



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

MAXIMIZAÇÃO DA ENCAPSULAÇÃO DE CAROTENOIDES PRODUZIDOS PELA
PHAFFIA RHODOZYMA POR *SPRAY DRYER*

QUÍMICO DE ALIMENTOS GUILHERME DA SILVA MENEGAZZI

PROF^a DR^a JANAÍNA FERNANDES DE MEDEIROS BURKERT
Orientadora
PROF^o DR. LUIZ ANTONIO DE ALMEIDA PINTO
Coorientador

RIO GRANDE, RS
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

Maximização da encapsulação de carotenoides produzidos
pela *Phaffia rhodozyma* por *Spray dryer*

Químico de Alimentos Guilherme da Silva Menegazzi

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre
em Engenharia e Ciência de Alimentos.

Prof^a Dr^a Janaína Fernandes de Medeiros Burkert
Orientadora
Prof^o Dr Luiz Antonio de Almeida Pinto
Coorientador

Rio Grande, RS
2019

Ficha Catalográfica

M541m Menegazzi, Guilherme da Silva.

Maximização da encapsulação de carotenoides produzidos pela *Phaffia rhodozyma* por *Spray dryer* / Guilherme da Silva Menegazzi. – 2019.

89 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2019.

Orientadora: Dra. Janaína Fernandes de Medeiros Burkert.

Coorientador: Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto.

1. Aditivos 2. Biocompostos 3. Leveduras 4. Cápsulas
5. Pigmentos I. Burkert, Janaína Fernandes de Medeiros II. Pinto, Luiz Antonio de Almeida III. Título.

CDU 661.155

AGRADECIMENTOS

À Deus pois sem Ele nada disso seria possível.

Aos meus pais, Ronaldo e Rosângela, minha irmã Giovanna, meu avô Adão, meu avô Roberto, minha dinda e tia Carmem e família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Aos meus colegas de laboratório LASCQ e ENGEBIO, que no início eram apenas colegas dentro de uma mesma instituição e hoje são amigos e amigas na qual tenho muito respeito, orgulho e admiração. Obrigado por tudo, por cada conselho, ajuda, apoio, frases positivas, risadas, momentos de descontração e pelo café de cada dia. Obrigado por estarem comigo e fazer parte desta jornada. Levarei todos em meu coração e quero que saibam que sempre poderão contar comigo.

Aos meus colegas de aula Alan, Bruna, Carolina, Débora, Evellin, Priscilla Helena, Karina, Lutiane, Marcy Heli, Marina, Patrick, Veronica, Wesclen, Tiago, Danielle, Gabriel, Jéssica, Camila e Joice, pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas e por toda a ajuda que me deram ao longo deste tempo de convivência, em especial ao Wesclen, Alan, Patrick, Débora e Helena pelos almoços juntos, conversas, cafés e chimarrão.

Aos alunos de iniciação científica que trabalharam neste projeto Érika, Gabriel e Marcelle. Obrigado por todo apoio, ajuda e horas dedicadas a este trabalho sendo estas muitas vezes além do horário normal, finais de semana e feriados. Tenho certeza que vocês serão ótimos profissionais e principalmente ótimas pessoas no futuro e saibam que poderão contar comigo sempre que precisarem.

A todo Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, em especial aos Laboratórios LTI, LTA, LAMCA e LEB, ao Programa de Pós-graduação em Química Tecnológica e Ambiental, em especial ao Laboratório de Química Orgânica e ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, em especial ao Laboratório de Controle Ambiental por toda a ajuda com equipamentos, análises e apoio e às pessoas com quem convivi nesse espaço ao longo desses dois anos.

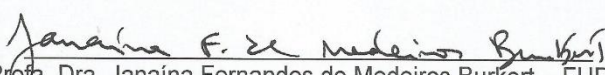
À minha orientadora Janaína Fernandes de Medeiros Burkert e coorientador Luiz Antonio de Almeida Pinto pela paciência na orientação, incentivo, ensinamentos, apoio e conversas que tornaram possível a conclusão desta dissertação.

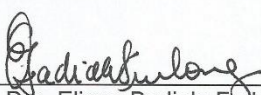
A todos que de maneira direta e indiretamente fizeram parte dessa etapa da minha vida. Muito Obrigado!!

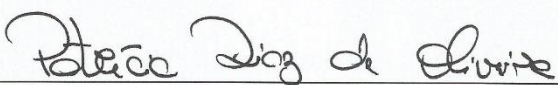
FOLHA DE APROVAÇÃO

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Guilherme da Silva Menegazzi e aprovada em 01 de março de 2019, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:


Profa. Dra. Janaína Fernandes de Medeiros Burkert - FURG


Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong - FURG


Profa. Dra. Patrícia Díaz de Oliveira - UFPEL

Dedico este trabalho as pessoas mais importantes da minha vida: minha mãe, Rosângela, meu pai, Ronaldo e minha irmã Giovanna

“Se o dinheiro for a sua esperança de independência, você jamais a terá. A única segurança verdadeira consiste numa reserva de sabedoria, de experiência e de competência”.

Henry Ford

RESUMO

Os carotenoides são pigmentos naturais responsáveis por conferir cores como amarelo, laranja e vermelho. Por apresentarem propriedades biológicas benéficas estão sendo aplicados nas indústrias de alimentos, farmacêutica e rações. A preocupação com o uso em excesso de aditivos químicos faz com que a produção destes pigmentos por processos biológicos ganhe destaque tendo em vista que a obtenção destes se dá majoritariamente por processos sintéticos. No entanto, estes biocompostos são altamente sensíveis quando expostos a luz, temperaturas elevadas e oxigênio, acarretando diminuição no seu potencial de pigmentação e bioatividade. Assim, a encapsulação surge como alternativa para promover a proteção destes pigmentos, conferindo estabilidade e permitindo a sua liberação e utilização de forma controlada. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar as condições de processo da encapsulação dos carotenoides produzidos pela levedura *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17268, utilizando como material de cobertura a goma xantana pelo método de secagem por *spray dryer*. Os cultivos da levedura foram realizados em frascos agitados de 500 mL com pH inicial de 6,0, acrescidos de 10% de inóculo (10^8 cél mL⁻¹), nas condições de 25°C, 180 rpm por 168 h. A biomassa obtida foi seca (35°C por 24 h) e macerada em moinho de bolas com câmara fechada com adição de nitrogênio na câmara e o tamanho de partícula foi padronizado em peneira de Tyler 115 (<125 µm). Os extratos carotenogênicos foram obtidos pela técnica de ruptura da parede celular em banho ultrassônico e extração com acetona. As condições do processo de atomização foram estudadas por um delineamento composto central 2³, tendo como variáveis temperatura do ar de entrada (110, 120 e 130°C), fluxo de alimentação (0,15, 0,20 e 0,25 L h⁻¹) e concentração (m/v) da suspensão de goma xantana (0,5, 0,75 e 1%) sendo a resposta o rendimento do processo. O rendimento de encapsulação variou de 27 a 49% sendo esta melhor condição na temperatura do ar de entrada de 130 °C, vazão de alimentação de 0,15 L h⁻¹ e 1% da concentração da suspensão de goma xantana. Nestas mesmas condições de processo a adição de 2% de Tween 80 e extratos carotenogênicos (100 µg/g) obtiveram microcápsulas com 51% de rendimento e 70% de eficiência de encapsulação. As análises de Calorimetria diferencial de varredura (DSC) e Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas evidenciando a encapsulação dos carotenoides pelo desaparecimento do pico endotérmico característicos do extrato carotenogênico nas cápsulas produzidas bem como a visualização dos grupos funcionais característicos de cada material utilizado, respectivamente. Assim, é possível concluir que o planejamento experimental permitiu realizar a maximização do rendimento do processo e a adição do Tween 80 promoveu uma elevada eficiência de encapsulação.

Palavras chave: Aditivos. Biocompostos. Leveduras. Cápsulas. Pigmentos.

Maximization of encapsulation carotenoids produced by *Phaffia rhodozyma* by spray dryer

Carotenoids are natural pigments responsible for imparting colors such as yellow, orange and red. Because they have beneficial biological properties they are being applied in the food, pharmaceutical and food industries. The preoccupation with the excessive use of chemical additives causes the production of these pigments by biological processes to be highlighted in view that the obtaining of these is given mainly by synthetic processes. However, these biocomposites are highly sensitive when exposed to light, high temperatures and oxygen, leading to a decrease in their potential for pigmentation and bioactivity. Thus, microencapsulation emerges as an alternative to promote the protection of these pigments, conferring stability and allowing their release and use in a controlled manner. Therefore, the objective of this work was to maximize the microencapsulation process conditions of the carotenoids produced by the yeast *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17268, using xanthan gum as the coating material by spray dryer. Yeast cultures were carried out in stirred vials of 500 mL with initial pH of 6.0, plus 10% of inoculum (10^8 cells mL⁻¹), under conditions of 25°C, 180 rpm for 168 h. The biomass obtained was dried (35°C for 24 h) and macerated in a closed chamber ball mill with nitrogen addition in the chamber and the particle size was standardized on Tyler 115 (<125 µm) sieve. Carotenogenic extracts were obtained by the technique of cell wall rupture by ultrasonic bath and extraction with acetone. The conditions of the atomization process were studied through a central composite design 2³, having input air temperatures (110, 120 and 130°C), feed flow (0.15, 0.20 and 0.25 L h⁻¹) and concentration (m/v) of the xanthan gum suspension (0.5, 0.75 and 1%) with the yield being the response. From the best conditions found in the planning, three trials were carried out, in triplicate, with addition of carotenoids evaluating the process yield and the encapsulation efficiency. Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analyzes were carried out, evidencing the encapsulation of carotenoids through the disappearance of the endothermic peak characteristic of the carotenogenic extract in the produced capsules as well as the visualization of the functional groups characteristic of each material used, respectively. Thus, it can be concluded that the experimental design allowed to maximize the yield of the process and the addition of Tween 80 promoted a high encapsulation efficiency.

Keywords: Additives. Biocomposites. Yeasts. Capsules. Pigments

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção de carotenoides por diferentes microrganismos utilizando meios alternativos para o cultivo.	33
Tabela 2 - Produção de carotenoides por <i>Phaffia rhodozyma</i> . . Erro! Indicador não definido.	
Tabela 3 – Comparação entre ensaios para encapsulação da suspensão de goma xantana com carotenoides.	51
Tabela 4 – Resultados de densidade das suspensões de goma xantana.	55
Tabela 5 – Parâmetros reológicos obtidos pela análises das suspensões de goma xantana 0,5, 0,75 e 1% (m/v), pela aplicação do modelo da Lei da Potência (Modelo de Ostwald-de-Waele).	57
Tabela 6 – Resultados da caracterização das dispersões de goma xantana.	59
Tabela 7 – Delineamento Composto Central 2^3 (valores reais) para maximização do rendimento.	61
Tabela 8 - Coeficiente de regressão (CR), erro padrão (EP) e nível de significância para a resposta rendimento do processo.	62
Tabela 9 - Análise de variância para o Delineamento Composto Central 2^3	63
Tabela 10 – Resultados obtidos da atomização de carotenoides com goma xantana.	65
Tabela 11 – Parâmetros de cor da goma xantana atomizada (GXA) e das microcápsulas produzidas por atomização com temperatura do ar de entrada de 110 °C (C110), 130°C (C130) e 130°C + 2% de <i>Tween</i> 80 (C130T).	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espectro de absorção de carotenoides: astaxantina, β -caroteno e cantaxantina.....	27
Figura 2 - Estrutura química de alguns carotenos e xantofilas.....	28
Figura 3 - Estágios da biossíntese de carotenoides.....	29
Figura 4 - Estágios intermediários com a formação do licopeno.	30
Figura 5 - Ciclização dos carotenoides acíclicos insaturados.	31
Figura 6 - Formação de xantofilas.	31
Figura 7 - Forma estrutural da astaxantina livre.....	33
Figura 8 - Estrutura de microcápsulas e microesferas.	38
Figura 9 - Morfologia dos diferentes tipos de microcápsulas: A – simples, B – irregular, C – vários núcleos, D – várias membranas.....	38
Figura 10 - Diagrama esquemático de <i>spray dryer</i>	40
Figura 11 – Estrutura unitária (monômero) do polissacarídeo goma xantana.	44
Figura 12 - Variação da viscosidade versus taxa de cisalhamento das soluções de goma xantana 0,5, 0,75 e 1% (m/v).....	56
Figura 13 – Imagens microscópicas das suspensões de goma xantana 0,5 (a), 0,75 (b) e 1% (c) (m/v) com diluição 1:2 e aumento de 50x.....	59
Figura 14 – Curva de contorno para rendimento (%) no DCC 2 ³ em função das variáveis temperatura e concentração da suspensão (a), temperatura e vazão de alimentação (b) e vazão de alimentação e concentração da suspensão (c).	63
Figura 15 – Termogramas de DSC para o extrato carotenogênico, goma xantana e microcápsulas de carotenoides atomizadas nas diferentes condições.....	67
Figura 16 – Espectro de FTIR das microcápsulas de carotenoides.	68

SUMÁRIO

RESUMO	13
LISTA DE TABELAS.....	17
LISTA DE FIGURAS	19
1 INTRODUÇÃO.....	23
2 OBJETIVOS.....	25
2.1 OBJETIVO GERAL.....	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1 CAROTENOIDES.....	27
3.1.1 <i>Astaxantina</i>	32
3.2 LEVEDURAS CAROTENOGÊNICAS.....	34
3.2.1 <i>Phaffia rhodozyma</i>	34
3.3 ESTABILIDADE DE CAROTENOIDES.....	36
3.4 ENCAPSULAÇÃO.....	37
3.4.1 <i>Spray drying</i>	38
3.5 AGENTES ENCAPSULANTES.....	41
3.5.1 <i>Goma xantana</i>	43
3.6 SURFACTANTES.....	45
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1 MATERIAL.....	47
4.2 MÉTODOS.....	47
4.2.1 Caracterização da suspensão de goma xantana	47
4.2.1.1 Densidade.....	47
4.2.1.2 Viscosidade.....	47
Análise reológica.....	48
4.2.1.3 Morfologia.....	48
4.2.1.4 Potencial Zeta.....	48
4.3 PROCESSO DE ATOMIZAÇÃO DA SUSPENSÃO DE GOMA XANTANA.....	48
4.3.1 Rendimento do processo de encapsulação	49
4.4 PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES.....	49
4.4.1 Microorganismo e preparo do inóculo	49
4.4.2 Cultivo microbiano	50
4.4.3 Extração e recuperação dos carotenoides	50
4.5 ENCAPSULAÇÃO DA SUSPENSÃO DE GOMA XANTANA COM CAROTENOIDES.....	51
4.5.1 Rendimento do processo de encapsulação da suspensão de goma xantana com carotenoides	51
4.5.2 Eficiência de encapsulação	52
4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS COM CAROTENOIDES.....	52
4.6.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	52
4.6.2 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	53
4.6.3 Teor de umidade das cápsulas obtidas	53
4.7 AVALIAÇÃO DA COR.....	53
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	54

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1 CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DA SUSPENSÃO DE GOMA XANTANA.....	55
5.1.1 Densidade.....	55
5.1.2 Viscosidade.....	55
5.1.3 Morfologia da suspensão.....	58
5.1.4 Potencial Zeta.....	58
5.2 MAXIMIZAÇÃO DO RENDIMENTO DO PROCESSO DE ATOMIZAÇÃO COM GOMA XANTANA E AVALIAÇÃO DA UMIDADE.....	60
5.2.1. Verificação de modelo empírico para o DCC.....	61
5.3 ENCAPSULAÇÃO DA SUSPENSÃO DE GOMA XANTANA COM CAROTENOIDES.....	64
5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS COM CAROTENOIDES.....	66
5.4.1 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	66
5.4.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	68
5.4.3 Parâmetros colorimétricos.....	69
6. CONCLUSÃO	71
7 SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS	73
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
APÊNDICE 1	89

1 INTRODUÇÃO

Carotenoides são uma classe de pigmentos naturais lipossolúveis encontrados em bactérias, fungos, vegetais e em animais sendo responsáveis por conferir as cores vermelho, laranja e amarelo dos alimentos (COLET et al., 2017; URNAU et al., 2014). Apresentam uma série de duplas ligações conjugadas que além da cor podem ter propriedades antioxidantes (MACÍAS-SANCHEZ et al., 2010; SHEN; QUEK, 2014), capazes de neutralizar radicais livres recebendo elétrons de espécies reativas (GAMMONE et al., 2015).

Quimicamente os carotenoides são tetraterpenos de quarenta carbonos formados a partir de unidades de isopreno, o isopentenil pirofosfato e seu isômero dimetilalilo difosfato, cada um contendo cinco carbonos ligados de uma forma que a molécula é linear e simétrica com a ordem invertida no centro. Esta estrutura pode ser modificada de diversas maneiras e por possuir conjuntos de duplas ligações esta classe de pigmentos é altamente sensível, podendo ser isomerizados e oxidados (MESQUITA et al., 2017; VALDUGA, 2005).

Devido aos benefícios apresentados por esta classe de pigmento, a demanda por carotenoides tem aumentado, exigindo uma maior produção e consequentemente um aumento no seu valor comercial uma vez que é utilizado como aditivos em alimentos, corantes alimentares e em produtos funcionais (PŘIBYL et al., 2015).

A produção comercial dos carotenoides é realizada principalmente por síntese em processos químicos ou extração de plantas e/ou algas (VALDUGA et al., 2009). No entanto, a obtenção destes pigmentos por via biotecnológica com leveduras, bactérias e microalgas vêm ganhando destaque (VALDUGA, et al., 2009; ANJOS, 2013).

A aplicação destes pigmentos na indústria é restrita, dependendo do processo, devido à sua baixa resistência a mudanças no pH, aquecimento, exposição à luz e frente às condições que podem acarretar perda de suas propriedades funcionais, valor nutricional, redução da coloração e perda das suas características organolépticas (MARTÍNEZ-DELGADO; KHANDUAL; VILLANUEVA-RODRÍGUEZ, 2016; JANISZEWSKA-TURAK, 2017).

A microencapsulação possibilita ampliação das aplicações no processamento de alimentos visando à proteção das suas características contra a deterioração, promovendo a formação de uma parede para o aprisionamento das gotículas/partículas (SHEN; QUEK, 2014). Assim, a microencapsulação de pigmentos ganha destaque uma vez que permite a obtenção de um produto com menor volume, reduzindo os custos de transporte e armazenamento, facilitando sua dosagem e, principalmente, protegendo o material encapsulado, aumentando sua estabilização (JANISZEWSKA-TURAK, 2017).

O método mais comumente utilizado para realizar a microencapsulação é o *spray drying* gerando um produto em forma de pó, aplicando parâmetros de secagem como temperatura e fluxo de alimentação. Porém, esta técnica pode causar danos aos carotenoides devido à desidratação, alta temperatura e estresse ao material de interesse, sendo necessário o uso de materiais de parede para proteção (CHRANIOTI; NIKOLOUDAKI; TZIA, 2015; DOMIAN; BRYNDA-KOPYTOWSKA; OLEKSZA, 2015; JANISZEWSKA, 2014; JANISZEWSKA-TURAK, 2017; SEMYONOV et al., 2010). Estes materiais de parede podem ser proteínas, lipídeos e carboidratos, selecionados por não possuir reatividade com o material encapsulado, técnica de encapsulação e mecanismo de liberação (RUTZ, 2013).

A goma xantana comercial é um polissacarídeo extracelular produzido por *Xanthomonas campestris*, que possui solubilidade tanto em água fria quanto em água quente, apresentando soluções altamente pseudoplásticas, ou seja, sua viscosidade diminui com o aumento da tensão de cisalhamento e sua viscosidade é estável em relação a amplas faixas de pH e temperatura (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004; SWORN, 2000).

Desde 2004 as equipes dos Laboratórios de Análise Sensorial e Controle de Qualidade e o Laboratório de Engenharia de Bioprocessos da FURG, vêm desenvolvendo estudos, que envolvem a produção e recuperação de carotenoides com interesse comercial, por via microbiana ou enzimática, com ênfase no aproveitamento de coprodutos e resíduos agroindustriais, como substratos alternativos. Os carotenoides produzidos por *Phaffia rhodozyma* aproveitando água de parboilização de arroz (SILVA, 2009) e glicerol bruto foram abordados (SILVA, 2010), além da microalga *Haematococcus pluvialis* (REIS, 2012). *Sporodiobolus pararoseus*, *Pichia fermentans* e *Rhodotorula mucilaginosa*, foram isolados de ecossistemas do Rio Grande do Sul (OTERO, 2011) como promissores na obtenção de carotenoides com atividade antioxidante, em diferentes coprodutos agroindustriais como água de parboilização do arroz, glicerol bruto, água de maceração de milho e melaço de cana de açúcar (BORBA, 2015; CIPOLATI, 2012; MACHADO, 2013; OTERO, 2011; RODRIGUES, 2018). A recuperação desses pigmentos, produzidos por leveduras e microalgas por diferentes métodos (BURKERT; MACHADO, 2015; FONSECA et al., 2011; LOPES, 2014; MICHELON et al., 2012) também foram estudados. A microencapsulação de carotenoides obtidos por *P. rhodozyma* (Nogueira, 2017), *S. pararoseus* e *R. mucilaginosa* (BRAGA, 2017) vem sendo desenvolvidos.

Neste contexto, em continuidade com as pesquisas, este trabalho visa o estudo das condições de processo da encapsulação de carotenoides produzidos pela *P. rhodozyma* por *spray drying*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar condições de processo para encapsular carotenoides produzidos pela levedura GRAS (*Generally Recognized as Safe*) *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17268 por *spray drying*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudar as condições do processo temperatura do ar de entrada, fluxo de alimentação e concentração da suspensão de goma xantana visando à maximização do rendimento;

Produzir e recuperar carotenoides microbianos da levedura *Phaffia rhodozyma* para obter cápsulas pela técnica de *spray dryer* utilizando goma xantana como material de cobertura;

Caracterizar as cápsulas produzidas nas condições mais promissoras do processo.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

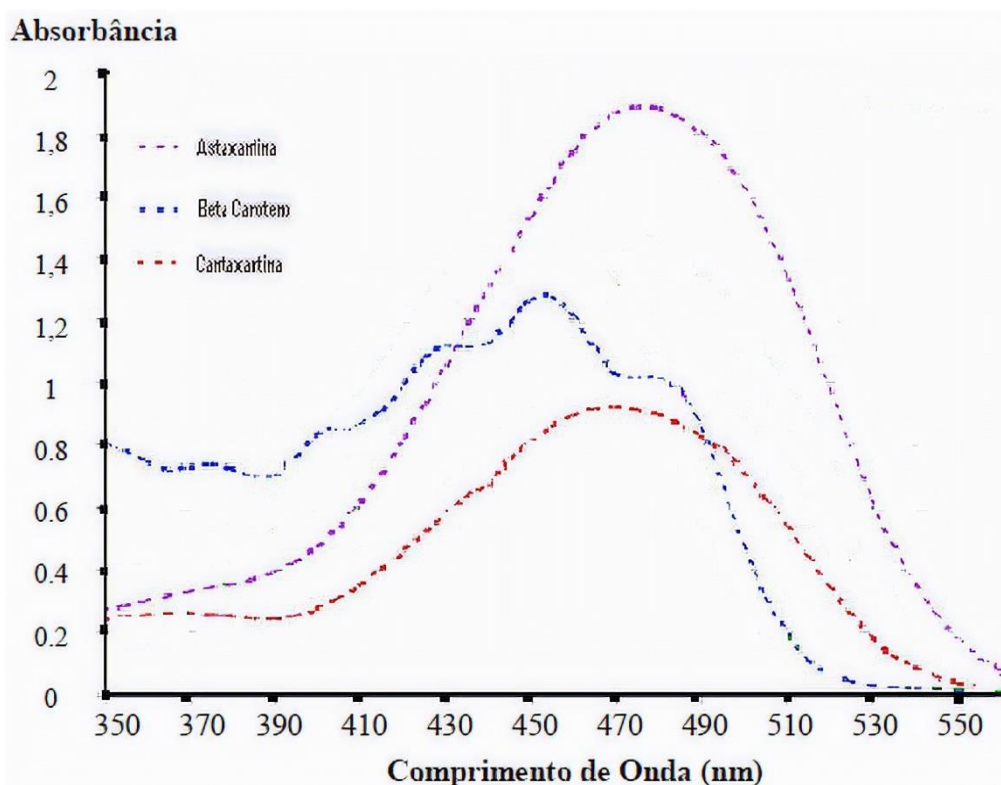
3.1 CAROTENOIDES

Os carotenoides são um grupo de pigmentos capazes de conferir benefícios à saúde. Estes são tetraterpenos C_{40} formados por oito unidades isoprenóides de cinco carbonos desenvolvendo assim estrutura susceptível a modificações por diferentes rotas (BARBATO, 2014; GÓMEZ-MASCARAQUE et al., 2017).

Esta classe de pigmentos apresenta duplas ligações conjugadas que atuam como cromóforo, ou seja, são capazes de absorver parte da luz que nelas incide, conferindo coloração a estes pigmentos (ARMSTRONG; HEARST, 1996).

O espectro ultravioleta visível - UV/VIS dos carotenoides é devido aos cromóforos existentes, sendo necessário no mínimo sete duplas ligações para que seja perceptível a sua coloração. Assim, o espectro de absorção dos carotenoides depende do número de duplas ligações conjugadas que possuem em sua molécula, logo quanto maior for o cromóforo maior são os comprimentos de onda de absorção máxima (Figura 1), variando de 410 a 510 nm de acordo com a estrutura que apresentam (MELENDEZ-MARTINEZ et al., 2007).

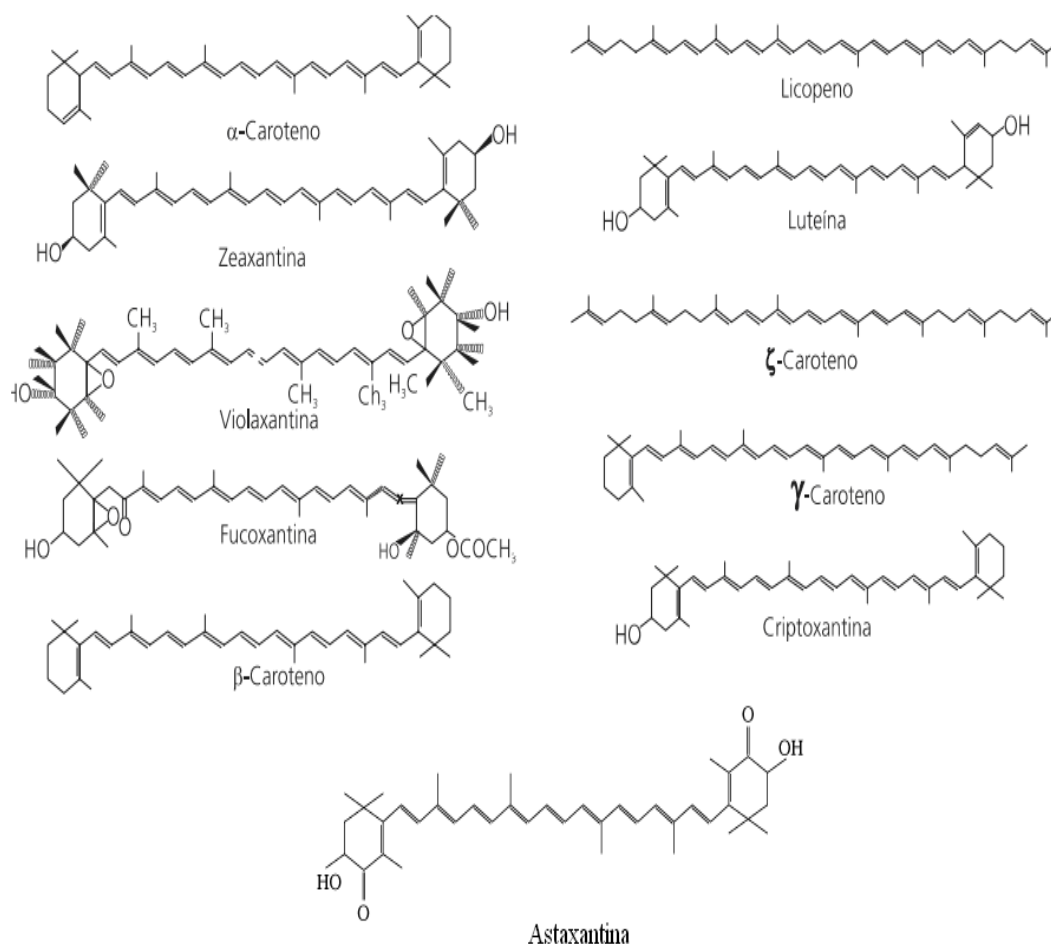
Figura 1 - Espectro de absorção de carotenoides: astaxantina, β -caroteno e cantaxantina.



Este sistema de duplas ligações torna os carotenoides sensíveis à luz, temperatura, e reatividade química sendo facilmente isomerizados e oxidados (AMBRÓSIO et al., 2006; TATSCH, 2008).

Os carotenoides são compreendidos por duas classes principais, sendo os carotenos e as xantofilas (Figura 2). Os carotenos, quimicamente, são estruturas compostas exclusivamente por hidrocarbonetos enquanto as xantofilas possuem oxigênio em sua molécula (COULTATE, 2004).

Figura 2 - Estrutura química de alguns carotenos e xantofilas.

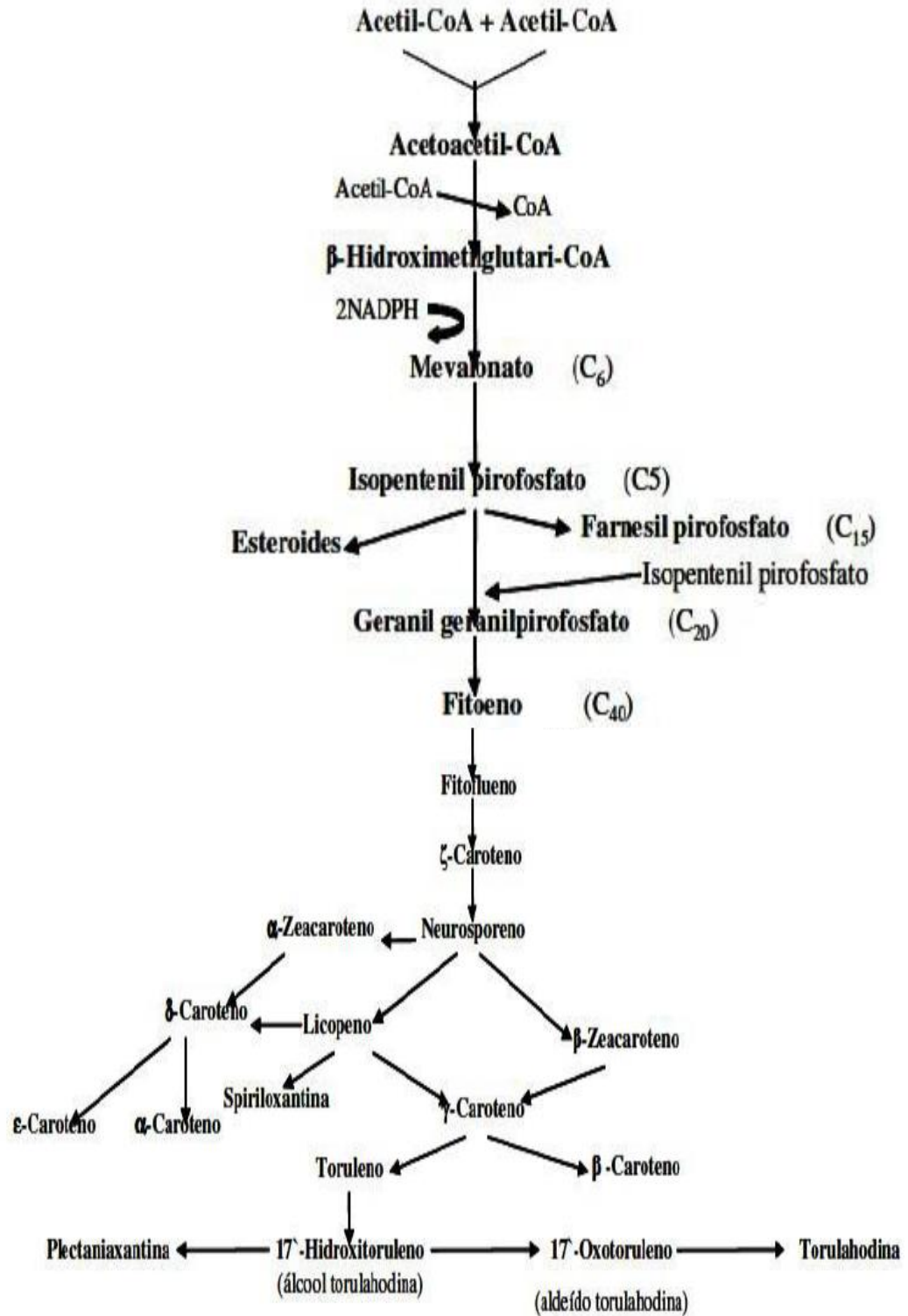


Fonte: Ambrósio (2006)

A síntese dos carotenoides pode ser realizada em organismos fotossintéticos, algas, plantas, bactérias e leveduras sendo sua biossíntese composta por três estágios diferentes (Figura 3) sendo elas: síntese terpenóide básica C_5 ; síntese de compostos C_{40} e a transformação destes em diversos carotenoides. Os estágios iniciais são oriundos de vias comuns da síntese dos esteroides sendo intermediários ao Acetoacetil – CoA, mevalonato,

isopentenil pirofosfato, geranilgeranilpirofosfato e farnesilpirofosfato que estão relacionados a formação dos carotenoides (RATLEDGE; EVANS, 1989 apud VALDUGA, 2005).

Figura 3 - Estágios da biossíntese de carotenoides.

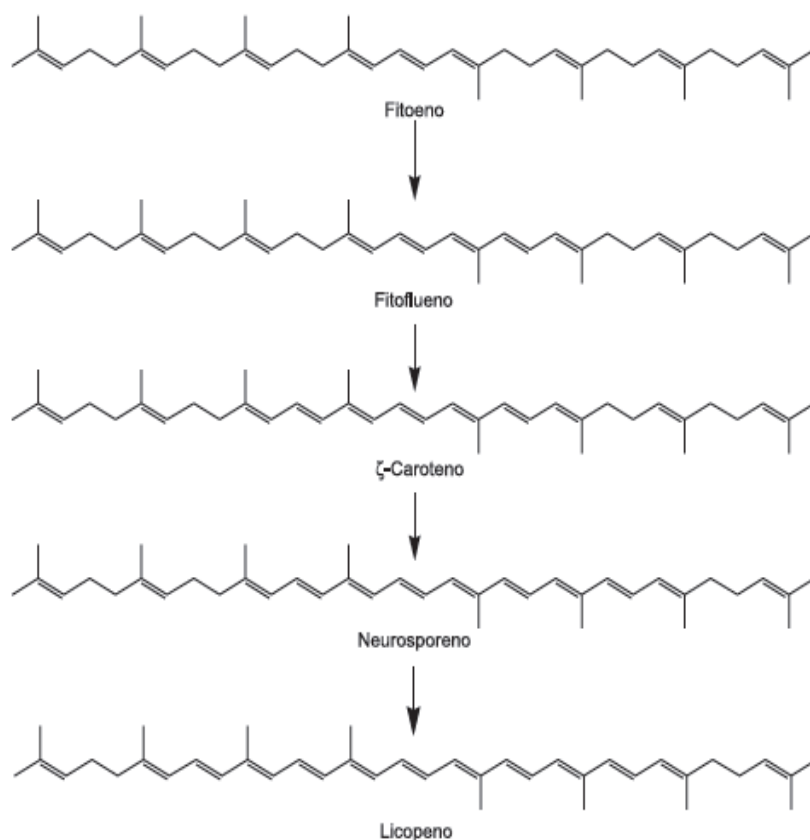


Fonte: Ratledge; Evans (1989)

O ácido mevalônico é o primeiro precursor específico da biossíntese dos terpenoides e após sofrer uma série de reações forma geranil difosfato (10 C), farnesil difosfato (15 C) e geranil-geranil difosfato (20 C). A partir da dimerização de duas moléculas de geranil-geranil difosfato forma-se o fitoeno sendo este o primeiro composto de quarenta carbonos ainda não apresentando coloração (BARBATO, 2014).

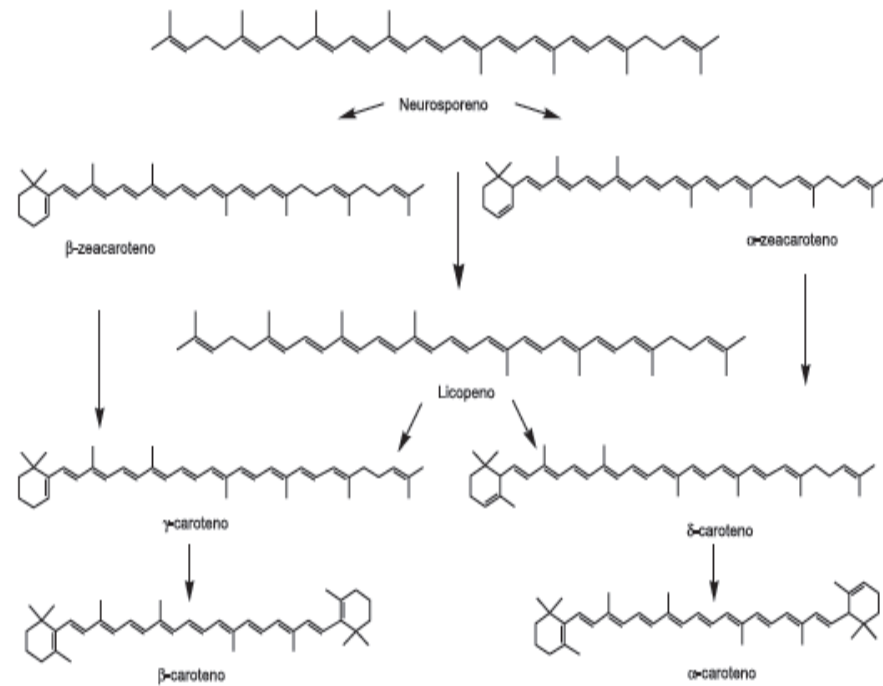
Deste ponto segue uma série de desnaturações formando fitoflueno, ζ -caroteno, neurosporeno e finalmente o licopeno (Figura 4). O neurosporeno e o licopeno podem sofrer ciclização formando o anel β de β -zeacaroteno ou o anel α de α -caroteno oriundo do neurosporeno. Estes carotenoides são transformados em γ -caroteno e δ -caroteno, respectivamente pela introdução de uma dupla ligação, estendendo o seu sistema de dupla ligação conjugada. O licopeno é ciclizado em uma de suas extremidades gerando γ -caroteno e δ -caroteno. Estes carotenoides monocíclicos sofrem ciclização na sua outra extremidade resultando em β -caroteno e α -caroteno (Figura 5). Com a formação destas novas conformações poderá ocorrer a introdução de substituintes, como hidroxilas (Figura 6), formando xantofilas (VALDUGA et al., 2009).

Figura 4 - Estágios intermediários com a formação do licopeno.



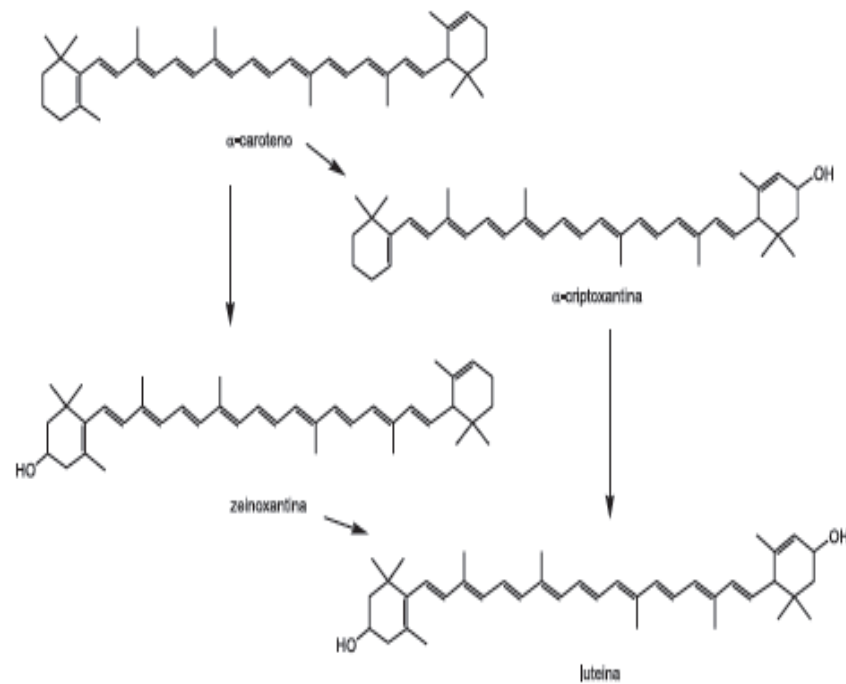
Fonte: Valduga et al., (2009)

Figura 5 - Ciclização dos carotenoides acíclicos insaturados.



Fonte: Valduga et al., (2009)

Figura 6 - Formação de xantofilas.



Fonte: Valduga et al., (2009)

Alguns carotenoides apresentam funções biológicas sendo precursores da vitamina A. Para que estes compostos apresentem esta função é necessário que possuam ao menos um

anel β -ionona ligado a uma cadeia poliênica de onze carbonos sendo o β -caroteno o carotenoide que possui o maior potencial pró-vitâmico A por ser capaz de ser convertido em duas moléculas de vitamina A (RUTZ, 2013).

Na indústria de alimentos, os carotenoides são majoritariamente utilizados a fim de conferir cor, repor a cor perdida durante o processamento e armazenamento, conferir cor aos alimentos incolores e uniformizar a coloração de alguns alimentos (SÁNCHEZ-CONTRERAS et al., 2000).

No entanto, sua presença na dieta é de extrema importância para a saúde humana, uma vez que é um poderoso antioxidante e está associado à redução do risco de doenças cardiovasculares arteriosclerose, catarata, degeneração macular, esclerose múltipla, câncer e doenças degenerativas (AZMACH et al., 2013; BRAGA, 2016; TATSCH, 2008).

Os carotenoides usados industrialmente, como o β -caroteno e astaxantina, na sua maioria, são obtidos por via química ou por extração de plantas e/ou algas. No entanto, com a crescente preocupação na utilização de aditivos químicos intensificou-se a pesquisa pela produção destes pigmentos por técnicas biotecnológicas ganhando destaque o uso de microrganismos. Por serem obtidos em um período reduzido, em qualquer período do ano, sob condições controladas e ainda podendo utilizar como substrato coprodutos de baixo valor acarretando na redução dos custos de produção a produção a partir de microrganismos ganha destaque (AKSU; EREN, 2007; BARBATO, 2014; BRAGA, 2016; VALDUGA, et al., 2009).

3.1.1 Astaxantina

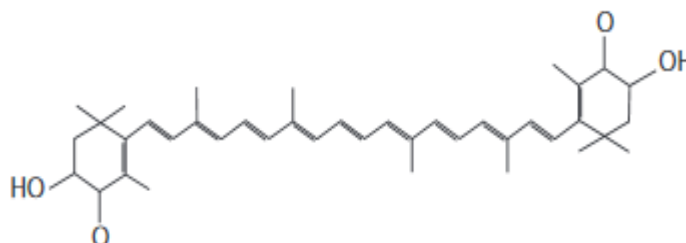
A astaxantina (3,3'-dihidroxi-beta,betacaroteno-4,4'-diona) (Figura 7) é um tipo de carotenoide encontrado em animais marinhos como o salmão, a truta e a lagosta, podendo também ser sintetizado por microrganismos como a microalga *Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*) e a levedura *Phaffia rhodozyma* conferindo a pigmentação vermelha (SEABRA; PEDROSA, 2010; SHEN; QUEK, 2014).

Esta é derivada do β -caroteno pela 3-hidroxilação e 4-cetolação em ambos os grupos terminais do anel ionona. Estas reações são catalisadas pelas enzimas β -caroteno-hidroxilase e β -caroteno-cetolase, respectivamente (SEABRA; PEDROSA, 2010).

O sistema de ligações duplas conjugadas proporciona aos carotenoides uma estrutura molecular única, propriedades químicas e características de absorção de luz. Cada ligação dupla pode existir em duas configurações: como isômeros geométricos cis ou trans. Termodinamicamente, os isômeros trans da astaxantina são mais estáveis que os cis sendo os

primeiros mais abundantes na natureza (BRITTON, 1995) e segundo Liu; Osawa (2007) estas estruturas podem ser isomerizadas de uma forma para outra quando expostos a íons de luz, calor, ácido ou metal.

Figura 7 - Forma estrutural da astaxantina livre.



A astaxantina possui dois carbonos assimétricos nas posições 3 e 3' e pode existir em quatro configurações, incluindo os enantiômeros 3S, 3'S e 3R,3'R e formas meso 3R3'S e 3'R,3S (ANJOS, 2013). O isômero (3S, 3'S) é a forma predominante encontrada na natureza, e também pode ser encontrado em microalgas como *Haematococcus pluvialis*. Por sua vez, o enantiômero 3R, 3'R pode ser obtido pela levedura *Phaffia Rhodozyma* e, até o momento, é a única fonte natural destes enantiômeros (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; SCHMIDT et al., 2011).

Este carotenoide se destaca por ser um poderoso antioxidante encontrado em abundância na natureza possuindo propriedades fotoprotetoras, imunomoduladoras, anticancerosas e cardioprotetoras. O poder antioxidante da astaxantina é cerca de 100 a 500 vezes maior do que outros carotenoides, incluindo o β -caroteno (FONTANA et al., 1997; GOTO et al., 2001 KURASHIGE; ORIMASU; INOUE, 1990; SHAHIDI; METUSALACH, 1998).

Segundo Bustamante et al., (2013), o poder antioxidante da astaxantina é atribuído ao fato de que esta apresenta uma série de duplas ligações estendida que permite uma maior remoção dos radicais livres e/ou oxigênio singlete. Além disso, Ghiggi, (2007) relata que a presença de hidroxilas e cetonas em cada anel ionona resulta em características únicas, modificando a polaridade entre os diferentes carotenoides, possibilitando sua esterificação e seu elevado poder antioxidante.

Uma grande parte da astaxantina comercial é produzida sinteticamente (ZHU et al., 2009). Esta síntese começa com uma unidade de nove carbonos (C 9), a cetoisoforona, sendo esta obtida a partir de matérias primas do petróleo (HANSGEORG, 2002).

A crescente demanda de alimentos naturais, alto custo dos pigmentos produzidos sinteticamente e a incerteza quanto a possíveis causas adversas no consumo de corantes

sintéticos levaram a busca de novas fontes para a obtenção da astaxantina, como microalgas, leveduras e resíduos de crustáceos (SACHINDRA et al., 2007; ZHANG et al., 2009)

O valor de mercado da astaxantina varia de US\$/Kg 2.500 a 7.000, sendo em 2014 comercializadas cerca de 280 toneladas avaliadas em US\$ 447 milhões. Para 2020 a estimativa é de que sejam comercializados cerca de 1.5 bilhões de dólares em produtos naturais tendo como destaque a astaxantina produzida em bioprocessos oriunda de fontes como microalgas e leveduras (PANIS; CARREON, 2016).

3.2 LEVEDURAS CAROTENOGÊNICAS

A bioprodução de carotenoides varia em função de fatores químicos, físicos e biológicos. As condições utilizadas no cultivo bem como a composição do meio utilizado (fonte de carbono, nitrogênio e outros elementos), pH, temperatura de incubação, tempo de cultivo, agitação, aeração e a linhagem do micro-organismo utilizado são fatores que determinam a quantidade e o tipo de compostos produzidos (VALDUGA, 2005).

A obtenção de carotenoides por via biotecnológica pode ser realizada empregando diversos gêneros de leveduras como *Micrococcus luteus*, *Rhodotorula glutinis*, *Phaffia rhodozyma*, *Saccharomyces cerevisiae* e espécies de *Sporidiobolus* (YOO; ALNAEELI; PARK, 2016).

A Tabela 1 apresenta a produção de carotenoides utilizando diferentes cepas e condições de processo.

3.2.1 *Phaffia rhodozyma*

A levedura *Phaffia rhodozyma*, é um organismo aeróbico cujo crescimento é dependente do suprimento de oxigênio na cultura aumentando sua produção de acordo com o aumento da absorção de oxigênio (LIU; WU; HO, 2006). Esta levedura, que forma colônias vermelho alaranjadas, apresenta a capacidade de produzir intracelularmente carotenoides, como astaxantina, luteína e β -caroteno sendo a astaxantina encontrado em maior proporção (BONFIM, 1999; NOGUEIRA, 2017; WAGNER; RAMBLA; LEGARRETA, 2008).

A Tabela 2 apresenta a produção de carotenoides a partir da *Phaffia rhodozyma* utilizando diferentes cepas.

Tabela 1 - Produção de carotenoides por diferentes microrganismos utilizando meios alternativos para o cultivo.

Referência	Microrganismo	Meio de cultivo	Condições de Processo	Carotenoides totais
Tatsch (2008)	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i> CBS 2636	80 g L ⁻¹ de glicose, 15 g L ⁻¹ de peptona e 5 g L ⁻¹ de extrato de malte.	1,5 vvm, 180 rpm, a 25°C e pH inicial de 4.	3313,60 µg L ⁻¹
Otero (2011)	<i>Sporobolomyces pararoseus</i> ; <i>Pichia fermentans</i> ; <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Meio YM: 3 g L ⁻¹ de extrato de levedura, 3 g L ⁻¹ de extrato de malte, 5 g L ⁻¹ de peptona e 10 g L ⁻¹ de glicose.	pH inicial de 6,0, a 25°C, 150 rpm por 168 h.	124 ug g ⁻¹ 54 ug g ⁻¹ 28 ug g ⁻¹
Cipolatti (2012)	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> ; <i>Sporobolomyces pararoseus</i> ; <i>Pichia fermentans</i> .	Meio YM: 3 g L ⁻¹ de extrato de levedura, 3 g L ⁻¹ de extrato de malte, 5 g L ⁻¹ de peptona e 10 g L ⁻¹ de glicose.	180 rpm, 25°C por 168 h.	94 ug g ⁻¹ 71 ug g ⁻¹ 19 ug g ⁻¹
Machado (2013)	<i>Sporidiobolus pararoseus</i> .	Meio A: 52,9 g L ⁻¹ de água de maceração de milho + 30 g L ⁻¹ de glicerol bruto Meio B: 6,5 g L ⁻¹ de água de maceração de milho +40 g L ⁻¹ de melaço de cana de açúcar.	25°C, 180 rpm, pH inicial de 6.	Meio A 66 ug g ⁻¹ Meio B 73 ug g ⁻¹
Urnau et al. (2012)	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> Y 10921	3 g L ⁻¹ de extrato de levedura, 3 g L ⁻¹ de extrato de malte, 5 g L ⁻¹ de peptona e 10 g L ⁻¹ de glicose.	25°C, 150 rpm por 96 h.	697,24 µg g ⁻¹
Lopes (2014)	<i>Sporidiobolus pararoseus</i> ; <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> .	Meio YM: 3 g L ⁻¹ de extrato de levedura, 3 g L ⁻¹ de extrato de malte, 5 g L ⁻¹ de peptona e 10 g L ⁻¹ de glicose.	25°C, 180 rpm por 168 h.	87,3 µg g ⁻¹ 297,6 µg g ⁻¹
Borba et al. (2018)	<i>Sporidiobolus pararoseus</i> .	Meio agroindustrial (40 g L ⁻¹ de melaço de cana de açúcar+6,5 g L ⁻¹ água de maceração de milho).	27,5°C, pH inicial de 4, h, 158 rpm e 1,2 vvm.	1969,30 µg L ⁻¹

Tabela 2 - Produção de carotenoides por *Phaffia rhodozyma*.

Referência	Microrganismo	Meio de cultivo	Condições de Processo	Carotenoides totais
Silva (2009)	<i>Phaffia rhodozyma</i> NRRL Y-17268.	16,25 g L ⁻¹ de extrato de malte, 8,75 g L ⁻¹ de peptona, 15 g L ⁻¹ de sacarose e 87,5 g L ⁻¹ de água de parboilização de arroz.	pH inicial de 5, 25 °C, 150 rpm por 144 h.	350 ug g ⁻¹ *
Michelon et al. (2012)	<i>Phaffia rhodozyma</i> NRRL Y-17268.		25°C, 150 rpm por 168 h	190,35 µg L ⁻¹
Fonseca et al. (2011)	<i>Phaffia rhodozyma</i> NRRL Y-17268.	Meio YM: 3 g L ⁻¹ de extrato de levedura, 3 g L ⁻¹ de extrato de malte, 5 g L ⁻¹ de peptona e 10 g L ⁻¹ de glicose.	25°C, 150 rpm por 48 h.	2198,40 µg g ⁻¹
Cipolatti (2012)	<i>Phaffia rhodozyma</i> NRRL Y-17268.	Meio YM: Extrato de malte e levedura Meio 1: 35,6 g L ⁻¹ de água de maceração de milho + 4,8 g L ⁻¹ de glicerol bruto Meio 2: 36,5 g L ⁻¹ de água de maceração de milho + 6,0 g L ⁻¹ de melaço de cana de açúcar	25°C, 180 rpm por 168 h.	YM 358 µg L ⁻¹ Meio 1 353 µg L ⁻¹ Meio 2 3390 µg L ⁻¹
Xiao et al. (2015)	<i>Phaffia rhodozyma</i> JMU-MVP14	Meio composto por 20 g L ⁻¹ , 5 g L ⁻¹ sulfato de amônio, 2 g L ⁻¹ fosfato monopotássico e 1 g L ⁻¹ sulfato de magnésio.	22°C, 190 rpm, 120 h e pH inicial de 6.	20,4 mg L ⁻¹ *
Silva et al. (2016a)	<i>Phaffia rhodozyma</i> NRRL Y-17268.	10 g L ⁻¹ de glicerol bruto, 10 g L ⁻¹ de glicose, 10 g L ⁻¹ de extrato de levedura, 10 g L ⁻¹ de extrato de malte e 1 g L ⁻¹ de peptona.	25°C, 150 rpm, 168 h e pH inicial de 6.	327 µg g ⁻¹
Nogueira (2017)	<i>Phaffia rhodozyma</i> NRRL Y-17268.	YM (3 g L ⁻¹ de extrato de levedura, 3 g L ⁻¹ de extrato de malte, 5 g L ⁻¹ de peptona, 10 g L ⁻¹ de glicose).	25°C, 180 rpm por 48 h.	139,80 µg g ⁻¹
Presente estudo	<i>Phaffia rhodozyma</i> NRRL Y-17268.			196,07 µg g ⁻¹

*concentração de astaxantina.

3.3 ESTABILIDADE DE CAROTENOIDES

Os carotenoides, por apresentarem duplas ligações conjugadas, são susceptíveis a isomerização e oxidação quando na presença de oxigênio, luz e calor o que leva a perda de suas propriedades antioxidantes, cor e atividade vitamínica (RUTZ, 2016).

Com a finalidade de inibir e ou retardar o processo de degradação diferentes métodos de estabilidade estão sendo aplicados, como os estudados por Lin e Chen (2005) que testaram à estabilidade do suco de tomate armazenado em diferentes temperaturas 4, 25 e 35°C, na presença e ausência de luz, e observaram que as maiores perdas do total de carotenoides (90%) foram encontradas nas maiores temperaturas e na presença de luz.

Cerón-Garcia et al. (2010) avaliaram a estabilidade da luteína em diferentes condições de armazenamento sendo elas -18, 4 e 20 °C e observaram que as baixas temperaturas promoveram uma menor degradação dos carotenoides.

Braga (2016) ao avaliar a estabilidade, em diferentes condições, de extratos carotenogênicos produzidos pelas leveduras *Sporidiobolus pararoseus* e *Rhodotorula mucilaginosa* observou que a 25°C e a 4°C na ausência de luz as perdas no conteúdo de carotenoides foram em média de 30% para ambas as leveduras.

Nogueira (2017) ao determinar a estabilidade de extratos carotenogênicos armazenados a 4°C e 25°C na ausência e na presença de luz, produzido pela levedura *Phaffia rhodozyma*, observou que na presença de luz e a 25°C o percentual dos compostos de interesse foi similar quando comparados aos mesmos mantidos na ausência de luz a 4°C.

3.4 ENCAPSULAÇÃO

A utilização de compostos bioativos como os carotenoides é de extrema complexidade devido, de maneira geral, a sua instabilidade durante o processamento e armazenamento de alimentos (JANISZEWSKA-TURAK, 2017).

O principal objetivo da microencapsulação é criar uma barreira entre o material de interesse e o meio externo permitindo obter produto com menor volume, reduzindo os custos com transporte e armazenamento além de facilitar a dosagem nas posteriores aplicações. Nesta, o material encapsulado é protegido dos fatores externos aumentando assim a estabilidade dos compostos de interesse (JANISZEWSKA, 2014; JANISZEWSKA-TURAK, 2017).

A encapsulação é a tecnologia que permite que pequenas partículas ou gotículas do material de interesse sejam envolvidas por um agente encapsulante de modo a criar micropartículas com propriedades benéficas (GARCIA, 2016).

A partícula formada possui pequeno tamanho, geralmente em escala micrométrica, podendo variar de 0,2 a 5000 µm sendo esta denominada de núcleo, recheio ou fase interna e o material de revestimento, que promove a proteção, comumente denominado de agente encapsulante, material de cobertura ou material de parede (GHARSALLAOUI et al., 2007; NOGUEIRA, 2017).

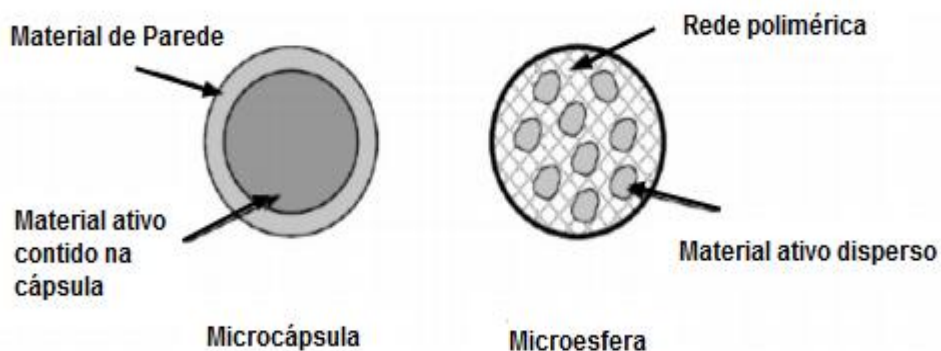
A estrutura das micropartículas formadas pode ser dividida em microesferas e microcápsulas, conforme a estrutura criada. As microesferas são partículas compactas formadas por uma rede polimérica, na qual o material ativo está distribuído no estado sólido.

Por sua vez, as microcápsulas são constituídas por um núcleo interno contendo o agente ativo recoberto por uma camada de um polímero de espessura variável, conforme (Figura 8) (MATTE; ROSA, 2013).

A elaboração de microcápsulas pode ser realizada de diferentes formas utilizando variadas técnicas, como *spray dryer*, *spray cooling*, coacervação, extrusão, lipossomas, recobrimento em leito fluidizado, complexação por inclusão e por liofilização (FAVARO-TRINTADE; PINHO; ROCHA, 2009).

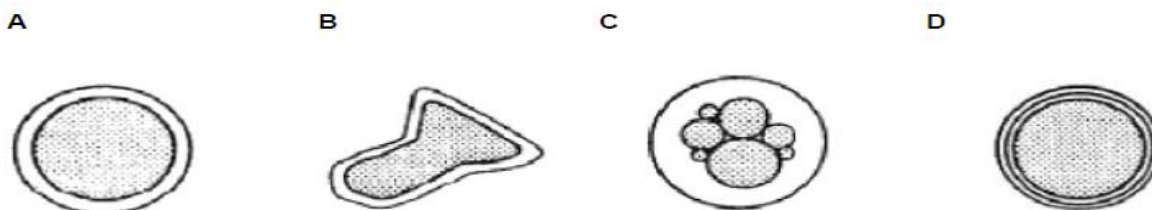
As microcápsulas são pequenas esferas que variam de 1 a 100 μm sendo esta dependente dos materiais e métodos escolhidos, assim, dependendo das propriedades físico-químicas do núcleo, da composição do material de parede e da técnica de microencapsulação, pode-se obter diferentes tipos de partículas (Figura 9) (GHARSALLAOUI et al., 2007).

Figura 8 - Estrutura de microcápsulas e microesferas.



Fonte: Adaptado de MATTE; ROSA, 2013.

Figura 9 - Morfologia dos diferentes tipos de microcápsulas: A – simples, B – irregular, C – vários núcleos, D – várias membranas.



Fonte: adaptado de GHARSALLAOUI et al., 2007.

3.4.1 *Spray drying*

A secagem por atomização *spray drying* teve seu início na metade do século 18 quando foi patenteada a primeira operação de secagem de ovos em 1865. No entanto, sua utilização em escala industrial é datada da década de 20 sendo o leite e o sabão em pó os primeiros produtos que se tem notícia produzidos a partir desta técnica (ROSA; TSUKADA; FREITAS, 2006).

O processo de secagem por *spray drying* consiste na transformação de um fluxo bombeável, podendo ser uma solução, suspensão, pasta ou lama, em produto seco em um único processo de secagem. A vaporização da água acontece mediante a desintegração de uma corrente líquida em pequenas gotas (atomização) que entram em contato com uma quantidade de ar quente suficiente para suprir o calor latente de vaporização (ESTEVES, 2006).

A qualidade do pó seco depende do tamanho da gota obtida no atomizador e da maneira que o meio gasoso se mistura com as gotas. O atomizador provoca a desintegração do líquido em gotas de tamanhos específicos estando estas diretamente relacionadas ao tempo de secagem e ao tamanho das partículas secas formadas (MASSON et al., 1985).

Esta técnica se disseminou para processos industriais de diferentes cadeias sendo aplicado para secagem em larga escala de produtos alimentícios e farmacêuticos em virtude da sua versatilidade operacional, permitindo desde escala laboratorial na ordem de mililitros por hora até dezenas de toneladas por hora, na indústria (ROSA; TSUKADA; FREITAS, 2006).

O processo de secagem é muito rápido, apenas alguns segundos, o que permite um alto rendimento dependendo das condições de processo e material utilizado. O aquecimento e a transferência de massa durante a secagem ocorrem por meio de filmes de ar e vapor ao redor das gotículas evaporando a água livre das partículas e resfriando-as, permitindo assim o uso de altas temperaturas do ar de secagem sem afetar a qualidade do produto (CARVALHO, 2010).

Essa proteção do vapor mantém a partícula na temperatura de saturação, fazendo com que não se torne totalmente seca e permitindo sua evaporação continua possibilitando que a temperatura dos sólidos se aproxime da temperatura de saída. Devido a isso, produtos sensíveis podem ser secos em temperaturas relativamente altas (LANNES; MEDEIROS, 2003).

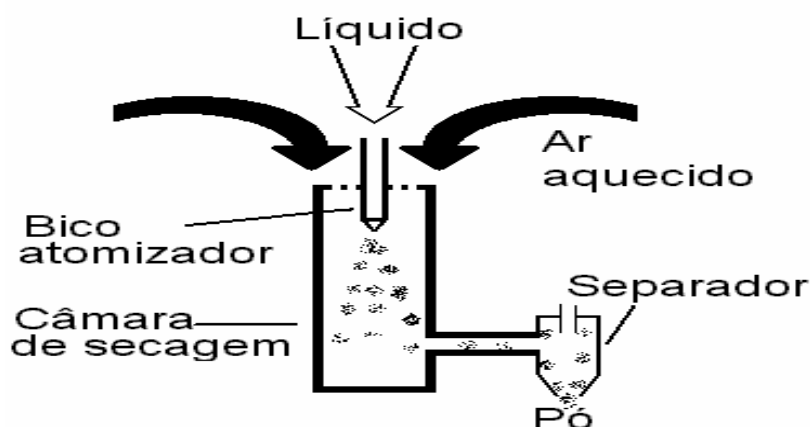
Um *spray dryer* padrão é composto por um sistema de atomização do material, aquecimento e controle de temperatura do ar de secagem, bombeamento e controle de vazão da alimentação do material a ser seco, sistema de alimentação de ar para secagem, câmara de

secagem e um sistema de separação ar – pó seco conforme (Figura 10) (ROSA; TSUKADA; FREITAS, 2006).

Este método envolve três etapas: preparação da dispersão ou solução, homogeneização e atomização do material que se encontra em estado líquido formando pequenas gotas sobre uma corrente de ar quente. Quando há o contato das gotas com o ar aquecido, a elevada temperatura promove rápida evaporação do solvente criando uma fina película do material de recobrimento em torno do material a ser encapsulado (HUERTAS, 2010; PARIZE et al., 2008; RUIZ-MARTINEZ et al., 2009).

O método de microencapsulação com *spray drying* gera um produto em forma de pó fino com as propriedades físicas desejadas aplicando aos parâmetros de secagem variáveis como temperatura, fluxo de alimentação e alterando o tipo de material de suporte (CHRANIOTI; NIKOLOUDAKI; TZIA, 2015).

Figura 10 - Diagrama esquemático de *spray dryer*.



Fonte: ROSA; TSUKADA; FREITAS, 2006

A técnica *spray drying* é bastante utilizada na indústria de alimentos, pois seu procedimento é rápido, possui repetibilidade e relativamente baixo custo quando comparado a outras tecnologias de encapsulação. Assim, esta técnica se tornou uma alternativa viável para realizar a secagem uma vez que é flexível podendo ser facilmente operada e controlada sendo eficiente para a produção de partículas de boa qualidade com baixo custo (ALIAKBARIAN et al., 2018; FRASCARELI et al., 2012; RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016).

Shamaei et al., (2017) ao realizar a microencapsulação de óleo de noqueira por *spray dryer*, sendo a temperatura do ar de entrada variada entre 140 e 180°C e a pressão do fluxo de alimentação de 2 a 4 bar obtiveram 91% de eficiência na encapsulação utilizando como material de parede uma solução de leite em pó desnatado e Tween 80.

Shen e Quek (2014) realizaram a microencapsulação de astaxantina utilizando como material de parede fibra de milho com proteína de soro de leite (FMPSL) e caseinato de sódio (FMCS) nas proporções de 1:1 por *spray drying* e observaram que com estes materiais foi possível produzir microcápsulas estáveis de astaxantina observando atividade de água entre 0,26 e 0,31 e 0,22 e 0,30, eficiência de microencapsulação entre 63 e 92 e 65 e 95% para FMPSL e FMCS, respectivamente.

Braga (2016) ao realizar a produção, sendo a concentração máxima de carotenoides de 564,96 e 981,12 $\mu\text{g L}^{-1}$ em 216 h para *S. pararoseus* e *R. mucilaginosa*, respectivamente. e microencapsulação, por liofilização e atomização, de extratos carotenogênicos de *S. pararoseus* e *R. mucilaginosa* utilizando diferentes materiais de parede como alginato de sódio, goma arábica e proteína de soja nas proporções 1:1 (carotenoides: material de parede) buscando uma maior eficiência de encapsulação obteve como resultados 68 a 91% e de 73 a 93% para *S. pararoseus* e *R. mucilaginosa*, respectivamente utilizando a técnica de liofilização estando a goma arábica presente nos melhores resultados. No método de atomização a goma xantana apresentou problemas operacionais quanto a solubilização e viscosidade não sendo possível obter respostas significativas nas condições de operação de 100°C de temperatura do ar de entrada, 0,15 L h⁻¹ de fluxo de alimentação e 1,65 m³ min⁻¹.

Gómez-Mascaraque et al., (2017) ao avaliarem o potencial de microencapsulação através do eletro pulverização para melhorar a bioacessibilidade do β -caroteno observaram que foi possível realizar a microencapsulação do β -caroteno utilizando zeína como material de cobertura obtendo cerca de 74% de rendimento e os ensaios in vitro demonstraram que o microencapsulamento com zeína aumentou a bioacessibilidade do β -caroteno o que não era percebido em sua forma livre.

Nogueira (2017) ao promover a microencapsulação por atomização de extratos carotenogênicos provenientes da levedura *Phaffia rhodozyma* utilizando como material de parede, nas proporções 1:1 e 1:2 (carotenoides: material de parede), alginato de sódio, proteína de soja e goma xantana, avaliando o rendimento de processo e a eficiência de encapsulação obteve como melhores resultados de rendimento do processo de 19,9% a 21,4% com a eficiência de encapsulação de 85,7% a 92,4% utilizando goma xantana, na proporção 1:1, como material de parede nas condições de operação do atomizador de 100°C de temperatura do ar de entrada, 0,15 L h⁻¹ de fluxo de alimentação e 1,65 m³ min⁻¹.

3.5 AGENTES ENCAPSULANTES

No processo de microencapsulação para alimentos, a escolha do material de parede a ser utilizado depende de diversos fatores como a natureza do mesmo, do processo de encapsulação, fatores econômicos e se o material possui a aprovação de órgãos reguladores como a Food and Drug Administration (FDA/EUA) e European Food Safety Authority (Europa) na comunidade internacional (AMRITA et al., 1999).

No Brasil, quem regulamenta a utilização de qualquer ingrediente em sistemas alimentícios é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dentro de suas atribuições há um guia para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes, que menciona a necessidade da segurança no uso de novos ingredientes para consumo humano (ANVISA, 2013).

Do ponto de vista técnico, a escolha do material de parede a ser utilizado é uma etapa crítica, pois influencia nas propriedades da emulsão antes da secagem, retenção de voláteis durante a secagem e na vida útil do pó após a secagem (DESAI; PARK, 2005; JAFARI et al., 2008).

Um dos principais fatores para se obter uma microencapsulação eficiente é a escolha do material de parede que estabilizará as microcápsulas. O material deve ser selecionado de acordo com o método de microencapsulação escolhido e com base nas propriedades físico-químicas, tais como solubilidade, peso molecular, cristalinidade, difusividade, temperaturas de transição de fase, formação do filme e propriedades emulsificantes (GARCIA, 2016; GHARSALLAOUI et al. 2007).

Desta maneira, o material usado como agente encapsulante deve apresentar as seguintes características: baixa viscosidade, elevada solubilidade em água, fácil manuseio durante o processo, baixa higroscopicidade para evitar aglomerações, compatibilidade com o composto ativo, boa capacidade de retenção, proteção do composto sob condições ambientais adversas, ser neutro no sabor ou apresentar propriedades sensoriais desejadas e ser econômico (RAY, RAYCHAUDHURI E CHAKRABORTY, 2016).

Como a maioria dos compostos não possui todas estas características, é comum a combinação de diferentes materiais de cobertura para a obtenção dos resultados desejados (NOGUEIRA, 2017). Assim, há uma diversidade de materiais que podem ser utilizados como material de parede para a obtenção de microcápsulas, como gomas naturais (goma arábica, ágar, alginato de sódio, carragena, goma xantana, etc.), proteínas (soro de leite, gelatina, caseína, albumina, glúten, etc.), carboidratos (amido, maltodextrinas, sacarose, lactose, etc.) e lipídeos (cera, parafina, óleos, gorduras) (GARCIA, 2016; NOGUEIRA, 2017).

3.5.1 Goma xantana

As gomas, que são biopolímeros hidrofílicos de alto peso molecular, tem sido largamente utilizada na indústria alimentícia por serem agentes estabilizantes, espessantes e gelificantes podendo substituir açúcares e gorduras como ingrediente funcional devido à sua natureza dietética (BUTT et al., 2007; SEO; YOO, 2013).

Dentre estes polissacarídeos a goma xantana é um exopolissacarídeo microbiano muito utilizado em aplicações biomédicas, como agente espessante, estabilizante sendo também utilizada em cosméticos, formulações de fármacos e produtos agrícolas. Tem sido empregada como material encapsulante de enzimas, compostos fenólicos presentes em extratos de frutas, óleos e carotenoides (LIU et al., 2011; NOGUEIRA, 2017; PETRI, 2015; ROSA, 2012; RUTZ, 2013).

A goma xantana foi descoberta em 1950 no atual Centro Nacional de Utilização Agrícola do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Foi produzida pela primeira vez em 1960 e disponibilizada para comercialização em 1964 (MARGARITIS; ZAJIC, 1978).

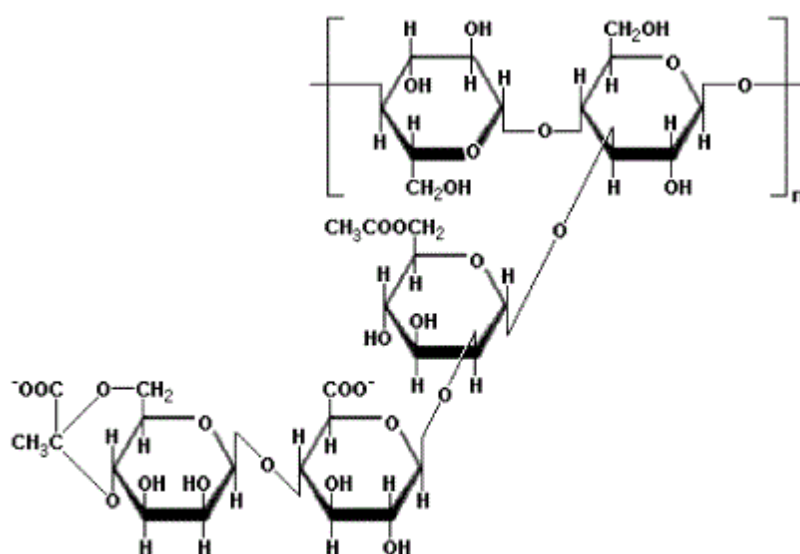
Este polissacarídeo microbiano é o segundo a ser comercializado, após a dextrana que começou a ser comercializado nos anos 1940, sendo atóxico, não causando sensibilidade e irritação a pele a aos olhos e aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos em 1969 (KENNEDY; BRADSHAW, 1984).

A estrutura primária da goma xantana (Figura 11), que possui massa molecular de 13.000.000 a 50.000.000 g/mol, foi estabelecida em 1975 e consiste em subunidades de pentasacarídeos com uma d-glicose ligada ao carbono (1-4) sendo similar ao esqueleto da celulose (FARIA et al., 2011; GOMES, 2014; JANSSON; KENNE; LINDBERG, 1975). Por sua vez, a secundária depende das condições em que a molécula é caracterizada. A conformação ordenada pode ser nativa ou renaturada não havendo consenso sobre a existência de relação entre a atividade de conformação e o tipo de estrutura verificada. A forma nativa se apresenta abaixo da temperatura do ponto de transição conformacional da molécula que depende da força iônica na qual a goma xantana está dissolvida. A transição conformacional (ordem-desordem) é possível quando há ocorrência de temperaturas acima do ponto de transição e/ou redução da força iônica sendo ambas as formas dependentes desses fatores (VANDAMME; BAETS; STEINBÜCHEL, 2002).

Quando misturada em solução aquosa, a goma xantana existe em uma conformação helicoidal ordenada, de cadeia simples ou dupla. A estrutura molecular do material contribui

ativamente para suas propriedades reológicas, sendo o padrão de estruturação das soluções relacionado à ligação de hidrogênio entre as cadeias laterais e as redes de ligação formadas pelo entrelaçamento molecular. (LANEUVILLE; TURGEON; PAQUIN, 2013).

Figura 11 – Estrutura unitária (monômero) do polissacarídeo goma xantana.



Fonte: GARCIA-OCHOA et al., 2000

A goma xantana é solúvel em água quente e fria requerendo intensa agitação quando exposta a meio aquoso para evitar a formação de grumos. As soluções de goma xantana comportam-se como fluidos não newtonianos, ou seja, a tensão de cisalhamento não é diretamente proporcional à taxa de deformação, são de comportamento pseudoplástico e a viscosidade se altera significativamente com o tempo e com a taxa de cisalhamento (STOKKE; CHRISTENSEN, 1996).

Devido a sua estrutura única, a goma xantana, apresenta propriedades reológicas distintas e incomuns, como alta viscosidade e solubilidade, estabilidade a uma ampla faixa de pH, sendo afetada apenas com valores maiores que 11 e menores de 2.5 dependendo da concentração de goma utilizado, temperatura, possui também compatibilidade com sais metálicos e com outros polissacarídeos (GLICKSMAN, 1982; IMESON, 1997; KALOGIANNIS et al., 2003; KENNEDY; BRADSHAW, 1984).

A goma xantana tem sido utilizada em diversos setores da indústria por apresentar importantes propriedades já mencionadas anteriormente. Quando utilizada em baixas concentrações gera estabilidade na estocagem, resistência a água e apelo estético (NUSSINOVITCH, 1997; IMESON, 1997). É utilizada na agricultura em suspensões como

agente estabilizante de herbicidas, pesticidas, fertilizantes e fungicidas (NUSSINOVITCH, 1997). A alta viscosidade das soluções e sua solubilidade em água tem importante para sua aplicação na indústria de petróleo, onde é utilizada em perfurações para recuperação de óleo (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Na indústria de cerâmicas, a goma xantana atua como excelente agente suspensor para os esmaltes permitindo que misturas difíceis sejam mantidas em suspensão. A sua excelente compatibilidade com componentes de esmaltes cerâmicos melhora a moagem do material, aumenta a adesão a úmido, controla o tempo de secagem e reduz imperfeições na superfície das peças (GOMES, 2014). A goma xantana, na indústria farmacêutica, é utilizada como sistema matricial para controlar a liberação de fármacos (VENDRUSCOLO, 2005).

Na indústria de alimentos, a goma xantana é utilizada como agente espessante e estabilizante de alimentos sendo empregada como material encapsulante de enzimas, compostos fenólicos presentes em extratos de frutas, óleos e carotenoides (LIU et al., 2011; NOGUEIRA, 2017; ROSA, 2012; RUTZ, 2013).

3.6 SURFACTANTES

Os agentes tensoativos, também chamados de surfactantes, são moléculas anfipáticas que possuem em sua molécula uma porção hidrofóbica não polar, sendo geralmente uma cadeia de hidrocarboneto linear ou ramificada contendo de 8 a 18 átomos de carbono que está ligada a uma porção polar ou hidrofílica (TADROS, 2005).

Os surfactantes encontram aplicação em quase todas indústrias químicas, incluindo detergentes, tintas, corantes, cosméticos, produtos farmacêuticos, fibras, plásticos e na indústria de alimentos. Alguns surfactantes podem ocorrer naturalmente como a lecitina da gema de ovo, várias proteínas do leite e lipídios polares como monoglicerídeos que são utilizados para a preparação de muitos produtos alimentícios (TADROS, 2005; XU et al., 1998).

Muitos alimentos são sistemas coloidais, contendo partículas e gotas de vários tipos. Essas partículas podem permanecer como unidades individuais, mas na maioria dos casos a agregação ocorre para formar estruturas tridimensionais, chamadas de "géis" (KRALOVA; SJÖBLOM, 2009).

Estas estruturas podem se agregar a partir da associação dos polímeros utilizados e /ou pelo surfactante adicionado no meio sendo que interação entre os componentes destes sistemas se deve as forças de atração e repulsão, através de cargas elétricas, possibilitando que

polímeros, surfactantes e o composto de interesse passem a ter afinidade química facilitando sua ligação (KRALOVA; SJÖBLOM, 2009; TADROS, 2005).

Existe uma ampla variedade de surfactantes disponíveis, no entanto, os ésteres de ácidos graxos de sorbitano, conhecidos também como Spans e seus derivados etoxilados, conhecidos como *Tweens* são, talvez, os surfactantes não-iônicos mais utilizados uma vez que são aprovados como aditivos alimentares sendo também utilizados em cosméticos e fármacos (TADROS, 2005).

As suspensões estabilizadas por meio deste método são aplicadas de diferentes maneiras sendo a microencapsulação uma alternativa para promover a proteção de compostos voláteis, termosensíveis, como perfumes, aromas, fitocompostos, com aplicação em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (TUCKER et al., 2012).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

No desenvolvimento deste trabalho foi utilizada a levedura *Phaffia rhodozyma* NRRL-Y 17268, oriunda do Laboratório de Pesquisa da Região Norte (Peoria, Estados Unidos da América – USA) e certificada como GRAS, solventes orgânicos como acetona e hexano (Synth), goma xantana oriunda da bactéria *Xanthomonas campestris* adquirida da Sigma-Aldrich, mini *spray dryer* LM MSD 0.5 (LabMq) e demais vidrarias e utensílios de rotina em laboratórios.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Caracterização da suspensão de goma xantana

4.2.1.1 Densidade

A determinação da densidade foi realizada mediante a utilização de um picnômetro de 25 mL. Inicialmente pesou-se o picnômetro vazio, em seguida pesou-se o picnômetro com água destilada e, por fim, com a amostra que se deseja saber a densidade.

O valor da densidade foi calculado conforme a Equação 1.

$$\rho = \frac{M_1}{M_2} \quad (1)$$

Onde, ρ é densidade, M_1 é a diferença entre a massa do picnômetro com água – picnômetro vazio e M_2 é a diferença entre o picnômetro com a amostra – picnômetro vazio.

4.2.1.2 Viscosidade

A viscosidade das suspensões de goma xantana foi analisada pela determinação de curva de fluxos de cisalhamento estacionário, utilizando um cone/placa DV-III Ultra reômetro digital rotacional (BROOKFIELD, versão cone e placa. Estados Unidos), acoplado a um banho-maria à 25°C. As medidas foram tomadas a cada 15 segundos e taxa de cisalhamento variou de 5 a 100 s⁻¹, as determinações foram feitas em triplicata e as médias obtidas foram ajustados a modelos empíricos, por meio de análise de regressão linear utilizando software Statistica 5.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

Análise reológica

O comportamento reológico das amostras foi avaliado mediante a utilização do modelo matemático de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) (OLIVEIRA; AMARAL; BURKERT, 2018). Neste modelo é demonstrado uma relação entre a taxa de deformação e a taxa de cisalhamento. Para se obter o comportamento das suspensões de goma xantana, foi realizado o ajuste do modelo de Ostwald-de-Waele (Equação 2) aos dados experimentais a partir da regressão linear usando o *software* Statistica 5.0 (StatSoft Inc, EUA). Plotou-se Ln da taxa de deformação x Ln da tensão de cisalhamento, obtendo-se os valores de K (índice de consistência) e n (índice do comportamento do fluxo), podendo-se, então, demonstrar o ajuste do modelo aos dados experimentais.

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

Onde, τ = tensão de cisalhamento (mPa.s); $\dot{\gamma}$ = taxa de deformação (s^{-1}); K = índice de consistência ($mPa.s^n$) e n = índice do comportamento do fluxo (adimensional).

4.2.1.3 Morfologia

A morfologia das suspensões foi determinada segundo Lehn (2018), com adaptações, sendo realizada a visualização da suspensão através de microscópio ótico (Zeiss, Axio Scope.A1, Alemanha) com aumento de 50x, após diluição com água destilada na proporção 1:1.

4.2.1.4 Potencial Zeta

A carga das gotículas (potencial zeta) das suspensões foi medida preparando-se, primeiramente, as suspensões de goma xantana nas suas diferentes concentrações 0,5, 0,75 e 1% sendo estas misturadas e homogeneizadas com a utilização de um Ultra-Turrax® T25, IKA, Alemanha à 15.000 rpm. Após, 0,1 mL das suspensões foram rediluídas em balões de 10 mL e analisadas utilizando a dispersão de luz dinâmica (Litesizer TM 500, Anton Paar, Áustria).

4.3 PROCESSO DE ATOMIZAÇÃO DA SUSPENSÃO DE GOMA XANTANA

O estudo das condições de atomização da suspensão de goma xantana foi realizado utilizando um delineamento composto central (DCC) 2^3 (8 ensaios + 3 pontos centrais) a fim

de investigar a influência das variáveis do processo de secagem como temperatura do ar de entrada (110, 120 e 130°C), vazão de alimentação (0,15, 0,20 e 0,25 L h⁻¹) e concentração da suspensão de goma xantana (0,5, 0,75 e 1 %) no rendimento do processo foi investigado.

4.3.1 Rendimento do processo de encapsulação

O rendimento do processo de atomização da suspensão de goma xantana foi calculado de acordo com Aliakbarian et al., (2018) através da equação 3 sendo calculado com base na massa dos sólidos iniciais e finais, seguido de sua conversão em percentual.

$$YM = \frac{DW_M}{W_{XG}} \times 100 \quad (3)$$

Onde, YM é o rendimento de encapsulação, DW_M (g) é o total de partículas secas recuperadas e W_{XG} (g) é a massa de goma xantana utilizada.

4.4 PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES

4.4.1 Microrganismo e preparo do inóculo

Neste estudo foi utilizada a levedura *Phaffia rhodozyma* NRRL-Y 17268, oriunda do Laboratório de Pesquisa da Região Norte (Peoria, Estados Unidos da América – USA) e certificada como GRAS. O micro-organismo foi mantido em ágar inclinado em meio extrato de malte e levedura (YM) contendo em (g L⁻¹): 3 de extrato de levedura, 3 de extrato de malte, 5 de peptona, 10 de glicose e adicionados de 0,2 de nitrato de potássio (KNO₃) a 4°C (PARAJÓ et al., 1998). A reativação foi feita a partir de culturas estoque onde serão realizados repiques para tubos de ensaio com o mesmo meio descrito anteriormente e incubados por 48 h a 25°C. Após este período, foi feita uma ressuspensão celular em 1 mL de água peptonada 0,1% e adicionada em 9 mL de meio YM, sendo estes incubados nas mesmas condições descritas.

A produção do inóculo utilizado como fonte de pigmentos foi desenvolvida em frasco erlenmeyer de 500 mL, contendo 90 mL de caldo YM, e adicionado de 10 mL de cultivo oriundo da reativação, sendo incubados a 25°C, 150 rpm por 48 h ou o tempo necessário para atingir concentração celular de 1x10⁸ cél mL⁻¹, contadas em de câmara de Neubauer (RIOS et al., 2015).

4.4.2 Cultivo microbiano

A produção de carotenoides a partir da levedura *Phaffia rhodozyma* foi realizada em erlenmeyer de 500 mL com 153 mL de meio de produção YM a pH inicial de 6,0, 10% de inóculo 1×10^8 cél mL⁻¹, a 25°C, 180 rpm por 168 h (RIOS et al., 2015). As biomassas obtidas foram secas em estufa a 35°C por 48 h sem a utilização de vácuo, após, foram maceradas em moinho de bolas com câmara fechada (MARCONI, MA350), sendo adicionado nitrogênio na câmara e as partículas foram padronizados em peneira de Tyler 115, onde o tamanho de cada fração passante corresponde a <125 µm (CIPOLLATI, 2012).

4.4.3 Extração e recuperação dos carotenoides

A fim de promover a ruptura celular foram aplicadas ondas ultrassônicas, utilizando 0,1 g de biomassa seca 48 h a 35°C, adicionando-se 6 mL de acetona facilitando a extração dos carotenoides (NOGUEIRA; PRESTES; BURKERT, 2016), sendo aplicado 4 ciclos ultrassônicos de 40 kilohertz (kHz) por 10 min e a água do banho sendo trocada a cada ciclo, segundo o método adaptado de Medeiros et al. (2008). Cada amostra foi centrifugada a 1745 ×g por 10 min, o solvente utilizado foi retirado, acondicionado em béquer protegido da luz e adicionou-se 6 mL de acetona repetindo o processo de ruptura, totalizando 12 mL de acetona para cada 0,1 g de biomassa. Após centrifugação e obtenção das fases solventes foram adicionados 10 mL de solução de cloreto de sódio (NaCl) 20% (m/v) e 10 mL de hexano. Assim, houve a separação de fases por meio de agitação e o excesso de água foi retirado com sulfato de sódio (Na₂SO₄), obtendo-se os extratos carotenogênicos (BONFIM, 1999).

A determinação da concentração de carotenoides totais nos extratos foi realizada em espectrofotômetro (BIOSPECTRO SP-220) a 474 nm e os valores da quantificação obtidos pela Equação 4, utilizando o coeficiente de absortividade específica para astaxantina em hexano (2100) (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Onde : CT = concentração de carotenoides totais (µg.g⁻¹); A = absorvância; V = volume (mL); mamostra = massa celular seca (g); $A_{1cm}^{1\%}$ = absortividade específica.

$$CT = \frac{A * V * 10^6}{A_{1cm}^{1\%} * 100 * m_{amostra}}$$

(4)

4.5 ENCAPSULAÇÃO DA SUSPENSÃO DE GOMA XANTANA COM CAROTENOIDES

O método de atomização foi utilizado para obter a encapsulação dos extratos carotenogênicos sendo o revestimento de parede promovido pela goma xantana, com adaptações na metodologia proposta por Rascón et al. (2011). As micropartículas foram elaboradas realizando a retroevaporação dos solventes presentes nos extratos carotenogênicos a 35°C. Na sequência, a goma xantana foi dissolvida em solução aquosa (1% m/v) sendo homogeneizada de acordo com Fadini et al. (2018) à 15.000 rpm por 10 minutos utilizando um Ultra-Turrax® T25, IKA, Alemanha, misturada com o produto da rotaevaporação (100 µg/g de carotenoides) e submetidos à secagem por atomização em mini *spray dryer* LM MSD 0.5. Foram realizados três ensaios em triplicata sendo eles o ensaio 5 (C110), ensaio 6 (C130) e ensaio 6 com adição de 2 % v/v de *tween* 80 (C130+T) conforme mostra a (Tabela 3). A desumidificação do ar de secagem foi realizado mediante a utilização de ar condicionado na função “*dry-desumidicator*” com medição das temperaturas de bulbo seco e úmido do ar de secagem através de um psicrômetro sendo determinado a umidade absoluta (g água/kg ar) do ar de secagem através do software GRAPSI® 5.1.

Tabela 3 – Comparação entre ensaios para encapsulação da suspensão de goma xantana com carotenoides.

Ensaio	X1	X2	X3
5	110	0,15	1,00
6	130	0,15	1,00
6*	130	0,15	1,00

X1 = Temperatura ar de entrada (°C); X2 = Vazão de alimentação (L h⁻¹); X3 = Concentração da suspensão de goma xantana (%) (m/v); 6* = Ensaio realizado com adição de 2% (m/v) de *Tween* 80

4.5.1 Rendimento do processo de encapsulação da suspensão de goma xantana com carotenoides

O rendimento do processo de encasulação foi calculado de acordo com Aliakbarian et al., (2018) pela Equação 5. O rendimento do processo de encapsulação será calculado com base na massa dos sólidos iniciais e finais, seguido de sua conversão em percentual.

$$YM = \frac{DW_M}{DW_E + W_{XG}} \times 100 \quad (5)$$

Onde, YM é o rendimento de encapsulação, DW_M (g) é o total de micropartículas secas recuperadas, DW_E (g) é a massa de carotenoides adicionados e W_{XG} (g) é a massa de goma xantana utilizada (PAINI et al., 2015.)

4.5.2 Eficiência de encapsulação

A determinação da eficiência de encapsulação (%EE) foi realizada pelo método descrito por Sutter et al. (2007), com adaptações. Para a quantificação dos carotenoides presentes dentro e fora das microcápsulas este método se baseia no fato de que os carotenoides são compostos lipofílicos solúveis em hexano e o material de parede solúvel em água e insolúvel em hexano.

A quantificação dos carotenoides presentes na superfície das micropartículas foi realizada utilizando 0,1 g de amostra e 5 mL de hexano misturados e agitados em vortex por 1 min, seguidos de centrifugação a $3420 \times g$ por 10 min, sendo recolhido o sobrenadante e levado ao espectrofotômetro para determinação da concentração de carotenoides a 474 nm.

O precipitado, microcápsulas com o carotenoide encapsulado, obtido durante a centrifugação foi determinado mediante sua dispersão em 10 mL de *Phosphate-buffered saline* (PBS) com pH 7,2 sendo realizada agitação em vórtex durante 2 min, a fim de dissolver o material de parede e liberar o carotenoide presente. Após, foram adicionados 5 mL de hexano, agitou-se em vórtex por 2 min. e centrifugou-se a $3420 \times g$ por 10 min retirando-se o sobrenadante e realizando-se a determinação em espectrofotômetro a 474 nm para quantificação dos carotenoides presente dentro da cápsula. Os resultados foram expressos em percentual de carotenoides encapsulados por meio da equação 6.

$$\% EE = \frac{\text{Total de carotenoides} - \text{Carotenoides da superfície}}{\text{Total de carotenoides}} \times 100 \quad (6)$$

O teor de carotenoides mantidos ao final do processo foi calculado a partir da leitura espectrofotométrica inicial dos extratos carotenogênicos antes da encapsulação, sendo fixada a entrada de 100 ($\mu\text{g/g}$), comparada com o total de carotenoides após a encapsulação.

4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS COM CAROTENOIDES

4.6.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR foram obtidos com o uso de aparelho Shimadzu, modelo IRPrestige-21. As amostras foram preparadas na forma de pastilhas com KBr e a varredura realizada na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} . A resolução dos espectros foi padronizada em 4 cm^{-1} e a leitura foi de 64 *scans*.

4.6.2 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A fim de confirmar a encapsulação foi realizado a análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC) de acordo com Rutz (2013) utilizando 10 mg de cada amostra, aquecidas em recipiente de alumínio, utilizando taxa de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ entre 25 e 280°C , com fluxo de nitrogênio de 40 mL min^{-1} , sendo avaliado nas amostras encapsuladas o aparecimento ou não de extrato livre.

4.6.3 Teor de umidade das cápsulas obtidas

A determinação de umidade foi realizada segundo Instituto Adolfo Lutz (2008), com adaptações, sendo pesado 0,2 g da amostra em cápsula previamente tarada, colocada em estufa a 105°C por 3 horas. Na sequência, resfriou-se em dessecador até temperatura ambiente e pesou-se. Esta operação foi repetida até peso constante.

O percentual de umidade da amostra foi calculado mediante o uso da Equação 7.

$$\% \text{ Umidade} = \frac{100 \times N}{P} \quad (7)$$

Onde, N é o número de gramas de umidade (perda de massa em g) e P é o número de gramas da amostra.

4.7 AVALIAÇÃO DA COR

As amostras encapsuladas foram avaliadas quanto ao ângulo Hue e Croma, Equação 8 e 9, respectivamente, por meio de um colorímetro Minolta (CR 300, Minolta, EUA) pela leitura dos parâmetros L, a^* e b^* , proposto pela Comissão Internationale I'Eclairage (CIE), descrito por Silva et al. (2016b).

$$H_{ab} = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (8)$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (9)$$

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada, quando necessário, para avaliar as diferenças entre as médias sendo estas comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância. Para comparação entre dois tratamentos foi utilizado o teste t ($p < 0,05$). As superfícies de resposta ou contorno foram construídas de acordo com Rodrigues; Iemma, 2014. Todos os dados foram tratados com auxílio de *Statistica* 5.0 (Statsoft).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DA SUSPENSÃO DE GOMA XANTANA.

5.1.1 Densidade

A densidade das suspensões de goma xantana 0,5, 0,75 e 1% (m/v) estão apresentados na (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados de densidade das suspensões de goma xantana.

Suspensões de goma xantana % (goma xantana:água)	Densidade (g/cm ³)
0,50	1,002
0,75	1,003
1,00	1,004

Os valores obtidos para as diferentes suspensões de goma xantana formuladas está de acordo com Martínez-Padilla et al., (2015) que avaliou os efeitos reológicos da goma xantana nas propriedades espumantes do concentrado proteico de soro de leite e observaram que a suspensão 0,15% (m/v) apresentou densidade próxima da água que é de 1 g cm³.

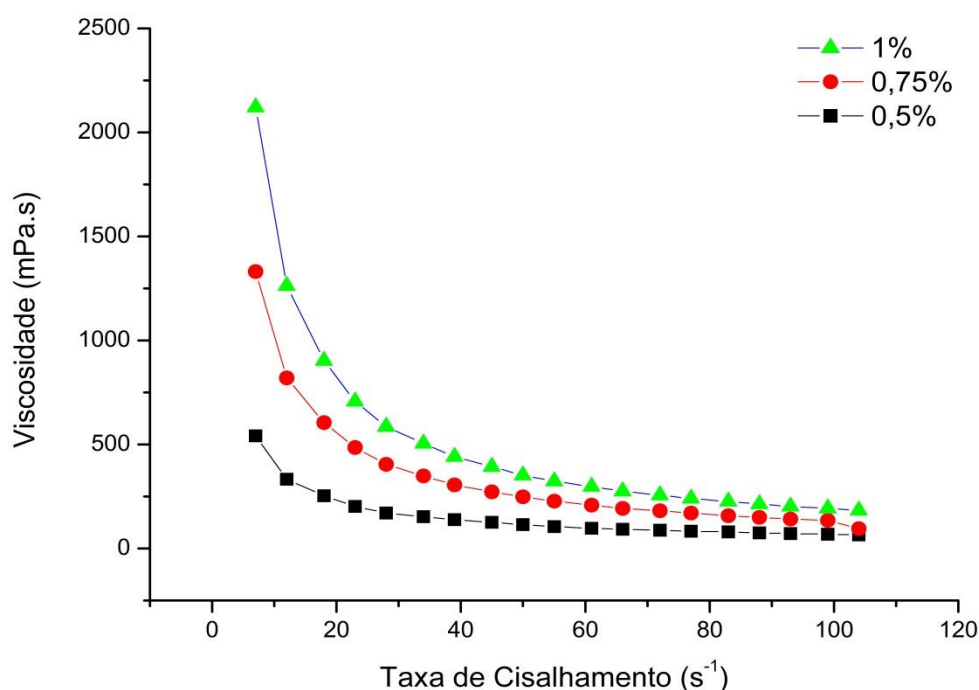
5.1.2 Viscosidade

A viscosidade é a propriedade reológica que mede a resistência de um material em fluir. Ela ocorre quando uma camada de fluido move-se em relação à outra camada. Assim, à medida que aumenta a viscosidade de um fluido aumentam as forças de atrito e é necessário mais energia para que haja o deslocamento (BRETAS et al., 2005).

A Figura 12 apresenta o comportamento da viscosidade aparente (cP) em função da taxa de cisalhamento (s⁻¹) para as suspensões de goma xantana 0,5, 0,75 e 1% (m/v) produzidas. É possível notar que todas as soluções apresentaram um comportamento não-newtoniano (pseudoplástico), no qual a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento. Comportamento este reportado por Assis et al., (2014) onde as suspensões de goma xantana são consideradas como fluidos com comportamento tipicamente pseudoplástico.

De acordo com a figura 12 a suspensão de goma xantana 1% m/v apresentou a maior viscosidade seguido da suspensão de 0,75% e 0,5%. A viscosidade da suspensão de goma xantana 1% (2.121 mPa.s) é cerca de 2 vezes maior que a suspensão 0,75% (1.331 mPa.s) e cerca de 4 vezes maior entre a suspensões de 0,5% (542 mPa.s), para uma taxa de cisalhamento de 7 s⁻¹.

Figura 12 - Variação da viscosidade versus taxa de cisalhamento das soluções de goma xantana 0,5, 0,75 e 1% (m/v).



O aumento da concentração de sólidos na suspensão aumentam a força e a densidade das ligações de hidrogênio devido a uma menor distância entre as partículas das moléculas e, com isso, segundo García-ochoa et al., (2000), a viscosidade das suspensões de goma xantana aumentam com a elevação da concentração do polímero fazendo com que suspensões mais densas sejam as mais viscosas.

Resultados semelhantes foram obtidos por Martínez-Padilla et al., (2015) ao avaliar o efeito da reologia da goma xantana nas propriedades espumantes do concentrado proteico de soro de leite produziram suspensão de goma xantana 0,15% (m/v) e observaram comportamento não-newtoniano para a suspensão bem como valores próximos a 1.000 mPa.s em uma taxa de cisalhamento de 1 s^{-1} .

Dabestani; Yeganehzad, (2019) realizaram o estudo do efeito da goma persa e da goma xantana nas propriedades de formação de espuma e estabilidade da espuma de clara de ovo fresca pasteurizada e, para isso, fizeram uma suspensão de goma xantana 1% (m/v) onde verificaram uma viscosidade de 1.200 mPa.s com a taxa de cisalhamento em 60 s^{-1} .

A viscosidade da goma xantana é influenciada por vários fatores, como pH, temperatura, sais, peso molecular e concentração (ERTEN et al., 2014; GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

O modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da potência) vem sendo bastante utilizado para descrever o comportamento reológico de fluídos pseudoplásticos como as suspensões de goma xantana nos mais diversos estudos (CAI, et al., 2018; DEMIRCI, et al., 2019; WANG, et al., 2017). Os coeficientes deste modelo para as suspensões de goma xantana analisadas são apresentados na (Tabela 5). O coeficiente de consistência 'K' descreve o intervalo geral de viscosidades em toda a parte modelada da curva de fluxo.

Tabela 5 – Parâmetros reológicos obtidos pela análises das suspensões de goma xantana 0,5, 0,75 e 1 % (m/v), pela aplicação do modelo da Lei da Potência (Modelo de Ostwald-de-Waele).

Suspensões de Goma xantana (%)	Índice de consistência K (mPa.s ⁿ)	Índice do comportamento de fluxo (n)	Coefficiente de regressão (R ²)
0,5	23,70±6,94	0,25±0,03	0,94±0,05
0,75	69,60±27,41	0,16±0,07	0,98±0,00
1	117, 09±11,84	0,10±0,02	0,99±0,00

Ao analisar a Tabela 3 é possível observar que o valor do parâmetro n foi diminuindo conforme o aumento da concentração de sólidos presentes na suspensão, sendo, para todas as suspensões de goma xantana encontrados valores de n menores que a unidade demonstrando comportamento pseudoplástico.

O parâmetro n pode assumir valores menores, igual ou maiores que a unidade. Quando o valor de n é igual a unidade, o modelo da lei da potência é similar ao modelo Newtoniano, portanto o valor de K é o valor da viscosidade do fluido. Para fluídos pseudoplásticos, n é menor que a unidade, e quanto menor o seu valor, mais expressivo é seu comportamento pseudoplástico (MOSER, 2012).

Os valores encontrados para o parâmetro n estão de acordo com Adorno (1997), onde estudou a reologia de sucos de frutas tropicais: manga, maracujá, mamão e goiaba e relata que o valor de n decresce com o aumento do conteúdo de sólidos presentes e é pouco afetado pela temperatura.

Wang et al., (2017), ao realizarem a caracterização de goma xantana produzida a partir de uma cepa mutante *Xanthomonas campestris* CCTCC M2015714 utilizando glicerol produziram suspensões 1% (m/v) com a goma xantana produzida pela cepa mutante e com uma goma xantana comercial obtendo um índice de consistência (K) de 1,7958 e 21, 0848, respectivamente demonstrando que a viscosidade da goma xantana obtida pela cepa mutante é menor que a da goma comercial utilizada. O valor do índice do comportamento do fluxo (n)

obtido pelos mesmos autores foi de 0,235 para a goma xantana produzida pela cepa mutante indicando um comportamento pseudoplástico.

Cai et al., (2018) avaliaram o efeito de misturas de goma xantana com proteína de noz quanto a adsorção interfacial e propriedades da emulsão produzindo suspensões de goma xantana de 0,00, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25 e 0,30 (m/m) obtendo valores de K de 0,001, 0,009, 0,032, 0,108, 0,695 (Pa.s) e n de 0,918, 0,826, 0,707, 0,585 e 0,435 demonstrando assim, um comportamento pseudoplástico em todas as suspensões bem como o aumento da viscosidade com o aumento da concentração de sólidos.

5.1.3 Morfologia da suspensão

As suspensões são sistemas heterogêneos em que uma fase interna ou fase dispersa, composta pelas partículas insolúveis está finamente distribuída na fase externa, também chamada de fase contínua ou meio dispersante, que é geralmente um líquido ou semissólido sob a forma de gotas de tamanho microscópico ou coloidal (MARTIN, 2006; SALAGER, 1999; ROSA, 2003), devendo ser agitadas antes do uso uma vez que a fase dispersa tende a sedimentar (ALLEN JR.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

As imagens de microscópio em escala de 0,5 μm das suspensões de goma xantana com 0,5, 0,75 e 1% (m/v) produzidas são mostradas na Figura 13 (a,b e c), sendo observados o diâmetro médio de suas partículas de $0,08 \pm 0,00$, $0,11 \pm 0,00$ e $0,22 \pm 0,03$ μm , respectivamente. O aumento da concentração de sólidos promoveu o aumento gradativo do diâmetro das partículas formadas.

Suspensões com partículas de tamanho entre 0,5 a 10 μm são conhecidas como suspensões finas e, pelo seu tamanho produzem suspensões mais estáveis evitando a separações das fases (DONALD, 2013). Comportamento também reportado por Roland et al., (2003). Assim, de acordo com o diâmetro das partículas, todas as suspensões produzidas se mostram estáveis e passíveis de aplicação no processo de atomização.

5.1.4 Potencial Zeta

O potencial Zeta apresenta a magnitude da repulsão ou da atração eletrostática ou das cargas entre partículas em dispersões coloidais sendo um dos parâmetros fundamentais para avaliação da estabilidade. O potencial Zeta das suspensões de goma xantana com 0,5, 0,75 e 1% (m/v) estão apresentados na (Tabela 6).

Figura 13 – Imagens microscópicas das suspensões de goma xantana 0,5 (a), 0,75 (b) e 1% (c) (m/v) com diluição 1:2 e aumento de 50x.

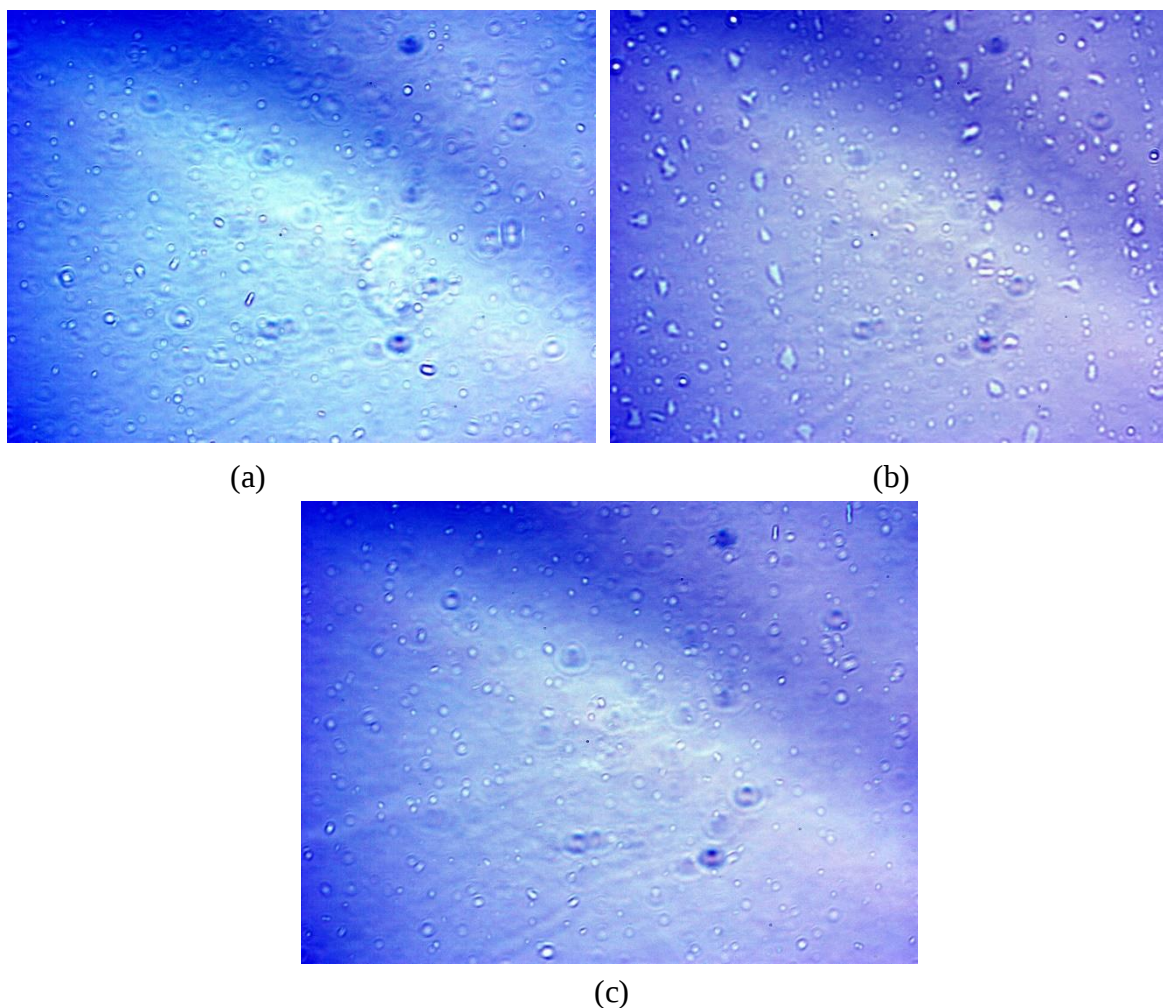


Tabela 6 – Resultados da caracterização das dispersões de goma xantana.

Suspensões de goma xantana % (goma xantana:água)	Potencial Zeta (mV)*
0,5	-66,7±0,2
0,75	-67,8±0,1
1	-70,5±0,2

* média±desvio padrão (n=3).

A goma xantana possui caráter aniônico marcante devido a presença dos ácidos D-glicurônicos, pirúvico e grupamentos acetila em sua estrutura molecular (ATKINS, 2001; LEE, 1980; OHLWEILER, 1982; RUSSEL, 1994). Segundo Ortega et al. (1997), entre os fatores que influenciam na reologia do sistema estão a concentração de sólidos, temperatura,

tipos de interação entre as partículas, concentração das moléculas dispersantes, massa molar e conformação espacial.

Portanto, os valores encontrados nos ensaios de potencial Zeta para as diferentes concentrações das dispersões de goma xantana são coerentes tendo em vista que o aumento da concentração de sólidos promoveu o aumento da carga negativa. Estes resultados estão de acordo com o estudo realizado por Dabestani; Yeganehzad, (2019) onde avaliaram o efeito da goma persa e goma xantana nas propriedades de formação de espuma e na estabilidade da espuma de clara de ovo fresco pasteurizado obtendo valores entre -55 e -65 mV para a suspensão de goma xantana 1% (m/v) rediluída em 0,01% e pH ajustado em 9.

5.2 MAXIMIZAÇÃO DO RENDIMENTO DO PROCESSO DE ATOMIZAÇÃO COM GOMA XANTANA E AVALIAÇÃO DA UMIDADE

A Tabela 7 apresenta o Delineamento Composto Central (DCC) 2^3 (8 ensaios + 3 pontos centrais) com a suspensão de goma xantana, a fim de investigar a influência das variáveis do processo de secagem temperatura do ar de entrada, vazão de alimentação e concentração da suspensão de goma xantana, na resposta rendimento do processo de atomização. Com esta, é possível verificar que o rendimento variou de 26 % (ensaio 4) a 49 % (ensaio 6). A umidade do pó obtido variou entre 8,2 % (ensaio 2) a 2,4 % (ensaio 6) com variação da umidade absoluta entre 8,7 g/kg (ensaio 11) a 4,67 g/kg (ensaio 8).

O teor de umidade depende das propriedades físicas e químicas do material de parede, do material do núcleo, do método de encapsulamento e das condições de processo utilizadas (CAI; CORKE, 2000).

Ao observar os resultados da umidade das microcápsulas fica evidente a relação das condições de processo e da umidade do ar de secagem no rendimento. As microcápsulas do ensaio que apresentou maior rendimento (ensaio 6) apresentaram a menor umidade (2,4%), ao mesmo tempo, que a maior umidade das microcápsulas foi observado no ensaio 2 (8,2%), onde foi obtido um dos menores rendimentos de processo.

Para que uma microcápsula possa ser utilizada em aplicações alimentares esta deve possuir no máximo 4% de umidade final minimizando assim os riscos de contaminação por microorganismos e reações de degradação (EDRIS, et al., 2016).

O valor obtido no ensaio 6, esta de acordo com os resultados obtidos por (Chew; Tan; Nyam, 2018) e (Paini et al., 2015) que realizou a microencapsulação de óleo refinado de semente de kenaf (*Hibiscus cannabinus L.*) por *spray drying* utilizando β -ciclodextrina, goma

arábica e caseinato de sódio como material de parede obtendo microcápsulas com umidade final entre 2,7 e 3,9% utilizando 160°C de temperatura do ar de entrada e a microencapsulação de compostos fenólicos oriundos do bagaço de azeitona utilizando duas temperaturas de ar de entrada (130 e 160°C), vazão de alimentação (5 e 10 mL min⁻¹) e concentrações de maltodextrina (100 e 500 g/L) como material de parede obtendo umidade final nas suas microcápsulas entre 2,1 e 7%, respectivamente.

Paini et al., (2015) realizaram a microencapsulação de compostos fenólicos oriundos do bagaço de azeitona utilizando duas temperaturas de ar de entrada (130 e 160°C), vazão de alimentação (5 e 10 mL min⁻¹) e concentrações de maltodextrina (100 e 500 g/L) como material de parede obtendo umidade final nas suas microcápsulas entre 2,1 e 7%.

Com estes resultados foi possível observar que os ensaios que apresentaram a menor umidade do ar de entrada produziram o pó com menor umidade ao final do processo bem como os maiores rendimentos.

Tabela 7 – Delineamento Composto Central 2³ (valores reais) para maximização do rendimento.

Ensaio	X1	X2	X3	UA	R1	RP1	DR1	UFC
1	-1 (110)	-1 (0,15)	-1 (0,50)	5,4	35	37,52	-7,20	7,8
2	+1 (130)	-1 (0,15)	-1 (0,50)	8,4	28	31,02	-14,89	8,2
3	-1 (110)	+1 (0,25)	-1 (0,50)	5,4	29	30,02	-3,52	7,5
4	+1 (130)	+1 (0,25)	-1 (0,50)	7,3	27	23,52	9,54	7,9
5	-1 (110)	-1 (0,15)	+1 (1,00)	7,8	41	40,52	1,17	4,1
6	+1 (130)	-1 (0,15)	+1 (1,00)	5,3	49	47,02	4,04	2,4
7	-1 (110)	+1 (0,25)	+1 (1,00)	7,3	29	33,02	-13,86	5,6
8	+1 (130)	+1 (0,25)	+1 (1,00)	4,7	38	39,52	-4,00	4,7
9	0 (120)	0 (0,20)	0 (0,75)	8,5	36	35,27	2,03	7,4
10	0 (120)	0 (0,20)	0 (0,75)	8,6	37	35,27	4,68	7,6
11	0 (120)	0 (0,20)	0 (0,75)	8,7	39	35,27	9,56	7,9

X1 = Temperatura ar de entrada (°C); X2 = Vazão de alimentação (L h⁻¹); X3 = Concentração da suspensão de goma xantana (%) (m/v); UA = Umidade absoluta (g/kg); R1 = Rendimento (%); RP1 = Rendimento predito; DR1 = Desvio relativo do rendimento; UFC (%) = Umidade do pó obtido.

5.2.1. Verificação de modelo empírico para o DCC

Em função das variáveis temperatura do ar de entrada, vazão de alimentação da suspensão de goma xantana e concentração da suspensão da goma xantana foi obtido um modelo de primeira ordem em relação ao rendimento do processo de atomização.

Para a verificação do modelo foram calculados os efeitos, desvio padrão e limites de confiança, apresentados no Apêndice 1. Os coeficientes de regressão, bem como análise de variância (ANOVA), estão apresentando nas Tabelas 8 e 9, respectivamente.

Ao analisar a tabela 8 para a resposta rendimento do processo percebe-se que os coeficientes vazão de alimentação (L), concentração da suspensão de goma xantana (L) e a interação temperatura do ar de entrada (L) x concentração da suspensão de goma xantana (L) foram significativos ($p \leq 0,05$). Os termos não significativos foram adicionados à falta de ajuste para o cálculo da Análise de Variância (ANOVA), como mostra a tabela 9.

Tabela 8 - Coeficiente de regressão (CR), erro padrão (EP) e nível de significância para a resposta rendimento do processo.

	Rendimento do Processo (%)			
	CR	EP	t(4)	p
Média*	35,27	0,74	47,57	<0,01
T (L)	1,00	0,86	1,15	0,31
V (L)*	-3,75	0,86	-4,31	0,01
C (L)*	4,75	0,86	5,46	<0,01
T (L) x V (L)	0,75	0,86	0,86	0,43
T (L) x C (L)*	3,25	0,86	3,73	0,02
V (L) x C (L)	-2,00	0,86	-2,30	0,08

* ($p \leq 0,05$); T: temperatura do ar de entrada; V: Vazão de alimentação; C: Concentração da suspensão de goma xantana.

O coeficiente de correlação (R) para a variável rendimento de processo foi de 0,92 e com isso pode-se dizer que o modelo se ajusta aos dados experimentais. A razão $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$ foi de 2,94. Portanto, pode-se concluir que o modelo se ajusta bem aos dados experimentais.

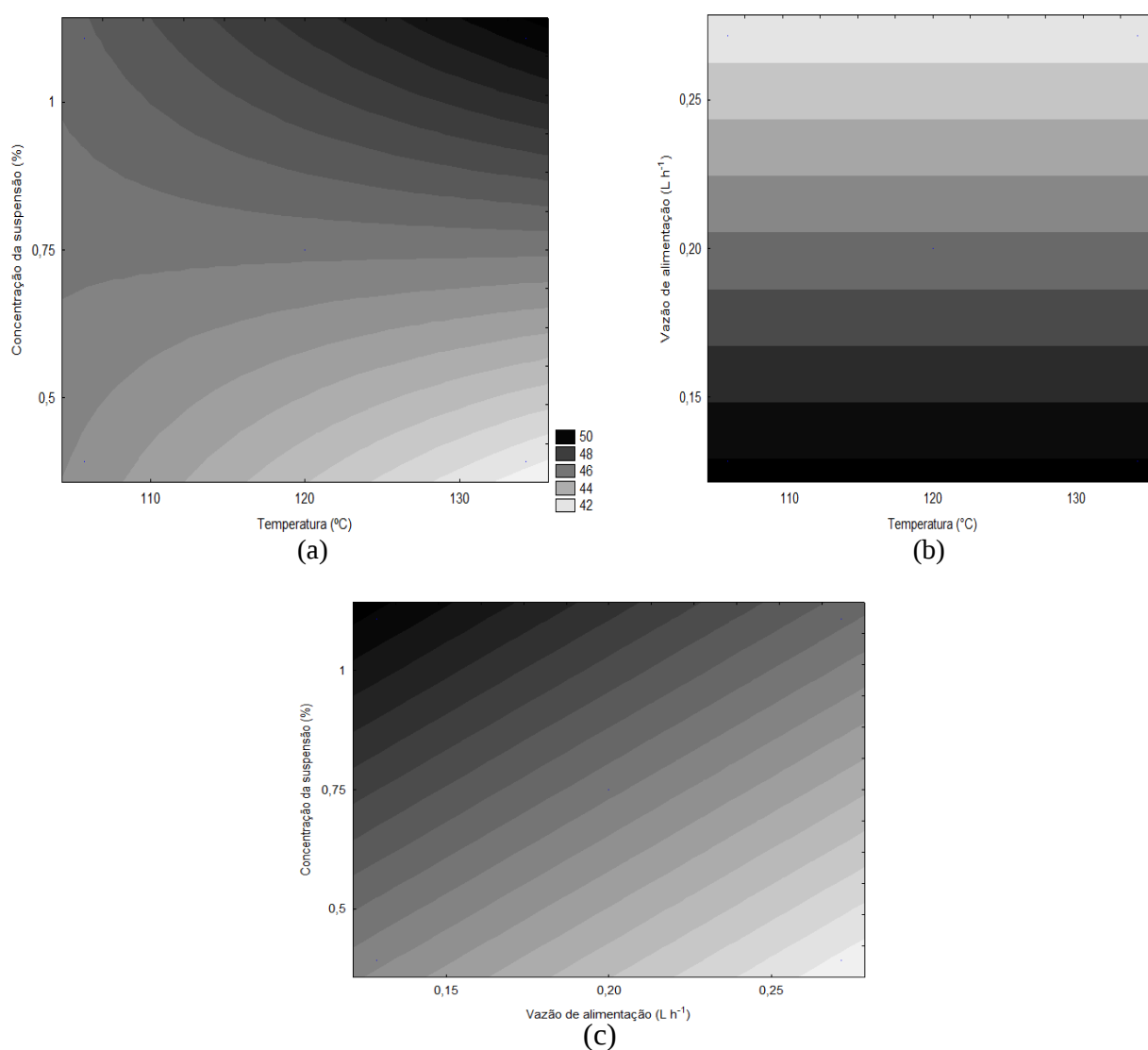
Dessa forma, foi possível construir a equação do modelo com as variáveis codificadas que representam o rendimento em função das variáveis temperatura do ar de entrada, vazão de alimentação e concentração da suspensão de goma xantana, mostrada na Equação 10.

$$\text{Rendimento (\%)} = 35,27 - 3,75.V + 4,75.C + 3,25.T.C \quad (10)$$

Onde: V: vazão de alimentação, C: concentração da suspensão de goma xantana e T: temperatura do ar de entrada.

Tabela 9 - Análise de variância para o Delineamento Composto Central 2³.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Quadrado Médio	F Calculado	F Tabelado
Regressão	3	377,50	125,83	12,82	4,35
Resíduo	7	68,68	9,81		
Total	10	446,18			

R:0,92, F_{3; 7; 0,95} = 4,35**Figura 14** – Curva de contorno para rendimento (%) no DCC 2³ em função das variáveis temperatura e concentração da suspensão (a), temperatura e vazão de alimentação (b) e vazão de alimentação e concentração da suspensão (c).

Na Figura 14, estão apresentadas as curvas de contorno geradas a partir dos modelos preditivos e significativos. O aumento da temperaturas do ar de entrada juntamente com o aumento das concentrações de suspensão de goma xantana resultaram em maiores

rendimentos de processo (Figura 14 (a)). O aumento da vazão de alimentação do sistema acarreta em uma diminuição do rendimento do processo independente das temperaturas utilizada visto que a variável temperatura isolada não possui influência significativa no rendimento do processo (Figura 14 (b)). Analisando o perfil de contorno das variáveis vazão de alimentação e concentração da suspensão de goma xantana (Figura 14 (c)) é possível verificar que ao aumentar a concentração da suspensão de goma xantana a resposta rendimento tende a aumentar. De modo inverso, o rendimento diminui quando é utilizado maiores vazões de alimentação.

Estes resultados estão de acordo com o observado no ensaio 5 (110 °C de temperatura do ar de entrada; 0,15 L h⁻¹ de vazão de alimentação e 1% da suspensão de goma xantana) e 6 (130 °C de temperatura do ar de entrada; 0,15 L h⁻¹ de vazão de alimentação e 1% da suspensão de goma xantana), Tabela 5, que alcançaram os maiores rendimentos de processo de 41 e 49 %, respectivamente.

Os resultados do desvio relativo entre os resultados experimentais e preditos pelo modelo foram inferiores a 10 %, com um caso que chega a quase -15%. No entanto, na região de interesse os erros relativos obtidos são baixos considerando processos que envolvem microrganismos (RODRIGUES; IEMMA, 2014), conforme mostra a Tabela 5, demonstrando que a equação 10 prevê o comportamento do rendimento do processo.

5.3 ENCAPSULAÇÃO DA SUSPENSÃO DE GOMA XANTANA COM CAROTENOIDES

A partir dos resultados obtidos através do planejamento experimental realizado com as suspensões de goma xantana foram selecionados os ensaios 5 e 6 (Tabela 5) para a realização da atomização destas suspensões de goma xantana com a adição de 100 µg/g de carotenoides. No entanto, o ensaio 6, por ser aquele que proporcionou o melhor resultado no rendimento do processo, foi selecionado para receber uma adição de 2 % (m/v) de *Tween* 80 (polisorbato 80) conforme mostra a Tabela 10.

O encapsulamento é um processo alternativo para aumentar a estabilidade dos compostos, protegendo-os de condições ambientais adversas. Os resultados obtidos neste trabalho (Tabela 8), mostraram que não houve diferença significativa para a umidade absoluta obtida nos ensaios realizados.

O rendimento do processo se manteve próximo ao encontrado no planejamento experimental mesmo com a adição dos carotenoides. O ensaio com adição de *tween* (6*) obteve o maior rendimento do processo alcançando 51%. No entanto, não houve diferença

significativa entre este e o ensaio 6 demonstrando assim que a adição do surfactante não promoveu diferenças no resultado do rendimento do processo de atomização.

Tabela 10 – Resultados obtidos da atomização de carotenoides com goma xantana.

Ensaio	X1	X2	X3	UA*	R1	EE	TCM	UFC
5	110	0,15	1,00	9,1±0,1 ^a	48±0,3 ^b	36±1,4 ^b	6,9±0,0 ^b	4,4±0,1 ^a
6	130	0,15	1,00	9,4±1,2 ^a	49±1,2 ^{a,b}	33±0,5 ^c	6,6±0,1 ^b	3,6±0,1 ^b
6*	130	0,15	1,00	9,2±0,7 ^a	51±0,2 ^a	70±0,9 ^a	45±3,3 ^a	3,7±0,1 ^b

X1 = Temperatura ar de entrada (°C); X2 = Vazão de alimentação (L h⁻¹); X3 = Concentração da suspensão de goma xantana (%) (m/v); UA = Umidade absoluta (g/kg); R1 = Rendimento; EE = Eficiência de Encapsulação (%); TCM = Teor de carotenoides mantidos pós processo (%); UFC (%) = Umidade final da microcápsula. média±desvio padrão (n=3), letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05), pelo Teste Tukey; 6* = Ensaio realizado com adição de 2% (m/v) de *Tween* 80

A redução da temperatura do ar de entrada, ensaio 5, não promoveu uma diferença significativa no rendimento comparado ao ensaio 6 demonstrando assim, que a umidade do ar de secagem está diretamente relacionado com o rendimento do processo uma vez que o ensaio 5 mesmo utilizando menor temperatura alcançou um rendimento similar ao ensaio que utilizou uma maior temperatura de secagem.

A eficiência de encapsulação está relacionada com a atração das moléculas presentes no sistema e, como era esperado, o resultado mais promissor foi encontrado no ensaio (6*) alcançando 70%, mostrando que a adição do surfactante favoreceu a interação entre os componentes promovendo a proteção de uma maior quantidade de carotenoides. Este fato, pode ser comprovado ao analisar o teor de carotenoides mantidos pós processo de encapsulação onde a microcápsula produzida neste ensaio promoveu uma recuperação de 45 % do teor de carotenoides adicionados sendo cerca de 6,8 vezes mais do que os valores recuperados nos outros ensaios.

A umidade final das microcápsulas obtidas variou entre 3,6% (ensaio 6) a 4,4% (ensaio 5) sendo estes valores similares aos encontrados nas cápsulas produzidas apenas com as suspensões de goma xantana. Assim, segundo Edris et al., (2016) apenas as microcápsulas dos ensaios 6 e 6* estariam aptas para aplicações alimentarem uma vez que estas apresentaram umidade inferior a 4%.

Bonilla-ahumada, Khandual e Lugo-Cervantes (2018), realizaram a microencapsulação de biomassa de algas *Tetraselmis chuii* por spray-drying utilizando como material de parede maltodextrina:goma arábica (60:40), chitosana 3% e gelatina 2%, com temperatura do ar de entrada de 110, 130 e 150°C, fluxo de alimentação de 2,5 mL min⁻¹ e pressão do ar de 40 bar tendo como recuperação de carotenoides (%) pós atomização de 33,

50,1, 37,4 (M+G 60;40); 60, 68,7 66,1 (CHTN 3%) e 53,9, 53,4 e 53,4 (GLTN 2%) nas temperaturas de 110, 130 e 150°C, respectivamente. Os mesmos autores obtiveram a umidade das microcápsulas de 4,5 a 9 % (M+G 60;40), 2 a 5 % (GLTN 2%) e 3 a 7,5 % (CHTN 3%).

Rezende, Nogueira e Narain (2018) estudaram a microencapsulação de compostos bioativos obtidos de extratos de polpa de acerola *Malpighia emarginata* DC por *spray drying* utilizando como material de parede uma mistura de goma arábica e maltodextrina em uma proporção 1:1 (m/m) com um fluxo de alimentação de 0,36 L h⁻¹, temperatura do ar de entrada de 170°C e pressão do ar de 3,5 kgf cm³ obtendo eficiência de encapsulação dos carotenoides em torno de 38 % e a umidade das microcápsulas obtidas entre 4,5 e 5 %.

Ramakrishnan et al. (2018) ao estudarem o efeito de materiais de parede na eficiência de secagem por *spray drying*, as propriedades do pó e a estabilidade dos compostos bioativos na microencapsulação de suco de tamarillo utilizaram cinco diferentes materiais de parede sendo eles a maltodextrina, goma arábica, amido modificado com anidrido succínico, amido modificado com anidrido n-octenil succínico e maltodextrina resistente (20% m/m de suco) com a secagem sendo realizada em *spray dryer* piloto com bico atomizador rotatório a 15.000 rpm, temperatura do ar de entrada de 150°C e vazão de ar de 900 m³ min e obtiveram um rendimento de processo entre 59 e 89%, eficiência de encapsulação entre 84,77 e 94,83% e umidade das microcápsulas produzidas entre 3,43 e 4,89%.

Nogueira (2017) ao realizar a microencapsulação por atomização de extratos carotenogênicos provenientes da levedura *Phaffia rhodozyma* utilizando como material de parede alginato de sódio, proteína de soja e goma xantana, nas proporções 1:1 e 1:2 (carotenoides: material de parede), avaliando o rendimento de processo e a eficiência de encapsulação obteve rendimentos de 19,9% a 21,4% com eficiência de encapsulação de 85,7% a 92,4% utilizando goma xantana, na proporção 1:1, como material de parede nas condições de operação do atomizador de 100°C de temperatura do ar de entrada, 0,15 L h⁻¹ de fluxo de alimentação e 1,65 m³ min⁻¹.

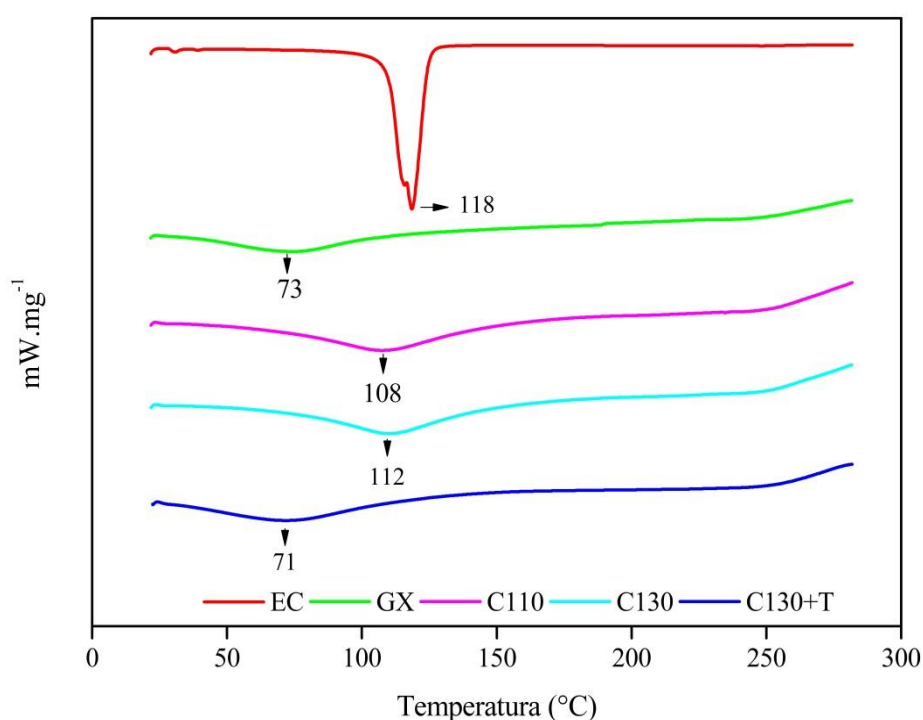
5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS COM CAROTENOIDES

5.4.1 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

DSC é utilizado para determinar os estados físicos-químicos de substâncias ativas em vários complexos, particularmente para detectar mudanças de cristalinidade, pontos de fusão e ebulição através de mudanças ou eliminação de picos endotérmicos e exotérmicos.

Os termogramas para o extrato carotenogênico livre (EC), goma xantana (GX), microcápsula de carotenoides atomizada a 110°C (C110), microcápsula de carotenoide atomizada a 130°C (C130) e microcápsula de carotenoide atomizada a 130°C com adição de 2% de *Tween* 80 (C130 + T) são apresentados na Figura 15.

Figura 15 – Termogramas de DSC para o extrato carotenogênico, goma xantana e microcápsulas de carotenoides atomizadas nas diferentes condições.



Todas as amostras apresentaram picos endotérmicos na faixa entre 71°C e 118°C sendo estes valores, segundo Belščak-Cvitanović et al., (2016) característicos da perda de água estando na região entre 60 e 125°C.

As amostras estudadas não apresentaram picos endotérmicos ou exotérmicos na faixa de temperatura entre 119 °C e 240°C demonstrando que não sofreram alterações no seu ponto de fusão, cristalinidade, polimerização e degradação. No entanto, o termograma das amostras GX, C110, C130 e C130+T apresentam uma leve ondulação próximo aos 250°C indicando o início da degradação do material (SOUSDALEFF et al., 2013).

Ao analisar os termogramas do EC, C110, C130 e C 130+T fica evidente o desaparecimento do pico endotérmico encontrado no EC em todas as microcápsulas produzidas e, segundo Paramera, Konteles e Karathanos (2011), a ausência de eventos térmicos do material de núcleo no perfil térmico das microcápsulas é considerada evidência

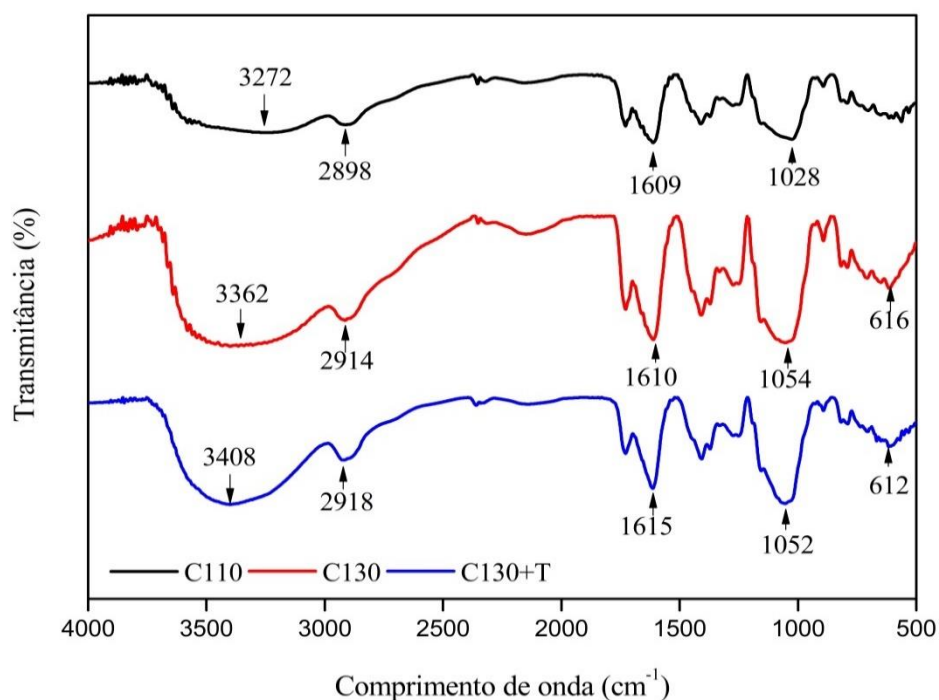
de que a encapsulação foi realizada. Assim, os resultados obtidos confirmam que os carotenoides foram encapsulados com sucesso pelo material de parede formando um complexo de inclusão.

5.4.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A determinação do espectro de FTIR permite distinguir as interações moleculares potenciais entre os respectivos constituintes de uma amostra. Os dados obtidos por FTIR ajudam a elucidar o estudo juntamente com as análises realizadas em parâmetros de encapsulamento de compostos bioativos, como a eficiência de encapsulação (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2016).

As cápsulas produzidas nas diferentes condições de atomização foram analisadas a fim de investigar os grupamentos funcionais presentes na estrutura. A região estudada compreendeu as bandas localizadas na janela espectral compreendida entre 400 e 4000 ondas.cm⁻¹.

Figura 16 – Espectro de FTIR das microcápsulas de carotenoides.



absorção observados nos comprimentos de onda de 2898, 2914 e 2918 representam o alongamento da ligação C-H. Em sequência, é possível notar picos de absorção em 1609, 1610 e 1615 característicos do alongamento da ligação C=O. As bandas de absorção

acentuadas observadas nos comprimentos de onda de 1028, 1054 e 1052 demonstram a alongamento da ligação C-O e dobramento da ligação C-O-H para as amostras C110, C130 e C130+T, respectivamente, estando estes resultados de acordo com Kang et al. (2019), Williams et al. (2006), Banerjee e Chen (2007), Tiwari (2007) e Ursescu, Măluțan, e Cioviță (2009).

Os comprimentos de onda de 612 e 614 para as amostras C130 e C130+T são característicos do estiramento da ligação CH₂. Provavelmente a amostra C110 não apresentou este pico de absorção tendo como possível causa a utilização de uma temperatura menor na encapsulação.

5.4.3 Parâmetros colorimétricos

Os parâmetros de cor incluindo L, a*, b* Hue e Croma são apresentados na Tabela 9. O valor da Luminosidade (L) varia de 0 (preto) a 100 (branco) (LAOKULDILOK; KANHA, 2015). As amostras C130 e C130T (Tabela 11) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$) apresentando os menores valores de L. Da mesma forma, as amostras C110 e GXP apresentaram o mesmo comportamento. Assim é possível observar que o aumento da temperatura, juntamente com a redução do teor de umidade, (Tabela 8) acarretou no escurecimento das amostras.

Ao comparar as amostras pela coordenada a*, que varia do verde (-a) ao vermelho (+a), mostra que a amostra GXA apresentou o maior valor de a* diferindo significativamente de todas as outras amostras ($p<0,05$). As amostras C110 e C130T não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) bem como as amostras C110 e C130.

Analisando a coordenada b*, que varia do azul (-b) ao amarelo (+b), apresenta diferença significativa entre a amostra GXA e todas as outras amostras ($p<0,05$). A amostra C130T apresentou o maior valor de b* demonstrando que a adição de carotenoides promoveu o deslocamento da coordenada b* em direção ao amarelo. A amostra C130T e C130 foram estatisticamente iguais ($p>0,05$) bem como as amostras C130 e C110.

As microcápsulas produzidas com adição de carotenoides apresentaram índice de cromaticidade (Croma) maior que a encontrada goma xantana atomizada confirmando que a adição dos carotenoides promoveu um aumento na intensidade da cor das amostras. As amostras C130 e C130T não apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) sendo o mesmo observado para as amostras C110 e C130 enquanto a GXA diferiu estatisticamente de todas as demais amostras ($p>0,05$).

Tabela 11 – Parâmetros de cor da goma xantana atomizada (GXA) e das microcápsulas produzidas por atomização com temperatura do ar de entrada de 110 °C (C110), 130°C (C130) e 130°C + 2% de *Tween* 80 (C130T).

Amostras	L	a*	b*	Hue	Croma
GXA	94,6±0,3 ^a	0,2±0,06 ^a	7,1±0,2 ^a	88,4±0,66 ^a	7,1±0,22 ^a
C110	94,0±0,2 ^{a,b}	-0,2±0,03 ^{b,c}	9,0±0,2 ^c	91,1±0,17 ^b	9,0±0,2 ^c
C130	91,7±0,3 ^c	-0,2±0,01 ^c	9,2±0,1 ^{b,c}	91,4±0,08 ^b	9,2±0,06 ^{b,c}
C130T	92,9±0,6 ^{b,c}	-0,1±0,05 ^b	9,6±0,1 ^b	90,5±0,32 ^b	9,6±0,14 ^b

GXA = Goma xantana atomizada; C110 = Microcápsulas de carotenoides atomizadas a 110 °C; C130 = Microcápsulas de carotenoides atomizadas a 130 °C; C130T = Microcápsulas de carotenoides atomizadas 130°C + 2 % *Tween* 80. média±desvio padrão (n=3), letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05), pelo teste Tukey; Umidade final da cápsula de goma xantana (%) = 4,2±0,2.

Em relação ao ângulo de tonalidade (Hue) é possível observar que as amostras que receberam a adição de carotenoides apresentaram valores superiores a 90° indicando coloração amarela em direção ao verde. A amostra GXA apresentou valores inferiores a 90° indicando coloração amarela em direção ao laranja. Estatisticamente as amostras C110, C130 e C130T não apresentaram diferença significativa (p>0,05). A amostra GXA apresentou diferença significativa quando comparada com as demais amostras (p<0,05).

Os valores encontrados neste estudo concordam com o observado por Sequetto et al. (2016) que avaliaram a colorimetria de gomas xantanas comerciais obtendo valores: L entre 87 e 95; a* entre -0,3 e 1,1; b* entre 8,7 e 17,3; Hue entre 86 e 92 e Croma entre 8,7 e 17,4.

Cai et al. (2019) ao avaliarem a melhoria da estabilidade de antocioninas pela combinação de carboximetilamido/goma xantana utilizando a microencapsulação realizaram a avaliação colorimétrica das microcápsulas obtidas e do material utilizado obtendo valores de L, a*, b*, Hue e Croma para a goma xantana de 103,7; 1,1; 14,1; 85,6 e 14,2, respectivamente estando estes valores próximos aos encontrados neste trabalho.

Nogueira (2017) ao realizar a microencapsulação por atomização de carotenoides produzidas por *Phaffia rhodozyma* utilizando diferentes agentes encapsulantes observou os parâmetros L, a* e b* das microcápsulas produzidas com goma xantana nas concentrações carotenoide:material de parede (1:1 e 1:2), armazenadas a 25°C na presença de luz, obtendo valores similares a este estudo sendo estes: L de 90,15 e 92,94, a* de -0,23 e -0,38 e b* de 5,92 e 5,79 nas respectivas concentrações.

6. CONCLUSÃO

A maximização do rendimento de encapsulação por *spray dryer* utilizando goma xantana foi alcançado obtendo um valor de 49% sendo este duas vezes maior que o obtidos em estudos anteriores sendo as condições do processo: temperatura do ar de entrada 130 (°C), vazão de alimentação de 0,15 L h⁻¹ e concentração da suspensão de goma xantana de 1%.

A eficiência de encapsulação mais promissora foi obtida com a microcápsula produzida nas condições de temperatura de 130°C, vazão de alimentação de 0,15 L h⁻¹, concentração da suspensão de goma xantana de 1 % e adição de 2% (m/m) de *Tween* 80 alcançando valores de 70 % sendo este duas vezes maior que o obtido nos demais ensaios demonstrando que a adição do surfactante promoveu uma maior interação dos componentes da mistura favorecendo a encapsulação.

As caracterizações das cápsulas demonstraram que os carotenoides adicionados foram encapsulados com o desaparecimento, nos termogramas das cápsulas carotenogênicas produzidas, do pico endotérmico presente no termograma do extrato carotenogênico.v

As condições do processo não promoveram ou afetaram as ligações químicas, verificadas através do FTIR sendo obtida cápsulas com umidade inferior a 4% com coloração na região do amarelo.

7 SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS

Estudar maiores faixas nas variáveis aplicadas e avaliar novas variáveis influentes no processo;

Aplicar os extratos carotenogênicos encapsulados em matrizes alimentares;

Realizar estudos toxicológicos a fim de garantir a segurança na aplicação em alimentos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADORNO, R. A. C. **Reologia de sucos de frutas tropicais: manga, maracujá, mamão e goiaba**. 1997. 122 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.
- AKSU, Z; EREN, A.T. Production of carotenoids by isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 35, p.107-113, 2007.
- ALIAKBARIAN, B.; SAMPAIO, C. F.; FARIA, de T. J.; PITANGUI, G. C.; LOVAGLIO, F.; CASAZZA, A. A.; CONVERTI, A.; PEREGO, P. Optimization of spray drying microencapsulation of olive pomace polyphenols using Response Surface Methodology and Artificial Neural Network. **LWT - Food Science and Technology**, v. 93, p.220-228, 2018.
- ALLEN Jr., L.; POPOVICH, N.; ANSEL, H. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 9. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2013.
- AMBROSIO, C. L. B.; CAMPOS F. A. C.; FARO, Z. P. Carotenoids as an alternative against hypovitaminosis A. **Revista de Nutrição**, v.19, n.2, p. 233-243, 2006.
- AMRITA, K., DABUR, R.S., KAPOOR, C.M. Application of microencapsulation technology in dairy industry, **Indian Food Industry**, v. 18, p.57-64, 1999.
- ANJOS, M. N. V. **Produção de Astaxantina por *Mucor circinelloides* Utilizando Melado de Cana-de-Açúcar como Substrato Alternativo sob a Influência de Luz Azul**. 2013. 56 f. Dissertação. (Mestrado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasília, DF). **Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes**. 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultadodebusca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=395739&_101_type=document&redirect=http%3A%2F%2Fportal.anvisa.gov.br%2Fresultadodebusca%3Fp_p_id%3D3%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn1%26p_p_col_count%3D1%26_3_groupId%3D0%26_3_keywords%3DCOMPROVA%25C3%2587%25C3%2583O%2BDE%2BSEGUNRAN%25C3%2587A%2BDE%2BALIMENTO%2BE%2BINGREDIENTES%26_3_cur%3D1%26_3_struts_action%3D%252Fsearch%252Fsearch%26_3_format%3D%26_3_formDate%3D1441824476958>. Acesso em: 26 mar. 2018.
- ARMSTRONG, G.A.; HEARST, J.E. Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis, **FASEB Journal**. v. 10, p.228-237, 1996.
- ASSIS, D. de J., BRANDÃO, L. V.; COSTA, L. A. de S.; FIGUEIREDO, T. V. B.; SOUSA, L. S.; PADILHA, F. F.; DRUZIAN, J. I. A study of the effects of aeration and agitation on the properties and production of xanthan gum from crude glycerin derived from biodiesel using the response surface methodology. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 5, p. 2769–2785, 2014.

- ATKINS, P.; JONES, L. *Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente*. São Paulo: **Bookman**, 2001. p.698-701.
- ATKINS, P.; JONES, L. *Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente*, Porto Alegre: **Bookman**, 2001, p.39-40.
- AZMACH, G; GEDIL, M.; MENKIR, A.; SPILLANE, C. Marker-trait association analysis of functional gene markers for provitamin A levels across diverse tropical yellow maize inbred lines. **BMC Plant Biology**, v. 13, 2013.
- BANERJEE, S. S.; CHEN, D. H. Fast removal of copper ions by gum Arabic modified magnetic nano-adsorbent. **Journal of Hazardous Materials**, v. 147, n. 3, p. 792–799, 2007.
- BARBATO, J. **Estudo da obtenção de carotenoides por fermentação empregando a levedura *rhodotorula sp* em melaço e caldo de cana-de-açúcar como meio de cultura**. 2014. 50 f. Trabalho de conclusão de curso. (Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.
- BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; BUŠIĆ, A.; BARIŠIĆ, L.; VRSALJKO, D.; KARLOVIĆ, S.; ŠPOLJARIĆ, I.; VOJVODIĆ, A.; MRŠIĆ, G.; KOMES, D. Emulsion templated microencapsulation of dandelion (*Taraxacum officinale L.*) polyphenols and b-carotene by ionotropic gelation of alginate and pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 139-152, 2016.
- BONFIM, T. M. B. **Produção de astaxantina pela levedura *Phaffia Rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) a partir de meios de cultura de baixo custo**. 1999. 158 f. Tese. (Doutorado em Ciências-Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, 1999.
- BONILLA-AHUMADA, J. de F.; KHANDUAL, S.; LUGO-CERVANTES, C. del E. Microencapsulation of algal biomass (*Tetraselmis chuii*) by spray-drying using different encapsulation materials for better preservation of betacarotene and antioxidant compounds. **Algal Research**, v. 36, p. 229-238, 2018.
- BORBA, M. C. **Produção de carotenoides por *sporidiobolus pararoseus* utilizando meio agroindustrial em diferentes condições de cultivo**. 2015. 78 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015.
- BORBA, M. C.; TAVARES, N. das M.; MORAES, C. C.; BURKERT, M. de F. J. Carotenoid production by *sporidiobolus pararoseus* in agroindustrial medium: optimization of culture conditions in Shake flasks and scale-up in a stirred tank fermenter. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 35, n. 02, p. 509-520, 2018.
- BRAGA, L.T. **Microencapsulação de extratos carotenogênicos produzidos por *Sporidiobolus pararoseus* e *Rhodotorula mucilaginosa***. 2016. 60 f. Dissertação. (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, 2016.
- BRETAS, R. E. S.; D'ÁVILA, M. A. **Reologia de polímeros fundidos**. 2º ed., EdUFSCar, São Carlos, 2005.

BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **FASEB journal**, v. 9, n. 15, p.1551-1558, 1995.

BUSTAMANTE, A.; MASSON, L.; VELASCO, J.; DEL VALLE, J. M.; ROBERT, P. Microencapsulation of *H. pluvialis* oleoresins with different fatty acid composition: Kinetic stability of astaxanthin and alpha-tocopherol. **Food Chemistry**, n. 190, p.1013-1021, 2016.

BUTT, M. S.; SHAHZADI, N.; SHARIF, M. K.; NASIR, M. Guar gum: a miracle therapy for hypercholesterolemia, hyperglycemia and obesity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, n.47, p.389–396, 2007.

CAI, X.; DU, X.; CUI, D.; WANG, X.; YANG, Z.; ZHU, G. Improvement of stability of blueberry anthocyanins by carboxymethyl starch/xanthan gum combinations microencapsulation. **Food Hydrocolloids**, In press, 2019.

CAI, Y.; DENG, X.; LIU, T.; ZHAO, M.; ZHAO, Q.; CHEN, S. Effect of xanthan gum on walnut protein/xanthan gum mixtures, interfacial adsorption, and emulsion properties. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 391-398, 2018.

CAI, Z. Y.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. **Journal of Food Science**, v.65, n.6, 1248-1252, 2000.

CARVALHO, de F. **Construção e avaliação de desempenho de um spray dryer piloto**. 2010. 167 f. Tese. (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

CERÓN-GARCIA, M. C.; CAMPOS-PÉREZ, I.; MACÍAS-SÁNCHEZ, M. D.; BERMEJO-ROMÁN, R.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA-GRIMA, E. Stability of carotenoids in *Scenedesmus almeriensis* biomass and extracts under various storage conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p.6944-6950, 2010.

CHANG, C. W.; WANG, C. Y.; WU, Y. T.; HSU, M. C. Enhanced solubility, dissolution, and absorption of lycopene by a solid dispersion technique: The dripping pill delivery system. **Powder Technology**, v. 301, p. 641-648, 2016.

CHEW, C. S.; TAN, P. C.; NYAM, L. K. Microencapsulation of refined kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil by spray drying using β -cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate. **Journal of Food Engineering**, v.237, 78-85, 2018.

CHRANIOTI, C.; NIKOLOUDAKI, A.; TZIA, C. Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. **Carbohydrate Polymers**, n. 127, p. 252–263, 2015.

CIPOLATTI, E. P. **Obtenção de carotenoides microbianos com atividade antioxidante a partir de coprodutos agroindustriais**. 2012. 138 p. Dissertação. (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, 2012.

CIPOLATTI, E.; BULSING, B. SÁ, C. S.; BURKERT, C. A. V.; FURLONG, E. B.; BURKERT, J. F. M. Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: Antioxidant activity and stability of extracts. **African Journal of Biotechnology**, v.14, p.1982-1988, 2015.

COLET, R.; URNAU, L.; BAMPI, J.; ZENI, J.; DIAS, B.B.; RODRIGUES, E.; JACQUES, R.A.; DI LUCCIO, M.; VALDUGA, E. Use of low-cost agro products as substrate in semi-continuous process to obtain carotenoids by *Sporidiobolus salmonicolor*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, n. 11, p.268-274, 2017.

COULTATE, T. P. Alimentos: a química de seus componentes. 3 ed. Porto Alegre: **Artmed**. 2004. 368p.

DABESTANI, M.; YEGANEHZAD, S. Effect of Persian gum and Xanthan gum on foaming properties and stability of pasteurized fresh egg white foam. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 550-560, 2019.

DEMIRCI, S. A.; PALABIYIK, I.; APAYDM, D.; MIRIK, M.; GUMUS, T. Xanthan gum biosynthesis using Xanthomonas isolates from waste bread: Process optimization and fermentation kinetics. **LWT – Food Science and Technology**, v. 101, p. 40-47, 2019.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**. v.23, p.1361-1394, 2005.

DOMIAN, E.; BRYNDA-KOPYTOWSKA, A.; OLEKSZA, K. Rheological properties and physical stability of o/w emulsions stabilized by OSA starch with trehalose. **Food Hydrocolloids**, n. 44, p.49–58, 2015.

DONALD, M. R. **Desenvolvimento de Suspensões Oraís Líquidas Contendo Extrato Seco de *Aleurites moluccana* L. Willd (*Euphorbiaceae*)**. 2013. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2013

EDRIS, E. A.; KALEMBA, D.; ADAMIEC, J.; PIĄTKOWSKI, M. Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications. **Food Chemistry**, v.204, 326-333, 2016.

ERTEN, T.; ADAMS, G. G.; FOSTER, T. J.; HARDING, S. E. Comparative heterogeneity: Molecular weights and viscosities of xanthans of different pyruvate and acetate content. **Food Hydrocolloids**, v. 42, p. 335–341, 2014.

ESTEVEZ, B. N. **Influência do processo de secagem por pulverização mecânica (spray dryer) no tamanho de partícula e densidade aparente do café solúvel**. 2006. 86 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

FADINI, L. A.; ALVIM, D. I.; RIBEIRO, P. I.; RUZENE, G. L.; SILDA, da B. L.; QUEIROZ, B. M.; MIGUEL, O. de R. M. A.; CHAVES, M. C. F.; RODRIGUES, F. A. R. Innovative strategy based on combined microencapsulation technologies for food application and the influence of wall material composition. **LWT – Food Science and Technology**, v. 91, p. 345-352, 2018.

FARIA, S.; PETKOWICZ, DE O. L. C.; DE MORAIS, L. A. S.; TERRONES, H. G. M.; RESENDE, M. M.; DE FRANÇA, P. F. F.P. Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 2, p.469-476, 2011.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technololy**, v. 11, n. 2, p.103-112, 2008.

FONSECA, R. A. S.; RAFAEL, R. S.; KALIL, S. J.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. M. Different cell disruption methods for astaxanthin recovery by *Phaffia Rhodozyma*. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 7, p.1165-1171, 2011.

FONTANA, J. D.; MENDES, S. V.; PERSIKE, D. S.; PERACETTA, L. F.; PASSOS, M. Carotenoides: cores atraentes e ação biológica. **Biociência**, v. 10, n. 1, p.40-45, 1997.

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

GAMMONE, M. A.; RICCIONE, G.; D'ORAZIO, N. Carotenoids: potential allies of cardiovascular health? **Food & Nutrition Research**, v. 59, p.26762, 2015.

GARCIA, C. M. S. **Microencapsulação por Spray Drying de Compostos Bioativos de Subprodutos do Ananás**. 2016. 76 p. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2016.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, p.549-579, 2000.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p.1107-1121, 2007.

GLICKSMAN, M. Food Hydrocolloids. 1^a ed. Boca Raton: **CRC Press**, 1982. 240p.

GOMES, P. V. G. **Produção simultânea de goma xantana e microfibrilas de celulose pela bioconversão de bagaço de cana por Xanthomonas**. 2014. 148 f. Tese. (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal da Bahia – UFBA, Salvador, 2014.

GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; PEREZ-MASIÁ, R.; GONZÁLEZ-BARRIO, R.; PERIAGO, Ma. J.; LÓPEZ-RUBIO, A. Potential of microencapsulation through emulsion-electrospraying to improve the bioaccessibility of β -carotene. **Food Hydrocolloids**, n. 73, p.1-12, 2017.

GOTO, D.; KOGURE, K.; ABE, K.; KIMATA, K.; YAMASHITA, E.; TERADA, H. Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for high potent antioperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. **Biochimica et Biophysica Acta**, p.251-258, 2001.

GUIGGI, V. **Estudo do crescimento e indução da produção do pigmento astaxantina por Haematococcus Pluvialis**. 2007. 119 f. Dissertação. (Mestrado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, 2007.

HANSGEORG, E. Recent advances in industrial carotenoid synthesis. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 11, p.2213-2226, 2002.

HUERTAS, R. A. P. Microencapsulación de Alimentos. **Revista Facultad Nacional de Agronomía – Medellín**, v. 63, n. 2, p.5669-5684, 2010.

IMESON, A. *Thickenening and Gelling Agents for foods*. 1ª ed. Londres: **Springer**, 1997. 320p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 21-22.

JAFARI, S. M., ASSADPOOR, E., HE, Y., BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavors and oils during spray-drying. **Drying Technology**, v. 26, p.816-835, 2008.

JAFARI, Y.; SABAHI, H.; RAHAIE, M. Stability and loading properties of curcumin encapsulated in *Chlorella vulgaris*. **Food Chemistry**, v.211, p.700-706, 2016.

JANISZEWSKA, E. Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. **Powder Technology**, n. 264, p.190–196, 2014.

JANISZEWSKA-TURAK, E. Carotenoids microencapsulation by spray drying method and supercritical micronization. **Food Research International**, n. 99, p.891-901, 2017.

JANSSON, E. P.; KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate Research**, v.45, n.1, p.275-282, 1975.

JOHNSON, S.B; FRANKS, G.V; SCALES, P.J; BOGER, D.V; HEALY, T.W., Surface chemistry – rheology relationships in concentrated mineral suspensions, 77 **International Journal of Mineral Processing**, v. 58, número 1 - 4, p. 267 - 304, Fevereiro, 2000.

KALOGIANNIS, S.; IAKOVIDOU, G.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; KYRIAKIDIS, A. D.; SKARACIS, N. G. Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. **Process Biochemistry**, v.39, n.2, p.249-256, 2003.

KANG, Y.; LEE, Y.; KIM, J. Y.; CHANG, H. Y. Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. **Food Chemistry**, v. 272, p. 337-346, 2019.

KENNEDY, F. J.; BRADSHAW, J. I. Production: Properties and applications of xanthan. **Progress in Industrial Microbiology**, v. 19, p.319-371, 1984.

KRALOVA, I.; SJÖBLOM, J. Surfactants Used in Food Industry: A Review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 30, p.1363-1383, 2009.

KURASHIGE, M.; ORIMASU, E.; INOUE, M. Inhibition of oxidative injury of biological membranes by astaxanthin. **Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR**, n. 22, p.27-28, 1990.

- LANEUVILLE, I. S.; TURGEON, L. S.; PAQUIN, P. Changes in the physical properties of xanthan gum induced by a dynamic high-pressure treatment. **Carbohydrate Polymers**, v.92, n.2, p.2327-2336, 2013.
- LANNES, S. C. S.; MEDEIROS, M. L. Processamento de achocolatado de cupuaçu por *spray dryer*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 115-123, 2003.
- LAOKULDILOK, T.; KANHA, N. Effects of processing conditions on powder properties of black glutinous rice (*Oryza sativa L.*) bran anthocyanins produced by spray drying and freeze drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 405-411, 2015.
- LEE, J. D. Química Inorgânica: um novo texto conciso. São Paulo: **Edgard Blucher**, 1980. p.133-258.
- LEHN, N. D. **Microencapsulamento de óleos alimentícios com subprodutos da indústria de laticínios utilizando *spray dryer***. 2018. 112 p. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.
- LIN, C. H.; CHEN, B. H. Stability of carotenoids in tomato juice during storage. **Food Chemistry**, v. 90, p.837-846, 2005.
- LIU, H.; NAKAGAWA, K.; KATO, D. I.; CHAUDHARY, D.; TADE, M. O. Enzyme encapsulation in freeze-fried bionanocomposites prepared from chitosan and xanthan gum blend. **Materials Chemistry and Physics**, v. 129, p.488-494, 2011.
- LIU, T; OSAWA, T. Cis astaxanthin and especially 9-cis astaxanthin exhibits a higher antioxidant activity in vitro compared to the all-trans isomer. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, vol. 357, n. 1, p.187-193, 2007.
- LIU, Y-S; WU, J-Y; HO, K-p. Characterization of oxygen transfer conditions and their effects on *Phaffia rhodozyma* growth and carotenoid production in shake-flask cultures. **Biochemical Engineering Journal**, n. 27, p.331-335, 2006.
- LOPES, A. N. **Recuperação de carotenoides microbianos por diferentes técnicas de ruptura celular**. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.
- MACHADO, W. R. C. **Otimização da produção de carotenoides por *Sporidiobolus pararoseus* e influência de pré tratamentos nos meios de cultivo**. 2013. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2013.
- MACHADO, W. R. C.; BURKERT, J. F. M. Optimization of agroindustrial medium for the production of carotenoids by wild yeast *Sporidiobolus pararoseus*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, p. 209-219, 2015.
- MACÍAS-SÁNCHEZ, M. D.; FERNANDEZ-SEVILLA, J. M.; ACIÉN FERNANDEZ, F. G.; CERÓN-GARCIA, M.C.; GRIMMA, E. M. Supercritical fluid extraction of carotenoids from *Scenedesmus almeriensis*. **Food Chemistry**, v. 123, p.928–935, 2010.

MARGARITIS, A.; ZAJIC, E. J. Mixing, mass transfer, and scale-up of polysaccharide fermentations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 20, n. 7, p.939-1001, 1978.

MARTIN, A. N. Coarse dispersions. In: SINKO, P. J. Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences. 5th ed. Philadelphia: **Lippincott Williams & Wilkins**, 2006. p 499-530.

MARTÍNEZ-DELGADO, A. A.; KHANDUAL, S.; VILLANUEVA-RODRÍGUEZ, S. J. Chemical stability of astaxanthin integrated into a food matrix: Effects of food processing and methods for preservation. **Food Chemistry**, n. 225, p.23-30, 2016.

MARTÍNEZ-PADILLA, P. L.; GARCÍA-RIVERA, L. J.; ROMERO-ARREOLA. V.; CASAS-ALENCÁSTER, B. N. Effects of xanthan gum rheology on the foaming properties of whey protein concentrate. **Journal of Food Engineering**, v. 156, p. 22-30, 2015.

MASSON, M. L.; SOCCOL, C. R.; FONTOURA, P. G. Tecnologia do café III. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 3, n. 2, p. 1-9, 1985.

MATTÉ, G. M.; DA ROSA, S. A tecnologia da microencapsulação através das microesferas de quitosana. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 14, p.206-218, 2013.

MEDEIROS, F. O.; ALVES, F. G.; LISBOA, C. R.; MARTINS, D. S.; BURKERT, C. A. V.; KALIL, S. J. Ondas ultrassônicas e pérolas de vidro: um novo método de extração de b-galactosidade para uso em laboratório. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p.336-339, 2008.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J.; BRITTON, G.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F.J. Relationship Between The Colour And The Chemical Structure Of Carotenoid Pigments. **Food Chemistry**, v. 101, n.3, p.1145-1150, 2007.

MESQUITA, S. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; SERVULO, E. F. C. Carotenoides: Propriedades, Aplicação e Mercado. **Revista Virtual de Química**, vol. 9, p. 672-688, 2017.

MICHELON, M.; BORBA, T. M.; RAFAEL, R. S.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. M. Extraction of Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: A Comparison between Different Techniques of Cell Disruption. **Food Science Biotechnology**, v.1, n.21, p.1-8. 2012.

MONKS, L. M.; RIGO, A.; MAZUTTI, M.A.; OLIVEIRA, J.V.; VALDUGA, E. Use of chemical, enzymatic and ultrasound-assisted methods for cell disruption to obtain carotenoids. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, n. 2, p.165-169, 2013.

MOSER, P. **Comportamento reológico de gomas guar e xantana na presença de polióis**. 2012. 92 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2012.

NOGUEIRA, M. B. **Encapsulação e estabilidade de extratos carotenogênicos obtidos por *Phaffia Rhodozyma* NRRL Y17268**. 2017. 161 p. Tese. (Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, 2017.

NOGUEIRA, M. B.; PRESTES, C. F.; BURKERT, J. F. M. Incremento na recuperação de carotenoides utilizando ondas ultrassônicas para a ruptura celular da levedura *Phaffia*

rhodozyma. In: **X CIRG Section VI International Technical Symposium e XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Gramado, 6 p., 2016.

NUSSINOVITCH, A. Hydrocolloid application – Gum technology in the food and other industries. 1ª ed. Londres: **Blackie Academic & Professional**, 1997. 354p

OHLWEILER, O. A. Química Analítica Quantitativa. 3. ed. Rio de Janeiro: **Livros Técnicos e Científicos Editora S. A.**, 1982. p.65-70.

OLIVEIRA, de M. J.; AMARAL, A. S.; BURKERT, V. A. C. Rheological, textural and emulsifying properties of an exopolysaccharide produced by *Mesorhizobium loti* grown on a crude glycerol-based medium. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 120 Part B, p. 2180-2187, 2018.

ORTEGA, F. S.; PADOLFELLI, V.C.; RODRIGUES, J. A.; SOUZA, D. P. F. Aspectos da reologia e da estabilidade de suspensões. Parte I: fundamentos. **Revista Cerâmica**, v. 43, 1997.

OTERO, D. M. **Bioprospecção de leveduras silvestres produtoras de carotenoides**. 2011. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011.

PAINI, M., ALIAKBARIAN, B., CASAZZA, A. A., LAGAZZO, A., BOTTER, R., & PEREGO, P. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. **LWT-Food Science and Technology**, v.62, 177–186, 2015.

PANIS, G.; CARREON, R. Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: A microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line. **Algal Research**, n. 18, p.175-190, 2016.

PARAJÓ, J. C.; SANTOS, V.; VÁZQUEZ, M. Optimization of carotenoid production by *Phaffia rhodozyma* cells grown on xylose. **Process Biochemistry**, v.33, n.2, p.181-187, 1998.

PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, β -cyclodextrin and modified starch. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p.913–922, 2011.

PARIZE, A.; ROZONE, T.; COSTA, I.; FÁVERE, V.; LARANJEIRA, M.; SPINELLI, A.; LONGO, E. Microencapsulation of the natural urucum pigment with chitosan by spray drying in different solvents. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p.3107-3114, 2008.

PETRI, D. F. S. Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v.132, n.23, p.1-13, 2015.

PŘIBYL, P.; CEPÁK, V.; KAŠTÁNEK, P.; ZACHLEDER, V. Elevated production of carotenoids by a new isolate of *Scenedesmus* sp. **Algal Research**, n. 11, p.22-27, 2015.

RAMAKRISHNAN, Y.; ADZAHAN, M. N.; YUSOF, A. Y.; MAHUMMAD, K. Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive

compounds in tamarillo juice microencapsulation. **Powder Technology**, v. 328, p. 406-411, 2018.

RASCÓN, M. P.; BERISTAIN, C. I.; GARCÍA, H. S.; SALGADO, M. A. Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum Arabic and Soy protein isolate as wall materials. **Food Science and Technology**, v.44 p.549-557, 2011.

RATLEDGE, C.; EVANS, C. T. Lipids and their metabolism. In: Rose, A H.; Harrison, J. S. The yeasts: Metabolism and Physiology of yeasts, v.3, 2nd ed., **Academic Press**, Oxford, uK, 1989.

RAY, S., RAYCHAUDHURI, U. & CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology, **Food Bioscience**, n. 13, p.76-83, 2016.

REZENDE, S. R. R. Y.; NOGUEIRA, P. J.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata DC*) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v. 254, p. 281-291, 2018.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. Química de alimentos. 1.ed. São Paulo: **Edgard Blücher Ltda**, 2004. 184p.

RIOS, D. A. S.; BORBA, T. M.; KALIL, S. J.; BURKERT, J. F. M. Parboiling wastewater in the maximization of carotenoids bioproduction by *Phaffia rhodozyma*. **Ciência e Agrotécnica**, vol. 39, n.4, p.401-410, 2015.

RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. Experimental Design Process Optimization. 3. ed. New York: **CRC Press**, 2014. 336p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington: **ILSI Press**, p.64, 2001.

ROLAND, I.; PIEL, G.; DELATTRE, L.; EVRARD, B. Systematic characterizatin of oil-in-water emulsions for formulation design. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 263, p. 85-94, 2003.

ROSA, C. G. da. **Microencapsulação de extratos metanólicos de amora preta (*Rubus Fruticosus*) e ácido gálico**. 2012. 111 f. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, 2012.

ROSA, E. D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L. A. P. Secagem por atomização na indústria alimentícia: fundamentos e aplicações. In: JORNADA CIENTÍFICA DA FAZU/FACULDADES ASSOCIADAS DE UBERABA, 5., 2006, Uberaba, **Anais...** Uberaba: FAZU, 2006.

RUIZ-MARTÍNEZ, M. A.; VILLENA, M. J. M.; HERNÁNDEZ, M. E. M.; LARA, V. G. Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. **Ars Pharmaceutica**, v. 50, n. 1, p.43-50, 2009.

- RUSSEL, J. B. Química geral. São Paulo: **Makron Books**, 1994. v.1, p.307-524.
- RUTZ, J. K. **Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa**. 2013. 107 f. Dissertação. (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, 2013.
- RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBLIAZI, R. C.; DA ROSA, C. G.; DA SILVA, M. M. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, n. 202, p.324-333, 2016.
- SACHINDRA, M. N.; BHASKAR, N.; SIDDEGOWDA, S. G.; SATHISHA, D. A.; SURESH, V. P. Recovery of carotenoids from ensilaged shrimp waste. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 8, p.1642-1646, 2007.
- SALAGER, Jean-Louis. “Formulación, Composición, y Fabricación de Emulsiones para Obtener las Propiedades Deseadas. Estado del Arte. Parte B”. **Cuaderno FIRP # S747 - B.** Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela, 1999.
- SAMPAIO, J.; FRANÇA, S. C. A.; BRAGA, P. F. A. Tratamento de minérios: práticas laboratoriais. Rio de Janeiro: **Centro de Tecnologia Mineral Ministério da Ciência e Tecnologia - CETEM**, 2007. p.570.
- SANCHÉZ-CONTRERAS, A. et al. Bioconversion of lutein to products with aroma. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 54, p. 528 – 534, 2000.
- SCHMIDT, I.; SCHEWE, H.; GASSEL, S.; JIN, C.; BUCKINGHAM, J.; HUMBELIN, M.; SANDMAN, G.; SCHRADER, J. Biotechnological production of astaxanthin with *Phaffia rhodozyma*/ *Xanthophyllomyces dendrorhous*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, n. 3, p.555-571, 2011.
- SEABRA, J. M. L.; PEDROSA, C. F. L. Astaxanthin: structural and functional aspects. **Revista Nutrição**, v. 23, p.1041-1050, 2010.
- SEMYONOV, D.; RAMON, O.; KAPLUN, Z.; LEVIN-BRENER, L.; GUREVICH, N.; SHIMONI, E. Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by spray freeze drying. **Food research International**, v. 43, p.193-202, 2010.
- SEO, C. W.; YOO, B. Steady and dynamic shear rheological properties of gum-based food thickeners used for diet modification of patients with dysphagia: effect of concentration. **Dysphagia**, n.28, p.205–211, 2013.
- SEQUETTO, L. P.; SILVEIRA, B. C.; SILVA, C. C. L. HÚNGARO, M. H. RODARTE, P. M. Avaliação colorimétrica de gomas xantanas produzidas utilizando soro de leite. IN: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CBCTA) e XX Simpósio Internacional de Alimentos da CIGR, 2016, Gramado. **Anais...** Gramado: do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016. p. 1-5.
- SHAHIDI, F.; METUSALACH, B. J. A. Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, n. 38, p.1-67, 1998.

SHAMAEI, S.; SEIIEDLOU, S. S.; AGHBASHLO, M.; TSOTSAS, T.; KHARAGHANI, A. Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n. 39, p.101-112, 2017.

SHEN, Q.; QUEK, S.Y. Microencapsulation of astaxanthin with blends of milk protein and fiber by spray drying. **Journal of Food Engineering**, n. 123, p.165-171, 2014.

SILVA, C. M.; BORBA, T. M.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. M. Carotenoid production by *Phaffia rhodozyma* using raw glycerol as an additional carbon source. **International Journal of Food Engineering**, v.8, n.4, p.1-15, 2012.

SILVA, C. M.; BORBA, T. M.; KALIL, S. J.; BURKERT, J. F. M. Raw glycerol and parboiled rice effluent for carotenoid production: Effect of the composition of culture medium and initial pH. **Food Technology and Biotechnology**, v. 54, p.489-496, 2016a.

SILVA, D. A. **Maximização da produção de astaxantina por *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrohous*) utilizando água de parboilização do arroz**. 2009. 91 p. Dissertação. (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande, 2009.

SILVA, M. M.; NORA, L.; CANTILLANO, R. F. F.; PAESE, K.; GUTURRES, S. S.; POHLMANN, A. R.; COSTA, T. M. H.; RIOS, A. O. The production, characterization, and the stability of carotenoids loaded in lipid-core nanocapsules. **Food and Bioprocess Technology**, v.320, p.1-11, 2016b.

SIVATHANU, B.; PALANISWAMY, S. Purification and characterization of carotenoids from green algae *Chlorococcum humicola* by HPLC-NMR and LC-MS-APCI. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v.2, p.276-282, 2012.

SOUSDALEFF, M.; BAESSO, M. L.; MEDINA NETO, A.; NOGUEIRA, A. C.; MARCOLINO, V. A.; MATIOLI, G. Microencapsulation by freeze-drying of potassium norbixin and curcumin with maltodextrin: Stability, solubility, and food application. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 61, p. 955-965, 2013.

STOKKE, T. B.; CHRISTENSEN, E. B. Release of disordered xanthan oligomers upon partial acid hydrolysis of double-stranded xanthan. **Food Hydrocolloids**, v.10, n.1, p.83–89, 1996.

SUTTER, S. C.; BUERA, M. P.; ELIZALDE, B. E. β -carotene encapsulation in a mannitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion. **International Journal of Pharmaceutics**, v.332, p.45-54, 2007.

SWORN, G. Xanthan gum. In: PHILLIPS, G. O.; LIAMS, P. A. **Handbook of Hydrocolloids**. New York: CRC Press, 2000. p.103-116.

TADROS, T.F.; Applied Surfactants, Principles and Application. **Weinheim: Wiley-VCH**, Germany, 2005. 643 p.

TATSCH, P. O. **Produção de carotenoides em meio sintético por *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636 EM BIORREATOR**. 2008. 94 f. Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, 2008.

TIWARI, A. Gum Arabic-graft-polyaniline: An electrically active redox biomaterial for sensor applications. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, v. 44, n. 7, p. 735–745, 2007.

TUCKER, I. M.; PETKOV, J. T.; JONES, C.; PENFOLD, J.; THOMAS, R. K.; ROGERS, S. E.; TERRY, A. E.; HEENAN, R. K.; GRILLO, I. Adsorption of Polymer–Surfactant Mixtures at the Oil–Water Interface. **Langmuir**, v. 28, p. 14974–14982, 2012.

URNAU, L.; TIGGEMANN, L.; COLET, R.; STEFFENS, C.; VALDUGA, E. Bioprodução de carotenoides por *Xanthophyllomyces dendrorhous* Y-10921 em frascos agitados variando composição do meio de cultura e condições operacionais. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2014, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2014. p. 1-6.

URSESCU, M.; MĂLUȚAN, T.; CIOVICĂ, S. Iron gall inks influence on papers' thermal degradation. FTIR spectroscopy applications. **European Journal of Science and Theology**, v. 5, n. 3, p. 71–84, 2009.

VALDUGA, E. **Bioprodução de Compositos Voláteis e Carotenoides por *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636**. 2005. 200 f. Tese. (Doutorado em Engenharia Química na sub-área de Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

VALDUGA, E.; TATSCH, P. O.; TIGGEMANN, L.; TREICHEL, H.; TONIAZZO, G.; ZENI, J.; DI LUCIO, M. Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Química Nova**, n. 9, p. 2429-2436, 2009.

VANDAMME, E. J.; BAETS, S. de; STEINBÜCHEL, A. Biopolymers biology, chemistry, biotechnology and applications. 1ª ed. Weinheim: **Wiley-VCH**, 2002. 534p.

VENDRUSCOLO, C. W. **Goma xantana e galactomanana (*M. scabrella*): desenvolvimento de matrizes hidrofílicas para liberação modificada de teofilina**. 2005. 112 f. Dissertação. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2005.

WAGNER, J. R.; RAMBLA, M. A. O.; LEGARRETA, I. G. **Las levaduras y sus productos derivados como ingredientes em la indústria de alimentos**. 1ª ed. Bernal: Universidade Nacional de Quilmes, 2008.

WANG, Z.; WU, J.; ZHU, L.; ZHAN, X. Characterization of xanthan gum produced from glycerol by a mutant strain *Xanthomonas campestris* CCTCC M2015714. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 521-526, 2017.

WILLIAMS, D. N.; GOLD, K. A.; HOLOMAN, T. R. P.; EHRMAN, S. H.; WILSON, O. C. JR. Surface modification of magnetic nanoparticles using gum Arabic. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 8, n. 5, p. 749–753, 2006.

XIAO, A.; JIANG, X.; NI, H.; YANG, Q.; CAI, H. Study on the relationship between intracellular metabolites and astaxanthin accumulation during *Phaffia rhodozyma* fermentation. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 3, p.148-153, 2015.

XU, W.; NIKOLOV, A.; WASAN, D.T.; GONSALVES, A.; BORWANKAR, R.P. Fat particle structure and stability of food emulsions. **Journal of Food Science**, v.63, p.183–188, 1998.

YOO, A. Y.; ALNAEELI, M.; PARK, J. K. Production control and characterization of antibacterial carotenoids from the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* AY-01. **Process Biochemistry**, n. 51, p.463-473, 2016.

ZHANG, Y. B.; GENG, H. Y.; LI, K. Z.; HU, J. H.; LI, G. Y. Production of astaxanthin from *Haematococcus* in open pond by two-stage growth one-step process. **Aquaculture**, v. 295, n. 3-4, p.275-281, 2009.

ZHU, C.; NAQVI, S.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P. Metabolic engineering of ketocarotenoid biosynthesis in higher plants. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 483, n. 2, p182-190, 2009.

APÊNDICE 1

Efeito das variáveis sobre a resposta rendimento estudada no DCC.

Efeito e desvio padrão para a variável rendimento.

	Fator	Efeito	Erro padrão	t(4)	p
Rendimento (%)	Média	35,30	0,74	47,58	<0,01
	Temperatura (T) (L)	2,00	1,74	1,15	0,31
	Vazão (V) (L)	-7,50	1,74	-4,31	0,01
	Concentração de goma (C) (L)	9,50	1,74	5,46	<0,01
	T x V (L)	1,50	1,74	0,86	0,44
	T x C (L)	6,50	1,74	3,74	0,02
	V x C (L)	-4,00	1,74	-2,30	0,08