, termoestabilidade, organização molecular, estrutura morfológica, entre outras. Estes aspectos serão abordados neste estudo seja para os biopolímeros individuais ou da associação alginato de cálcio e WPI com presença de cálcio pela substituição gradativa e quantitativa do primeiro biopolímero. Neste sentido, este trabalho contribui com os estudos com o uso do WPI em união com alginato de sódio para o encapsulamento e melhoramento de hidrogéis com aplicações em alimentos (TAVARES; NOREÑA et al, 2019; WANG et al, 2013), em probióticos (RAJAM et al, 2012), em óleos (SILVA et al, 2016) e em fármacos (DÉAT-LAINÉ et al, 2012).

2.4. ALGINATO

O alginato é um polissacarídeo natural extraído de algas marrons. É comumente usado para modificar propriedades físico-químicas, como reológicas (espessamento), capacidade de ligação à água, de estabilidade emulsificante e formadora de filme (CHING et al, 2015). O alginato de sódio é um copolímero linear com ligações 1,4 entre os ácidos α -L gulurônico (G) e β -D-manurônico (M) (FIGURA 2). Ele forma hidrogéis por interações cruzadas com cátions multivalentes, sendo insolúvel a $\text{pH} < 4$, mas permanece como solução aquosa altamente viscosa e estável entre $\text{pH} 6-9$ (VOLIC et al, 2018).

FIGURA 2 – ESTRUTURA MOLECULAR DO ALGINATO.



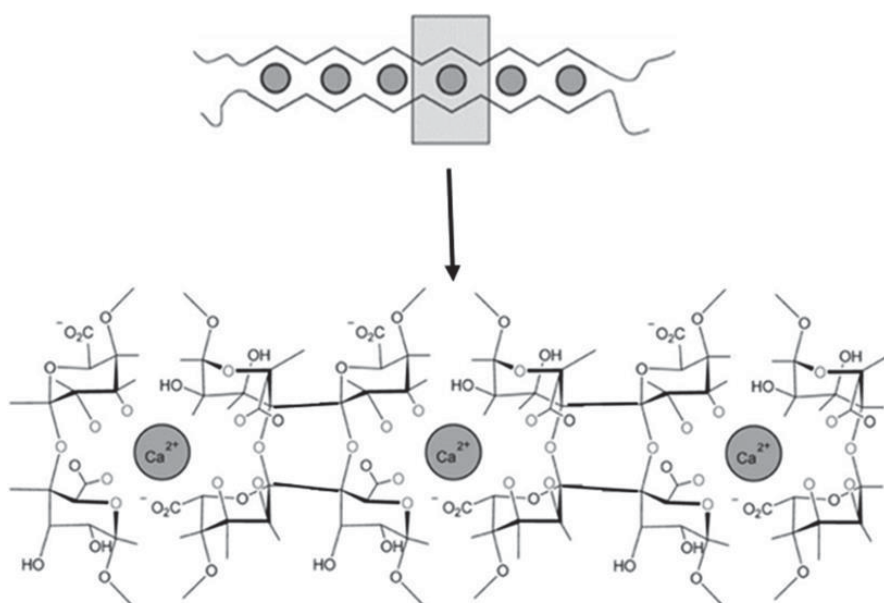
FONTE: Adaptada de YANG; CHIE; HE, 2011.

A relação dos monômeros (M:G) dos blocos de ácido β - D- manurônico (M) e blocos de ácido α - L-gulurônico (G) podem variar ao longo da cadeia. Suas propriedades físicas são influenciadas pela composição, pelo comprimento das sequências e pela sua massa molecular (GOMBOTZ; WEE, 2012).

Sua capacidade de formar géis é fundamental para várias aplicações nas quais o material é utilizado. Suas características dependem da proporção M:G e do número de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas. Os géis são formados na presença de cátions, sendo que a presença de sequências de resíduos gulurônicos facilitando a formação de gel (GOMBOTZ; WEE, 2012).

Os blocos G, de uma forma mais específica, apresentam maior afinidade com os íons cálcio do que os blocos M. Isto influencia torna a estrutura da cápsula mais forte (RAMOS et al, 2018). A interação entre os íons divalentes e os blocos gulurônicos forma a estrutura denominada “modelo caixa de ovos” (FIGURA 3) devido à oclusão de cátions pela estrutura orgânica (MÜLLER et al, 2011). Cátions importantes de reticulação segue uma ordem em relação a força de interação: cátions trivalentes > Pb^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Ba^{2+} > Sr^{2+} > Ca^{2+} . Embora o íon Ca^{2+} não apresente a maior força de interação, é o mais empregado. Essa aceitabilidade pode ser dada pela receptividade do cálcio no corpo humano e a formação adequada a partir entre alginato e cálcio (AGÜERO et al, 2017).

FIGURA 3 – DESENHO ESQUEMÁTICO DO MODELO DE “CAIXA DE OVOS” PARA A FORMAÇÃO DE GEL DE ALGINATO.



FONTE: Adaptada de LEICK et al, 2010.

As partículas de gel apresentam elevado teor de água. Suas propriedades químicas e mecânicas ajustáveis variam de acordo com o tipo de agente de reticulação usados. Como ingrediente natural, as partículas de gel de alginato são úteis para aplicações biológicas, porque são biocompatíveis, atóxicas, biodegradáveis e relativamente baratas (CHING et al, 2015). Assim, diversos estudos tem sido desenvolvidos a partir de micropartículas de alginato para encapsulação de diversas substâncias, como óleos (HOSSEINI et al, 2013; BENAVIDES et al, 2016), liberação controlada (CENDON et al, 2017; VÓLIC et al, 2018); fármacos (MARTÍN et al, 2015), compostos bioativos (ZHANG; ZHANG; MCCLEMENTS, 2016).

2.5. MÉTODOS DE PRODUÇÃO DE MICROPARTÍCULAS

A microencapsulação de pode ser descrita como uma técnica de revestimento de partículas, formando cápsulas, que podem liberar de forma controlada seu conteúdo sob determinadas condições (FÁVARO-TRINDADE, 2008). Os produtos da microencapsulação, as microcápsulas ou micropartículas contêm os bioativos no núcleo estes, são revestidos por materiais de parede. Impedindo assim a difusão molecular e reações químicas por meio de uma barreira física que auxilia no melhoramento da estabilidade e do composto encapsulado (TAGUCHI et al, 2016).

Vários produtos (TABELA 1) têm sido encapsulados em diferentes partículas de biopolímeros combinados ou não com o uso de diferentes operações unitárias (TABELA 2). O WPI e o alginato são biopolímeros que podem ser usados como agente de hidrogelificação associados ou não. A associação de proteínas e polissacarídeos podem conter ingredientes funcionais e serem aditivados para melhorar características de estrutura, textura, estabilidade, sensação na boca, aparência, prazo de validade e liberação controlada (KHALESI et al, 2016). Essas propriedades são frequentemente moduladas pela presença ou não do outro tipo de biopolímeros, como consequência de características intermoleculares e condições da solução (pH, composição iônica e temperatura) que modulam as forças intermoleculares (HARNSILAWAT; PONGSAWATMANIT; MCCLEMENTS, 2006).

As tecnologias de microencapsulação são selecionadas de modo a aumentar a vida útil, facilidade no transporte e comercialização, liberação controlada de fármacos e redução de perdas pós-processamento. A aplicação de micropartículas se baseia no princípio que uma unidade elementar afeta as trocas com o meio através de sua superfície ou, também denominada, membrana. Nesse caso, a membrana é formada por um material de parede que opera como um filme protetor contínuo ou poroso conforme o processo e o agente encapsulante utilizado (SERVAT et al, 2010).

Uma solução de biopolímero é moldada em micropartículas por várias técnicas como *spray drying* (secagem por atomização), *spray cooling* (secagem a frio), gelificação iônica (interna ou externa), liofilização, coacervação, entre outras (MENEZES et al, 2015). De modo geral, a escolha da técnica leva em consideração o material ativo que se deseja encapsular, o agente encapsulante e a aplicação. Vaniski et al (2017) (TABELA 2) relataram esses métodos para microencapsulação de probióticos, ou seja, microrganismos promotores da saúde gastrointestinal.

TABELA 1 – ESTUDOS UTILIZANDO DIFERENTES MATRIZES E MÉTODOS DE ENCAPSULAÇÃO.

Matriz	Material encapsulante	Tipo de Encapsulação	Fonte
<i>L. bulgaricus</i>	Alginato, WPI, transglutaminase	Liofilização	CHEN et al, 2017
<i>L. plantarum</i>	Alginato, WPI, cloreto de cálcio	Liofilização	GBASSI et al, 2009
Extrato de alho	WPI e quitosana	Coacervação complexa	TAVARES; NOREÑA, 2019
Óleo essencial de tomilho	Alginato	Gelificação iônica	BENAVIDES et al, 2016
Jussara (<i>Euterpe edulis Martius</i>)	Alginato, quitosana, WPC, pó de gelatina	Gelificação iônica	CARVALHO et al, 2019
<i>L. rhamnosus</i>	WPI, goma persa e inulina	Liofilização e <i>Spray dryer</i>	MOAYYEDI et al, 2018
Azeite e suco de limão	Alginato, goma arábica, maltodextrina e carboximetilcelulose	Liofilização	SILVA et al, 2013
Óleo essencial de <i>Satureja hortensis</i>	Alginato	Gelificação iônica	HOSSEINI et al, 2013

FONTE: O autor (2020).

TABELA 2 – PRINCIPAIS VANTAGENS, DESVANTAGENS E APLICAÇÕES DOS MÉTODOS DE MICROENCAPSULAÇÃO

Tecnologia	Vantagens	Desvantagens	Aplicações
Coacervação	Técnica versátil, além de maior controle do tamanho das partículas	Aglomerção das partículas, utilização de aldeído no processo	Indústria de alimentos, vitaminas, enzimas, proteínas e medicamentos
<i>Spray drying</i>	Baixo custo, Equipamento e técnica acessível, produção em escala industrial, solubilização instantânea e estabilidade elevada das cápsulas	Micropartículas não uniformes, perda de materiais sensíveis ao calor, como aroma e outros compostos voláteis	Amplamente utilizada na indústria de alimentos, encapsulação de probióticos, indústria farmacêutica e química
Liofilização	Envolve temperaturas baixas, pode utilizar lipídios como material de parede,	Alto custo e longo tempo de processamento	Indústria de alimentos, vitaminas, enzimas, probióticos e medicamentos.
Extrusão	Baixo custo, simplicidade do método, não envolve altas temperaturas, pode ser utilizado em sistema aeróbico e anaeróbico	Método mais trabalhoso, necessita de avanços tecnológicos para produção em escala industrial	Amplamente utilizada na indústria de alimentos
Gelificação iônica	Uso de baixa temperatura e baixo custo	Alta permeabilidade	Indústria farmacêutica e de alimentos

FONTE: Adaptada de VANISKI et al, 2017.

2.5.1. Coacervação

É considerado o método mais antigo e mais simples de encapsulamento com base em suas condições de preparação, baixa agitação e não uso de produtos tóxicos (SARAVANAN; RAO, 2010). Ela é dada através da interação eletrostática entre polímeros com cargas elétricas opostas, promovendo à formação de polímeros complexos com cargas neutras (TAVARES; NOREÑA, 2019).

As micropartículas produzidas por meio dessa técnica são estáveis à alta temperatura e permitem a liberação controlada de componentes (DIMA et al, 2014). Contudo seu processo pode ser afetado pelo pH, força iônica, temperatura e tempo de agitação bem como também, pela carga, densidade, concentração, razão e natureza dos polímeros (TAVARES; NOREÑA, 2019).

2.5.2. *Spray-dryer*

O *spray dryer* é uma operação unitária onde o produto líquido é atomizado por meio de uma corrente de gás quente adquirindo assim um pó. Para esse processo usa-se o ar, normalmente, ou ainda de forma mais ocasional um gás inerte, geralmente o nitrogênio (LAOHASONGKRAM et al, 2011).

Esse método traz como vantagens o baixo custo, a fácil disponibilidade de equipamentos, boa estabilidade do produto e retenção de voláteis, além de uma produção em modo contínuo e em larga escala. Como desvantagens, materiais com baixo ponto de ebulição são perdidos durante o processo e o material encapsulado pode migrar para a superfície, facilitando alterações na micropartícula (MADENE et al, 2006).

Essa operação envolve etapas como a preparação do líquido a ser atomizado, atomização e desidratação (LAOHASONGKRAM et al, 2011). Nessa técnica, a evaporação do diluente, que normalmente é a água, ocorre de forma rápida e o aprisionamento do material é quase que instantaneamente a fim de otimizar o processamento. Por fim, a temperatura de entrada, saída e alimentação devem ser devidamente controlados para que ocorra uma boa

eficiência de microencapsulação (GHARSALLAOUI et al, 2007).

2.5.3. Liofilização

Ela estabiliza os materiais e é uma das técnicas mais apropriada para a secagem de substâncias termossensíveis instáveis em soluções aquosas (MADENE et al, 2006). Ocorre com o uso de quatro operações; congelamento, sublimação, dessorção e armazenamento (EZHILARASI et al, 2013).

Decorre da sublimação da água do estado sólido para o vapor, ou seja, sem passar pela fase líquida. Esse processo é dividido em distintas etapas; como a formação inicial de cristais, propagação dos cristais e recristalização (SALAZAR et al, 2018).

A liofilização apresenta como vantagens o aumento da porosidade, o que facilita a reidratação, contudo sua aplicação é restrita em escala industrial devido ao alto custo de produção (SILVA et al, 2013).

2.5.4. Extrusão

Esse método é dado por um composto volátil disperso em um polímero. Sua extrusão envolve a liberação por meio de uma pipeta ou seringa de calibre reduzido em uma solução de endurecimento, como cloreto de cálcio (SILVA et al, 2014). Essa metodologia depende de temperatura e velocidade de liberação, as quais afetam parâmetros de qualidade, expansão, densidade, textura e retenção de forma significativa (YULIANI et al, 2006).

A vantagem principal dessa técnica é sua prolongada vida útil do produto devido a barreira criada que é impermeável ao oxigênio (SILVA et al, 2014). Já as desvantagens são atribuídas ao tamanho das partículas, consideradas bastante grandes, geralmente de 500 a 1000 μm , o que limita quais os produtos que gerados (GOUIN,2004).

2.5.5. Gelificação iônica

É um método químico altamente recomendado para bioativos hidrofóbicos com base nas interações iônicas entre polímeros de carga oposta ou entre um polímero e um poliânions, A gelificação iônica tem como principal vantagem à praticidade e execução. Também apresenta fácil adaptação de forma e

tamanho, não uso de solventes orgânicos e altas temperaturas e liberação controlada de produtos encapsulados (CARVALHO et al, 2019).

Como desvantagem, apresenta a porosidade da matriz onde ocorre a difusão rápida de fluidos devido a uma gelificação heterogênea (KUROZAWA; HUBINGER, 2017). Essas propriedades podem ser vantajosas em casos específicos, como liberação de fármacos (CENDON et al, 2017). Neste caso, o processo de gelificação é realizado a dispersão de íons do seio da solução para a superfície das gotículas com formação instantaneamente de estruturas de hidrogel que contém o material encapsulado (CENDON et al, 2017; KUROZAWA; HUBINGER, 2017). Outra desvantagem do hidrogel é a possibilidade de perda do ente microencapsulado ser perdido, bem como sua deterioração, o que pode ser minimizado por secagem (GOMBOTZ; WEE, 2012).

2.6. SECAGEM E TERMOESTABILIDADE

A secagem é uma das técnicas de desidratação utilizada para aumentar a conservação de alimentos pela sua redução de umidade. Logo, provoca redução da atividade de água, inibição de atividade de enzimas, inibição do crescimento de microrganismos deteriorantes e redução do volume e massa do produto final. Aditivamente, facilita a conservação e reduz os custos com transporte e armazenamento (BORIN et al, 2008); como foi proposto para a produção de chips de cogumelos, um produto com alta umidade e sem barreiras por tecido biológico intacto (MIMURA et al, 2014).

A operação de tratamento térmico em fornos de bandeja é mais comum para secagem para alimento. A água evapora do produto e aumenta o teor de sólidos para produzir o denominado como mercadoria seca. Nessa operação, ocorre transferência de calor e de massa simultâneas. A energia térmica provoca a evaporação da água da superfície do produto e induz a migração de novas moléculas de camadas cada vez mais internas que também evaporam.

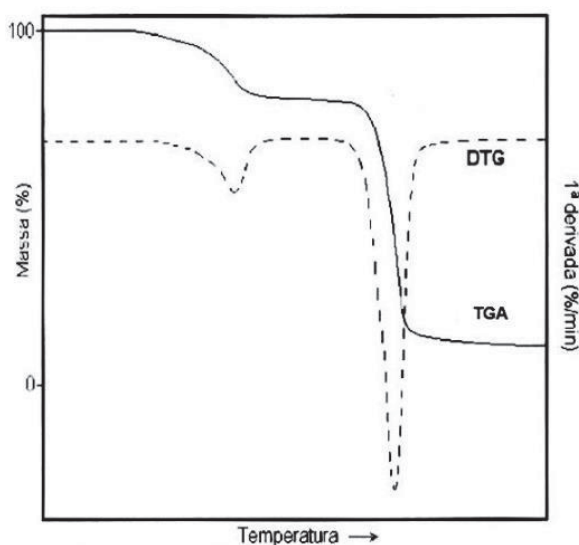
Essa operação é favorecida quando o produto está sob a ação de uma corrente de ar quente e que pode ser previsto por modelagem (PARK; YADO; BROD, 2001). Esse estudo pode ser feito em fornos em escalas laboratoriais, mas a umidade superficial deve ser eliminada cuidadosamente (MIMURA et al, 2014), o que pode ser mais complexo ainda para hidrogéis. Neste sentido, a análise

termogravimétrica (TGA) e a calorimetria diferencial de varredura (DSC ou *Differential Scanning Calorimetry*) são técnicas analíticas que podem contribuir com os fenômenos de transferência de massa e de calor com uso de pequenas massas de amostras (KRISHNASAMY et al, 2019).

2.6.1. Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TGA) é um método quantitativo que acompanha a variação de massa durante a variação de temperatura, geralmente aquecimento e que também pode depender de fatores instrumentais; além das características da amostra (FIGURA 4) (MÜLLER, 2011). Ela pode ser usada para avaliar a cinética de secagem em microescala.

FIGURA 4 - CURVA DE DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA TGA E DTG.



FONTE: Adaptado de ANÁLISES TÉRMICAS (2019).

A perda de massa está relacionada com a estrutura molecular, surgindo devido à evaporação da mistura residual, quando a temperatura é baixa, ou à degradação de polímeros, quando a temperatura é elevada. Neste caso, a perda de massa traduz-se em uma alteração na composição que é característica de cada polímero. Assim, os resultados de massa perdida são obtidos em função da temperatura (CALEFFI, 2014).

A análise termogravimétrica contribui para o conhecimento das alterações provocadas por aquecimento em distintos materiais, orgânicos, inorgânicos, polímeros entre outros e estabelecer o intervalo de temperatura em que esses

materiais adquirem composição química fixa, definida e constante. A medida com que se decompõem é possível então acompanhar as reações de desidratação (perda de umidade), oxidação, combustão, decomposição, etc. Essa interpretação é facilitada pela associação com o uso de sua derivada de perda de massa (dTGA), facilitando a identificação do início, término e ponto onde o fenômeno térmico é mais intenso (PEREIRA, 2013).

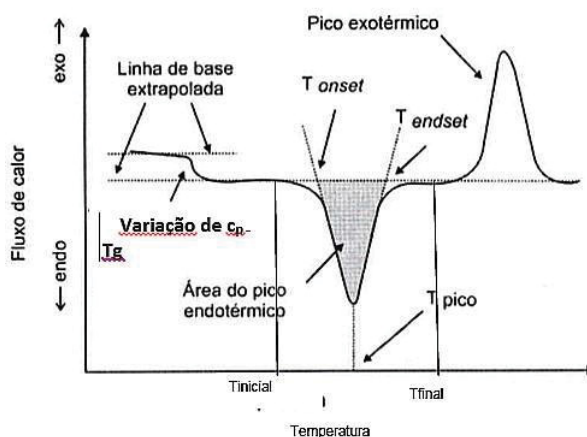
2.6.2. Calorimetria Diferencial de Varredura

É usada para compreender o comportamento de materiais em condições de aquecimento. Dois microcadinhos de alumínio são aquecidos sobre sensores, uma com a amostra e outro microcadinho vazio como referência, e medidos seus fluxos de calor em câmara fechada (FIGURA 5) (KRISHNASAMY et al, 2019).

Esse método apresenta diferentes configurações; uma com compensação de potência e outra com fluxo de calor. Na primeira, a amostra e o material de referência são submetidos ao aquecimento em condições isotérmicas. Assim, os eventos são exibidos como picos endotérmicos (destacado em cinza, FIGURA 5) e exotérmicos (SILVA et al, 2007).

Para a configuração com fluxo de calor, a amostra e o material de referência (ou não) são colocados em microcadinhos idênticos. Eles são apoiados em disco termoelétrico e aquecidos por única fonte de calor. Neste caso, os picos de eventos apresentam posição invertida em relação à anterior. As alterações exotérmicas e endotérmicas são produzidas por fenômenos físicos (fusão, sublimação e transições cristalinas) e químicos (decomposição, combustão) (SILVA et al, 2007).

FIGURA 5 - EVENTOS TÉRMICOS IDENTIFICADOS NA DSC



FONTE: Adaptado de CANEVAROLO JR. (2003).

2.6.3. Parâmetros Cinéticos de Secagem

Um estudo cinético é desenvolvido como base para a determinação de mecanismos de ação. Parâmetros cinéticos das reações de decomposição térmica podem ser determinados por dados termogravimétricos (Souza; Castillo; Rodríguez, 2009).

Ao considerar a mudança da massa é necessário se atentar que a taxa de reação constante na faixa de conversão (α) e dependente somente da temperatura dessa forma:

$$\alpha = \frac{m_0 - m_t}{m_0 - m_f} \times 100 \quad (1)$$

A taxa temporal em reações não isotérmica e isotérmica é denominada como uma função linear ($d\alpha/dt$) que independe da temperatura, assim:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k \cdot f(\alpha) \quad (2)$$

Onde k é uma constante atribuída pela expressão de Arrhenius

$$k = A \cdot e^{-\frac{Ea}{RT}} \quad (3)$$

Substituindo na equação (2)

$$\frac{d\alpha}{dt} = A \cdot e^{-\frac{Ea}{RT}} \cdot f(\alpha) \quad (4)$$

Onde:

$f(\alpha)$ = função de conversão de massa.

Com o aumento da temperatura absoluta com o tempo têm-se uma razão constante de aquecimento, $\beta = dT/dt$.

$$d\alpha/dt\beta = A e^{-\frac{Ea}{RT}} \cdot f(\alpha) \quad (5)$$

Tendo que a forma mais comum para as reações do estado sólido é dado por:

$$f(\alpha) = (1 - \alpha)^n \quad (6)$$

A partir da equação básica (5), ao reorganizar e substituir parâmetros têm-se diferentes modelos matemáticos no qual permite adquirir informações do comportamento dos materiais (ROSA et al, 2019).

Dentre esses modelos podemos destacar o de Ozawa:

$$\ln(\beta) = \ln \left[\frac{(1 - \alpha_p)}{\left(\frac{d\alpha}{dT} \right)_p} \right] + \ln(A) - \frac{Ea}{RT_p} \quad (7)$$

Onde:

A = constante pré-exponencial

Ea = energia de ativação;

R = constante dos gases;

T = temperatura.

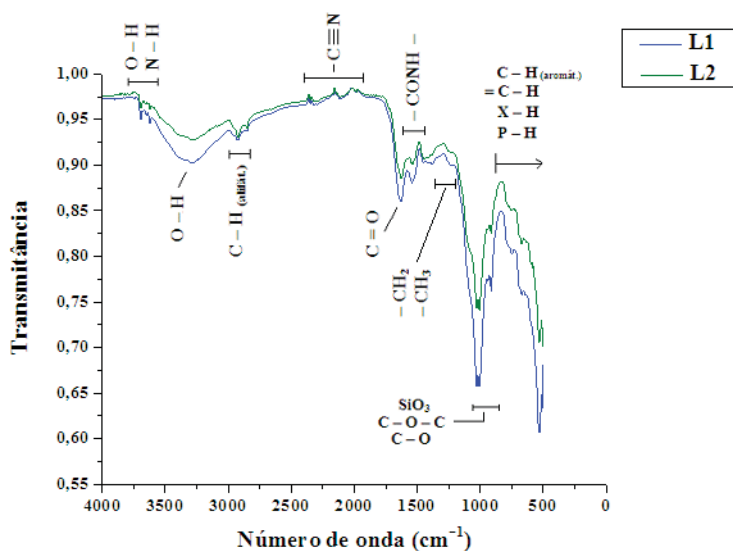
Através desse método é possível obter a energia de ativação (Ea) e o fator pré-exponencial (A) com dados obtidos pela de regressão linear. Sendo a energia de ativação considerada a menor energia requerida para a ativação das moléculas para que haja transformação química ou transporte físico e o fator pré-exponencial a frequência de colisões entre as moléculas (VENKITARAJ; SURESH, 2019).

2.7. INTERAÇÃO MOLECULAR DE ALGINATO E WPI

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é um método de absorção de ondas eletromagnéticas devido a estados vibracionais ou rotacionais de transições moleculares (TOZETTO et al, 2007). A região do infravermelho abrange de 12.800 cm^{-1} a 10 cm^{-1} , sendo que a sub-região do infravermelho médio (MIR) de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} é a mais aplicada (BENETTI, 2014).

Os espectros (FIGURA 6) gerados correspondem a movimentação dos átomos das moléculas que causa mudança na distribuição de cargas (RUSCHEL et al, 2014). Para estudo de microencapsulação, a FTIR é usada para avaliar se o material encapsulado sofreu influência do processo de encapsulação e se a parede foi formada adequadamente (COMUNISTA; FAVARO-TRINDADE, 2016).

FIGURA 6 - ESPECTROS INFRAVERMELHOS.



FONTE: Adaptado de VERAS et al. (2014).

2.8. MICROMORFOLOGIA E MICROCOMPOSIÇÃO

2.8.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Microfeixes de elétrons são projetados na superfície e a reflexão de parte deles são capturados em um sensor que produz imagens com alta ampliação, por exemplo 300 mil vezes (FIGURA 7) (DEDAVID, 2007). Os elétrons são gerados pelo aquecimento de um filamento de tungstênio por efeito termiônico e são projetados por um campo com alto potencial elétrico. O feixe de elétrons passa por lentes condensadoras e objetivas de focagem da amostra (LUIZ et al, 2015).

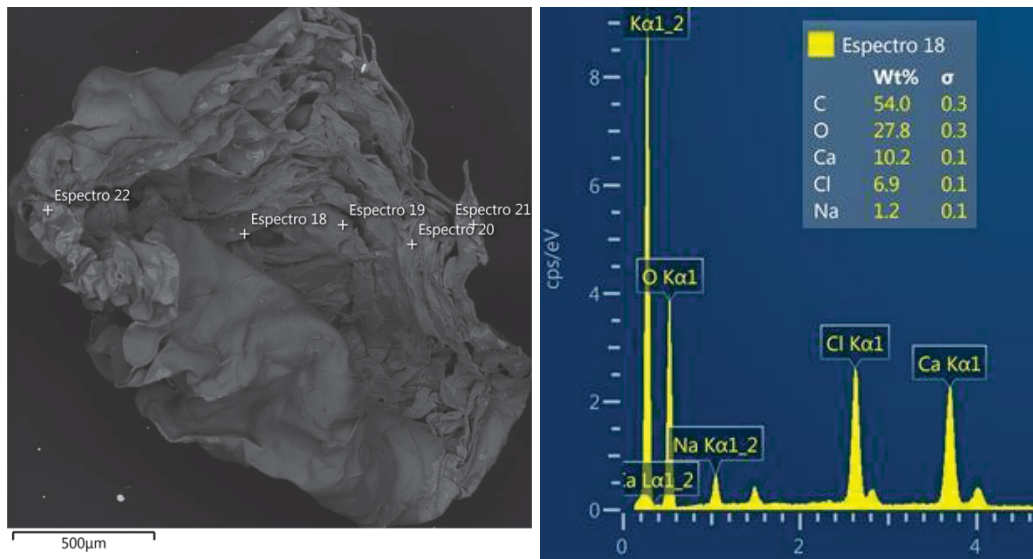
2.8.2. Espectroscopia por energia dispersiva (EDS)

Simultaneamente à MEV, pode ser acoplado à análise EDS a partir de emissão de raios-X. Assim, o EDS pode determinar a composição química de forma qualitativa e semi-quantitativa (DUARTE, et al, 2003). Neste caso, os sinais gerados (elétrons e/ou ondas eletromagnéticas produzidas) na zona de incidência são detectados e utilizados para formar a imagem e realizar microanálise, respectivamente (LUIZ et al, 2015).

Para o EDS, o bombardeamento pelo feixe de elétrons extrair elétrons dos átomos da amostra, deixando-os energeticamente excitado. Para atingir um estado menos energético, o átomo emite energia eletromagnética na região de raios-X para

retornar a seu estado fundamental. Seus fótons são detectados pelo sensor de EDS que identifica o elemento químico, exceto o hidrogênio, e a intensidade, que é correlacionada com a concentração do elemento (DEDAVID, 2007). Deste modo, um histograma é criado do número de fótons (cps/eV) em função da intensidade da energia, em elétron volt (eV), (FIGURA 7) (LUIZ et al, 2015).

FIGURA 7 - MEV E EDS



FONTE: O autor (2020).

2.9. CONTRIBUIÇÃO DO ESTUDO

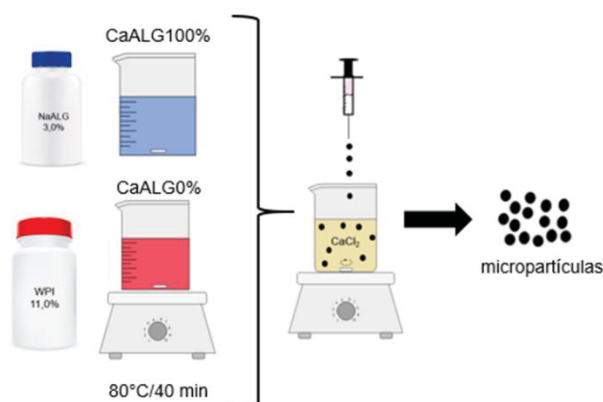
O soro do leite da queijaria é um resíduo agroindustrial que demanda tratamento complexo. No entanto, pode ser usado para recuperação de um conjunto de proteínas por ultrafiltração, denominada de WPI (MALVERN INSTRUMENTS LIMITED, 2014). O WPI pode ser transformado em pó e aplicado para produção de micropartículas em gel com alto valor agregado por poder ser agente de encapsulamento. No entanto, a vida de prateleira deste produto não é longa sem adição de conservantes. Neste sentido, a secagem pode evitar sua deterioração. Para tal, este estudo avaliará a termoestabilidade, a operação de secagem, a micromorfologia e a interação dos biopolímeros para diferentes associações deste biopolímero ao alginato; bem como deles puros.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. HIDROGELIFICAÇÃO DE ALGINATO E WPI

Micropartículas foram produzidas com uso de soluções de alginato de sódio (NaALG, 3%) (Gastronomy Lab CAS 9005-38-3, Brasil) e *whey protein isolate* (WPI, 11,0%) (BiPro, Davisco, EUA) através de gotejamento da solução aquosa com diferentes proporções de alginato de sódio e whey protein isolate em soluções de cloreto de cálcio (50g/L) (Gastronomy Lab CAS 10043- 52- 4, Brasil). O gotejamento foi realizado manualmente com uso da seringa (Injex, Brasil) de polipropileno contendo uma agulha de calibre de 18G (diâmetro interno: 0,838 mm) (Solidor, Brasil). A altura de gotejamento e o tempo de reticulação foram de 20 cm e 2 min, respectivamente. (DÉAT-LAINÉ et al, 2012; CENDON et al, 2017).

FIGURA 8 – ESQUEMA DE MICROENCAPSULAÇÃO.



FONTE: O autor (2020).

Previamente, o WPI foi submetido a um tratamento térmico para sua desnaturação. Inicialmente a solução permaneceu sob agitação magnética suave durante 1h e, em seguida, deixada em repouso durante 2 h. Logo depois, foi aquecida a 80°C e mantida a esta temperatura por 40 min para garantir a desnaturação por completo das proteínas (DÉAT-LAINÉ et al, 2012; CENDON et al, 2017).

Um planejamento univariado com diferentes proporções de alginato de sódio

(NaALG) e proteína isolada do leite (WPI) foi realizado com o intuito de verificar o comportamento entre as matrizes (TABELA 3).

TABELA 3 – CONCENTRAÇÕES (%) DE WPI E ALGINATO USADAS NA PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS.

Ensaio	NaALG, %	WPI, %
A100%	100	0
A80%	80	20
A60%	60	40
A40%	40	60
A20%	20	80
A0%	0	100

FONTE: O autor (2020).

3.2. ASPECTO DAS MICROPARTÍCULAS

3.2.1. Tamanho das Micropartículas

As imagens das micropartículas úmidas e secas (50°C) foram geradas. Seus aspectos foram avaliados visualmente e seus tamanhos determinados com auxílio do software ImageJ. A análise estatística dos resultados de tamanhos gerados foi executada no software estatístico “Statistica 10” (Stasoft, Tulsa, USA) utilizando a análise de variância (One-Way ANOVA, $p < 0,05$), a comparação das médias foi analisada pelo teste de Tukey.

3.3. SECAGEM E TERMOESTABILIDADE

A análise termogravimétrica das amostras foi realizada em um equipamento PerkinElmer, TGA 4000, Rodgau, Alemanha (FIGURA 9). Micropartículas, com aproximadamente 3 mg, foram dispostas em um cadinho de platina e aquecidas (10 °C.min⁻¹) de 30°C a 650°C sob fluxo de nitrogênio (20 mL.min⁻¹). Os dados foram analisados utilizando o programa Origin 8.0.

FIGURA 9- PerkinElmer TGA.



Fonte: O autor (2020).

A análise DSC foi realizada usando um equipamento PerkinElmer DSC 8500 (FIGURA 10) com uso de 6 a 8 mg da amostra. As amostras foram acondicionadas em “panelinhas” de alumínio hermeticamente fechada e aquecidas de 20 e 200°C em uma taxa $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. As temperaturas de transição e suas entalpias associadas foram determinados com uso do programa Origin 8.0.

Todas as análises foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Paraná.

FIGURA 10- PerkinElmer DSC 8500.



FONTE: O autor (2020).

3.4. PARÂMETROS CINÉTICOS DE SECAGEM POR OZAWA

Os parâmetros cinéticos de secagem foram determinados pela metodologia de OZAWA. As curvas termogravimétricas de aproximadamente 3 mg de hidropartículas recém preparadas foram obtidas em um PerkinElmer TGA nas taxas de aquecimento de 5, 10, 20, 30 ou 40 °C min⁻¹ em atmosfera inerte com vazão de 20 ml.min⁻¹ de nitrogênio. Os gráficos com as curvas termogravimétricas foram analisados utilizando Origin 8.0.

$$\ln(\beta) = \ln \left[\frac{(1 - \alpha_p)}{\left(\frac{d\alpha}{dT} \right)_p} \right] + \ln(A) - \frac{Ea}{RT_p}$$

3.5. INTERAÇÃO MOLECULAR DE ALGINATO E WPI

As interações entre os biomateriais de produção de parede, WPI e CaALG, foram estimadas com uso de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) da Central Analítica do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná. Os espectros entre 4000 e 400 cm⁻¹ à temperatura ambiente foram obtidos em um espectrômetro Alpha FTIR Bruker (FIGURA 11) equipado com diamante ATR.

FIGURA 11– ESPECTRÔMETRO FTIR-ATR.



FONTE: O autor (2020).

3.6. MICROMORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

3.6.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

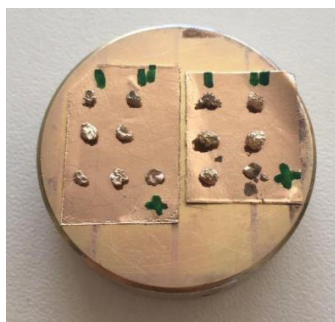
A morfologia das partículas foi avaliada usando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) TESCAN VEGA3 LMU (FIGURA 12) a 15 kV, do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná. As amostras foram submetidas a congelamento em refrigerador (-10°C; Brastemp Clean BRM39ERANA, Brasil) para facilitar os cortes por cisalhamento com bisturi com lâmina nº 15. As hemipartículas foram desidratas por convecção em estufa a 50°C. A seguir, foram fixadas em fita dupla face de cobre e revestidas com uma fina camada de ouro (FIGURA 13) pela metalizadora SCD 030 a 30 mA por 90 s. As imagens foram obtidas com ampliações de 45x, 2000x, 5000x e 10000x.

FIGURA 12 – MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (TESCAN VEGA3).



FONTE: O autor (2020).

FIGURA 13 - SUPORTE COM MICROPARTÍCULAS COBERTAS DE OURO.



FONTE: O autor (2020).

3.6.2. Espectroscopia por energia dispersiva (EDS)

A microanálise por raios X das micropartículas foi desenvolvida através do TESCAN VEGA3 LMU com diferença de potencial de aceleração de 15kV com tempo de aquisição de 6 s. As micropartículas desidratadas foram fixadas em fita dupla face de cobre sobre a porta amostra, para que se tornassem eletricamente condutoras.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Micropartículas de hidrogel de alginato de cálcio puro (A100%) ou com substituição de parcial por WPI (A80%, A60%, A40%, A20%,), bem como de WPI pura (A0%) foram avaliadas quanto a secagem (vida útil), termoestabilidade, interação da matriz e estrutura.

4.1. ASPECTO DAS MICROPARTÍCULAS

4.1.1. Tamanho das Micropartículas

O processo de microencapsulação se mostrou eficiente possibilitando a formação de micropartículas com tamanho e formas distintas após secas (TABELA 4, FIGURA 15), o possibilita seu uso em diferentes aplicações. Todas as micropartículas úmidas, após o processo de hidrogelificação, se mostraram com tamanho próximos variando de 3,0 a 4,0 mm, sem diferença significativa ($p < 0,05$). Esses valores estão dentro do relatado anteriormente para partículas de alginato puro (A100%, 3,1 mm) e com substituição de 80% (A20%, 4,4 mm) do polissacarídeo pela proteína (CENDON et al, 2018).

A secagem a 50°C, variou o diâmetro das micropartículas de acordo com a proporção de alginato. A micropartícula A100% se mostrou diferente estatisticamente ($p < 0,05$) dentre as demais com diâmetro de $1,1 \pm 0,1$ mm, podendo ser devido à grande quantidade de água presente. Valores mínimos para micropartículas secas de alginato com paracetamol também foram encontrados com média de $1,39 \pm 0,09$ mm, também atribuído ao alto teor de umidade (ALMURISI et al, 2020). As micropartículas A80% e A60% após secagem não apresentaram diferença entre elas, com valores médios ($n=5$) de $1,8 \pm 0,2$ mm e $1,9 \pm 0,4$ mm, respectivamente. As demais adições A40% e A20% foram muito maiores (2,0 a 3,0 mm), o que pode ser atribuído a hipótese de conformação estrutural pela maior porcentagem de proteína presente. Com base nesta lógica, a micropartícula SA0% (100% WPI) deveria ser maior, mas é menor ($1,7 \pm 0,3$ mm) devido sua grande friabilidade. Esta propriedade esta relacionada a sua capacidade das micropartículas se partirem com facilidade, o que à reduz fragmentos e com isso dificultaria o processo de microencapsulação de agentes ativos. As micropartículas de alginato

são plenamente transparentes, enquanto que a adição de WPI torna-as translúcidas, sendo as de WPI puro (A0%) são as muito translúcidas. Isto sugere a maior presença de água no primeiro, o que facilitaria o encapsulamento de agentes ativos hidrofílicos, característica essa que pôde ser confirmada pelo TGA.

TABELA 4 – TAMANHO EM mm DAS MICROPARTÍCULAS

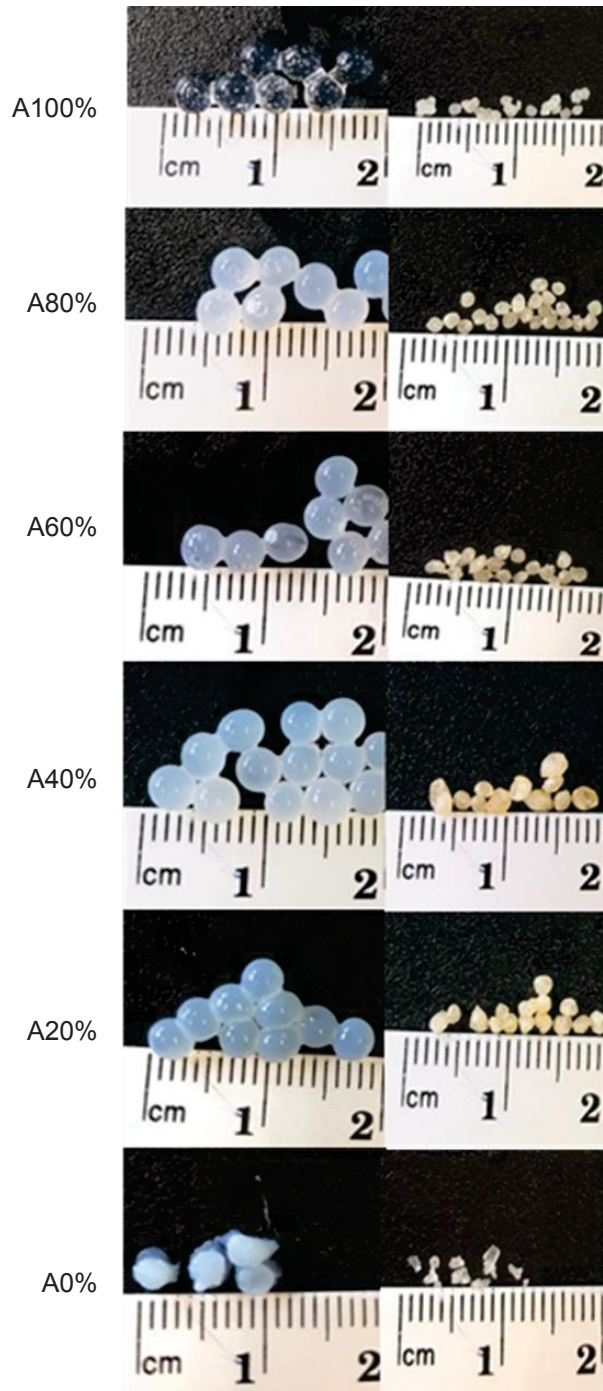
Micropartícula	Aspecto	$\Delta d_{\text{ÚMIDA}}$ mm	$d_n^1 \pm sd,$ mm	Δd_{SECA} mm	$d_n^2 \pm sd,$ mm
A100%	transparentes	3,0-4,0	3,4 \pm 0,3 ^{ab}	1,0-2,0	1,1 \pm 0,1 ^c
A80%	translúcidas	3,0-4,0	3,8 \pm 0,1 ^a	1,0-2,0	1,8 \pm 0,2 ^b
A60%	translúcidas	3,0-4,0	3,8 \pm 0,2 ^a	1,0-2,0	1,9 \pm 0,4 ^{ab}
A40%	translúcidas	3,0-4,0	3,3 \pm 0,3 ^{bc}	2,0-3,0	2,1 \pm 0,3 ^{ab}
A20%	translúcidas	3,0-4,0	3,0 \pm 0,3 ^c	2,0-3,0	2,5 \pm 0,3 ^a
A0%	mais translúcidas	3,0-4,0	3,1 \pm 0,2 ^{bc}	1,0-2,0	1,7 \pm 0,3 ^b

FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: As análises foram realizadas em cinco repetições. As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey com uma probabilidade de ($p < 0,05$).

A secagem provoca uma redução de tamanho, o que deve aumentar a concentração relativa de composto encapsulado, podendo ser aplicado na incorporação de aditivos alimentares. Esta operação também provoca alteração do formato original. As micropartículas de WPI puro (A0%) são amorfas e quebradiças a manipulação. Logo, ele não é um bom material de parede para manter a integridade e a limitação de permeação uniforme.

FIGURA 14- TAMANHO DE MICROPARTÍCULAS
ÚMIDA SECA



FONTE: O autor (2020).

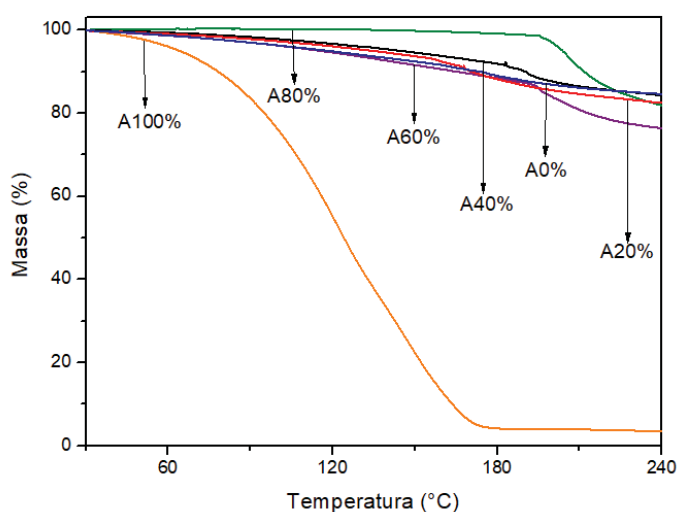
4.2. SECAGEM E TERMOESTABILIDADE

4.2.1. Secagem das micropartículas

O estudo de secagem das micropartículas foi realizado por análise termogravimétrica (TGA), bem como sua termoestabilidade que será apresentado a seguir.

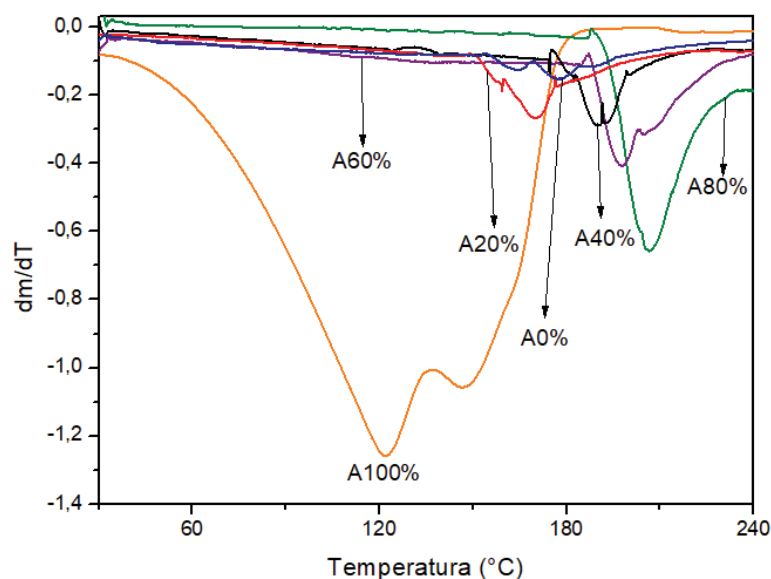
Os picos de temperatura (T_p), velocidade máxima de perda de massa, das micropartículas com alginato ou com substituição parcial ou total do mesmo entre temperatura ambiente (30°C) e 240°C , foi considerado como perda de umidade. A maior perda de massa (56,9% e 39,6%) (FIGURA 15) ocorreu para o alginato puro (A100%), bem como o menor valor de temperatura de máxima velocidade $121,2^\circ\text{C}$ (T_{p1a}) e $147,0^\circ\text{C}$ (T_{p1b}) (FIGURA 16). Isto está de acordo com relatos que afirmam que o alginato de cálcio é muito poroso (GOMBOTZ; WEE, 2012) e, portanto, exigiria menor energia térmica para a perda de umidade e apresentaria massa residual menor pela perda da água contida nesses poros. Esta hipótese foi confirmada pela sua redução de volume de suas micropartículas, de aproximadamente 96,5%.

FIGURA 15 - TGA DAS MICROPARTÍCULAS NA REGIÃO DE SECAGEM DE $30^\circ - 240^\circ\text{C}$.



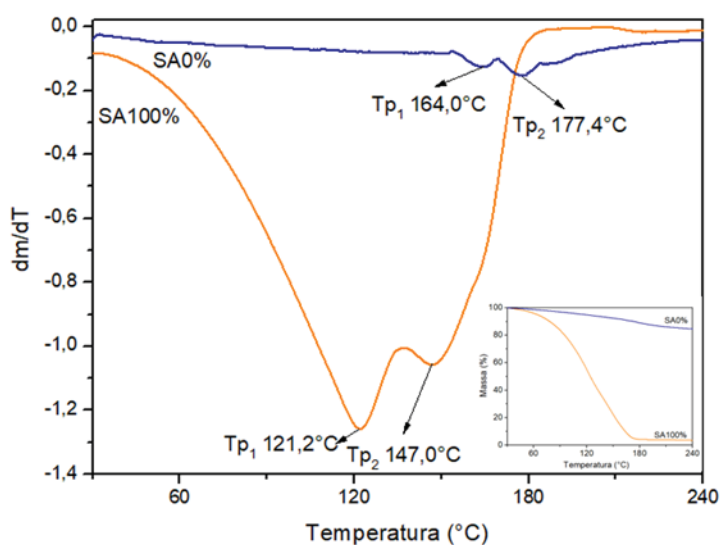
FONTE: O autor (2020).

FIGURA 16 – dTG DAS MICROPARTÍCULAS NA REGIÃO DE SECAGEM DE 30° - 240°C.



FONTE: O autor (2020).

FIGURA 17 – dTG e TGA das micropartículas A100% e A0% entre 30° - 240°C.



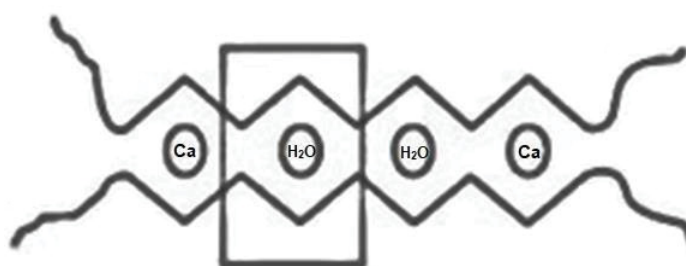
FONTE: O autor (2020).

A substituição do alginato pela adição de WPI ou as micropartículas de WPI puro (A0%) apresentam perda de umidade mais similares entre si (FIGURA 17) e bem mais lenta do que a observado para a micropartícula de alginato puro, o que pode ser atribuído a maior complexidade das biomoléculas proteicas e diversidade da matriz utilizada. A desidratação é mais tardia, com pico de velocidade entre 164°C e 206,3°C. Esse fenômeno pode ser atribuído a menor presença de água de

hidratação, ou seja, entre 3,1 e 21,7% (FIGURA 17). Cerca de 96,5% da umidade presente na micropartícula de alginato puro sugere, que estas sejam melhores para aplicações para substância hidrofílicas e vice-versa (TABELA 5).

Ainda, o A100% pode ocluir, retida em suas cavidades microscópicas internas, ou reter em falhas de rede do sistema “caixa de ovo” grande quantidade de umidade nuclear (interna) (FIGURA 18), o que justifica a grande perda de massa até 240°C (96,5%). No caso do A0%, a perda de massa é bem menor (14,7%), também pela perda de água superficial e de água nuclear, mas com menor intensidade, o que pode ser atribuída a presença de radicais hidrofóbicos, principalmente internamente às micropartículas, que revelam não serem tão adequadas a criar uma estrutura de hidrogel tão rico em água.

FIGURA 18- OCLUSÃO DE ELEMENTOS NO MODELO “CAIXA DE OVOS” DO ALGINATO.



FONTE: O autor (2020).

Detalhadamente, as micropartículas de WPI com adição de 20% de WPI (A80%) apresentou comportamento atípico em relação com as demais, sendo que seu T_p é bem maior (FIGURA 16) e sua perda de massa foi menor do que as outras associações (TABELA 5). Sugerindo a hipótese de que houve oclusão de água nessa porcentagem de proteínas (20%), dificultando a saída de mesma. Enquanto que nas demais, há maior exposição da parte hidrofílica da proteína na porção externa, o que favorece a saída da água de forma mais espontânea.

TABELA 5 - PARÂMETROS TERMOGRAVIMÉTRICOS DAS MICROPARTÍCULAS DE WPI E CaALG.

Micropartículas	Evento 1			Evento 2			Evento 3			P _m total* (%)
	°C	T _p (°C)	P _m (%)	°C	T _p (°C)	P _m (%)	°C	T _p (°C)	P _m (%)	
A100%	30-240	121,2 (Tp1 _a)	56,9	240-300	276,9	0,9	300-500	*	*	98,1
		147,0 (Tp1 _b)	39,6							
A80%	30-240	206,3	18,1	240-300	268,7	17,4	300-500	452,9	14,5	52,4
A60%	30-240	197,3	21,7	240-300	297,6	7,0	300-500	358,9	30,4	62,9
A40%	30-240	189,6	15,8	240-300	273,8	5,9	300-500	340,3	40,8	66,0
A20%	30-240	169,9	14,3	240-300	*	*	300-500	340,3	39,3	65,5
		235,3	3,1							
A0%	30-240	164,0 (Tp1 _a)	7,8	240-300	*	*	300-500	336,2	44,5	67,6
		177,4 (Tp1 _b)	6,9							

FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: T_p - temperatura de pico; P_m - perda de massa; * não identificado.

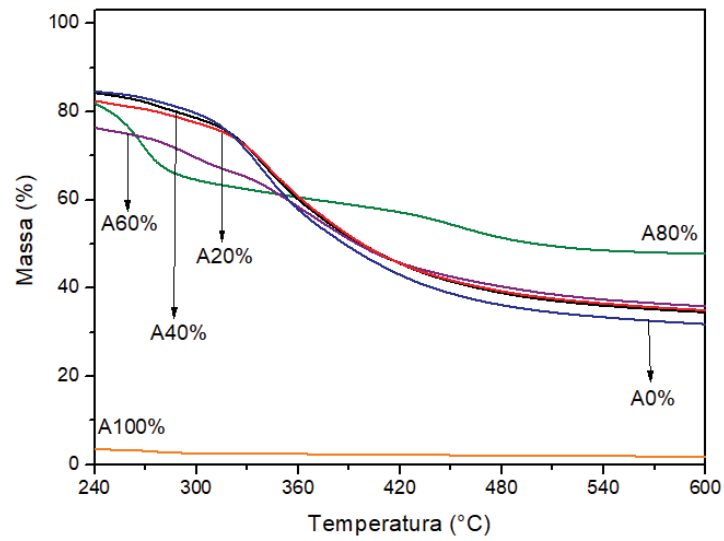
4.2.2. Termoestabilidade

Os fenômenos observados na TGA a partir de 240°C foram considerados pirólise em ambiente inerte (nitrogênio). Para o A100% e WPI puro (A0%) um evento térmico foi detectado, enquanto que dois eventos térmicos com perda de massa foram detectados até 650°C para as associações (A80%, A60%, A40%, A20%) (FIGURA 19).

A temperatura de velocidade máxima (T_{p2}) para A100% pode ser observada no dTGA em 276,9°C (FIGURA 20), com perda de massa de 0,9% (TABELA 5) no TGA. Destacando que a maior parte da massa desta micropartícula é água (umidade de 96,5%). Aparentemente, esse evento pirólise pode estar relacionado à decomposição das ligações glicosídicas do alginato, perda dos grupos hidroxila e à evolução do CO₂ (ABDEL AZIZ; SALAMA; SABAA, 2018) (TABELA 6). Esta hipótese é reforçada pelas microimagens do MEV que serão detalhadas.

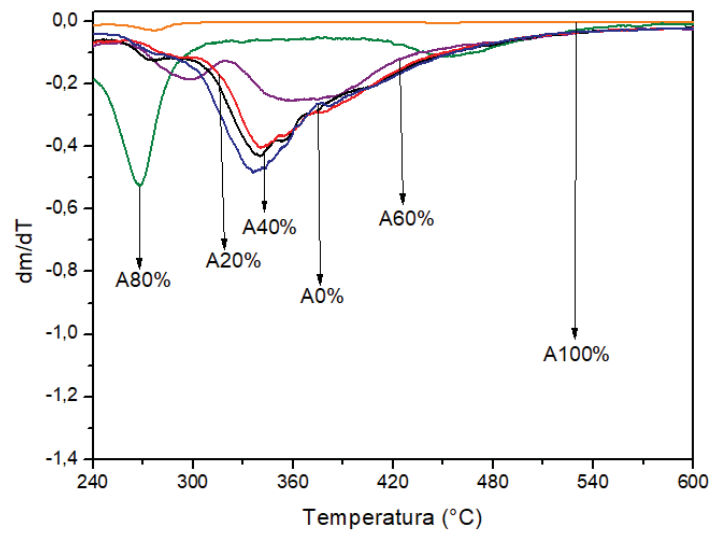
Similarmente, um evento principal após 200°C foi relatado para micropartículas de alginato carregadas com óleo de hortelã-pimenta, bem como com sua associação com quitosana. Para o alginato puro (como controle), um pico com T_p de 235°C foi encontrado referente à degradação polimérica (DEKA et al., 2016). No entanto, dois picos foram encontrados para o alginato puro em estudos de microencapsulação e filmes comestíveis (LIM; AHMAD, (2017) E ABDEL AZIZ; SALAMA; SABAA, (2018)). Isto sugere que o padrão de degradação pode diferir da fonte de alginato usada; o que pode ocorrer pela variação biológica da fonte de obtenção. Os primeiros autores ao microencapsular imidaclopride à base de Ca-alginato-quitosana encontraram picos em uma faixa de 228,87°C a 280,65°C, sendo esta correspondente a encontrada para o terceiro evento no presente estudo, e outro pico em 589,04°C que foi atribuído à oxidação de resíduos carbonáceos nas partículas. Já Abdel Aziz; Salama; Sabaa, (2018) ao produzirem filmes de alginato com óleo de mamona encontraram um pico em 246°C (P_m 44,0%), atribuída a deterioração de ligações glicosídicas e perda de grupos hidroxilas e um segundo em 261°C (P_m 22,0%) (TABELA 6). Assim, pode ser concluído que a velocidade máxima de degradação do alginato é na ordem de 260 a 280°C, podem apresentar um e, eventualmente, dois picos.

FIGURA 19 – TGA DAS MICROPARTÍCULAS ENTRE 240° - 650°C.



FONTE: O autor (2020).

FIGURA 20 - dTG das micropartículas de 240° - 650°C.



FONTE: O autor (2020).

TABELA 6 - TERMOESTABILIDADE DE ALGINATO DE CÁLCIO
(continua)

Biopolímero	Adicional	Taxa de aquecimento (T/min)	Atmosfera (ml/min)	m _{amostra} (mg)	T _p (°C)	P _m (%)	Fenômeno	Fonte
ALG	-	10	N ₂ , 20	3,0	276,9	1,3,	Oxidação de resíduos carbonáceos nas partículas sólidas inorgânicas	O autor, 2020
ALG	-	10	N ₂ , 10		1. 246,0 2. 261,0	1. 44,0 2. 22,0	1. Decomposição das ligações glicosídicas, à perda dos grupos hidroxila e à evolução do CO ₂ . 2. Degradação polimérica	ABDEL AZIZ; SALAMA; SABAA, 2018

FONTE: O autor (2020).

TABELA 6 -TERMOESTABILIDADE DE ALGINATO DE CÁLCIO

Biopolímero	Adicional	Taxa de aquecimento (T/min)	Atmosfera (ml/min)	m _{amostra} (mg)	T _p (°C)	P _m (%)	Fenômeno	Fonte
ALG	Quitosana	10	N ₂ , 20	-	1.235,0	-	Degradação do esqueleto polimérico	DEKA et al, 2016
ALG	Quitosana	10	Ar sintético, 50	6,0	1. 228,87- 280,65 2. 589,0	-	1. Quebra das ligações glicosídicas, desidratação, descarboxilação e descarbonilação do alginato 2. oxidação de resíduos carbonáceos nas partículas sólidas inorgânicas	LIM; AHMAD, 2017

FONTE: O autor (2020).

Para micropartículas de WPI puro (A0%), o pico de temperatura de velocidade máxima (T_{p2}) ocorreu a 336,2° C, P_m 44,5% (FIGURA 20), o qual pode ser atribuído à fragmentação de cadeias proteicas e, eventual, degradação oxidativa de seus resíduos (SILVA et al., 2016) (TABELA 6). O aspecto do resíduo final contido no interior do cadinho do TGA após à análise era de cor preta. Esse resíduo pode ser concedido para uso como carvão. Neste caso, seria necessário determinar sua porosidade para aplicar como carvão ativado. Caso seja baixa, também pode ser aplicada a alimentos fantasia, como por exemplo “pizza negra” (CALHEIROS, 2019).

Eventos térmicos também foram relatados para a termodegradação do WPI puro no estudo de incorporação de óleo de urucum em WPI e sua associação com amido modificado (SILVA et al, 2016). Assim, para o WPI puro, foi relatado pico muito similar em 311°C, que revelou um perfil semelhante ao encontrado no presente estudo, mas com temperatura inferior à 336,2°C (TABELA 7). Para a produção de filmes em distintas condições com adição de WPI e glicerol (40, 50 e 60%) os picos foram de 369,3°C, 362,7°C e 350,3°C, sendo atribuído a degradação do principal componente proteico (RAMOS et al, 2013).

Ao comparar todas as outras micropartículas com combinações distintas (A60%, A40% e A80%,) pode-se notar que estas apresentam dois eventos, exceto para A20%, com um aumento significativo da espessura dos picos e com T_p de 452,9°C, 358,9°C, 340,3°C e 340,3°C, respectivamente. Esses valores são próximos ao descrito por Ramos et al (2013). Podendo notar que com a adição de WPI, ocorre uma conformação estrutural entre a matriz proteína – polissacarídeo que produz um segundo fenômeno, evidenciado a diferença de degradação entre os materiais de parede utilizados.

A associação de ALG e WPI em diferentes misturas contribui com a alteração de comportamento espessante ou gelificante e propriedades da superfície para a estrutura, textura e estabilidade dos alimentos (DOUBLIER et al., 2000), o que pode justificar os comportamento imprevisíveis por correlação direta de concentração e T_p .

TABELA 7 - TERMOESTABILIDADE DO WPI.

Biopolímero	Adicional	Taxa de aquecimento (T/min)	Atmosfera (ml/min)	m _{amostra} (mg)	T _p (°C)	P _m (%)	Fenômeno	Fonte
WPI	-	10	N ₂ , 20	3,0	336,2	21,3	Fragmentação de cadeias proteicas e, degradação oxidativa de seus resíduos	O autor, 2020
WPI	Glicerol	10	N ₂ , 20	10,0	369,3 362,7 350,3	-	Degradação do principal componente proteico	RAMOS et al., 2013
WPI	Óleo de semente de urucum	10	N ₂ , 10	-	311,0	-	Degradação oxidativa dos resíduos carbonáceos	SILVA et al., 2016

FONTE: O autor (2020).

4.2.3. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Ao contrário do descrito anteriormente (HOSSEINI et al., 2013; LÓPEZ CÓRDOBA; DELADINO; MARTINO, 2013), a análise de micropartículas úmidas não pôde ser realizada, pois as mesmas apresentavam um fenômeno de explosão com inclusive alteração do minicadinho de alumínio. Ainda, mesmo o uso de amostras secas não foi realizado acima de 240°C, pois ocorria a deformação do minicadinho; impossibilitando detectar qualquer evento. Até 200°C, os termogramas para as micropartículas secas (FIGURA 21) exibiram dois picos, o primeiro exotérmico e outro endotérmico.

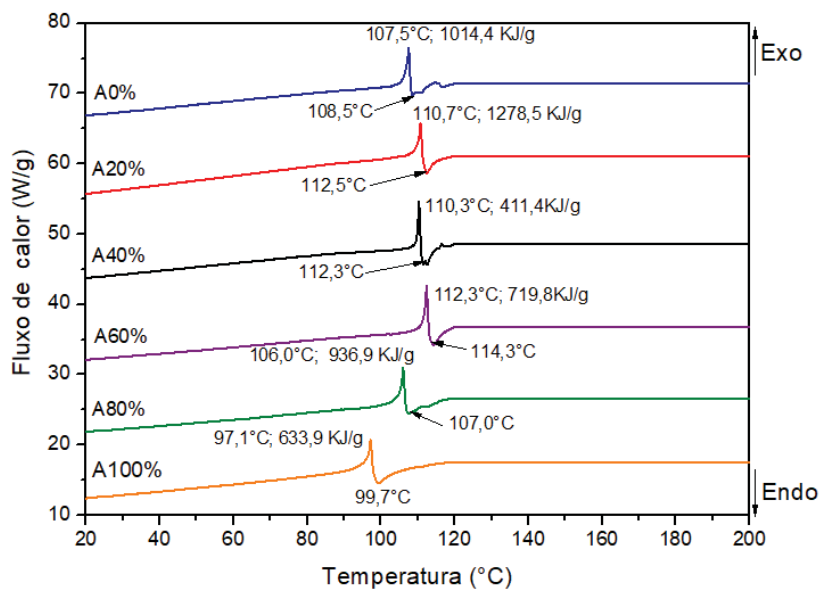
Este comportamento foi distinto dos estudos anteriores, onde o alginato apresentava apenas um pico endotérmico a 76°C (6–10 mg, 10°C/min, 25- 300°C, 30 ml N₂/min) para HOSSEINI et al, (2013). Para LÓPEZ CÓRDOBA;

DELADINO; MARTINO (2013), foi observado também um pico endotérmico a 85°C (3–5 mg, 10°C/min, 25-300°C, fluxo e tipo de gás não relatado). Para ALMURISI et al, 2020 o pico endotérmico ocorreu a 82°C (3,5 mg, 10°C/min, 25-300°C, 50 ml N₂/min).

O primeiro pico ocorreu entre 97,1° e 112,3°C, sendo que a entalpia aumentou de intensidade conforme foi substituída pelo WPI, exceto para a A40%. Já um segundo pico, neste caso endotérmico, pode ser observado logo a seguir (TABELA 8) sendo que a estimativa da entalpia era difícil de ser inferida pela impossibilidade de detectar o início e fim do fenômeno.

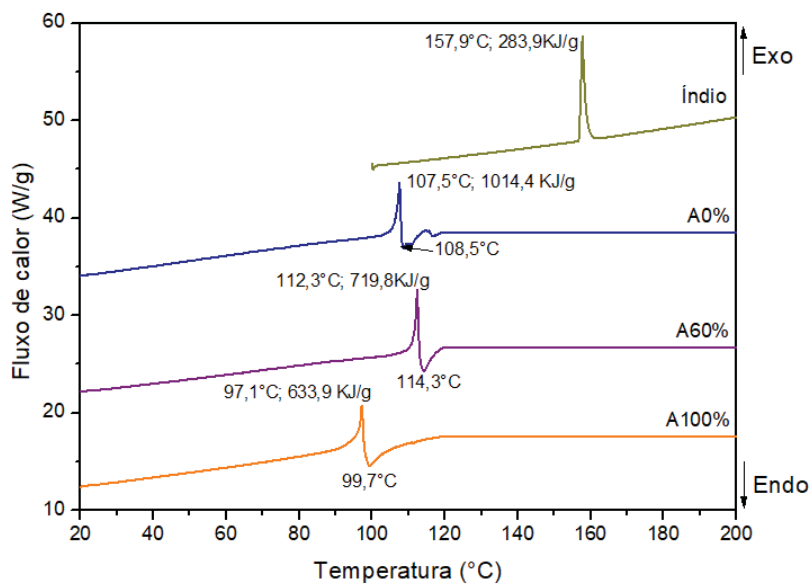
Para dirimir dúvidas, os ensaios foram repetidos para todas as amostras e calibradas com índio (Figura 22), confirmaram os resultados anteriores. Mesmo assim, é possível perceber que existe algum tipo de interação entre os biopolímeros quando estão na proporção de quase 50% de cada um. O maior valor de Tpendo e de Tpeço ocorreu para SA40% e SA60% Sendo a última mais provável e escolhida para estudo cinético em comparação as partículas puras.

FIGURA 21 – DSC DAS MICROPARTÍCULAS.



FONTE: O autor (2020).

FIGURA 22 - DSC DAS MICROPARTÍCULAS A100%, A60% E A0% E DO PRODUTO DE CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO (ÍNDIO).



FONTE: O autor (2020).

TABELA 8 - PARÂMETROS DSC DAS MICROPARTÍCULAS DE WPI E CaALG.

Micropartículas	Pico 1		Pico 2
	T _p (°C)	ΔH (KJ/g)	T _p (°C)
A100%	97,1	633,9	99,7
A80%	106,0	936,9	107,0
A60%	112,3	719,8	114,3
A40%	110,3	411,4	111,6
A20%	110,7	1278,5	112,5
A0%	107,5	1014,4	108,5

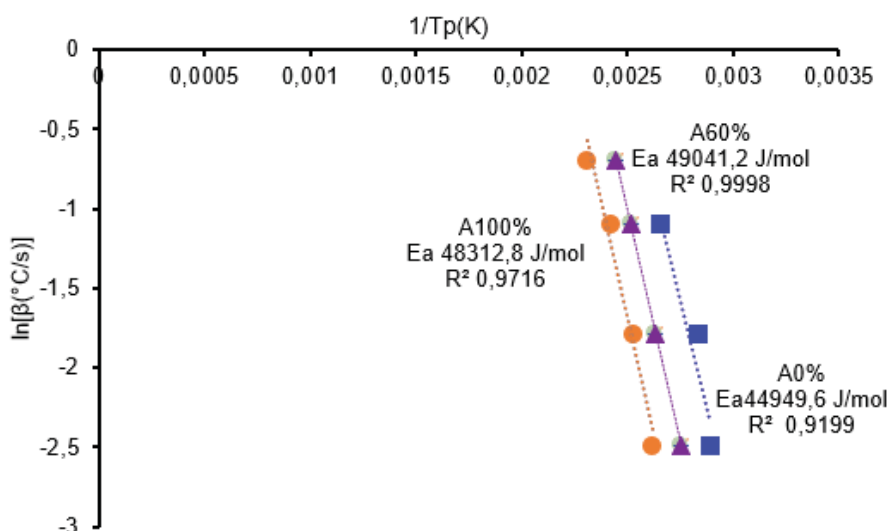
FONTE: O autor (2020).

4.3. PARÂMETROS CINÉTICOS DE SECAGEM POR OZAWA

Devido ao comprometimento do equipamento utilizado, a cinética foi realizada somente nas micropartículas puras (A100% e A0%) e em uma de suas associações, A60%. Para todas as micropartículas, a regressão linear apresentou coeficiente de determinação satisfatório (0,9716, 0,9998, 0,9199) (FIGURA 23).

As retas para estimativa energias de ativação são paralelas entre si e os valores de 48.312,8, 49.041,2 e 44.949,6 J/mol, em diferentes conversões são próximos (TABELA 9). Sugerindo a união dos mecanismos de reação ou até mesmo um único mecanismo (ROSA et al, 2019).

FIGURA 23 – CURVAS OBTIDAS PELO MÉTODO DE OZAWA.



FONTE: O autor (2019).

TABELA 9 – VALORES DE E_a DAS MICROPARTÍCULAS.

Micropartícula	Energia de Ativação (E_a)	R^2
A100%	48.312,8 J/g	0,9716
A60%	49.041,2 J/g	0,9998
A0%	44.949,6 J/g	0,9199

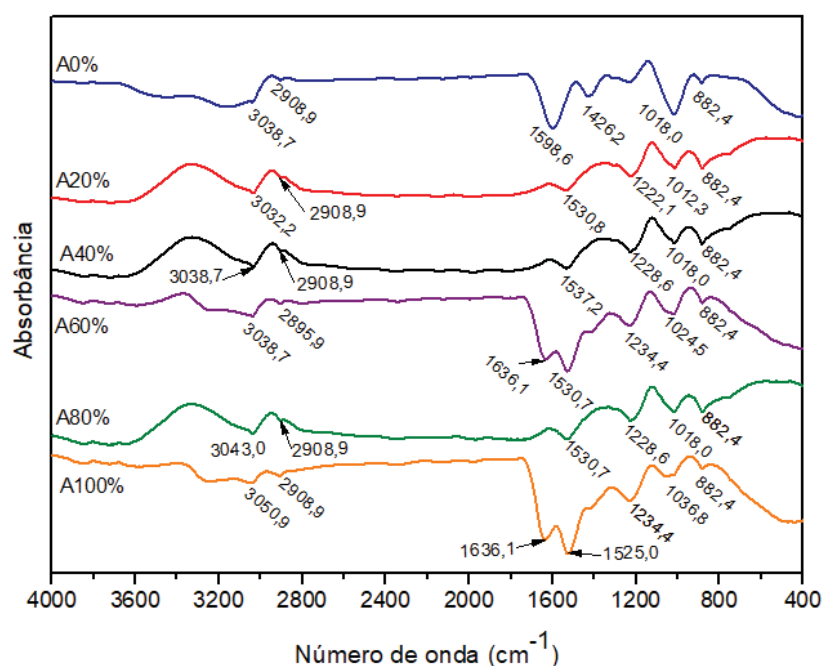
FONTE: O autor (2020).

4.4. INTERAÇÃO MOLECULAR DE ALGINATO E WPI

A espectroscopia de infravermelho por refletância total atenuada (FTIR-ATR) avalia estrutura molecular com base em pico de frequência de vibração específica dos átomos que a compõem e é função da forma da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e, eventualmente, do acoplamento vibracional. Neste último caso, sendo usado para determinar interação intermolecular (TABELA 10) (TOZETTO; MOTTIN DEMIATE; NAGATA, 2007).

Os espectros de FTIR-ATR dos dois biopolímeros puros apresentam alguma semelhança, o que também ocorre para as micropartículas com adição de 40% de WPI (A60%) (FIGURA 24). Por outro lado, as micropartículas com adição de 20 (A80%), 60 (A40%) e 80% de WPI (A20%) tiveram comportamento similares entre si, mas distintos dos biopolímeros puros.

FIGURA 24 - ESPECTROS FTIR-ATR PARA AS MICROPARTÍCULAS



FONTE: O autor (2020).

Para micropartículas de alginato puro (A100%), picos de 3051 cm^{-1} e 2915 cm^{-1} foram observados (FIGURA 24) e correspondem ao estiramento do grupamento OH- e CH- (LAWRIE et al., 2007). Os picos entre 1636 cm^{-1} , 1525 cm^{-1} e 1234 cm^{-1} foram atribuídos à presença de CO_2^- . O pico 1037 cm^{-1} referente à ligação -COC do grupo ácido (RCOOH) (FAIDI et al., 2019; HASHIM et al., 2019; PEREIRA et al., 2019) sugere que nem toda carboxila do alginato está ligada a íons metálicos, sendo que a 882 cm^{-1} foi identificada vibração da ligação Ca-O (SAMANTA; RAY, 2014) (TABELA 11).

Para micropartículas de WPI puro (A0%), o pico observado em 3039 cm^{-1} foi atribuído as vibrações -OH e NH de grupos livres e ligados (OZEL; AYDIN; OZTOP, 2019). Os picos de vibrações de -CH (2909 cm^{-1}), -CO (1599 cm^{-1}) e =CN e -NH (1426 cm^{-1}) de bandas de amida I (estrutura primária) e II (estrutura primária) são compatíveis com a estrutura de proteínas. Picos abaixo de 1200 cm^{-1} , como detalhado a seguir, surgem devido à deformação e são atribuídos aos alongamentos de ésteres de CO-O (LEKSHMI et al., 2019) (TABELA 12).

A similaridade entre os espectros das três misturas que tiveram comportamento distintos dos biopolímeros puros sugere que haja interação entre

eles que provoca acoplamento vibracional e que não permite suas vibrações independentes. Por outro lado, a adição de 40% de WPI (A60%) impossibilita essa interação com aparecimento dos picos 3 e 4 (TABELA 13 em negrito).

TABELA 10- FREQUÊNCIA DE ABSORÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS.

Ligação	Tipo	Faixa (cm ⁻¹)
-O-H	álcool, fenol, enol, ácido carboxílico	3650 –3200
-R ₂ NH	aminas secundárias, 1 banda	3400 – 3140
-NH ₂	aminas secundárias, 1 banda	3400 – 3350
-C-H	alcanos	2962 – 2853
-C-H	alcenos	3095 –3010
-C≡C-, C≡N	Alcino e nitrilas	2500 – 2000
R ₂ C=O	carbonilas	1630 – 1850
-C=C-	aromáticos	1600 – 1650, 1450 – 1500

FONTE: Adaptado de PAVIA et al., (2010).

TABELA 11- PICOS DE VIBRAÇÕES DE AGRUPAMENTOS PARA ALGINATO NO FTIR-ATR.

Vibração	Pico1	Pico2	Pico3	Pico4	Pico5	Pico6	Pico7
Fonte	OH-	CH-	CO ₂ - assimétricas	CO ₂ - simétricas	CO ₂ -	-COC	Ca-O
O autor (2020)	3051	2915	1636	1525	1234	1037	882
(LAWRIE et al., 2007)	3700-3000	3000-2850	1596	1412	1297	1081-1027	-
(FAIDI et al., 2019)	3450	2940	1680	1461	-	1039	-
(HASHIM et al., 2019)	3349	2927	1609	1405	-	1080-1022	-
(PEREIRA et al., 2019)	3300-3550	-	1650-1550	1400	-	1000-1100	-
(SAMANTA; RAY, 2014)	3351	-	1638	1408	-	1022	862

FONTE: O autor (2020).

TABELA 12- PICOS DE VIBRAÇÕES DE AGRUPAMENTOS PARA WPI NO FTIR-ATR

Vibração	Pico1	Pico2	Pico3	Pico4	Pico5	Pico6	Pico7
Fonte	-OH e NH livres	-CH	-CO	-NH e =CN	CO-O	CO-O	CO-O
O autor (2019)	3039	2909	1599	1426	-	1018	882
(OZEL; AYDIN; OZTOP, 2019)	3275	3064-2960	1633	1519	-	1068	-
(LEKSHMI et al., 2019)	-	-	1650	1540	-	-	-

FONTE: O autor (2020).

TABELA 13- VALORES DOS PICOS REFERENTES AS VIBRAÇÕES DE AGRUPAMENTOS.

	Pico1	Pico2	Pico3	Pico4	Pico5	Pico6	Pico7
A100% (A)	3051	2909	1636	1525	1234	1037	882
A80% (B)	3043	2909	-	1537	1229	1018	882
A60% (C)	3039	2896	1636	1531	1234	1025	882
A40% (D)	3039	2909	-	1537	1229	1018	882
A20% (E)	3032	2909	-	1531	1222	1012	882
A0% (F)	3039	2909	1599	1426	-	1018	882

FONTE: O autor (2020).

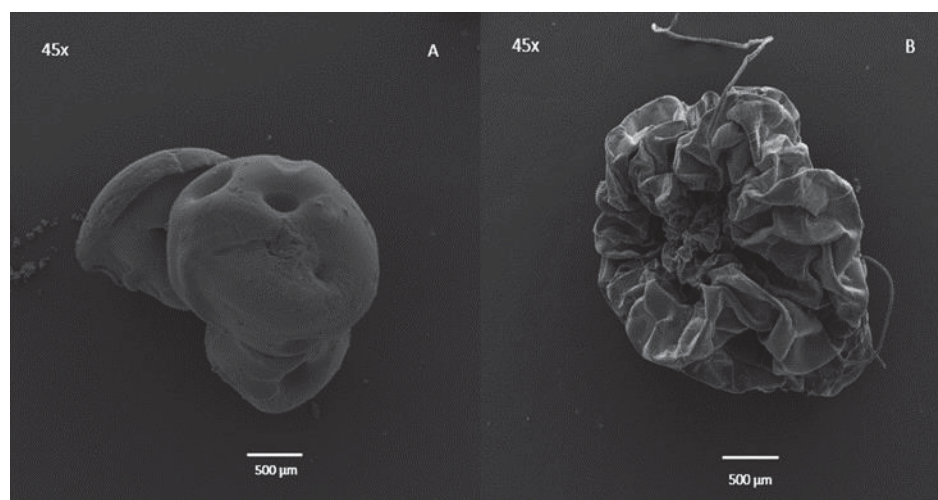
4.5. MICROMORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS (PONTUAL E POR MAPEAMENTO)

4.5.1. Efeito do congelamento na micromorfologia externa e interna das micropartículas

4.5.1.1. Efeito do congelamento na micromorfologia externa de micropartículas de alginato puro

As estruturas da micropartícula de A100% não congeladas (FIGURA 25A) apresentam uma superfície pouco irregular quando comparada com a tratada com congelamento. A última foi afetada drasticamente pelo congelamento (FIGURA 25B), sendo sua superfície extremamente irregular atribuída à cristalização da água durante a solidificação. Isto contribui com saída da água através dos poros criados pelos cristais de gelo de modo a criar essa estrutura enrugada. Por outro lado, a micropartícula não congelada teve a saída da água por toda a superfície, mas sem caminhos de fluxo preferencial e que resultou numa superfície mais plana. Mesmo assim, essa partícula não é esférica e apresenta depressões, o que sugere uma estrutura anisotrópica. Algumas regiões da esfera têm maior teor de água que outras e sua ausência depois da secagem provocam as depressões pequenas e grandes.

FIGURA 25 – MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES EXTERNAS DE MICROPARTÍCULAS DE A100% CONGELADAS (B) OU NÃO (A).



FONTE: O autor (2020).

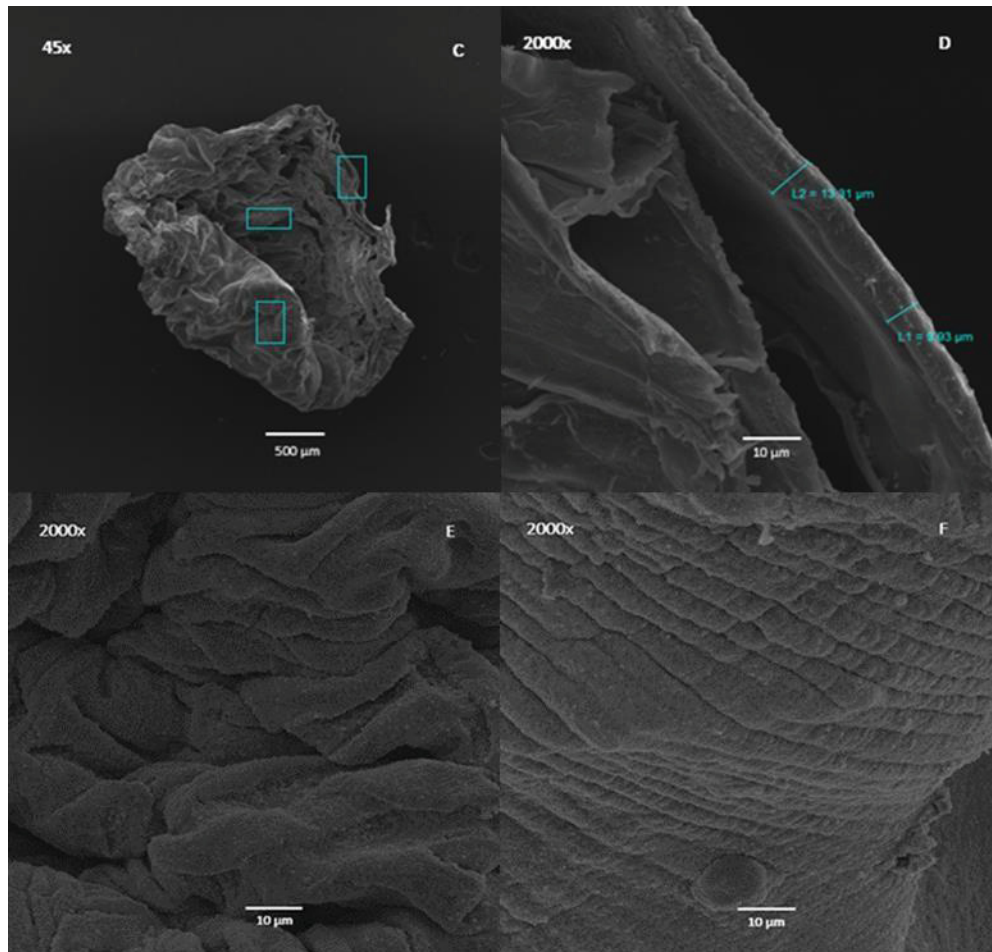
LEGENDA: A- não congelada 45x, B- congelada 45x.

4.5.1.2. Micromorfologia interna de micropartículas congeladas de alginato puro

Não foi possível produzir partículas secas não congeladas devido a fragmentação superabundante, o que produziu inúmeros microfragmentos sem possibilidade de manipulação adequada. No caso da micropartícula congelada e cortada neste estado da matéria (FIGURA 26C) foi notado grandes cavidades em sua porção interna, o que confirma a hipótese de retenção de massas compostas preponderantemente de água. Assim, sua volatilização devido a técnica de preparo da amostra para o MEV produziu regiões com cavidades de diferentes dimensões dependendo da localização. Uma camada externa com distintas espessuras, de 13,31 μm a 9,93 μm (FIGURA 26D,E), foi observada. Este fenômeno pode ser atribuído a diferentes distribuições de moléculas de alginato na gota de produção de esferificação e que, após mergulhar na solução de cloreto de cálcio produziu essa camada com diferentes espessuras (FIGURA 26D).

Com ampliação maior (2000x) há inúmeros pequenos agrupamentos estruturais (inferiores a 1 μm) independente das regiões com dobraduras maiores (FIGURA 26E) ou menores (FIGURA 26F) do alginato de cálcio produzido. Em ampliação maior ainda (5000x, FIGURA 27G,H), esses cristais são na ordem de 0,3 μm , sendo que num aumento de 10.000x (FIGURA 27I) foi possível detectar essas microestruturas com tamanho inferior a 0,05 μm . Isto pode ser atribuído a cristalização de cloreto de cálcio. Ainda, a diferença de tamanho destas microestruturas sugere que a formação do sistema “caixa de ovo” não é uniforme, mesmo tendo somente alginato como biopolímero de hidrogelificação. Logo, não existem uniformidades em termos de macro e microestrutura.

FIGURA 26- MICROIMAGEM INTERNA DAS MICROPARTÍCULAS A100%.



FONTE: O autor (2020).

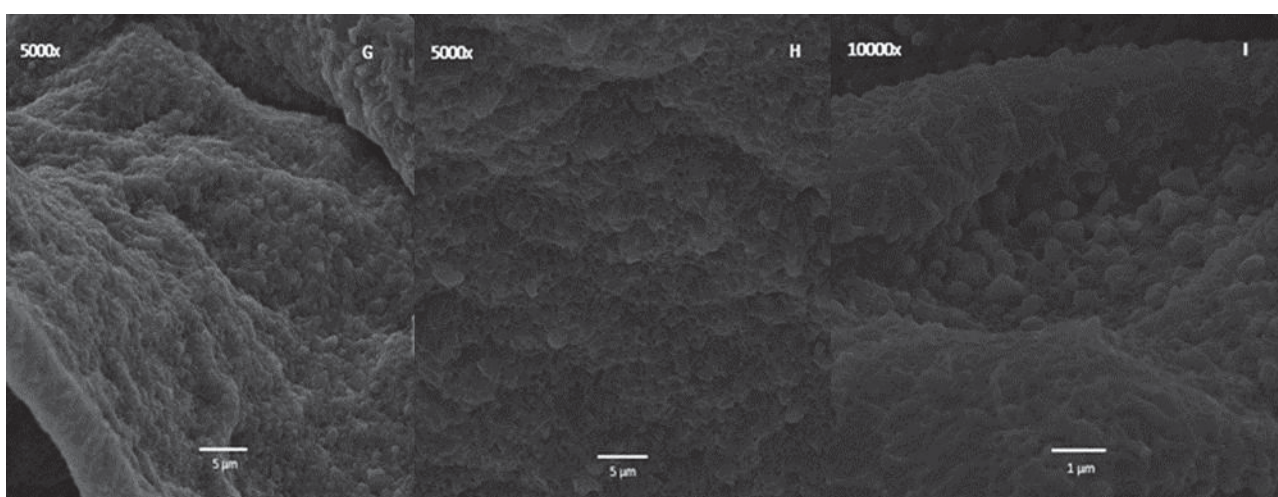
LEGENDA: C- congelada e cortada 45x, D- camada superficial 2000x, E- porção externa 2000x, F- porção interna 2000x.

Os resultados supracitados foram compatíveis com outros estudos. Para Pereira et al, (2019), que analisou a quitosana e o alginato como encapsulantes da lipase de *Yarrowia lipolytica*, o processo de congelamento produz cavidades pela expansão de cristais de gelo. Isto permite que durante a secagem os demais constituintes sejam contraídos provocando a mudança no volume e na estrutura.

Ainda, para micropartículas de alginato de sódio associada com bagaço de cana não congeladas e secas contendo o probiótico *L. rhamnosus* NRRL 442. A presença de superfícies lisas e porosas foram descritas para as partículas de alginato puro. No caso da presença de bagaço, o que se diferenciava com a adição da outra matriz (SHAHARUDDIN; MUHAMAD, 2015).

As micropartículas formuladas a base de hidrogel aprisionam a água através de forças iônicas, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas e/ou arranjos moleculares, permitindo a formação de estruturas tridimensionais. Após ser submetido há elevadas temperaturas, a parede dessas micropartículas pode ser rompida e/ou apresentarem característica porosa isso devido à saída brusca da água, que enfraquece a estrutura (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al, 2015). Ainda, Bastos et al, (2018) notou distintos tamanhos, formas e superfícies irregulares ao avaliar distintos parâmetros na microencapsulação com alginato de sódio e lactoferrina, o que se percebe ao comparar com as micropartículas congeladas convencionalmente antes de serem secas.

FIGURA 27 – MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DE MICROPARTÍCULAS DE A100%

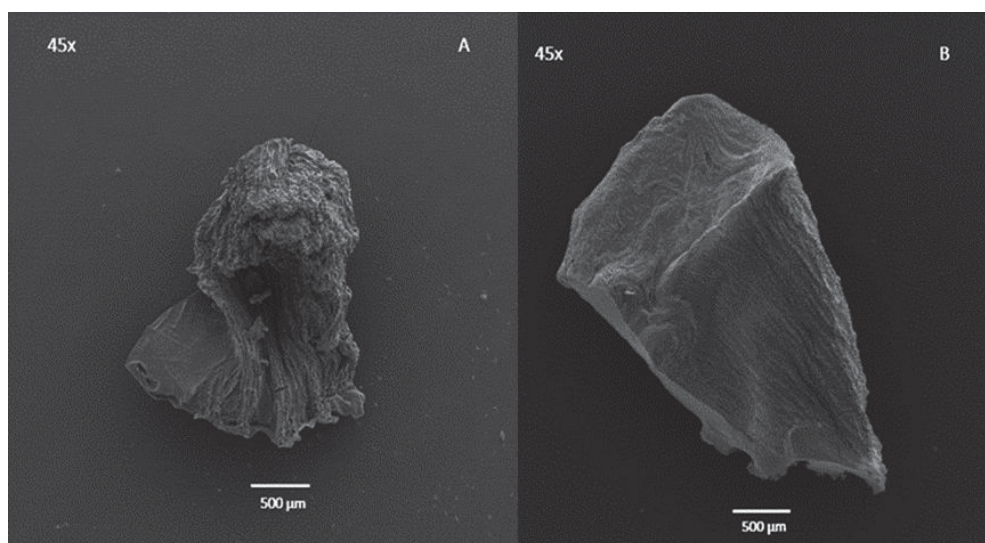


FONTE: O autor (2020).

4.5.1.3. Efeito do congelamento na micromorfologia externa de micropartículas de WPI puro

A micropartícula de WPI puro apresentou aspecto morfológico bem distinto da micropartícula de alginato puro, sendo que esta última, se não congelada (FIGURA 28A), era mais esférica. Ainda, no caso de congelamento (FIGURA 28B), a micropartículas de WPI sofreu menor alteração do aspecto morfológico externo. A micropartícula de WPI pura (A0%) não congelada e, posteriormente seca para visualização no MEV (FIGURA 28A), apresentou superfície irregular e rugosa. Isto sugere que há um rearranjo durante o congelamento que produz uma superfície menores depressões e rugosidades. Esse fenômeno pode ser atribuído a migração da água para a superfície da micropartícula durante a formação dos cristais de gelo. A porção mais interna da micropartícula WPI pura deve apresentar uma porção mais interna com característica hidrofóbica com menor teor de água ocluída e uma porção mais externa dirigida para a solução de cloreto de cálcio (CaCl_2) no momento de hidrogelificação. Esta camada deve conter mais água ocluída. Durante o congelamento, a contração da estrutura e o desenvolvimento de cristais de gelo superficial devem contribuir para sua contração, mas sem aparecimento e tanta rugosidade.

FIGURA 28 – MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES EXTERNAS DE MICROPARTÍCULAS DE A0% CONGELADAS (B) OU NÃO (A).



FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: A- não congelada 45x, B- congelada 45x.

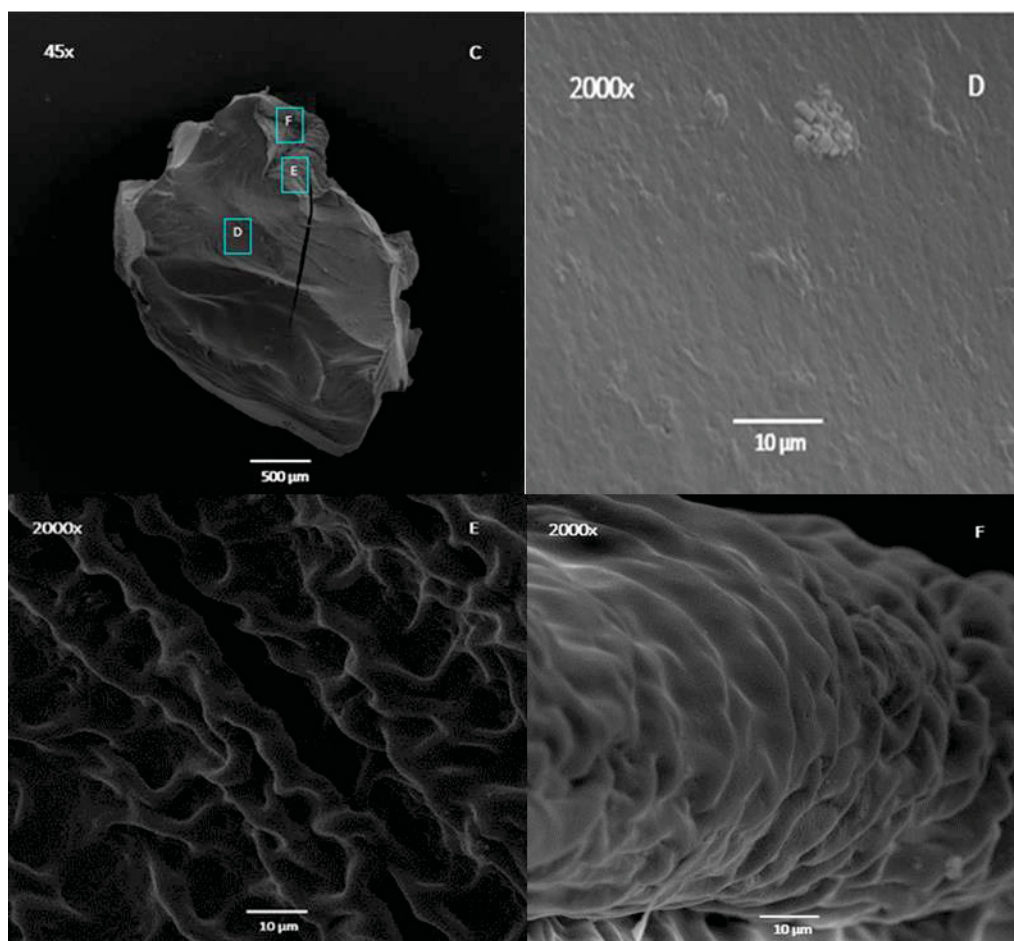
4.5.1.4. Micromorfologia interna de micropartículas congeladas de WPI puro

Do mesmo modo que observado para as micropartículas secas não congeladas de alginato puro (A100%), as de WPI puro (A0%) também não puderam ser cortadas devido a microfragmentação inoportuna do material que impossibilitava a manipulação.

A superfície interna da micropartícula congelada e cortada (FIGURA 29C) revelou uma superfície lisa e densa (FIGURA 29D), sendo mais irregular próximo a superfície (FIGURA 29F). Na porção bem interna também pode ser observada a oclusão de matéria compatível com cristais de cloreto de cálcio (FIGURA 29D). Nas porções externas indicadas na FIGURA 29C, é visível alguns dobramentos (FIGURA 29E, na diagonal descendente da imagem) e pequenas depressões (FIGURA 29F). Em uma amplificação maior (5000x. FIGURA 30G,H), o efeito relatado é detalhado e revela a continuidade superficial que é compatível com a atribuição e denominação de material de parede. Isto sugere que seu emprego para liberação deve ser baseado na sua metabolização no sistema entérico para disponibilizar o princípio encapsulado, pois há falta de porosidade.

Esses resultados confirmam a hipótese de rearranjo estrutural das proteínas e da saída de água da estrutura com a oclusão de sal. Eles também são compatíveis com o relato de que as proteínas acabam formando uma fina camada na qual suas moléculas se unem através de interações hidrofóbicas no processo de secagem. Dessa forma a evaporação da água forma uma camada sem grandes cavidades e estável, que contribui com a elasticidade e flexibilidade, e com redução de seu tamanho da micropartícula (WANG; JIANG; ZHOU, 2013).

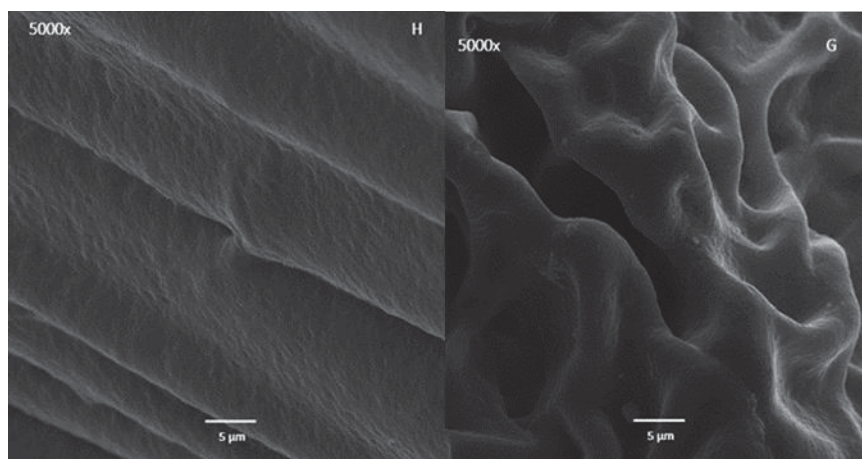
FIGURA 29 - MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS
MICROPARTÍCULAS A0%.



FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: C- congelada e cortada 45x, D- camada interna 2000x, E- porção externa 2000x, F- porção externa 2000x.

FIGURA 30 –MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DE
MICROPARTÍCULAS DE A0%.



FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: G – 5000x, H- 5000x.

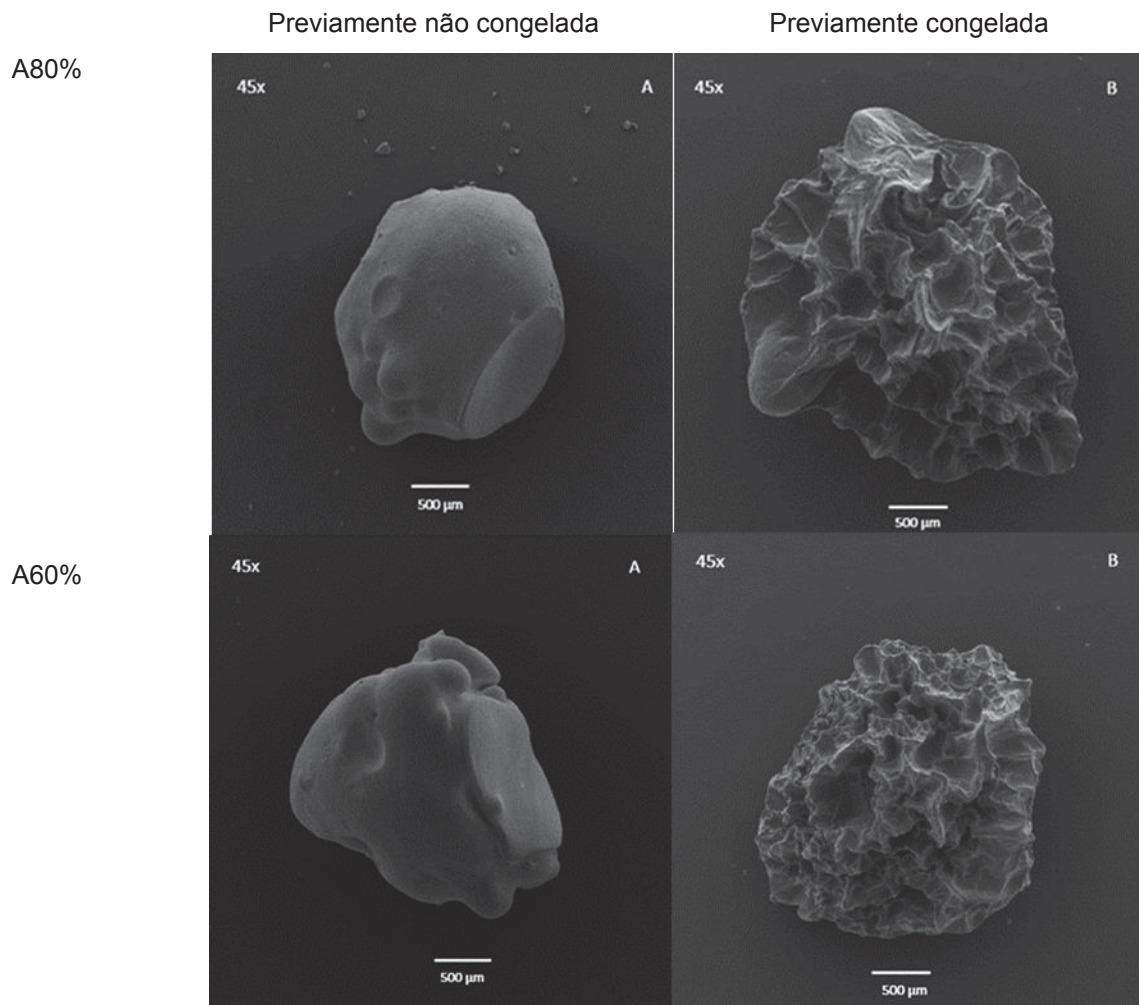
4.5.1.5. Efeito do congelamento na micromorfologia de associações das micropartículas

Em termos gerais (FIGURA 31), será demonstrado que a micromorfologia das micropartículas foram tão próximas às do polímero preponderante na associação (A100%-A e A80%-B, bem como A20%-E A0%-F), sendo que as duas intermediárias (A60%- C e A40%-D) apresentaram morfologia similares entre si.

Similarmente ao observado para micropartículas puras de alginato (A100%) e WPI (A0%), o congelamento provoca uma maior rugosidade superficial, confirmando a hipótese de rompimento do material de parede (FIGURA 26, 29), para as associações de biopolímeros. Ainda, a rugosidade é tanto maior quanto maior o teor de alginato (FIGURA 31). Destaca-se que a partícula de WPI pura (FIGURA 28) tem aspecto muito compacto e menos esférico. Ainda, a substituição gradativa do alginato de sua micropartícula pura (A100%) por WPI produziu menor presença de cavidades internas.

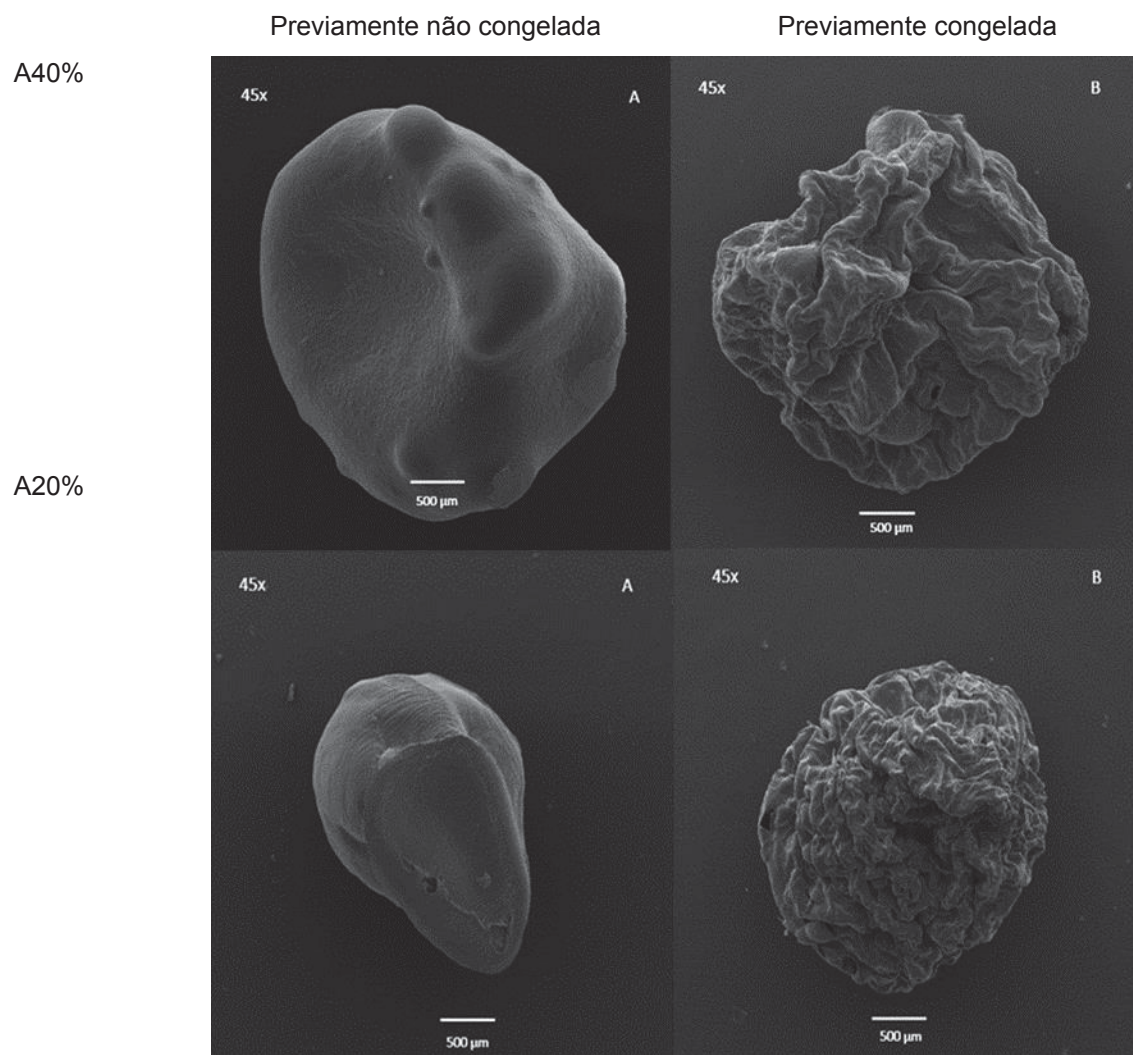
A substituição de 20 (A80%), 40 (A60%) e 60% (A40%) de WPI apresentaram características superficiais e internas mais similares às de alginato puro (A100%). Isto confirma a hipótese de que o alginato fica mais externo pela sua maior propriedade hidrofílica do que o WPI. Concomitantemente, as micropartículas retêm porções de água que produzem algumas cavidades, por exemplo, para o A80% (FIGURA 31).

FIGURA 31 – EFEITO DO CONGELAMENTO PREVIO OU NÃO NA SUPERFÍCIES DAS
MICROPARTÍCULAS A80% E A60% (continua).



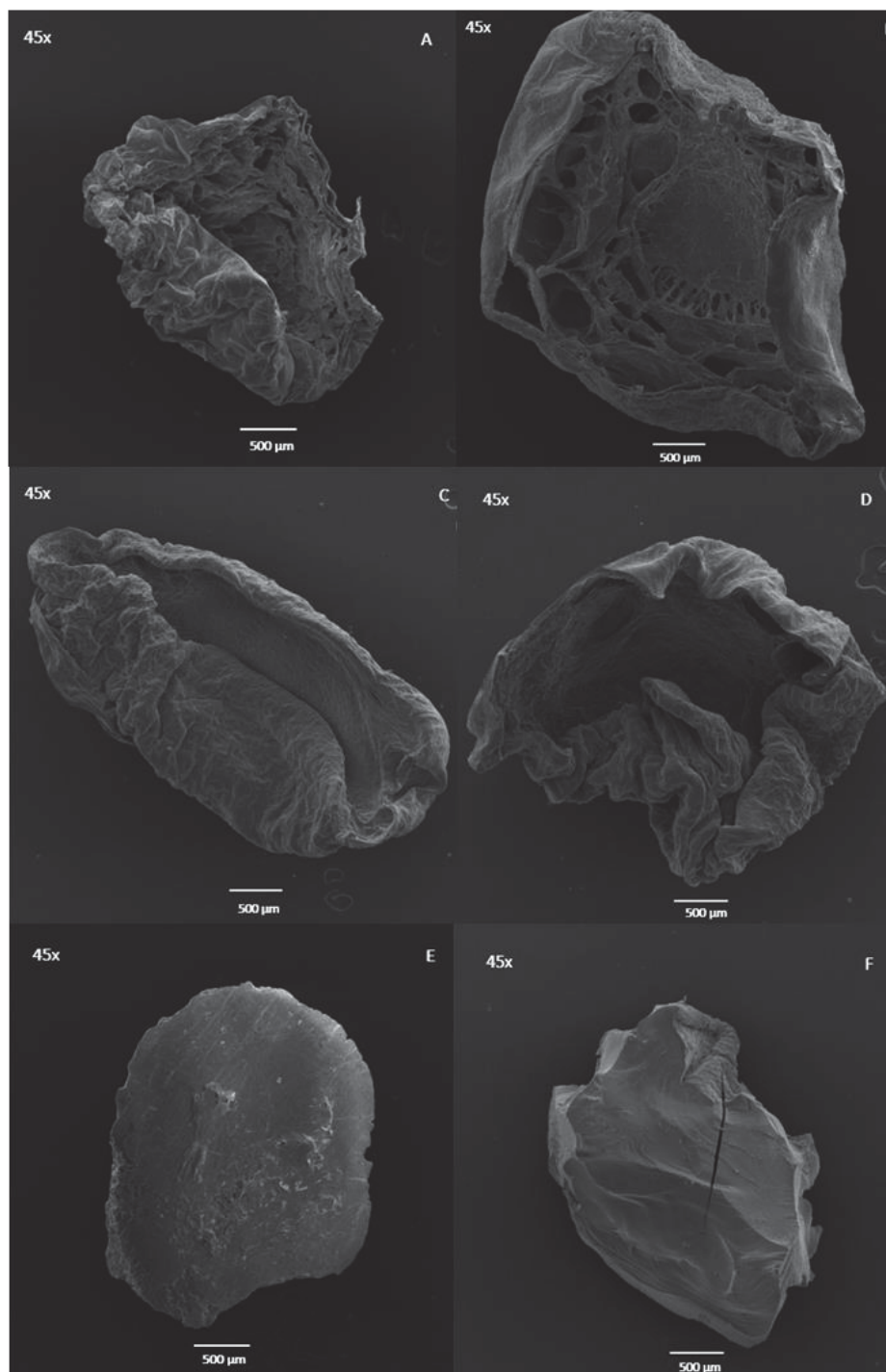
FONTE: O autor (2020).

FIGURA 31 – EFEITO DO CONGELAMENTO PREVIO OU NÃO NA SUPERFÍCIES DAS
MICROPARTÍCULAS A40% E A20%



FONTE: O autor (2020).

FIGURA 32 – AUMENTO DA DENSIDADE INTERNA DE MATÉRIA DEVIDO A SUBSTITUIÇÃO DO ALGINATO PELO WPI.

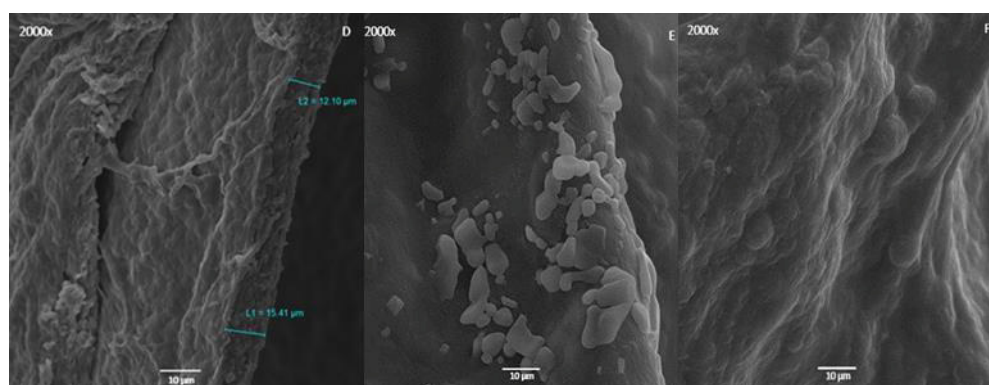


FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: Micropartículas em 45x A- A100%, B- A80%, C- A60%, D- A40%, E- A20%, F- A0%

A associação (FIGURA 33D) de A80% apresentam uma camada superficial (ou de parede) com 12 a 15 μm . As porções internas, similarmente a de alginato puro (A100%, FIGURA 26D) apresentam superfície mais rugosa do que a do WPI puro (A0%, FIGURA 32F). No interior da micropartícula de A80% ocorre o aprisionamento de alguns cristais de cálcio (FIGURA 33E) e algumas rugosidades, que se estendem como semiesferas (FIGURA 33F) ao longa da superfície.

FIGURA 33 – MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A80%

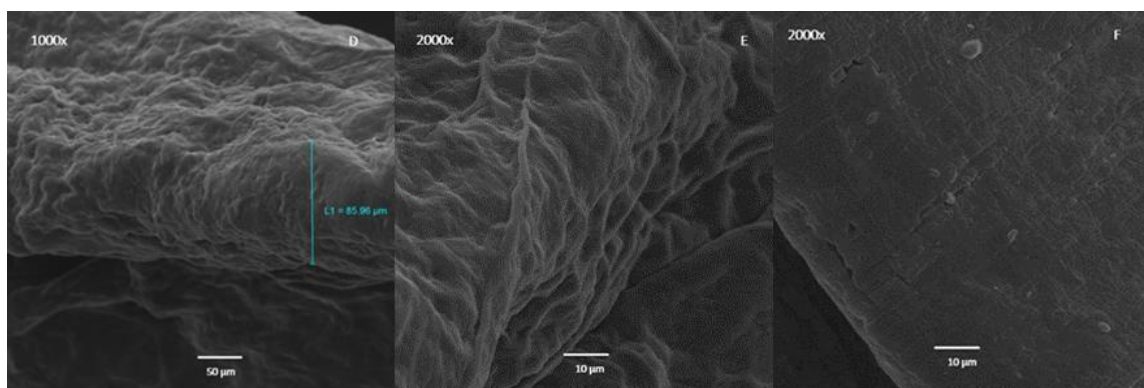


FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: D – 2000x, E- 2000x, F- 2000x.

As micropartículas com 40% de WPI (A60%) e com 60% de WPI (A40%) mostraram comportamento morfológico interno similares entre si (FIGURA 34, 35) e distintos das demais. A parede da micropartícula com 40% de WPI (A60%, $\pm 86 \mu\text{m}$) era menos espessa do que a de 60% de WPI (A40%, $\pm 32 \mu\text{m}$).

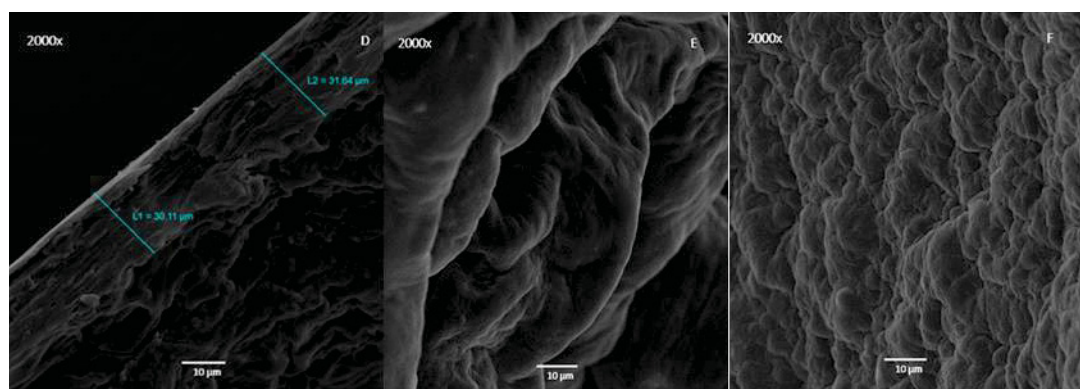
FIGURA 34 – MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A60%



FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: D – 1000x, E- 2000x, F- 2000x.

FIGURA 35 – MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A40%

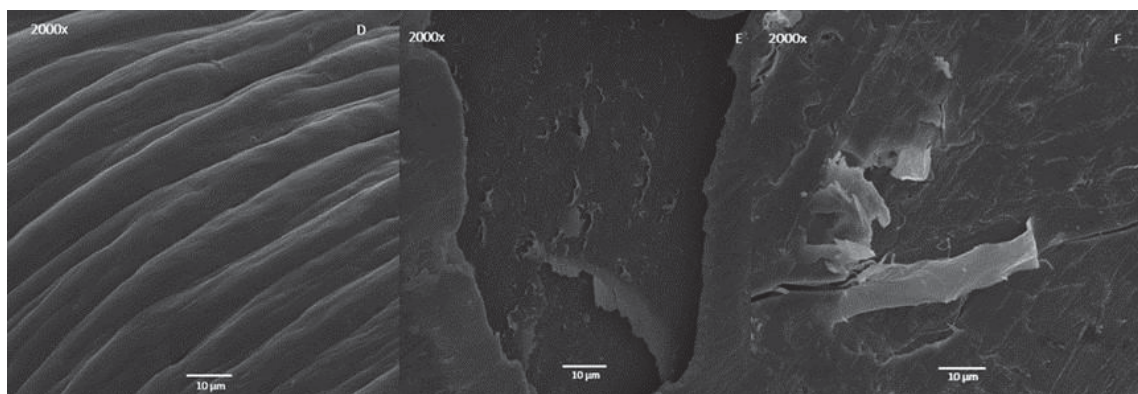


FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: D – 2000x, E- 2000x, F- 2000x.

Micropartículas com 80% de WPI (A20%) apresentam algumas regiões uniformes (FIGURA 36A) e outras não (36B,C). Todas são contínuas, o que não permite delimitar o material mais denso (de parede), ou seja, o WPI está amplamente disperso na micropartícula. Com esta ampliação de 2000x, pequenas depressões e fissuras foram visualizadas podendo ser atribuídas à rearranjo estrutural dos biopolímeros.

FIGURA 36– MICROIMAGEM DAS SUPERFÍCIES INTERNAS DAS MICROPARTÍCULAS A20%.



FONTE: O autor (2020).

LEGENDA: D – 2000x, E- 2000x, F- 2000x.

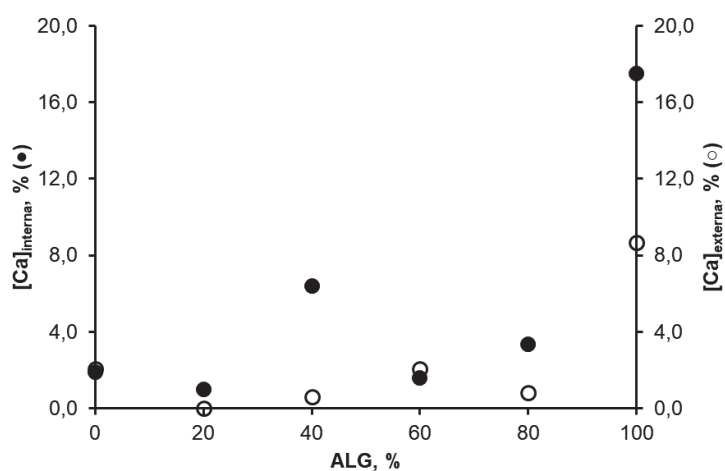
Neste contexto, o aspecto microestrutural não justifica o comportamento similar observado entre a micropartícula de associação com 40% de WPI (A60%) e as micropartículas puras de WPI (A0%) e alginato (A100%) em relação a termoestabilidade, observado na TGA, e interação molecular, observado na FTIR-ATR. Ainda, a micromorfologia da associação com 60% de WPI (A40%) era parecida com a de 40% (A60%). As associações de 20 (A80%) e 80% (A20%) de WPI ficaram parecidas com o alginato puro (A100%) e WPI puro (A0%), respectivamente.

4.5.2. Microanálise pontual das micropartículas.

A composição de micropartícula de alginato (A100%) avaliada por espectroscopia por energia dispersiva (EDS) não foi previsível, pois houve muita variação de teores, seja determinado pontualmente ou por mapeamento completo. Carbono, oxigênio, cálcio, cloro e sódio foram detectados como constituintes desta micropartícula. A substituição gradativa do alginato por WPI revelou a presença de nitrogênio, fósforo, magnésio, potássio e enxofre, mas também sem possibilitar previsibilidade (TABELAS 14, 15, 16, 17, 18, 19).

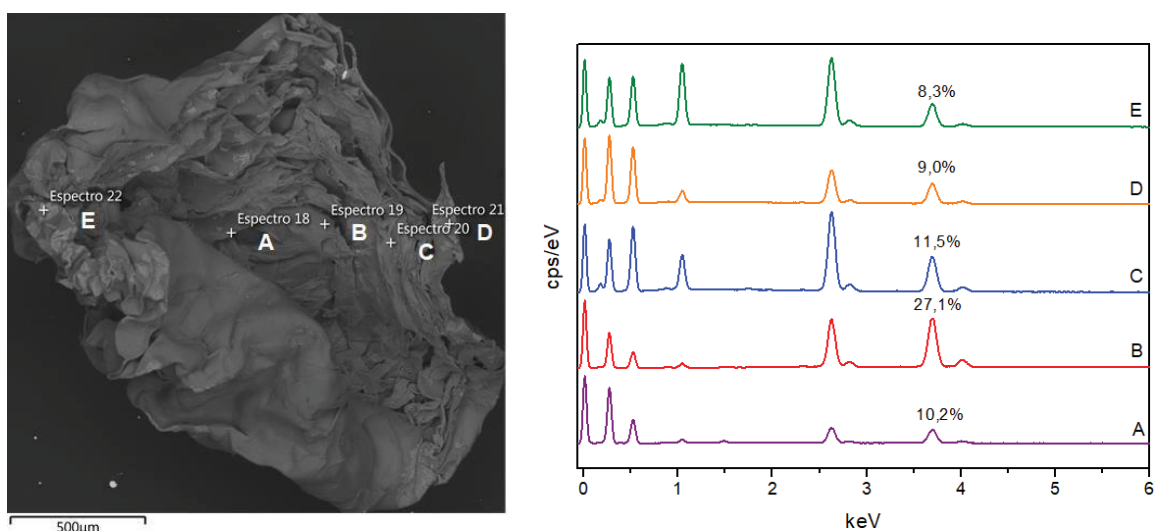
A concentração de cálcio seja interno ou externo foi maior para micropartícula de alginato puro (A100%) (FIGURA 37). A conformação molecular do alginato de cálcio prevista no modelo “caixa de ovos” justifica esse resultado. Assim, para elementos como o sódio, sua baixa concentração por exemplo é justificada, através da substituição dos íons sódio (Na^+) pelos íons cálcio (Ca^{2+}), dado pelo processo de gelificação (RAMOS et al, 2018). A discrepância encontrada para A40% na porção interna pode ser decorrente da oclusão de uma microgota de cloreto de cálcio da solução geradora de micropartícula de hidrogel.

FIGURA 37- TEOR DE CÁLCIO MÉDIO (n=5) ENTRE AS MICROPARTÍCULAS



FONTE: O autor (2020).

FIGURA 38- ESPECTROS A100%



FONTE: O autor (2020).

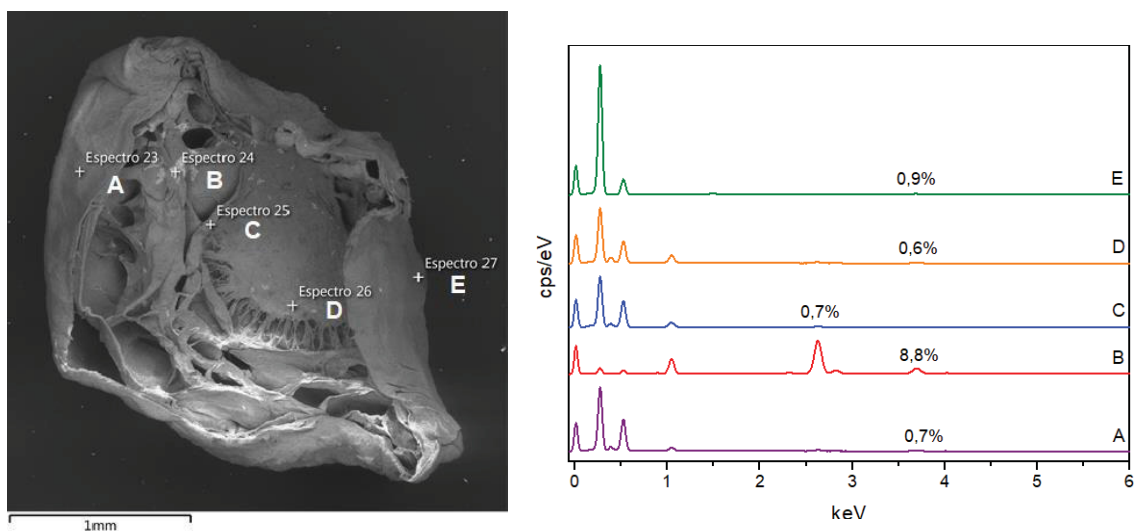
TABELA 14 – CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A100%.

	C	O	Ca	Cl	Na
Espectro 18 (A)	54,0	27,8	10,2	6,9	1,2
Espectro 19 (B)	39,8	17,2	27,1	14,9	1,1
Espectro 20 (C)	38,5	29,6	15,2	11,5	5,2
Espectro 21 (D)	45,9	33,8	9,0	8,9	2,4
Espectro 22 (E)	41,6	25,1	8,3	14,9	9,9

FONTE: O autor (20120).

Para as associações de ALG com WPI os valores para cálcio foram diminuindo tendo apenas no interior uma concentração maior do que dos outros espectros (FIGURAS 39, 40, 41, 42).

FIGURA 39– ESPECTROS A80%



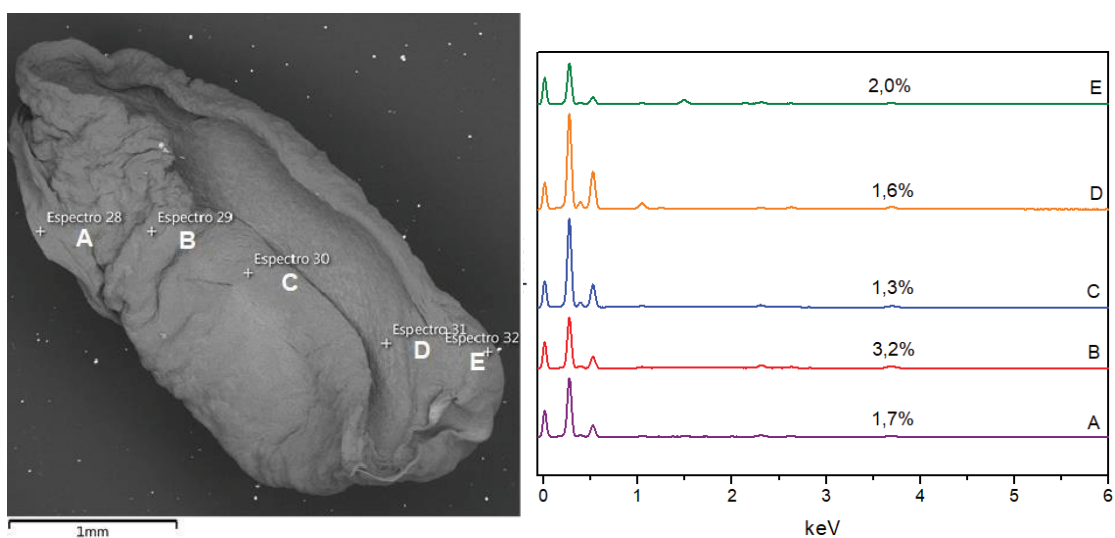
FONTE: O autor (2020).

TABELA 15 – CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A80%.

	C	O	Ca	Cl	Na	N
Espectro 23 (A)	47,3	39,1	0,7	0,7	1,4	10,8
Espectro 24 (B)	39,9	9,5	8,8	31,7	10,0	-
Espectro 25 (C)	54,3	41,0	0,7	1,0	3,0	-
Espectro 26 (D)	45,2	31,7	0,6	0,8	3,6	18,1
Espectro 27 (E)	75,7	23,0	0,9	0,3	-	-

FONTE: O autor (2020).

FIGURA 40 – ESPECTROS A60%



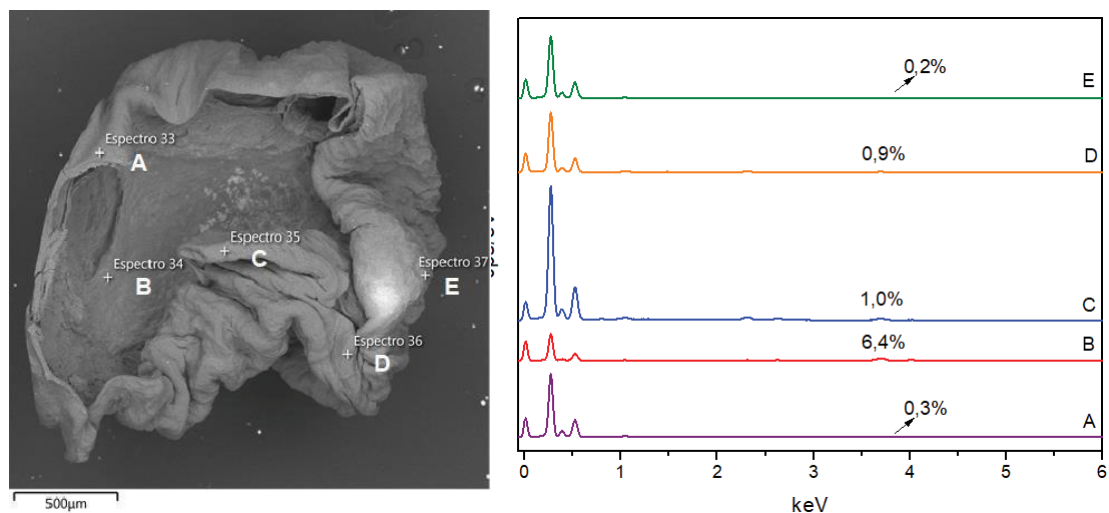
FONTE: O autor (2020).

TABELA 16 – CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A60%.

	C	O	Ca	Cl	Na	N
Espectro 28 (A)	59,3	26,8	1,7	0,6	0,4	11,3
Espectro 29 (B)	54,9	27,7	3,2	1,1	0,7	12,4
Espectro 30 (C)	53,0	30,1	1,3	0,6	0,6	14,4
Espectro 31 (D)	47,3	34,3	1,6	0,8	1,7	14,4
Espectro 32 (E)	59,4	24,5	2,0	0,8	0,5	12,8

FONTE: O autor (2020).

FIGURA 41 – ESPECTROS A40%.



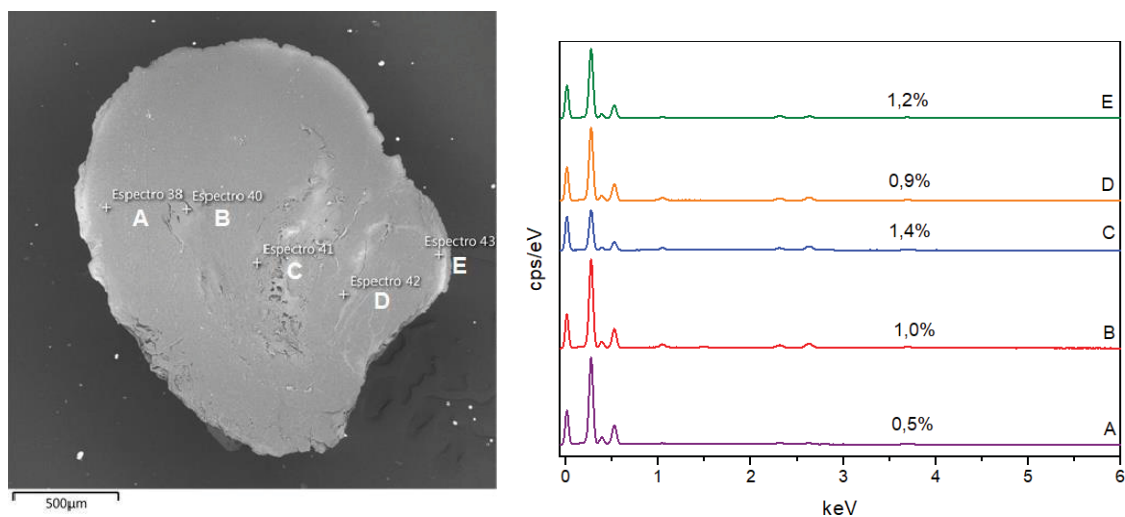
FONTE: O autor (2020).

TABELA 17 – CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A40%.

	C	O	Ca	Cl	Na	N	P
Espectro 33 (A)	46,8	29,9	0,3	0,2	0,5	22,3	-
Espectro 34 (B)	59,2	33,0	6,4	0,9	0,5	-	-
Espectro 35 (C)	50,8	27,5	1,0	0,5	0,5	19,7	0,1
Espectro 36 (D)	52,4	28,2	0,9	0,2	0,5	17,7	0,1
Espectro 37 (E)	48,7	29,0	0,2	0,1	0,4	21,7	-

FONTE: O autor (2020).

FIGURA 42 – ESPECTROS A20%.



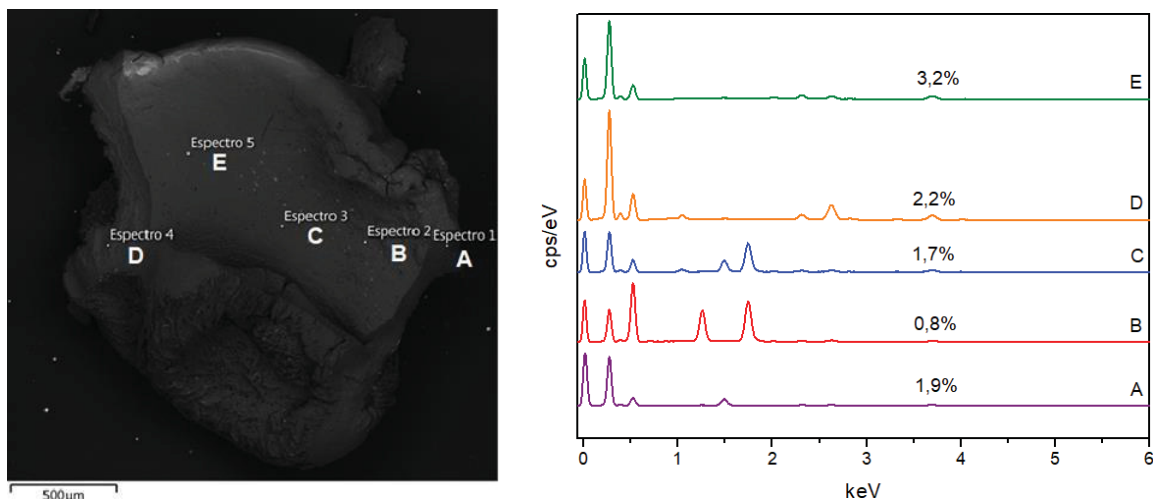
FONTE: O autor (2020).

TABELA 18 – CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A20%.

	C	O	Ca	Cl	Na	N	P
Espectro 38 (A)	51,0	26,9	0,5	0,6	0,2	20,7	-
Espectro 40 (B)	54,0	24,1	1,0	2,0	1,1	18,0	-
Espectro 41 (C)	55,8	21,6	1,4	3,5	1,3	16,3	-
Espectro 42 (D)	53,5	25,4	0,9	1,8	1,1	17,3	-
Espectro 43 (E)	55,3	24,2	1,2	1,3	0,3	17,8	-

FONTE: O autor (2020).

FIGURA 43 – ESPECTROS A0%



FONTE: O autor (2020).

TABELA 19 – CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM % DE A0%.

	C	O	Ca	Cl	Na	N	P	Mg	K	S
Espectro 1 (A)	65,4	23,9	1,9	1,1	0,2	7,2	0,2	0,4	-	-
Espectro 2 (B)	36,0	40,1	0,8	0,6	1,1	2,7	0,1	8,2	-	-
Espectro 3 (C)	57,8	17,6	1,7	0,9	0,9	7,0	0,2	-	0,1	-
Espectro 4 (D)	59,2	20,	2,2	4,2	0,8	12,0	-	-	0,2	1,2
Espectro 5 (E)	58,0	23,1	3,2	1,6	0,3	13,3	-	-	-	0,7

FONTE: O autor (2020)

A microanálise por pontos é realizada a partir da determinação de pontos aleatórios na superfície da amostra, não sendo possível a determinação geral de forma quantitativa dos teores dos elementos presentes nas microcápsulas, sendo assim, a microanálise por mapeamento foi aplicada.

4.5.3. Microanálise por mapeamento das micropartículas

A substituição de alginato por WPI não altera sensivelmente o teor de carbono, elemento primordial dos biopolímeros (Tabela 20). O teor de oxigênio foi maior para micropartículas de WPI e de suas associações. O teor de cálcio aumentou com o incremento de WPI, sendo que para A60% o teor foi similar. Essa associação correspondeu ao comportamento atípico revelado pela TGA e FTIR-ATR. Os demais elementos detectados (P, K e S) apresentaram teores muito baixos para proposição de alguma hipótese. Estranhamente, não foi detectado nitrogênio nesta técnica, sendo que é um elemento relevante na composição proteica, ou seja, do WPI.

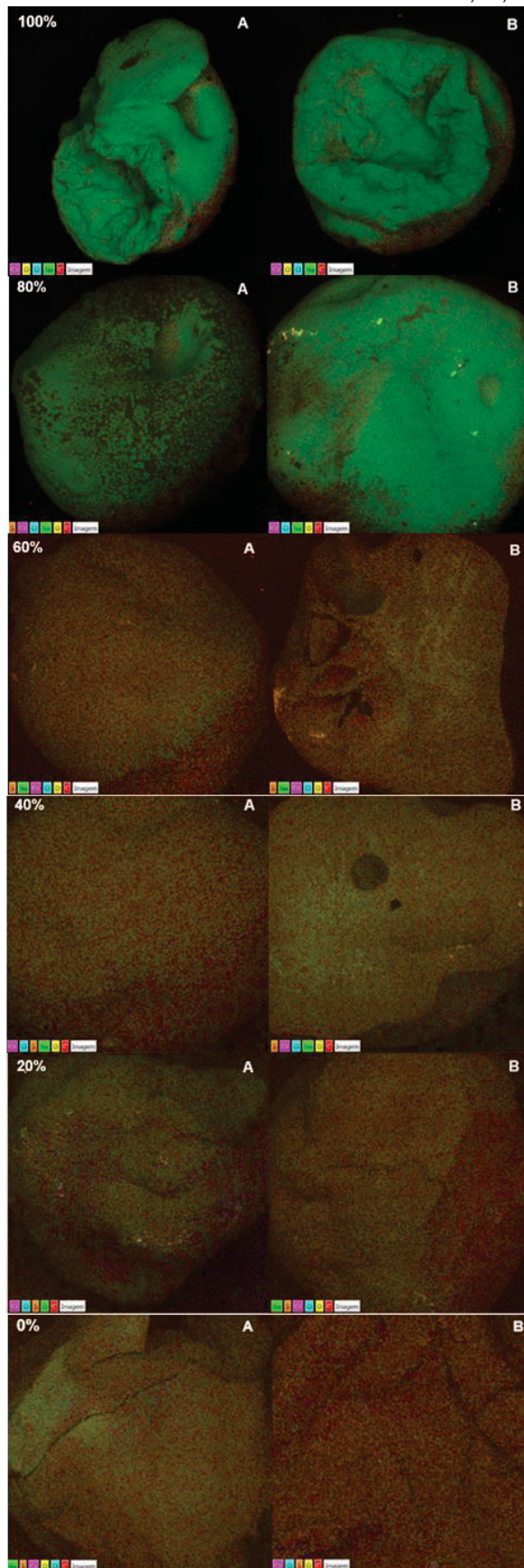
As micropartículas de alginato puro (A100%) apresentam menor teor de cálcio superficial do que a porção interna (FIGURA 44). O sódio é o contraíon do alginato, o qual deveria ter sido substituído completamente pelo cálcio. Isto pode ser justificado pela migração em conjunto com as moléculas de água no processo de secagem. Esta hipótese é reforçada pelo aumento simultânea de cloreto.

TABELA 20- CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS EM %.

	Superfície	C	O	Ca	Cl	Na	P	K
A100%	Externa	67,1	5,2	0,1	16,8	10,6	-	-
	Interna	67,9	5,9	0,2	15,5	10,5	-	-
A80%	Externa	63,4	12,2	0,9	13,2	8,8	-	-
	Interna	52,0	5,7	0,2	25,0	16,3	-	-
A60%	Externa	65,7	27,4	2,9	2,5	0,6	0,1	0,1
	Interna	66,6	24,2	2,9	3,8	1,5	-	0,1
A40%	Externa	69,8	25,1	2,1	1,5	0,3	0,1	0,1
	Interna	67,8	24,9	1,7	3,1	1,4	-	0,1
A20%	Externa	75,4	20,0	1,7	1,6	0,1	0,1	0,1
	Interna	72,7	21,6	2,0	2,1	0,3	0,1	0,1
A0%	Externa	70,1	19,8	3,0	5,1	0,7	-	0,1
	Interna	70,7	24,1	2,1	1,4	0,3	0,3	0,1

FONTE: O autor (2019).

FIGURA 44- MAPEAMENTO SUPERFICIAIS DE Ca, O, Cl, Na e C.



FONTE: O autor (2019).

LEGENDA: A – porção externa, B- porção interna.

5. CONCLUSÕES

Este estudo evidencia que pela metodologia utilizada é possível produzir micropartículas a partir da substituição do alginato por WPI puro e em diferentes proporções.

As análises de caracterização indicaram que, de forma geral, é factível substituir o alginato por WPI, seja totalmente ou parcialmente. No entanto, o comportamento térmico, a interação molecular, a micromorfologia e a composição variam.

Os tamanhos das partículas úmidas são similares e dependendo da composição polimérica reduz drasticamente o tamanho depois de serem secas. As hidroesferas de alginato contem mais água e são desprendidas mais facilmente. A pirólise das partículas ocorre em temperaturas muito superiores a de desidratação, sendo que é mais tardia para as com WPI. As variações quantitativas dos biopolímeros na composição da hidroesfera afetam a interação molecular e a micromorfologia. A microcomposição das partículas é dependente da formulação.

Essas características devem ser compatíveis com o objetivo de sua aplicação. Por exemplo, as de WPI puro não são adequadas para liberação dirigida de moléculas, pois são quebradiças e amorfas. As de alginato puro facilitam a liberação devido sua alta porosidade. Assim, as formas associativas podem ser melhores, facilitando a interação com agente encapsulado hidrofílico e hidrofóbico, bem como com a disposição de uma gama maior de elementos químicos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL AZIZ, M. S.; SALAMA, H. E.; SABAA, M. W. Biobased alginate/castor oil edible films for active food packaging. **LWT**, v. 96, p. 455–460, 2018.
- AGÜERO, L. Alginate microparticles as oral colon drug delivery device: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 168, p. 32–43, 2017.
- ALMURISI, S. H. et al. Taste masking of paracetamol encapsulated in chitosan-coated alginate beads. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 56, 2020.
- ALVES, M. P. et al. Whey: technologies for coproducts production. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 3, p. 212-226, mai/jun, 2014.
- ANÁLISES TÉRMICAS LIMITED. **Como interpretar curvas de TGA e DSC**. Disponível em: <<http://www.analisestermicas.com.br/como-interpretar-curvas-de-tga-e-dsc/>>. Acesso em: 12 dez. 2019.
- BASTOS, L. P. H.; CARVALHO, C. W. P.; GARCIA-ROJAS, E. E. Formation and characterization of the complex coacervates obtained between lactoferrin and sodium alginate. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 332-338, 2018.
- BEAULIEU, L.; SAVOIE, L.; PAQUIN, P.; SUBIRADE, M. Elaboration and Characterization of Whey Protein Beads by an Emulsification/Cold Gelation Process: Application for the Protection of Retinol. **Biomacromolecules**, v. 3, p. 239-248, 2002.
- BELSCAK-CVITANOVIC, A. et al. Protein-reinforced and chitosan-pectin coated alginate microparticles for delivery of flavan-3-ol antioxidants and caffeine from green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 361–374, 2015.
- BENAVIDES, S. et al. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food Chemistry**, v. 204, p. 77-83, 2016.
- BENETTI, C. **Estudo da reparação óssea por espectroscopia ATR-FTIR após remoção de fragmento da região mandibular com laser de Er,Cr:YSGG ou broca multilaminada**. 91f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) – Setor de Materiais, Instituto De Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2014.
- BORIN, I. et al. Effect of osmotic pre-treatment with sucrose and sodium chloride on convective drying of pumpkin. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p.39-50, jan.-mar., 2008.

BRANDELLI, A.; DAROIT, D. J.; CORRÊA, A. P. F.; Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. **Food Research International**, v. 73, p. 149-161, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 175, de 16 de maio de 2005. **Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole**. Coordenação Geral de Programas Especiais do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – CGPE/DIPOA. Brasília, DF, 16 mai. 2005.

CALLEFI, T. S. L. **Microencapsulação de polpa de amora-preta por coacervação e spray drying**. 170f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

CALHEIROS, S. **A moda de hambúrgueres, pizzas e bolos com carvão**, 2019. Visão. Disponível em: <<https://visao.sapo.pt/atualidade/sociedade/2019-03-23-A-moda-de-hamburgueres-pizzas-e-bolos-com-carvao/>>. Acesso em: 12 mar. 2020.

CAMPOS, S., WEINSCHUTZ, R., CHERUBIN, E., MATHIAS, A.L. Comparative evaluation of the carbon footprint from margarine and butter production in southern Brazil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 24, n. 1, p. 93-100. 2019.

CANEVAROLO JR., S. V. Técnicas de caracterização de polímeros. 1. ed. São Paulo: **Artliber**, 2003.

CARVALHO, A. G. S. et al. Anthocyanins from jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract carried by calcium alginate beads pre-prepared using ionic gelation. *Powder Technology*, v. 345, p.13-25, 2017.

CENDON, F.V.; JORGE, R.M.M.J.; WEINSCHUTZ, R.; MATHIAS, A.L. Effect of matrix composition, sphere size and hormone concentration on diffusion coefficient of insulin for controlled gastrointestinal delivery for diabetes treatment. **Journal of Microencapsulation**, v.35, n. 1, p. 13-25, 2017.

CHAMBI, H. N. M. et al. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterization and release profiles. **Food Research International**, v. 41, n. 3, p. 229–236, 2008.

CHING, S. N.; BANSAL, N.; BHANDARI, B. Alginate gel particles- a review of production techniques and physical properties, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2015.

COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 442–457, 2016.

CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 20, 2014, Florianópolis. **Estudo dos compostos nitrogenados e oxigenados obtidos a partir da pirólise térmica do lodo de esgoto anaeróbico coletado na ete-mangueira**. Santa Catarina: Departamento de Engenharia de Química, 2014.

CONGRESSO DA SOCIEDADE LATINO AMERICANA DE BIOMATERIAIS, ORGÃOS ARTIFICIAIS E ENGENHARIA DE TECIDOS, 14, 2017, Maresias.

Resumo do Processamento e caracterização de hidrogéis a base de alginato e goma gelana visando aplicações em articulações. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia de Materiais, 2017.

DÉAT-LAINÉ, E. et al. Development and in vitro characterization of insulin loaded whey protein and alginate microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 439, n. 1, p. 136–144, 2012.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores.** Porto Alegre : EDIPUCRS, 2007. E–book. Disponível em: < <http://www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia.pdf> >. Acesso em: 25 jan. 2020.

DEKA, C. et al. Synthesis of peppermint oil-loaded chitosan/alginate polyelectrolyte complexes and study of their antibacterial activity. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 35, p. 314–322, 2016.

DUARTE, L. C. et al. Aplicações de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e sistema de energia dispersiva (EDS) no estudo de gemas: exemplos brasileiros. **Pesquisas em Geociências**, v. 30, n. 2, p.3-15, 2003.

DOUBLIER, J. L. et al. Protein–polysaccharide interactions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 5, n. 3, p. 202–214, 2000.

ECKERT, C. et al. Development of alginate-pectin microparticles with dairy whey using vibration technology: Effects of matrix composition on the protection of *Lactobacillus* spp. from adverse conditions. **Food Research International**, v. 113, p. 65–73, 2018.

EMBRAPA. **ANUÁRIO LEITE 2018: Indicadores, tendências e oportunidades para quem vive no setor leiteiro.** Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/181654/1/Anuario-Leite-2018.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2019.

EMBRAPA. **ANUÁRIO LEITE 2019: Novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais.** Disponível em: <<https://www.google.com/search?q=EMBRAPA.+ANU%C3%81RIO+LEITE+2019&oq=EMBRAPA.+ANU%C3%81RIO+LEITE+2019&aqs=chrome..69i57j0l2.664j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8#>>>. Acesso em: 27 jan. 2020.

ETCHEPARE, M. A. et al. Improvement of the viability of encapsulated probiotics using whey proteins. **LWT**, v. 117, 2020.

EZHILARASI, P.N. et al. Freeze drying technique for microencapsulation of Garcinia fruit extract and its effect on bread quality. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 513–520, 2013.

FAIDI, A. et al. Application of sodium alginate extracted from a Tunisian brown algae *Padina pavonica* for essential oil encapsulation: Microspheres preparation, characterization and in vitro release study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 386–394, 2019.

FÁVARO-TRINDADE, C. S. Revisão: microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal Food Technology**, v.11, n.2, p.103-112, 2008.

FIORAMONTI, S. A. et al. Design and characterization of soluble biopolymer complexes produced by electrostatic self-assembly of a whey protein isolate and sodium alginate. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 129–136, 2014.

GHARSALLAOUI, A. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107–1121, 2007.

GOMBOTZ, W. R.; WEE, S. F. Protein release from alginate matrices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 194–205, 2012.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 330–347, 2004.

HARNSILAWATA, T.; PONGSAWATMANITA, R.; MCCLEMENTS, D. J. Characterization of β -lactoglobulin–sodium alginate interactions in aqueous solutions: A calorimetry, light scattering, electrophoretic mobility and solubility study. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 577-585, 2006.

HASHIM, A. F. et al. Antioxidant and antibacterial activities of omega-3 rich oils/curcumin nanoemulsions loaded in chitosan and alginate-based microbeads. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 140, p. 682–696, 2019.

HOSSEINI, S. M. et al. Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 62, p. 582–588, 2013.

JOYE, I. J.; MCCLEMENTS, D. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 19, p. 417-427, 2014.

KHALESI, H. et al. Whey protein isolate-Persian gum interaction at neutral pH. **Food Hydrocolloids**. v. 59, p. 45-49, 2016.

KISPERGHER, E. M.; D'AQUINO, C. A.; COSTA JUNIOR, L. C.; MELLO, T. C.; WEINSCHUTZ, R.; MATHIAS, A. L. Effect of organic load and alkalinity on dairy wastewater biomethanation. **Engenharia Agricola**, v. 37, n. 4, p. 820-827, 2017.

KRISHNASAMY, S. et al. Recent advances in thermal properties of hybrid cellulosic fiber reinforced polymer composites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 141, p. 1–13, 2019.

KUROZAWA, L. E.; HUBINGER, M. D. Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. **Food Science**, v.15, p. 50–55, 2017.

LAOHASONGKRAMA, K.; MAHAMAKTUDSANEE, T.; CHAIWANICHSIRI, S. Microencapsulation of Macadamia oil by spray drying. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1660 – 1665, 2011.

LAWRIE, G. et al. Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 8, p. 2533– 2541, 2007.

LEICK, S. et al. Deformation of liquid-filled calcium alginate capsules in a spinning drop apparatus. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 12, p. 2950–2958, 2010.

LEKSHMI, R. G. K. et al. Chitosan – Whey protein as efficient delivery system for squalene: Characterization and functional food application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 855–863, 2019.

LIM, G.; AHMAD, M. S. Development of Ca-alginate-chitosan microcapsules for encapsulation and controlled release of imidacloprid to control dengue outbreaks. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 56, p. 382– 393, 2017.

LIU, W.; CHEN, X. D.; CHENG, Z.; SELOMULYA, C. On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 169, p. 189-195, 2016.

LÓPEZ CÓRDOBA, A.; DELADINO, L.; MARTINO, M. Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 315–323, 2013.

LUIZ, L. C. et al. The use of energy dispersive spectroscopy (EDS) for comparison of generic and similar drugs with their reference drugs. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 19, n. 3, p. 179-186, 2015.

LUZ, G. B. (2016). Processo de extração das proteínas de soro de leite para produção de concentrado proteico. **E-Tech: Tecnologias para Competitividade Industrial**. v. 9, p. 2. <<http://etech.sc.senai.br/index.php/edicao01/article/download/507/444/>>.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J. I.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 1–21, 2006.

MALVERN INSTRUMENTS LIMITED. **Characterization of Whey Protein Isolate (WPI) using multi-detector size-exclusion chromatography**. Disponível em: <https://theanalyticalscientist.com/fileadmin/tas/issues/App_Notes/Malvern-AN140821CharacterizationofWheyProteinIsolate.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2020.

MARTÍN, M. J. et al. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 27, p. 15–25, 2015.

MIMURA, H. J.; JORGE, R. M. M.; MATHIAS, A. L. Pretreatments in drying and rehydration of mushrooms slices. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.4, p.717-722, abr., 2014.

MÜLLER, J. M.; DOS SANTOS, R. L.; BRIGIDO, R. V. Produção de alginato por micro-organismos. **Polímeros**, v. 21, n.4, p.305-310, 2011.

MÜLLER, P. S. **Microencapsulação de óleo essencial de laranja**. 99f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

NICOLÁS, P.; FERREIRA, M. L.; LASSALLE, V. A review of magnetic separation of whey proteins and potential application to whey proteins recovery, isolation and utilization. **Journal of Food Engineering**, v. 246, p. 7-15, 2019.

OZEL, B.; AYDIN, O.; OZTOP, M. H. In vitro digestion of polysaccharide including whey protein isolate hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, p. 115469, 2019.

PARK, K. J.; YADO, M. K. M.; BROD, F. P. R. Estudo de secagem de pêra bartlett (*Pyrus* sp.) em fatias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 288-292, set-dez, 2001.

PEREIRA, A. da S. et al. Chitosan-alginate beads as encapsulating agents for *Yarrowia lipolytica* lipase: Morphological, physico-chemical and kinetic characteristics. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 621–630, 2019.

PEREIRA, I. O. **Análise e otimização do processo de ultrafiltração do soro de leite para produção de concentrado proteico**. 62 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2009.

PEREIRA, T. M. M. **Caracterização térmica (TG/DTG, DTA, DSC-fotovisual de hormônios bioidênticos (estriol e estradiol)**.87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

RAEI, M.; RAFE, A.; SHAHIDI, F. Rheological and structural characteristics of whey protein-pectin complex coacervates. **Journal of Food Engineering**, v. 228, p. 25-31, 2018.

RAJAM, R.; KARTHIK, P.; PARTHASARATHI, S.; JOSEPH, G. S.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Effect of whey protein – alginate wall systems on survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions. **Journal of Functional Foods**, v. 4, p. 891-898, 2012.

RAMOS, O. L. et al. Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 110–122, 2013.

RAMOS, P. E. Effect of alginate molecular weight and M/G ratio in beads properties foreseeing the protection of probiotics. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 8–16, 2018.

ROSHANGHIAS, S.; MADADLOU, A. Functional and gel properties of whey protein nanofibrils as influenced by partial substitution with cellulose nanocrystal and alginate. **International Dairy Journal**, v. 81, p. 53-61, 2018.

ROSA, E. C. A. et al. Determination of kinetic parameters and computational simulation of perfluoropolyter (PFPE) employed as a synthetic lubricant. **Química Nova**, v. 42, n. 7, 2019.

RUSCHEL, C. et al. Exploratory analysis applied to attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR-FTIR) of biodiesel/diesel blends. **Química Nova**, 2014.

SALAZAR, N. A.; ALVAREZ, C.; ORREGO, C. E. Optimization of freezing parameters for freeze-drying mango (*Mangifera indica* L.) slices. **Drying Technology**, v. 36, n. 2, p. 192-204, 2018.

SAMANTA, H. S.; RAY, S. K. Synthesis, characterization, swelling and drug release behavior of semi-interpenetrating network hydrogels of sodium alginate and polyacrylamide. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 666–678, 2014.

SARAVANAN, M.; RAO, K. P. Pectin–gelatin and alginate–gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: Influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical properties of microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 808–816, 2010.

SERVAT, L. Microencapsulation: a Promising Alternative for Preserving Natural Products. **Revista Fitos**, v. 5, n. 2, 2010.

SILVA, E. C.; PAOLA, M. V. R. V.; MATOS, J. do R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 2007.

SILVA, E. K. et al. Ultrasound-assisted encapsulation of annatto seed oil: Whey protein isolate versus modified starch. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 71–83, 2016.

SILVA, K. A. et al. Olive oil and lemon salad dressing microencapsulated by freeze-drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 569–574, 2013.

SILVA, P. T. et al. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.7, p.1304-1311, jul., 2014.

SHAHARUDDINA, S.; MUHAMADA, I. I. Microencapsulation of alginate- immobilized bagasse with *Lactobacillus rhamnosus* NRRL 442: Enhancement of survivability and thermotolerance. **Carbohydrate Polymers**, v. 119, p. 173– 181, 2015.

SOARES, C. T. **Secagem da polpa de pequi por liofilização**. 96f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

SOUZA, D; CASTILLO, T, E; RODRIGUEZ, R, J, S. Impacto do co-monômero hidroxivalerato na cinética de degradação térmica dos poli (3- hidroxialcanoatos). **Revista Matéria**, v. 14, n. 3, p. 946-956, 2009.

SUN, X.; CAMERON, R. G.; BAI, J. Microencapsulation and antimicrobial activity of carvacrol in a pectin-alginate matrix. **Food Hydrocolloids**, v. 92, p. 69–73, 2019.

TAVARES, L.; NOREÑA, C. P. Z. Encapsulation of garlic extract using complex coacervation with whey protein isolate and chitosan as wall materials followed by spray drying. **Food Hydrocolloids**, v.89, p. 360–369, 2019.

TAGUCHI, Y.; SAITO, N.; UCHIDA, A.; TANAKA, M. Preparation of thermosensitive microcapsules containing water soluble powder by melting dispersion cooling method. **Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences**, p. 57 – 69, 2016.

TOZETTO, A.; MOTTIN DEMIATE, I.; NAGATA, N. Análise exploratória de adoçantes de mesa via espectroscopia no infravermelho (FTIR) e análise por componentes principais (ACP). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 723–728, 2007.

VANISKI, R.; CORTI, D.; DRUNKLER, D. A. Técnicas e materiais empregados na microencapsulação de probióticos. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 8, n. 1, p. 156-184, jan./mar. 2017.

VENKITARAJ, K. P.; SURESH, S. Experimental thermal degradation analysis of pentaerythritol with alumina nano additives for thermal energy storage application. **Journal of Energy Storage**, v. 22, p. 8–16, 2019.

VOLIĆ, M. et al. Alginate/soy protein system for essential oil encapsulation with intestinal delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 200, p. 15–24, 2018.

WANG, W.; JIANG, Y.; ZHOU, W. Characteristics of soy sauce powders spray- dried using dairy whey proteins and maltodextrins as drying aids. **Journal of Food Engineering**, v. 119, p. 724–730, 2013.

WEN-QIONG, W.; YI-HONG, B.; YING, C. Characteristics and antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products from interactions in a whey protein isolate and sugars system. **Food Chemistry**, v. 139, p. 355-361, 2013.

YANG, J.; XIE, Y.; HE, W. Research progress on chemical modification of alginate: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 33–39, 2011.

YULIANI, S. et al. Extrusion of mixtures of starch and D-limonene encapsulated with β -cyclodextrin: Flavour retention and physical properties. **Food Research International**, v. 39, p. 318–331, 2006.

ZHANG, Z.; ZHANG, R.; MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of β -carotene in alginate-based hydrogel beads: Impact on physicochemical stability and bioaccessibility. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 1–10, 2016.