



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Pós-Graduação em
Ciência de Alimentos

**Microencapsulação de Norbixinato de potássio e Curcumina com Maltodextrina: Avaliação
da Estabilidade e Aplicação em Alimentos**

MIRIAN SOUSDALEFF

Maringá

2011

MIRIAN SOUSDALEFF

Microencapsulação de Norbixinato de potássio e Curcumina com Maltodextrina: Avaliação da Estabilidade e Aplicação em Alimentos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos

Maringá

2011

Orientadora:
Profa. Dra. Graciette Matioli

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S725m Sousdaleff, Mirian
Microencapsulação de Norbixinato de potássio e Curcumina com Maltodextrina : avaliação da estabilidade e aplicação em alimentos / Mirian Sousdaleff . -- Maringá, 2011.
39 f. : il., figs., tabs.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Graciette Matioli.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2011.

1. Maltodextrinas. 2. Curcumina. 3. Norbixinato de potássio. 4. Microencapsulação. 5. Corantes naturais. 6. Alimentos - Aditivos. I. Matioli, Graciette, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDD 22.ed. 660.6
SOI-000227

BIOGRAFIA

Mirian Sousdaleff nasceu no Estado de São Paulo na cidade de São Paulo, SP. Possui graduação em Tecnologia e Processamento de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão. Tem experiência na área de biotecnologia (produção de ácido L-glutâmico por *Corynebacterium glutamicum* em melaço de cana-de-açúcar e microencapsulamento de corantes naturais).

Dedico

À minha avó Nadzieja Suchoi Karpuk

AGRADECIMENTOS

A Professora Dr^a. Graciette Matioli pela valiosa orientação, acolhimento, apoio e contribuição a minha formação pessoal e profissional.

A Professora Dr^a. Vanessa Marcolino, pela atenção, amizade, correção, e base para desenvolvimento deste trabalho.

A Professora Dr^a. Gisella Maria Zanin pela dedicação, atenção, força e compreensão nos momentos de crise.

A Professora Dr^a. Grasielle S. Madrona pelo auxílio e companheirismo.

Aos Professores Mauro Baesso e Antonio Medina pelo auxílio na interpretação dos dados.

A amiga Ana Astrath pelo apoio nas análises fotoacústicas e nos momentos difíceis.

A amiga Franciele Sato pelo auxílio na operação de dados colorimétricos e amizade.

À Antonina (D. Nina), pela ajuda especial.

Aos amigos, Aloísio, Rony, Gisele Sora, Marcos, Marcela, Grasielle, Ana Paula, Camila Ortiz, Camila Mangolim, Vanderson, Elder, Juliana e Júlia, pela ajuda dispensada no trabalho com as análises.

Aos técnicos Lauro, Luiza e Cristiane pelo apoio técnico prestado.

A todos que me auxiliaram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

AO MEU NOIVO, Ivan M. Laczkowski pelo incentivo, paciência, dedicação e amor, por sempre me recolocar no caminho com intuito que leva a vitória.

AO MEU PAI Benjamin Sousdaleff, pelos anos de dedicação, força e contribuição ímpar a minha vida.

À MINHA MÃE Maria K.Sousdaleff, pela ternura, amor, carinho e fé dispensadas em todos os momentos.

APRESENTAÇÃO

Esta Dissertação está apresentada na forma de artigo científico.

Mirian Sousdaleff, Graciete Matioli, **Microencapsulação de norbixinato de potássio e curcumina com maltodextrina: avaliação da estabilidade e aplicação em alimentos**, Food Technology and Biotechnology.

RESUMO GERAL

A cor é um atributo decisivo na escolha de um alimento que está correlacionada diretamente à qualidade do produto. Também, vem crescendo, por parte dos consumidores, a exigência por produtos de origem natural, o que faz com que a indústria do setor alimentício busque à substituição gradativa de corantes sintéticos, que exibem relatos de toxicidade, por corantes naturais. O urucum é o corante natural com maior obtenção de seus extratos e aplicação pela indústria brasileira e, também, representa mundialmente significativa utilização. Os extratos hidrossolúveis do urucum, representados pelo norbixinato (sais da norbixina) ampliam o seu emprego. A curcumina originária da Índia tem merecida atenção, tanto na aplicação como corante quanto um potencial agente terapêutico.

Conforme exposto, o presente trabalho teve por objetivo a formação de microcápsulas de norbixinato de potássio e curcumina com maltodextrina DE20, utilizando secagem por liofilização com o intuito de melhorar a estabilidade destes dois corantes e realizar a aplicação em alimentos.

As formulações para obtenção das microcápsulas contendo os corantes foram conduzidas por meio do preparo de soluções aquosas para o norbixinato de potássio e solução etanólica para a curcumina. Em cada uma das soluções contendo os corantes foi adicionada solução aquosa do agente microencapsulante maltodextrina DE20. As respectivas soluções foram agitadas por um período de 30min a 2500rpm, sendo posteriormente congeladas com nitrogênio líquido e submetidas a secagem por liofilização. As soluções foram preparadas resultando nas proporções de 1:10 e 1:20 para norbixinato de potássio maltodextrina e na proporção de 1:20 de curcumina com maltodextrina.

Foram realizados testes de estabilidade dos corantes e das microcápsulas obtidas com a finalidade de se avaliar o grau de proteção exercido pela maltodextrina DE20. As primeiras análises aplicadas foram com relação a estabilidade dos corantes e das formulações armazenados sob condições de presença e ausência de luz natural, e quanto a presença de ar atmosférico, na qual as formulações foram embaladas à vácuo e em embalagens de polietileno na presença de oxigênio. Avaliou-se a porcentagem de retenção dos corantes quando submetidos aos testes de estabilidade com obtenção de amostras das embalagens analisadas espectrofotometricamente, por um período de 30 dias. Os corantes e as respectivas proporções obtidas mediante o processo de microencapsulamento foram submetidos à avaliação da estabilidade frente ao pH na faixa de 1 a 9. Avaliou-se também, com relação à solubilidade em água, medindo-se o tempo de solubilização, o comportamento dos corantes e das microcápsulas em soluções preparadas a 0,3%. A microscopia eletrônica de varredura foi empregada para a visualização dos detalhes estruturais dos corantes e das microcápsulas obtidas pelo processo de secagem por liofilização.

As medidas referentes às análises térmicas aplicadas neste estudo, Calorimetria diferencial de varredura (DSC) e Termogravimetria (TG), foram realizadas simultaneamente, avaliando o comportamento térmico dos corantes naturais norbixinato de potássio e curcumina e das respectivas proporções de microcápsulas obtidas, que foram alocados em cápsulas de platina com avaliação a partir da temperatura ambiente até 500°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min, em atmosfera de oxigênio (20 mL/min). A técnica de Espectroscopia Fotoacústica (PAS) foi empregada com o objetivo de avaliar a proteção exercida pelo filme formado da maltodextrina sobre os corantes norbixinato de potássio e curcumina, como também dos corantes não microencapsulados, primeiramente sendo alocados em um porta-amostras para obtenção dos espectros de absorção óptica e em uma segunda etapa, após exposição dos mesmos por 2h em luz branca (lâmpada de Xenônio), com potência de 80mW.

A aplicação dos corantes em alimentos foi realizada com o preparo de macarrão (tipo espaguete) em extrusora, utilizando-se de duas formulações, uma para o corante norbixinato de potássio livre e a outra para o corante microencapsulado na proporção de 1:10. Cada amostra foi preparada adicionando-se na formulação 0,25% de corante. A curcumina e a curcumina microencapsulada foram aplicadas na elaboração de sorvete de creme na porcentagem de 0,5% para cada uma das duas formulações preparadas. As análises sensoriais foram conduzidas por meio da aplicação de Teste Afetivo utilizando-se de Escala Hedônica, com painel de provadores não treinados, por meio de fichas de avaliação, nas quais constava uma escala de 1 a 9 (desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo) e intenção de compra. As análises por colorimetria foram aplicadas nos produtos preparados com o objetivo de se avaliar a cor a cada 5 dias por um período de 15 dias.

Os resultados indicaram que a estabilidade das formulações avaliadas frente à luz natural e no escuro, na presença e ausência de ar atmosférico, apresentaram uma diferença de 10% com relação ao norbixinato de potássio livre e o mesmo corante microencapsulado nas proporções de 1:10 e 1:20 das amostras que permaneceram no escuro em relação as que foram expostas à luz ao final de 30 dias. Em presença de luz, a melhor retenção foi para o norbixinato de potássio microencapsulado na proporção 1:20 e embalado à vácuo, com uma retenção de 78%. Já para curcumina no claro, a melhor estabilidade foi observada para a amostra microencapsulada embalada à vácuo com 71% de retenção de cor. Estudos anteriores verificaram que é altamente recomendado para urucum a exclusão de ar atmosférico a fim de minimizar reações indesejadas. Com isto os melhores resultados foram monitorados por meio de leituras dos espectros de absorção sendo que a diferença de concentração do norbixinato de potássio microencapsulado entre 0 e 30 dias foi de 1,1 $\mu\text{g/mL}$ e para a curcumina, de apenas 0,7 $\mu\text{g/mL}$.

A solubilidade total em água para o corante norbixinato de potássio livre foi observada num período de 20s, já para o norbixinato de potássio microencapsulado nas proporções de 1:10 e 1:20 foram necessários 25s e 30s, respectivamente. No caso da curcumina livre, a solubilidade utilizando-se água como solvente não foi resolvida, e para a curcumina microencapsulada em maltodextrina com um tempo de solubilização de 1 minuto e 35 segundos, sem apresentar aglomerações e precipitações, mostrando que o processo de microencapsulamento combinado com liofilização forneceu uma melhora para a solubilização deste corante.

As duas proporções de microcápsulas obtidas após a técnica de liofilização do norbixinato de potássio com maltodextrina apresentaram comportamento muito semelhante quando submetidos as diferentes faixas de pH, apresentando uma certa estabilidade na faixa entre 7 a 9. Para a curcumina microencapsulada foi praticamente invariável o comportamento nas faixas de pH entre 1 a 8, porém a curcumina livre sofreu alterações expressivas na faixa entre 6 a 9. A curcumina livre é precipitada em condições de acidez e a sua cor é alterada para uma tonalidade vermelho-tijolo em condições de alcalinidade, o que restringe sua aplicação em alimentos, fato este que não foi observado neste estudo quando este corante foi microencapsulado com maltodextrina, sugerindo uma proteção deste agente encapsulante ao corante.

As imagens apresentadas pela técnica de microscopia de varredura apresentaram para a curcumina microencapsulada por meio de processo de liofilização, uma superfície relativamente lisa, morfologia bastante semelhante em relação a outros estudos realizados com esta técnica, enquanto que para as microcápsulas de norbixinato de potássio, as superfícies observadas apresentaram-se mais rugosas com aglomerados e poucos poros. O resultado da visualização obtida por meio desta técnica para a curcumina microencapsulada indicou uma melhor interação entre o corante, que é lipossolúvel e a maltodextrina, utilizada como agente microencapsulante ou material de parede.

Na análise térmica de DSC, foi verificado que houve um deslocamento de 4°C do pico endotérmico que representa perda de água do norbixinato de potássio para as microcápsulas,

representando uma possível interação entre corante e agente encapsulante. A maltodextrina exibiu ainda um segundo pico endotérmico a 229°C, sugerindo uma fusão nesta temperatura, sendo que as curvas de análise de TG confirmaram estes dados, iniciando-se a perda de massa para as respectivas proporções de microcápsulas em 200°C. Com relação à curcumina, o pico endotérmico de fusão da molécula observado a 176°C no corante livre não foi observado quando microencapsulada, e nos resultados referentes ao início de perda de massa, para a curcumina livre ocorreu a temperatura de 201°C, já para a microencapsulada foi de 228°C, indicando uma suposta proteção ao corante.

Os sinais fotoacústicos (PAS) obtidos neste estudo indicaram uma certa instabilidade dos corantes livres e microencapsulados após à exposição em luz após 2h em lâmpada de Xenônio, observado pelo aumento do sinal fotoacústico das amostras na região entre 300 a 500 nm. Uma observação importante foi obtida na região do UV para o agente encapsulante maltodextrina, em que o mesmo, não apresentou o pico obtido quando este foi submetido ao processo de liofilização, sugerindo que esta alteração necessita de pesquisas com maior profundidade com relação as transformações ocorridas na molécula de maltodextrina para a determinação da estabilidade de compostos microencapsulados por este agente.

Os resultados das análises sensoriais dos produtos elaborados avaliados estatisticamente ($p \geq 0,05$), principalmente com relação ao atributo cor, foram bem aceitas para os corantes microencapsulados. Os resultados das análises colorimétricas para a curcumina não microencapsulada aplicada em sorvete indicaram uma tonalidade mais acentuada para o verde, após decorridos 15 dias, enquanto que para a curcumina microencapsulada não foram observadas diferenças significativas na cor. Já para o norbixinato livre as amostras de macarrão apresentaram diferenças significativas com relação ao parâmetro de luminosidade (L^*), enquanto que para o mesmo corante microencapsulado, não houve diferença significativa, apresentando uma tendência mais escura.

Os corantes norbixinato de potássio e a curcumina microencapsulados com maltodextrina DE20, empregando-se a liofilização como processo de secagem, na maioria dos resultados apresentados, mostraram-se adequados para uso pelas indústrias de alimentos. A liofilização apresentou-se como um processo favorável de microencapsulação e a maltodextrina, agente protetor obtido a partir da hidrólise de matérias-primas com menor custo de obtenção, pode ser aplicada para alcançar uma melhor estabilização de corantes naturais para utilização no setor alimentício.

SUMMARY GENERAL

Color is a critical attribute in choosing a food that is directly correlated to product quality. Also, growing on the part of consumers, the demand for natural products, which makes the food industry sector to seek gradual replacement of synthetic dyes, that reported toxicity by natural dyes. The annatto is the more natural dye extracts and getting your application for the Brazilian industry and also represents a significant world wide use. The water-soluble annatto extracts, represented by norbixinate (salts of norbixin) extend their employment. Curcumin from India has deserved attention, both in the application as a dye as a potential therapeutic agent.

As stated, this study aimed at the formation of microcapsules potassium norbixinate with maltodextrin DE20 and curcumin with maltodextrin, drying using lyophilization in order to improve the stability of these two colors and make the food application.

The formulations to obtain the microcapsules containing the dyes were conducted through the preparation of aqueous solutions for potassium norbixinate and ethanolic solution for curcumin. In each of the solutions containing the dye was added aqueous solution of Maltodextrin DE20 microencapsulant agent. The respective solutions were agitated for a period of 30 minutes at 2500rpm, and was then frozen with liquid nitrogen and dried by lyophilization. The resulting solutions were prepared in ratios of 1:10 and 1:20 for potassium norbixinate (annatto) and maltodextrin at a ratio of 1:20 of curcumin with maltodextrin.

Tests were carried out colors and stability of the microcapsules obtained in order to assess the degree of protection exerted by maltodextrin DE20. The first tests were applied with respect to stability of dyes and formulations stored under conditions of presence and absence of natural light, and the presence of air, in which the formulations were vacuum packed in polyethylene and in the presence of oxygen. We evaluated the percentage of dye retention when tested for stability with getting samples analyzed spectrophotometrically packaging, for a period of 30 days. The colors and proportions obtained by the process of microencapsulation were evaluated for their stability against the pH range 1-9. We also evaluated with respect to solubility in water, measuring the time of dissolution, the colors and behavior of the microcapsules prepared in solutions of 0.3%, scanning electron microscopy was used to visualize structural details of dyes and the microcapsules obtained by the process of drying by lyophilization.

The measures in this study applied thermal analysis, differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetry (TG) were performed simultaneously evaluating the thermal performance of natural dyes potassium norbixinate and curcumin and their ratios obtained microcapsules, which were allocated platinum capsules with evaluation from room temperature to 500 ° C with a heating rate of 10 ° C / min in oxygen atmosphere (20 mL / min). The technique of photoacoustic spectroscopy (PAS) was employed to evaluate the protection exerted by the film formed on colors maltodextrin norbixinato potassium and curcumin, but not of microencapsulated dyes, first being placed in a sample holder to obtain the optical absorption spectra and in a second step, after their exposure for 2 h in white light (xenon lamp), with power of 80mW.

The application of dyes in food preparation was done with the pasta (spaghetti) in the extruder, using two formulations, one for the dye potassium norbixinate free and the other for the dye in the microencapsulated ratio of 1:10. Each sample was prepared by adding 0.25% in the formulation of dye. The microencapsulated curcumin and curcumin were applied in the preparation of ice cream in the percentage of 0.5% for each of the two formulations prepared. The sensory analysis was conducted by applying affective tests using hedonic scale, with a panel of untrained tasters through evaluation forms, which contain a scale of 1 to 9 (dislike extremely to like extremely) and purchase

intent. The analysis by colorimetry were applied in the products prepared with the objective of evaluating the color every 5 days for a period of 15 days.

The results indicated that the stability of the formulations evaluated against the natural light and dark in the presence and absence of air, showed a 10% difference with respect to potassium norbixinate free and microencapsulated dye in the same proportions of 1:10 and a 1: 20 of the samples remained in the dark about those who were exposed to light at the end of 30 days. In the presence of light, the retention was better for potassium norbixinate microencapsulated in the ratio 1:20 and vacuum-packed, with a retention of 78%. As for curcumin in the course, the best stability was observed for the sample microencapsulated vacuum packed with 71% color retention. Previous studies found that annatto is highly recommended for the exclusion of atmospheric air in order to minimize unwanted reactions. With this the best results were monitored by reading the absorption spectra and the difference of concentration of microencapsulated potassium norbixinato between 0 and 30 days was 1.1 mg / mL, and curcumin, only 0.7 mg / mL.

The complete solubility in water for the dye potassium norbixinate free was observed over a period of 20s, as for potassium norbixinate microencapsulated in the proportions of 1:10 and 1:20 it took 25s and 30s, respectively. In the case of free curcumin, the solubility using water as solvent has not been resolved, and curcumin in microencapsulated maltodextrin with a time of solubilization of 1 minute and 35 seconds, with no agglomeration and precipitation, showing that the microencapsulation process combined lyophilization to provide an improvement for the solubilization of the dye.

The two amounts of microcapsules obtained after the lyophilization technique potassium norbixinate with maltodextrin DE20, showed very similar behavior when subjected to different ranges of pH, showing a certain stability in the range between 7 and 9. For microencapsulated curcumin was practically unchanged behavior in the pH range 1-8, but the free curcumin has significant changes in the range of 6-9. Curcumin free is precipitated in acidic conditions and its color is changed to a brick-red hue in alkaline conditions, which restricts its application in food, a fact which was not observed in this study when the dye was microencapsulated with maltodextrin, suggesting protection of an encapsulating agent to the dye.

The images in the technique of scanning electron microscopy showed up for the microencapsulated curcumin through lyophilization, a relatively smooth surface, morphology quite similar in relation to other studies with this technique, while for the microcapsules norbixinato potassium, the observed surfaces were more rough with clusters and few pores. The result obtained through this visualization technique for microencapsulated curcumin showed a better interaction between the dye which is soluble and maltodextrin, used as an agent or microencapsulant wall material. In the thermal analysis of DSC, it was found that there was an off set of 4 ° C endothermic peak representing the loss of water from potassium norbixinate for microcapsules, representing a possible interaction between dye and encapsulating agent. Maltodextrin showed also a second endothermic peak at 229 ° C, suggesting a merger at this temperature, and the analysis of TG curves confirmed these data, if the incidence of mass loss for the respective proportions of microcapsules at 200 ° C. With respect to curcumin, the endothermic peak of fusion molecule observed at 176 ° C in dye free was not seen when microencapsulated, and the results for the early loss of mass for curcumin free place at a temperature of 201 ° C, since for Microencapsulated was of 228 ° C, indicating an alleged protection the dye.

Signs Photoacoustic (PAS) obtained in this study indicate a certain instability of free and microencapsulated dye after exposure to light after 2 hours in Xenon lamp, observed by the increase of the photoacoustic signal samples in the region between 300 and 500 nm. An important observation was obtained in the UV region for the encapsulating agent maltodextrin, in that it did not show the peak obtained when it was subjected to the lyophilization process, suggesting that this

change requires research in greater depth about the changes occurred in maltodextrin molecule to determine the stability of compounds microencapsulated by this agent. The results of sensorial analysis of the products obtained were evaluated statistically ($p \geq 0.05$), especially with respect to the attribute color, have been well accepted for the microencapsulated dye. The results of colorimetric tests for microencapsulated curcumin not applied in a cream tone indicated more pronounced for the green after the expiry of 15 days, while for the microencapsulated curcumin were not significant differences in color. As for the free samples norbixinato noodle significant differences with respect to the parameters of lightness (L^*), while for the same dye microencapsulated no significant difference, with a darker trend.

The dyes and potassium norbixinate microencapsulated with maltodextrin DE20 curcumin, using lyophilization and drying process, most of the results presented were adequate for use by food industries. Lyophilization was presented as a positive process of microencapsulation and maltodextrin, protective agent obtained by the hydrolysis of raw materials at a lower cost of production, can be applied to achieve a better stabilization of natural dyes for use in the food industry.

MICROENCAPSULAÇÃO DE NORBIXINATO DE POTÁSSIO E CURCUMINA COM MALTODEXTRINA: AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE E APLICAÇÃO EM ALIMENTOS

Mirian Sousdaleff¹ e Graciette Matioli^{1*}

¹*Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Avenida Colombo, 5790, CEP 87020-900, Maringá-PR, Brasil.*

*Autor correspondente: 44-3261 4301; fax 44 3261 4119

e-mail: gmatioli@uem.br (G. Matioli)

Resumo

O uso de corantes naturais em alimentos é uma tendência atual, em razão dos consumidores demandarem cada vez mais produtos naturais e que tragam benefício para saúde. A utilização desses corantes em substituição gradativa aos corantes sintéticos pela indústria alimentícia tem requerido estudos e técnicas que possibilitem a aplicação dos corantes naturais em alimentos. O norbixinato (urucum) e a curcumina têm merecida atenção em suas aplicações em alimentos industrializados, contudo, alguns fatores limitam a utilização desses corantes, sendo necessária a aplicação de técnicas de microencapsulamento para estabilização dos mesmos. Este trabalho teve por objetivo avaliar os corantes naturais norbixinato de potássio e curcumina microencapsulados por processo de liofilização, utilizando maltodextrina DE20 como material de parede, com a finalidade de manutenção da cor analisando-se a estabilidade à luz, estabilidade térmica, solubilização em água, aplicação dos corantes em ampla faixa de pH e em alimentos. Os resultados para a estabilidade dos corantes e das formulações avaliadas frente à luz natural mostraram que a melhor retenção foi para o norbixinato de potássio microencapsulado na proporção 1:20 e embalado à vácuo, com uma retenção de 78% e para curcumina microencapsulada embalada à vácuo com 71% de retenção de cor. As duas proporções de microcápsulas obtidas após a técnica de liofilização para o norbixinato de potássio apresentaram comportamento muito semelhante quando submetidos às diferentes faixas de pH, com certa estabilidade na faixa entre 7 a 9. Para a curcumina

microencapsulada foi invariável o comportamento nas faixas de pH entre 1 a 8, porém a curcumina livre sofreu alterações expressivas na faixa entre 6 a 9. A estabilidade térmica observada nas curvas de DSC e TG confirmou um melhor resultado para a curcumina microencapsulada, não sendo observado o pico endotérmico a 176°C para esta amostra por DSC quando comparada com a curcumina livre. Os sinais fotoacústicos obtidos apontaram uma estabilidade da maltodextrina liofilizada após exposição por 2h em lâmpada de Xenônio, em região de absorção UV, porém indicaram que os corantes microencapsulados não apresentaram estabilidade frente à lâmpada. A aplicação dos corantes microencapsulados em alimentos (macarrão e sorvete) não apresentou alteração significativa de cor e foi bem aceita sensorialmente. O processo de liofilização mostrou-se favorável a microencapsulação e a maltodextrina, material de parede de baixo custo, podendo ser aplicada para estabilizar corantes naturais para utilização no setor alimentício.

Palavras-chave: norbixinato de potássio; curcumina; maltodextrina DE20; microencapsulação.

Summary

The use of natural dyes in foods is a tendency, because consumers increasingly demand more natural products and bring benefit to health. The use of these dyes in the gradual replacement of synthetic dyes by the food industry has required studies and techniques that allow the application of natural dyes in foods. The norbixinate (annatto) and curcumin have merited attention to their applications in foods, however, some factors limit the use of these dyes, which requires the application of microencapsulation techniques to stabilize them. This study evaluated the natural dyes potassium norbixinate microencapsulated curcumin by freeze-drying using maltodextrin DE20, as protective agent, with objective to maintain the color, light stability, thermal stability, solubility in water and application of dyes in a wide pH range and in foods. The results for the stability of the dyes and formulations evaluated against the natural light showed that retention was better for microencapsulated potassium norbixinate in the ratio 1:20 and vacuum-packed, with a retention of 78% and for microencapsulated curcumin vacuum packed with 71% color retention. The thermal stability observed in DSC and TG curves confirmed a better result for the microencapsulated curcumin. The two amounts of microcapsules obtained after the lyophilization technique potassium norbixinate showed very similar behavior when submitted pH ranges, with some stability in the range 7 and 9. The thermal stability observed in DSC and TG curves confirmed a better outcome for the microencapsulated curcumin, which was not observed endothermic peak at

176°C by DSC for this sample compared to free curcumin. The photoacoustic signs obtained pointed a stability of freeze-dried maltodextrin after exposure for 2 hours in xenon lamp, in absorption the UV region, but indicated that the microencapsulated dye showed no stability to light. The application of microencapsulated dyes in food (noodle and ice cream) showed no significant change in color and was well accepted sensory. The lyophilization process was favorable microencapsulation and maltodextrin, wall material of low-cost and can be applied to stabilize natural dyes for use in the food industry.

Key words: potassium norbixinate; curcumin; maltodextrin DE20; microencapsulation.

Introdução

A cor é um dos atributos de qualidade mais importantes para a indústria de alimentos, afetando a sua aceitação por parte dos consumidores, os quais a correlacionam diretamente com sua qualidade. Contudo, relatos de perigos para a saúde devido à toxicidade dos corantes sintéticos têm provocado uma movimentação na indústria de alimentos no sentido de aumentar o uso de corantes naturais em produtos alimentares processados (1,2).

O uso do urucum (*Bixa orellana* L.) representa cerca de 90% dos corantes naturais usados no Brasil e 70% no mundo. No ano de 2008, estimou-se que a produção mundial de urucum era de 17.500 toneladas; dessa quantidade, o Brasil é responsável por aproximadamente 12.000 toneladas; entretanto, somente 25% do total industrial das sementes de urucum são utilizadas na preparação de extratos. A utilização dos extratos hidrossolúveis de urucum na indústria alimentícia representa quase a totalidade do mercado na aplicação desse corante. O maior segmento consumidor desses corantes é a indústria de derivados lácteos, sendo empregado para colorir queijos, iogurtes, além de empregos em outros produtos como salsichas, salames, molhos de salada, cereais matinais, macarrão, caramelos, sorvetes, achocolatados, refrigerante e licores. No caso da curcumina, a Índia é o maior produtor mundial de tubérculos de *Curcuma longa*. Sua produção é estimada entre 250 a 300 ton/ano. A maioria desses tubérculos é consumida na forma de tempero e somente uma pequena fração (1-1.5 tons) é convertida em extrato (3-11). O extrato hidrossolúvel de urucum é produzido por abrasão da semente (exocarpo) de urucum em solução alcalina e o produto resultante é o sal da norbixina (cis e trans). Da bixina, pigmento majoritário do urucum, que representa cerca de 80% dos carotenóides no tegumento da semente, são obtidos os demais pigmentos, como a norbixina (lipossolúvel) e o norbixinato (sal da norbixina hidrossolúvel). O corante hidrossolúvel pode ser isolado a partir das sementes de urucum por agitação em solução alcalina aquosa em temperatura menor que 70°C, ou formado por hidrólise alcalina da cis-bixina, obtendo-se o norbixinato de sódio ($C_{24}H_{26}Na_2O_4$) ou de potássio ($C_{24}H_{26}K_2O_4$). O extrato hidrossolúvel de urucum varia da cor avermelhada a castanho, sendo a estabilidade dessa coloração afetada pela luz, processos térmicos, oxigênio e pH (12, 3, 13- 16). O norbixinato (sal de sódio ou potássio da norbixina) amplia o espectro de utilização de corante das sementes de urucum, tendo em vista a sua hidrossolubilidade (17,18).

A curcumina ($C_{21}H_{20}O_6$), um polifenol natural amarelo-alaranjado, é obtida por extração com solvente orgânico da planta *Curcuma longa*. Para obter o pó concentrado de curcumina, é

realizada a cristalização da óleo-resina a partir do tubérculo com uma pureza de aproximadamente 95%. É amplamente utilizada como corante alimentar e como potencial agente de proteção contra várias doenças crônicas, incluindo câncer, infecção-HIV, problemas neurológicos, cardiovasculares e doenças da pele. Esse corante é insolúvel em água e éter, é degradado em solução alcalina e instável na luz, fatores que usualmente limitam sua aplicação em alimentos (19, 20, 14).

Os padrões estabelecidos em relação à Ingestão Diária Aceitável (IDA), para o norbixinato a partir dos extratos de urucum está entre 0 a 0,6mg/Kg de massa corporal (expressas como norbixina) e para a curcumina está entre 0 a 3mg/Kg de massa corporal (14).

O setor alimentício tem incentivado o desenvolvimento de novas formas de conservação dos pigmentos, dentre elas podem-se citar o microencapsulamento e a adição de antioxidantes como as mais importantes. A técnica de microencapsulação pode ajudar a resolver alguns dos problemas funcionais associados com os corantes naturais, pois oferece solubilidade melhorada e produtos estáveis à oxidação. É uma técnica em que gotas de um líquido, partículas ou bolhas de gás são envolvidas em uma película contínua de um polímero – o material de parede (21). Uma série de fatores deve ser observada na microencapsulação, dentre eles o material, a não-reatividade, o processo e o mecanismo de liberação (22, 1).

Maltodextrinas com diferentes pesos moleculares são definidas como produtos hidrolizados (enzimas/ácidos) de amido e pertencem às matrizes mais comumente utilizadas como agente microencapsulante na área de alimentos. Ambos os componentes hidrofóbicos e hidrofílicos podem ser microencapsulados em maltodextrinas (23). São classificados pela sua equivalência dextrose (DE), uma medida de açúcares redutores totais em comparação com a glicose, com um valor de 100, relacionado à média do peso molecular. A sua utilização como agente microencapsulante é devida as suas propriedades físico-químicas e ao baixo custo de aquisição (24, 25).

A habilidade dos amidos hidrolizados em proteger materiais microencapsulados contra oxidação é atribuída à sua capacidade de formar filme, às suas propriedades plásticas, e ao seu poder redutor. A plasticidade previne a quebra da matriz de proteção, que pode tornar o ingrediente suscetível ao oxigênio (26). Um processo de microencapsulação pode ser realizado por meio de liofilização de uma emulsão/solução do material do núcleo com um microencapsulante. O método gera produtos de excelente qualidade, uma vez que minimiza as alterações associadas a altas temperaturas (27,28).

Estudos referentes às técnicas de análise que podem indicar efeito do microencapsulamento da curcumina com agentes microencapsulantes tem sido desenvolvidos, tais como estudos térmicos

por meio de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Termogravimetria (TG), estudos de solubilidade, estabilidade fotoquímica e em meio alcalino, como apresentados por (29-31) e (10). Porém, o estudo com norbixinato e seu microencapsulamento não tem sido explorado por meio de técnicas específicas. Para os dois corantes microencapsulados utilizando maltodextrina DE20, não foram encontrados relatos na literatura aplicando a técnica de análise fotoacústica (PAS).

Considerando o exposto acima e com a finalidade de proporcionar a indústria de alimentos corantes naturais com maior estabilidade para substituição dos atuais corantes sintéticos, este estudo teve o objetivo de avaliar a microencapsulação dos corantes naturais norbixinato de potássio e curcumina com maltodextrina DE20, por meio da técnica de liofilização, bem como a possibilidade de aplicação em alimentos industrializados.

Materiais e Métodos

O norbixinato de potássio (pureza 85%) e a curcumina (pureza 95%) foram obtidos da Christian Hansen (Valinhos, São Paulo, Brasil); e a maltodextrina DE20 da Corn Products (São Paulo, Brasil). Os demais solventes utilizados foram de grau analítico.

Determinação espectrofotométrica dos corantes

As determinações dos picos de absorção espectrofotométricos do corante comercial norbixinato de potássio foram realizadas segundo os métodos propostos pelo Joint Expert committee on Food Additives, JECFA (14). Para o corante curcumina, determinou-se segundo Marcolino (11). Soluções de concentrações a 10 $\mu\text{g/mL}$ de norbixinato de potássio dissolvidos em solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,5% e 4 $\mu\text{g/mL}$ de curcumina dissolvida em solução de álcool etílico e água na proporção 4:1 foram preparadas para melhor verificação dos espectros de absorção. Alíquotas de 10 mL foram retiradas para leitura em espectrofotômetro UV-VIS (Cary 50 – Varian, EUA), utilizando como branco a solução de KOH 0,5% para o norbixinato de potássio e para a curcumina álcool etílico e água na proporção 4:1. Os espectros foram realizados em triplicata. Todos os procedimentos foram mantidos protegidos da luz.

Quantificação dos corantes norbixinato de potássio e curcumina

Para o preparo das soluções contendo o corante norbixinato de potássio, utilizou-se o método proposto pelo JECFA, (14). Primeiramente, 0,1 g do corante foi pesado e transferido para um balão de 100 mL, sendo completado o volume com solução de hidróxido de potássio 0,5%.

Dessa solução, foi retirada uma alíquota de 1 mL e adicionada em outro balão de 100 mL, completando com hidróxido de potássio 0,5%. Foram retiradas alíquotas, de modo que se obtivessem concentrações que variassem entre 4,3 a 10 µg/mL. As leituras foram realizadas em comprimento de onda a 482 nm.

Adicionou-se 0,01 g de curcumina pura em um balão de 100 mL e completou-se o volume com álcool etílico e água destilada na proporção de 4:1. Em seguida, foi retirada uma alíquota de 10 mL e completou-se em outro balão com mais 100 mL de solução. Foram retiradas alíquotas de modo que as concentrações variassem de 0,8 a 4 µg/mL. As concentrações de curcumina foram observadas na faixa de comprimento máximo, sendo estes procedimentos adaptados de Paramera *et al.*(31,32,33,).

Microencapsulamento dos corantes

A metodologia utilizada na microencapsulação dos corantes foi adaptada com algumas modificações de Desobry *et al.*(34,35,1), para o norbixinato de potássio e de Wang *et al.*(30,31) para a curcumina. Primeiramente para o microencapsulamento do norbixinato de potássio, utilizando como material de parede a maltodextrina DE20 foram testadas neste trabalho duas formulações com obtenção de microcápsulas contendo o corante nas proporções 1:10 e 1:20 (corante:material de parede) para comparação. Para proporção 1:10 foram pesados 1,2 gramas de norbixinato de potássio, dissolvidos em 10 mL de água destilada, que foi adicionada em solução contendo 10,05 g de maltodextrina DE20, previamente dissolvida em 40 mL de água destilada, aquecida a 60°C. Para a proporção 1:20 foram pesados 21 gramas do material de parede dissolvidos em 80 mL de água destilada. Já para o corante curcumina, foi preparada uma solução contendo 1,1 g do corante, dissolvido em etanol, formando uma solução de 20%. Na sequência, foi pesada a quantidade da ordem de 21 gramas de maltodextrina DE20, dissolvida em 80 mL de água destilada a 60°C. Após a dissolução completa da maltodextrina, a solução foi resfriada a temperatura ambiente (25°C), sendo adicionada a solução contendo a curcumina. As respectivas proporções nas diferentes soluções para o preparo das microcápsulas foram agitadas separadamente em agitador mecânico (Fisatom / Modelo FIS715A, São Paulo, Brasil) por um período de 30 minutos a 2500 rpm. Após o período de agitação, a solução contendo as microcápsulas com o corante curcumina foi concentrada em vapor rotativo (Tecnal /TE211, Piracicaba, Brasil). Cada uma das soluções obtidas com as respectivas proporções, de ambos os corantes foi previamente congelada com nitrogênio líquido e submetida a processo de secagem em liofilizador (Christ – Alpha 1-4LD Plus /Martin

Christ, Reino Unido). A condição de operação do liofilizador foi de 50°C, por um período de até 24h para todas as amostras. Após o período de secagem, obteve-se um pó seco e fino, por meio de moagem do liofilizado. Os pós contendo as microcápsulas com o corante norbixinato de potássio nas proporções de 1:10 e 1:20 e curcumina 1:20 foram armazenados sob refrigeração e proteção da luz para as demais análises.

Estabilidade a luz e ar atmosférico dos corantes norbixinato de potássio e curcumina

Este ensaio foi realizado para simular o comportamento dos corantes quando expostos sob condições comerciais semelhantes. Os corantes puros e microencapsulados foram analisados com relação ao armazenamento sob luz natural e ausência de luz, com base nos procedimentos descritos por Matioli and Rodrigues-Amaya (36,37). Os corantes não microencapsulados, curcumina e norbixinato de potássio, bem como os microencapsulados foram acondicionados em embalagens de polietileno com área de 100 mm², nos quais foram adicionados 1,5 g de cada amostra em cada uma das embalagens e, posteriormente, expostos à luz natural e sua ausência por um mês. Para os corantes embalados sem a presença de ar atmosférico, foi utilizada embaladora à vácuo (JetVac/Model Jet 20, Brasil) e embalagens à vácuo com área de 100 mm², contendo no interior 1,5 g de cada amostra. Após a exposição por 5, 15, 25 e 30 dias, amostras foram coletadas e a porcentagem de retenção dos corantes analisadas. Para a porcentagem de retenção da curcumina as amostras foram preparadas em solução de etanol:água 4:1. No caso das amostras de norbixinato de potássio, prepararam-se soluções em KOH 0,5%. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis em comprimento de onda máximo e os resultados percentuais das concentrações dos corantes monitorados no período experimental foram analisados por regressão linear.

Estabilidade dos corantes em diferentes faixas de pH

Os corantes puros e os microencapsulados por maltodextrina foram analisados em faixas de pH que variaram de 1 a 9 segundo metodologia utilizada por Wang *et al.*(30). Foram preparadas soluções a 0,5% de cada um dos corantes com e sem maltodextrina, dissolvidos em água, com exceção da curcumina, que foi dissolvida em proporção etanol:água 4:1, adaptado de Paramera *et al.*(31). Dessa solução, foram retiradas alíquotas para cada medida de pH. Cada uma das soluções em diferentes pH's foi analisada em espectrofotômetro em comprimento de onda máximo.

Solubilidade dos corantes em água

Os corantes foram comparados em relação à solubilidade em água e tempo de dissolução. Foram preparadas soluções a 0,3% de cada um dos corantes, ou seja, norbixinato de potássio, norbixinato de potássio e maltodextrina DE20 (1:10 e 1:20), assim como curcumina e curcumina com maltodextrina DE20 (1:20). Posteriormente, mediu-se o tempo de solubilização dos corantes em água destilada por leve agitação, com tempo de solubilização estimado até 5 minutos, especificamente para a curcumina microencapsulada, segundo metodologia utilizada por Wang *et al.*(30).

Microscopia Eletrônica de Varredura dos corantes puros e das formulações microencapsuladas

Os corantes puros e as microcápsulas obtidas após o processo de secagem por liofilização foram submetidos à análise por microscopia eletrônica de varredura (Shimadzu/modelo SS – 550/Shimadzu Corporation, Japão). O recobrimento das amostras foi realizado por meio da metalização com ouro por um período de 30 minutos. As visualizações ocorreram em aumento de 50, 200 e 450 vezes (38,39).

Avaliação do microencapsulamento por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Termogravimetria (TG)

Amostras de norbixinato de potássio, norbixinato de potássio microencapsulado com maltodextrina DE20 (1:10 e 1:20), assim como curcumina, curcumina microencapsulada com maltodextrina DE20 (1:20) e maltodextrina DE20 foram alocadas em cápsulas de platina e submetidas a análises simultâneas de DSC e TG. O equipamento (STA 409 PG- Luxx/NETZCH, Selb, Germany) foi operado a partir da temperatura ambiente até 500°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min, em atmosfera de oxigênio (20 mL/min).

Avaliação dos espectros de absorção óptica dos corantes e das formulações para obtenção do microencapsulamento utilizando Espectroscopia Fotoacústica (PAS)

As medidas de PAS foram realizadas neste estudo utilizando um arranjo experimental, como mostrado na Figura 1. Essa técnica avaliou a proteção exercida pelo filme de maltodextrina sobre os corantes naturais norbixinato de potássio e curcumina e o seu comportamento após a exposição das amostras por 2h em luz branca.

A luz monocromática foi obtida a partir de uma lâmpada de Xenônio com 700 W de potência (modelo 68820/Oriel Corporation, Irvine, EUA) e um monocromador (modelo 7725/Oriel Corporation, Irvine, EUA). O feixe de luz foi modulado com um modulador mecânico (chopper) (Stanford Pesquisas de Sistemas SR540, Sunnyvale, EUA). A célula fotoacústica foi projetada para conter um volume mínimo. Feito a partir de um bloco de alumínio que foi usinado para conter amostras com dimensões máximas de 5 mm de diâmetro e 1 mm de espessura. A câmara do microfone de 15 milímetros foi conectada à câmara do porta-amostras por meio de um ducto de 1mm de diâmetro. O microfone com 12 mm de diâmetro (modelo 2639/Brüel & Kjaer, Naerum, Dinamarca), fornecia um alto ganho de 50 mV/Pa e respondia a uma faixa de frequência a partir de 1 Hz a 10 kHz. O amplificador lock-in utilizado foi da EG & G Instruments (Modelo 5110, Oak Ridge, EUA). Para obter os espectros de absorção óptica, a frequência de modulação da luz foi fixada em 25Hz . As medições foram registradas entre 200 a 800 nm. A aquisição de dados foi realizada com um computador, e a linha de base para obtenção dos sinais de espectros da PAS foi normalizada com a utilização de carvão negro (40). Inicialmente, as amostras em pó foram colocadas no porta-amostra e este inserido na célula fotoacústica, obtendo-se o primeiro espectro de absorção. Após a medida, sem remover a amostra, o porta-amostra foi posicionado sob a bancada para que a amostra recebesse a incidência de luz branca por 2 horas. Ao passar por uma saída lateral na caixa que envolve a lâmpada, o feixe de luz branca foi focado sobre a amostra com o auxílio de lentes e espelho. A potência da luz que chegava até a amostra foi da ordem de 80 mW. Passado o período de exposição à luz branca, o porta-amostra foi novamente posicionado na célula fotoacústica e um novo espectro de absorção óptica foi obtido.

Figura 1

Aplicações em alimentos

As aplicações em alimentos do corante norbixinato de potássio puro e microencapsulado foram realizadas em macarrão. Inicialmente, preparou-se o macarrão, realizando-se a mistura e o amassamento da massa constituída de 100 partes de farinha de trigo (*T. aestivum*) e 32 partes de água. Após a mistura, obteve-se o macarrão extrusado no formato de massa longa tipo espaguete, ao qual não foi adicionado corante. Na segunda mistura, foi adicionado 0,25% de corante natural norbixinato de potássio; na terceira mistura, 0,25% de norbixinato de potássio e maltodextrina (1:10).

A aplicação em alimentos do corante curcumina puro e microencapsulado foi realizada em sorvete sabor creme. O sorvete foi obtido com 2 litros de leite pasteurizado, sendo adicionados nata, emulsificantes, liga neutra, saborizante e açúcar. Três amostras em triplicata foram preparadas; na primeira amostra, não foi adicionado corante; na segunda amostra, foi adicionado 0,5% do corante curcumina; na terceira amostra, foi adicionado 0,5% de curcumina microencapsulada em maltodextrina DE20 (1:20). As amostras de macarrão foram acondicionadas e mantidas sob refrigeração (6°C). As amostras de sorvete foram mantidas em freezer (-20°C) (41-44).

Para a determinação instrumental da cor das amostras foram realizadas três leituras com cinco médias. As leituras foram feitas ao término do preparo dos produtos, após 5, 10 e 15 dias. O equipamento utilizado foi o colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, Inc., Osaka, Japão) com as seguintes especificações: área de leitura 8 mm, iluminante CIE D65 (luz natural do dia) colocado em um ângulo de 10° e observador padrão CIE 10°. O colorímetro forneceu diretamente os parâmetros de L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b*(componente amarelo-azul). A cor foi medida diretamente sobre as amostras distribuídas homoganeamente com espessura de 15 mm controladas por anteparo branco.

Análise sensorial

O teste aplicado para avaliação sensorial dos produtos (macarrão e sorvete) foi o Teste de Aceitação, e contou com a participação total de 160 avaliadores não treinados, sendo alunos, docentes e funcionários da Universidade Estadual de Maringá (Maringá-Paraná/Brasil). Para a análise sensorial do macarrão, cada avaliador recebeu três amostras e uma amostra de macarrão comercial (PAVIOLI – Canoas-RS/Brasil) como padrão para comparação, que foi previamente cozido e armazenado sob temperatura de 65°C até a análise sensorial realizada pelo provador.

Na aplicação da sensorial do sorvete, cada um dos avaliadores recebeu três amostras e água para tomar no intervalo entre as amostras. Receberam juntamente uma ficha para anotação da avaliação, a qual continha uma escala hedônica de nove pontos (1 = "desgostei muitíssimo"; 9 = "gostei muitíssimo") e intenção de compra (certamente compraria/certamente não compraria) para ambos os produtos elaborados (45-47).

Para a realização dos testes sensoriais, o presente trabalho foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (protocolo CAAE no. 0339.0.093.000-11).

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) ($p < 0.05$) e teste de Tukey para comparação das médias utilizando o software Statistica 10.0/2010 (48).

Resultados e Discussão

Determinação espectrofotométrica dos corantes livres

As determinações espectrofotométricas dos corantes naturais norbixinato de potássio e curcumina são apresentadas nas Figuras 2 A e B, respectivamente.

Figura 2

Observou-se, através da Figura 2A, a varredura realizada para determinação do espectro de absorção do corante norbixinato de potássio na concentração de $10 \mu\text{g/mL}$ em solução de KOH 0,5%, na faixa ajustada entre 350 a 600 nm. Já na Figura 2B é apresentada a varredura para determinação do espectro de absorção da curcumina em solução de proporção etanol:água 4:1 (volume:volume) na concentração de $4 \mu\text{g/mL}$. Para o referido corante, notou-se a formação do pico de absorção máximo em 426 nm.

Os espectros de absorção do norbixinato de potássio, observados em espectrofotômetro UV-Vis foram compatíveis com a literatura (14), sendo observados dois picos específicos: o primeiro, a 453, e o segundo, a 482 nm, em solução de KOH a 0,5%. Para curcumina, conforme dados de literatura apresentados por Zcila *et al.* (49,30), as leituras realizadas em solução de álcool etílico apresentaram um pico de absorção máximo de 425 nm. De acordo com Dyerssen *et al.* (50), em pH 3-7 a curcumina exibe um máximo de absorção na proporção de etanol e água 1:1 de 430 nm, sugerindo que o pico de absorção da curcumina é dependente do solvente e faixa de pH.

Estabilidade dos corantes livres e microencapsulados frente à luz e ar atmosférico

A estabilidade dos corantes livres e microencapsulados, armazenados no escuro e expostos à luz natural (claro), com presença de ar atmosférico (oxigênio) e também embalados à vácuo frente à luz e ar atmosférico está apresentada na Figura 3: norbixinato de potássio livre e norbixinato de potássio microencapsulado com maltodextrina DE20, nas proporções 1:10 e 1:20, são apresentados nas Figuras 3A e 3B; curcumina livre e microencapsulada com maltodextrina DE20 na proporção 1:20, verificam-se os dados apresentados nas Figuras 3C e 3D.

Figura 3

Na determinação da porcentagem de corante remanescente entre o norbixinato de potássio livre e norbixinato microencapsulado com maltodextrina DE20 nas proporções 1:10 e 1:20, observou-se, mediante análise das amostras que permaneceram no escuro (Fig.3A), cerca de 10% a mais de retenção do corante ao final de 30 dias em relação às amostras que permaneceram no claro (Fig.3B). Notou-se que para as amostras armazenadas no escuro ambas as proporções, 1:10 e 1:20, apresentaram a porcentagem de retenção com valores muito próximos, com diferença de 2,8% entre as amostras. No caso das amostras que permaneceram no claro, a melhor taxa de retenção foi para o norbixinato de potássio microencapsulado na proporção de 1:20 e embalado a vácuo, com uma taxa de decaimento próxima de 22%, seguido do norbixinato microencapsulado na proporção de 1:10, com taxa de decaimento aproximadamente de 26%, após 30 dias. As maiores quedas foram observadas para o norbixinato livre, armazenado em presença de luz e na presença do oxigênio (ar atmosférico) e para o mesmo corante, porém microencapsulado com maltodextrina na proporção de 1:10, com taxa de decaimento cerca de 40% e 35%, respectivamente (Fig. 3B).

Carvalho *et al.*(51) observaram que extratos preparados a partir de sementes de urucum e armazenados por cerca de um ano a 30°C, na presença de luz em embalagens com diferentes taxas de oxigênio, a coloração foi reduzida em cerca de 10% durante o armazenamento nas primeiras 2 a 3 semanas, estabilizando posteriormente. Scotter (3), com base em estudos realizados por Scheidt and Liaaen-Jensen (52), verificou que é altamente recomendado para urucum a exclusão do ar atmosférico por um gás inerte ou vácuo, a fim de minimizar o risco de destruição ou de reações indesejadas na realização de análises. Os resultados apresentados para esse corante sugerem que a presença de ar atmosférico influencia na degradação do corante, sendo mais acentuada na presença de luz.

Para o corante curcumina, a estabilidade com melhor porcentagem de retenção do corante foi obtida com a curcumina microencapsulada em maltodextrina DE20 embalada à vácuo, com taxa de decaimento cerca de 18%. Para as amostras que permaneceram em presença de luz, a melhor porcentagem de retenção observada foi de 71% para a curcumina microencapsulada (1:20) embalada à vácuo. Comparando-se os corantes curcumina livre e curcumina microencapsulados, que permaneceram armazenadas no escuro (Fig. 3C) com os que permaneceram na presença da luz natural (Fig. 3D), observou-se que houve uma retenção cerca de 27% a mais para as amostras microencapsuladas que permaneceram no escuro e na ausência de ar atmosférico em relação as amostras sem o processo de microencapsulação que permaneceram no claro e com presença de ar

atmosférico, sendo que esta última amostra apresentou um decaimento de aproximadamente 45% após 30 dias, sugerindo que a luz e a presença de ar atmosférico (oxigênio) influenciam na degradação do corante.

Os melhores resultados acima obtidos, ou seja, norbixinato de potássio e curcumina, ambos microencapsulados com maltodextrina DE20 na proporção 1:20, foram monitorados por meio de leituras dos espectros de absorção, conforme pode ser observado na Figura 4A e 4 B, respectivamente.

Figura 4

A determinação do norbixinato de potássio microencapsulado iniciou com uma concentração do corante de $12,80 \mu\text{g/mL}$ e depois de percorridos 30 dias a concentração foi de $11,7 \mu\text{g/mL}$, ou seja, bastante pequena para este período. Para o corante curcumina microencapsulado, o resultado entre as concentrações avaliadas depois de 30 dias apresentou um decaimento ainda menor, ou seja, de apenas de $0,7 \mu\text{g/mL}$ entre $4,3 \mu\text{g/mL}$ a $3,6 \mu\text{g/mL}$, ou seja, a diferença de concentração medida entre 0 e 30 dias.

Solubilidade dos corantes livres e microencapsulados em água

A solubilidade total em água para o corante norbixinato de potássio livre foi observada num período de 20 segundos, já para o norbixinato de potássio microencapsulado nas proporções de 1:10 e 1:20 foram necessários 25s e 30s, respectivamente. No caso da curcumina livre, como observado por Wang *et al.* (30), a solubilidade utilizando água como solvente não foi resolvida, enquanto que a curcumina microencapsulada com maltodextrina DE20 na proporção 1:20 foi resolvida após 1 minuto e 35 segundos, sem apresentar precipitações ou aglomerados, mostrando que o processo de liofilização combinado com maltodextrina fornece uma melhora da solubilização para curcumina.

Estabilidade dos corantes livres e microencapsulados em diferentes faixas de pH

Os efeitos do pH entre 1 a 9 sobre a estabilidade do corante norbixinato de potássio livre e microencapsulado nas proporções 1:10 e 1:20 são mostrados na Figura 5A e na Tabela 1. Os valores de absorvância sofreram variações em praticamente todas as faixas de pH, aumentando significativamente os valores, com um comportamento muito próximo entre as amostras ($p < 0.05$). As soluções de norbixinato de potássio livre e microencapsulado que permaneceram nas condições

de pH de 1 até 5, apresentaram comportamento semelhante. Porém, observou-se que o corante microencapsulado nas duas proporções apresentou certa estabilidade na faixa de pH entre 7 a 9.

Figura 5

Tabela 1

Quanto à curcumina microencapsulada com maltodextrina DE20 na proporção 1:20, verificou-se que o comportamento foi praticamente invariável na faixa entre o pH 1 a 8, com uma leve diferença no valor de absorção na faixa de pH 9. Já para a curcumina livre, foi observado que o pH afeta de forma expressiva o corante, pois ocorreu uma elevação da absorvância até pH 6, com posterior queda brusca até pH 9 (Fig. 5B). As duas amostras apresentaram diferença estatística entre si ($p < 0.05$), sendo que nos pH's 2,3; 4-6 e 8-9 para a curcumina foram observadas absorvâncias semelhantes. Já para a curcumina microencapsulada foram observados resultados semelhantes até pH 6, também entre os pH's 6-7; 7-8 e diferença em pH 9 (Tabela 2). Estudos realizados por Wang *et al.* (30) na faixa de pH até 6, demonstraram queda de até 15% nos valores de absorvância para a curcumina livre, e para a curcumina microencapsulada com gelatina e amido modificado por processo de secagem por *spray-dryin*, as quedas foram de 3,3 e 2,6%, respectivamente. Estes autores relatam que a curcumina pode ser facilmente depositada na condição de acidez, o que restringe sua aplicação em alimentos, e quando está presente em condições de álcali, sua cor se passa para vermelho-tijolo, também afetando sua aplicação em alimentos, efeitos que não foram observados neste estudo na faixa de pH entre 2 até 8. Portanto, os resultados apresentados por meio do processo realizado neste estudo, para a possível formação de microcápsulas contendo curcumina e utilizando maltodextrina DE20 e processo de secagem por liofilização, sugerem uma proteção em faixas de pH ácidas a básicas sem precipitação e alteração da cor.

Tabela 2

Microscopia Eletrônica de Varredura dos corantes livres e microencapsulados

A microscopia eletrônica foi realizada com a finalidade da visualização dos detalhes estruturais dos corantes livres e microencapsulados. O conhecimento da topografia e da morfologia, principalmente em produtos sólidos, é uma propriedade física muito importante, pois além da influência no aspecto visual (a primeira impressão do produto para o consumidor) e sensorial,

também influenciam em fatores de processamento, armazenagem e aplicação dos produtos, podendo mostrar a região específica em que as interações químicas e físicas ocorrem (53).

A Figura 6A apresenta a imagem ampliada em 450 vezes do norbixinato de potássio obtido comercialmente. As formas em grânulos são devido ao processo de secagem do corante por *spray-dryer*. Já para a curcumina (Fig. 6B), a imagem apresenta aglomerados do pó comercial e para a maltodextrina DE20 a imagem (Fig. 6C) apresenta a visualização dos detalhes estruturais do material de parede utilizado. A morfologia das possíveis microcápsulas formadas podem ser observados nas Figuras 6D e 6E, com ampliação de 450 vezes. São observadas formas de lascas ou flocos após o processo de liofilização, confirmando as formas observadas previamente por Farias *et al.*(54) para esse tipo de processo de secagem.

Para o corante curcumina microencapsulado, a morfologia apresentada pela Figura 6E supõe um possível processo de microencapsulamento e secagem por liofilização com resultados morfológicos mais adequados, pois pode ser observado uma superfície relativamente lisa, enquanto que para o norbixinato de potássio microencapsulado foram observadas superfícies mais rugosas, aglomerados irregulares e poucos poros. Este fato pode ser devido uma melhor interação entre o corante curcumina, que é lipossolúvel, e a maltodextrina. Farias *et al.* (54) utilizaram maltodextrina DE20 e gelatina para encapsular α -tocoferol por processo de liofilização e relataram que, além da gelatina, a maltodextrina é apropriada para microencapsular partículas lipossolúveis de forma eficiente.

Avaliação do microencapsulamento por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Termogravimetria (TG)

As análises térmicas de DSC e TG foram realizadas simultaneamente para a caracterização e avaliação da possível formação de microencapsulamento dos corantes naturais com maltodextrina. Na análise de DSC para o norbixinato de potássio (Fig. 7A), observou-se que o microencapsulamento provocou um deslocamento para a esquerda. Verificou-se um deslocamento de 4°C do pico endotérmico que possivelmente representa perda de água do norbixinato de potássio para os corantes microencapsulados. Essa variação representa uma possível interação entre as substâncias, corante e agente microencapsulante, praticamente idêntica para as duas proporções. Foram observados picos exotérmicos para o norbixinato de potássio livre e microencapsulado, que possivelmente podem estar associados à decomposição dos mesmos, devido a uma possível degradação dos cromóforos da cadeia principal da molécula, originando compostos de degradação

que ocorrem em temperaturas a partir de 120°C (3,55), intensificando a degradação a 140°C (13). A maltodextrina exibiu ainda um segundo pico endotérmico em DSC na temperatura de 229°C, sugerindo uma fusão da molécula nessa temperatura, e na sequência a sua decomposição. As curvas da análise de TG (Figura 7B) confirmam esses dados, indicando um início de perda de massa em temperaturas de aproximadamente 175°C para o corante livre, já para as possíveis microcápsulas observa-se um acréscimo em média de 15°C, já que a perda de massa nesse caso inicia-se em aproximadamente 200°C. Dessa maneira, verifica-se a ação protetora da maltodextrina DE20 de forma efetiva.

Figura 7

Para o corante curcumina, o pico endotérmico que aparece na curva de DSC (Fig. 7C), indica a temperatura de fusão a 176°C, como relatado por Marcolino *et al.* (10,29). Na sequência da curva, aparece um pico exotérmico, provavelmente devido à decomposição térmica da curcumina em um pico a 260°C. Na curva que representa o composto de formação de microcápsula, o pico endotérmico não é observado, indicando uma suposta proteção ao corante exercida pela maltodextrina. Os picos endotérmicos a 67°C e 81°C da curcumina microencapsulada e da maltodextrina DE20, representam, respectivamente, a perda de água. A temperatura inicial de perda de massa para a curcumina livre foi de aproximadamente 201°C, enquanto que para a curcumina microencapsulada foi de 228°C. Os resultados observados nas curvas de DSC e TG para a análise térmica com a curcumina livre e microencapsulada (Figuras 7C e D) indicam uma interação do corante com a maltodextrina, sugerindo certa estabilidade para a microcápsula.

Avaliação dos espectros de absorção óptica dos corantes livres e microencapsulados utilizando Espectroscopia Fotoacústica (PAS)

A espectroscopia fotoacústica nas regiões UV, Vis e IR tem sido utilizada para a determinação em termos de composição qualitativa e quantitativa (3). Análises de urucum em tempero comercial (56) foram realizadas por essa técnica e mais recentemente na determinação da energia do estado triplete da bixina (urucum) (57). A primeira etapa da PAS foi obter o espectro de absorção óptica dos corantes naturais norbixinato de potássio e curcumina, do agente microencapsulante maltodextrina DE20 e das microcápsulas formadas entre a maltodextrina e os

corantes. Em uma segunda etapa, foi avaliada a possível proteção exercida pela maltodextrina aos corantes e os comportamentos quando expostos à luz branca (lâmpada de Xenônio). A Figura 8 mostra os espectros de absorção óptica dos corantes livres, do agente microencapsulante e dos corantes microencapsulados. Nota-se que os dois corantes, tanto livres como microencapsulados, exibem altas taxas de absorção em toda a região espectral avaliada. Apenas a maltodextrina tem sua absorção restrita até a região espectral do ultravioleta (350 nm).

Figura 8

Na Figura 8A, é possível observar um aumento no sinal fotoacústico, principalmente entre 400 e 550 nm para a amostra de norbixinato de potássio após a exposição à luz branca. Esse resultado indica uma instabilidade do corante frente à luz. Esse mesmo comportamento foi observado para o norbixinato de potássio microencapsulado (Figura 8B e 8C) em ambas as proporções 1:10 e 1:20, sugerindo que a maltodextrina não ofereceu proteção ao corante quando este foi exposto à luz. A curcumina livre e microencapsulada também apresentou-se instável na presença de luz (Fig. 8D e 8E). E assim como para o norbixinato de potássio, a maltodextrina parece não proteger a curcumina quando essa permaneceu exposta à luz por 2h, uma vez que o sinal fotoacústico para a microcápsula aumenta na região entre 300 e 500 nm, onde o corante livre também apresentou alteração.

Scotter (3), apoiado em estudos realizados por Najar *et al.* (58), relata que a luz é o principal fator de degradação para extratos de urucum. Já no caso da curcumina, esta se decompõe quando exposta à radiação UV-Vis por meio da quebra da ligação β -dicetona, levando à formação de pequenos compostos fenólicos, ou seja, vanilina, ácido ferúlico, feruloylmetano, ácido vanílico e aldeído, enquanto o principal produto de fotodegradação é um produto de ciclização, formado pela perda de dois átomos de hidrogênio (59). A microencapsulação tem sido utilizada para proteção de compostos fotossensíveis a fim de evitar a fotodegradação (37,59,30). Rusig and Martins (60) constataram em seu trabalho que a luz foi o fator de maior significância sobre a degradação da curcumina quando comparada com outros fatores como estabilidade ao pH. Embora vários estudos tenham apresentado resultados a fim de se evitar a fotodegradação da curcumina, o fator luz ainda é alvo de pesquisas visando minimizar ao máximo os efeitos indesejáveis causados sobre esse corante.

Uma observação relevante foi constatada com o agente microencapsulante utilizado neste trabalho (maltodextrina DE20). Um pico de absorção na região espectral do UV a 274 nm (Fig. 8A

e 8D) foi observado após a exposição por duas horas na luz branca. No entanto, esse comportamento não ocorreu quando a maltodextrina foi preparada pelo mesmo processo de preparo das microcápsulas, ou seja, a liofilização, sugerindo que a secagem por liofilização influencia no comportamento da maltodextrina após a exposição à luz branca na região UV. Estudos mais aprofundados devem ser realizados a fim de avaliar esse comportamento, sendo um fator importante para determinação da estabilidade de compostos microencapsulados por maltodextrinas.

Aplicações em alimentos dos corantes livres e microencapsulados - Colorimetria

Com base nos dados mostrados na Tabela 1, observou-se que os resultados não apresentaram, com o decorrer do tempo, diferença significativa para o sorvete com adição de curcumina microencapsulada com relação ao parâmetro a^* , entretanto, para o sorvete elaborado com adição do corante curcumina livre, este apresentou diferença significativa no decorrer de 15 dias, verificando uma tendência mais acentuada para a cor verde.

Tabela 3

Com relação ao macarrão, pode-se notar na Tabela 2 que o corante norbixinato de potássio microencapsulado apresentou uma coloração mais acentuada para o vermelho (parâmetro a^*) quando comparado com as demais amostras, sendo que após a cocção desta amostra de macarrão, este fato foi observado mantendo-se a coloração em relação às outras. As amostras de macarrão comercial e do macarrão contendo a adição de norbixinato de potássio livre apresentaram diferenças em 10 dias de estocagem com relação ao parâmetro L^* referente à luminosidade, sendo mais claros, enquanto que para o macarrão com o corante microencapsulado os resultados foram semelhantes, embora apresentaram uma tendência, após 15 dias, mais escura. Ferreira *et al.* (13) observaram que as diferenças significativas com relação aos parâmetros de cor avaliados para norbixinato de potássio sem proteção de microcápsulas foram dependentes do tempo e da temperatura. As alterações de cor mostraram um aumento na luminosidade (L^*), aumento da cor amarela e uma diminuição da cor vermelha.

Tabela 4

Análise sensorial dos alimentos com os corantes livres e microencapsulados

Na análise sensorial realizada com as amostras de macarrão, os atributos em relação à cor e a textura, não apresentaram diferença significativa ($p > 0.05$). Entretanto para o atributo sabor, as amostras de macarrão contendo somente o norbixinato e a amostra sem adição de corante diferiram entre si e em relação às demais ($p < 0.05$). (Tabela 5).

Tabela 5

Com relação à análise sensorial do sorvete de creme, os valores mostrados na Tabela 4 resultaram em um valor de 7,66 para o atributo cor em uma escala de 9 pontos, embora para todos os atributos avaliados (cor, textura, sabor e aroma) não houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0.05$). Uma justificativa para este comportamento, poderia ser explicado devido o uso de provadores não treinados. No trabalho publicado por Marcolino *et al.* (10), foi realizada a análise sensorial de queijo minas frescal contendo entre uma das amostras o corante curcumina complexado em β -ciclodextrina, acrescido em 20ppm na formulação desta amostra. Os resultados apresentaram um melhor destaque de aprovação para o atributo sabor (60%) seguido da cor (43%).

Tabela 6

A intenção de compra revelou que o macarrão elaborado com o norbixinato de potássio microencapsulado e o macarrão sem adição de corante apresentaram diferenças significativas ($p < 0.05$), sendo que este último apresentou a maior média (Tabela 5). Já para o sorvete, a curcumina microencapsulada revelou maior intenção de compra e estatisticamente diferente em relação as demais amostras (Tabela 6).

Conclusão

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que no caso do corante hidrossolúvel norbixinato de potássio, a utilização de maltodextrina DE20 como agente microencapsulante nas duas proporções estudadas (1:10 e 1:20) foi menos eficiente quando comparado à curcumina microencapsulada, que apresenta caráter lipofílico. Verificou-se que a estabilidade do norbixinato livre e microencapsulado nas proporções de 1:10 e 1:20 foram pouco significativas quando exposta à luz e oxigênio. A curcumina microencapsulada, exposta em uma ampla faixa de pH, permaneceu mais estável em comparação com a curcumina não microencapsulada. Um resultado que também

apresentou eficácia foi a solubilidade melhorada para a curcumina microencapsulada por maltodextrina. A estabilidade térmica observada nas curvas de DSC e TG confirmou um melhor resultado para a curcumina microencapsulada. A aplicação da técnica de PAS mostrou que tanto os corantes livres quanto os microencapsulados por maltodextrina DE20 não apresentam estabilidade quando expostos à luz branca da lâmpada de Xenônio. Do ponto de vista sensorial, os produtos elaborados com os corantes microencapsulados por maltodextrina DE20, tiveram boa aceitabilidade. Portanto, a liofilização apresentou-se como um processo favorável de microencapsulação de corantes naturais e a maltodextrina, além de ser um agente protetor de baixo custo no Brasil devido o grande número de fecularias existentes no país, mostrou ser uma boa opção para estabilização de corantes naturais utilizados no setor alimentício.

Agradecimentos

Agradecemos à Christian Hansen pelo fornecimento dos corantes, à Corn Products do Brasil pelo fornecimento da maltodextrina e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior –CAPES, pela prestação de apoio financeiro por meio de bolsa de estudos.

Referências

1. K.A. Selim, K.A. Khalil, M.S. Abdel-Bary, N.A. Abdel-Azein, Extraction, Encapsulation and Utilization of Red Pigments from Roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*) as Natural Food Colourants. *Alex. J. Fd. Sci. Technol. Special Volume Conference* (2008) 7-20.
2. F.A.R. Barros, P.C. Sringheta, Microencapsulamento de antocianinas, *Biotecnologia Ciênc. Desenvol.* 36 (2006) 273-279.
3. M. Scotter, The chemistry and analysis of annatto food colouring: a review. *Food Addit. Contam.* 26 (2009) 1123–1145.

4. L.R.P. Lima, T.T. Oliveira, T.J. Nagem, A.S. Pinto, P.C. Stringheta, A.L.A. Tinoco *et al.*, Bixina, Norbixina e Quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos, *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 38 (2001) 196-200.
5. L. Tocchini, A.Z. Mercadante, Extraction and determination of bixin and norbixin in annatto spice (“colorífico”), *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 21 (2001) 310–313.
6. M.L.A. Bambirra, R.G. Junqueira, M.B.A. Gloria, Influence of post harvest processing condition on yield and quality of ground turmeric (*Curcuma Longa L*), *Braz. Arch. Biol. Techn.* 45 (2002) 423–429.
7. P. G. Prabhakara Rao, A. Satyanarayana, D.G. Rao, Effect of storage on the stability of water soluble annatto dye formulation in a simulated Orange-RTS beverage model system, *Lebensm. Wiss. Technol.* 35 (2002) 617-621.
8. G.S. Silva, A.G. Souza, J.R. Botelho, M.C.D. Silva, T.M. Silva, Kinetics study of norbixin’s first stage thermal decomposition, using dynamic method, *J. Therm. Anal. Calorim.* 87 (2007) 871-874.
9. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Aditivos e Contaminantes. *Aliment. Alimentação* 2 (2009) 1-5.
10. V. Marcolino G.M. Zanin, L.R. Durrant, M. T. Benassi, G. Matioli, Interaction of curcumin and bixin with β -cyclodextrin: complexation methods, stability, and applications in food, *J. Agric. Food Chem.* 59 (2011) 3348-3357.
11. V. Marcolino, Inclusão de bixina, curcumina e betanina em ciclodextrina para aplicação na indústria de alimentos. *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil (2008) (em Português).
12. C.P. Hernandez, O. Rusig, P.R.N. Carvalho, Influence of heating time on thermal degradation of bixin in alkaline extracts of annatto (*Bixa orellana L*), *Arq. Biol. Technol.* 36 (1993) 819-838.

13. V. L.P. Ferreira, N.Teixeira, S.C.S.R. Moura, M.S. Silva, Kinetics of color degradation of water-soluble commercial annatto solutions under thermal treatments, *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 19 (1999) 37-42.
14. JECFA (JOINT EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES). Summary of evaluations performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (2006), Roma, Italia (<http://www.jecfa.ilsa.org/search.cfm>).
15. H.D. Preston, M.D. Rickard, Extraction and chemistry of annatto, *Food Chem.* 5 (1980) 47–56.
16. G.J. Lauro, A primer on natural colours, *Cereal Food World.* 36 (1991) 949–953.
17. P.R.N. Carvalho, M. Hein, Urucum, uma fonte de corante natural, *Coletânea do ITAL.* 19 (1989) 23-53.
18. F.A. Pimentel, F.A. Stringheta, Produção de Corantes de Urucum em pó por meio de precipitação ácida, a partir de extratos obtidos em diferentes soluções extratoras, *Ver. Bras. Cor. Nat.* 3 (1999) 5-57.
19. B.S. Henry: Natural Food Colours. In: *Natural Food Colorants*. G.A.F. Hendry, J.D. Houghton, (EDs), Blackie, London,UK (1992) pp. 39-78.
20. N. Dhillon, R.A. Wolff, J.L. Abbruzzese, L.H. Camachi, L Li, Phase II clinical trial of curcumin in patients with advanced pancreatic cancer, *J. Clin. Oncol.* 24 (2006) 141–151.
21. E. Valduga, L. Lima, R. Prado, F.F Padilha, E. Treichel, Secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva Isabel (*Vitis Labruca*), *Ciênc. Agrotec. Lavras.* 32 (2008) 1568-1574.
22. C.S. Favaro-Trindade, S.C. Pinho, G.A. Rocha, Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios, *Braz. J. Food Technol.* 11 (2008) 103-112.

23. Y.S.R. Elnaggar, A.M. El-Massik, O.Y. Abdallah, A.E.R. Ebian, Maltodextrin: A novel excipient used in sugar-based orally disintegrating tablets and phase transition process, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 11 (2010) 645-651.
24. I.S. Chronakis, On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: a review, *Crit. Rev. Food Sci.* 38 (1998) 599–637.
25. P.A. Kilmartin, D.S. Reid, I. Samson, Dielectric properties of frozen Maltodextrin solutions with added NaCl across the glass transition, *J.Sci. Food Agr.* 84 (2004) 1277–1284.
26. Z.H. Qi, A. Xu, Starch-based ingredients for flavor encapsulation, *Cereal Foods World.* 44 (1999) 460-465.
27. P. Fellows: *Dehydration. Food processing technology. Principles and practice*, Ellis Horwood, New York, NY, USA, (1990).
28. H.M.C. Azeredo, Encapsulação: Aplicação a tecnologia de alimentos, *Revista Alim. Nutr., Araraquara*, 16 (2005) 89-97.
29. F. Donsí, Y. Wang, J. Li, Q.Huang, Preparation of Curcumin Sub-micrometer Dispersions by High-Pressure Homogenization, *J. Agr. Food Chem.* 58 (2010) 2848–2853.
30. Y. Wang, L.Zhaoxin, L. Fengxia, B. Xiaomei, Study on microencapsulation of curcumin pigments by spray drying. *Eur. Food Res. Technol.* 229 (2009) 391–396.
31. E.I. Paramera, S.J. Konteles, V.T. Karathanos, Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, b-cyclodextrin and modified starch, *Food Chem.* 125 (2011) 913–922.
32. A.C. Kshirsagar, V.B. Yenge, A. Sarkar, R.S. Singhal, Efficiency of pullulan in emulsification of turmeric oleoresin and its subsequent microencapsulation. *Food Chem.* 113 (2009) 1139–1145.

33. W. Tiyaboonchai, W. Tungpradit, P. Plianbangchang, Formulation and characterization of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles, *Int. J. Pharm.* 337 (2007) 299–306.
34. S.A. Desobry, F.M. Netto, T.P. Labuza, Comparison of spray drying, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation, *Food Sci.* 62 (1997) 1158-1162.
35. M.I.M.J. Barbosa, C.D. Borsarelli, A.Z. Mercadante, Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Res. Int.* 38 (2005) 989-994.
36. G. Matioli, D. Rodriguez-Amaya, Licopeno Encapsulado em Goma Arábica e Maltodextrina: Estudo da Estabilidade, *Braz. J. Food Technol.* 5 (2002) 197-203.
37. H.A. Aziz, K.K. Pen, Y.T.F. Tan, Solubility of core materials in aqueous polymeric solution effect on microencapsulation of curcumin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 33 (2007) 1263–1272.
38. M. Rosemberg, S.L. Young: Whey proteins as microencapsulation agents. Microencapsulation of anhydrous milkfat-structure evaluation. *Food Struct.* 12 (1993) 31–41.
39. A.P. Nayak, W. Tiyaboonchai, S. Patankar, B. Madhusudhan, E. Souto, Curcuminoids-loaded lipid nanoparticles: Novel approach towards malaria treatment, *Colloid Surface*, 81 (2010) 263–273.
40. A. Rosencwaig, A. Gersho, Theory of the photoacoustic effect with solids, *J. Appl. Phys.* 47 (1976) 64–69.
41. S.C.R.C. Ormenese, L. Misumi, F. Zambrano, E.V. Faria, Influência do uso de ovo líquido pasteurizado e ovo desidratado nas características da massa alimentícia, *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 24 (2004) 255-260.

42. E. Aydin, D. Gocmen, Cooking quality and sensorial properties of noodle supplemented with oat flour, *Food Sci. Biotechnol.* 20 (2011) 507-511.
43. W. Wangcharoen, Nutrition data and antioxidant capacity of soy milk ice cream and black sesame flavoured soy milk ice cream, *As. J. Food Ag-Ind.* 1 (2008) 205-212.
44. R.T. Marshall, W.S. Arbuckle: *Ice cream*, International Thomson Publishing, Florence, KY, USA, (1996).
45. Sensory evaluation of materials and products, American Society for Testing and Materials (STP-434) ASTM 1976. New York, NY, USA (1976).
46. *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la practica*, A. Anzaldúa-Morales (Ed.) Acribia, Zaragoza, España (1994).
47. V.L.P. Ferreira, T.C.A. Almeida, M.L.C.V. Pettinelli, M.A.A.P. Silva, J.B.P. Chaves, E.M.M. Barbosa: *Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos*. Manual: Série Qualidade. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, São Paulo, BR (2000).
48. STATISTICA (Data Analysis Software System), v. 10, StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA (2010) (www.statsoft.com).
49. F. Zcila, Z. Bikádi, M. Simonyi, Molecular basis of the cotton effects induced by the binding of curcumin to human serum albumin, *Tetrahedron-Asymmetr.* 14 (2003) 2433-2444.
50. D.W. Dyerssen, Y.P. Novikov, L.R. Uppstrdm, Studies on the chemistry of the determination of boron with curcumin, *Anal. Chim. Acta* 60 (1972) 139-151.
51. P.R.N. Carvalho, C.I.G.J. Sarantopoulos, I. Shirose, M.G. Silva, Study of the shelf-life of the colour (bixin) from annatto seeds (*Bixa orellana*, L.), *Col. Technol.* 23 (1993) 98-104.

52. K. Scheidt, S. Liaaen-Jensen: Isolation and analysis. In: Isolation and analysis, Vol.61, G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H.Pfander, (Ed.) Carotenoids, Basel, Birkhäuser, Suíça, (1995) pp. 81-108.
53. M.J.Aguilera, J.M. Del Valle, M. Karel, Caking phenomena in amorphous food powder. *Trends Food Sci. Tech.* 6 (2000) 149 –155.
54. M.C. Farias, M.L. Moura, L. Andrade, M.H.M.R. Leão, Encapsulation of the alpha-tocopherol in a Glassy Food Model Matrix *Mat. Res.* 10 (2007) 57-62.
55. C. Bittencourt, M.P. Felicissimo, J-J. Pireaux, L. Houssiau, ToF-SIMS characterization of thermal modifications of bixin from *Bixa orellana* fruit. *J Agr. Food Chem.* 53 (2005) 6195–6200.
56. U. Haas, C.A. Vinha, Qualitative and semiquantitative analysis of annatto and its content in food additives by photoacoustic spectrometry. *Analyst.* 120 (1995) 351–354.
57. A.D.O. Rios, A.Z. Mercadante, D. Borsarelli, Triplet state energy of the carotenoid bixin determined by photoacoustic calorimetry. *Dyes Pigments.* 74 (2007) 561–565.
58. S.V.Najar, F.O. Bobbio, P.A.Bobbio, Effects of light, air, anti-oxidants and pro-oxidants on annatto extracts (*Bixa orellana L.*), *Food Chem* 29 (1988) 283–289.
59. H.H. Tonnesen, J. Karlsen, G.B. Henegouwen, Studies on curcumin and curcuminoids. VIII. Photochemical stability of curcumin. *Z. Lebensm. Unters. For.* 183 (1986) 116–122.
60. O.Rusig, M.C. Martins, Efeito da temperatura, do pH e da luz sobre extratos de oleorresina de cúrcuma (*Curcuma longa L.*) e curcumina, *Rev. Bras. Cor. Nat.* 1 (1992) 158-164.

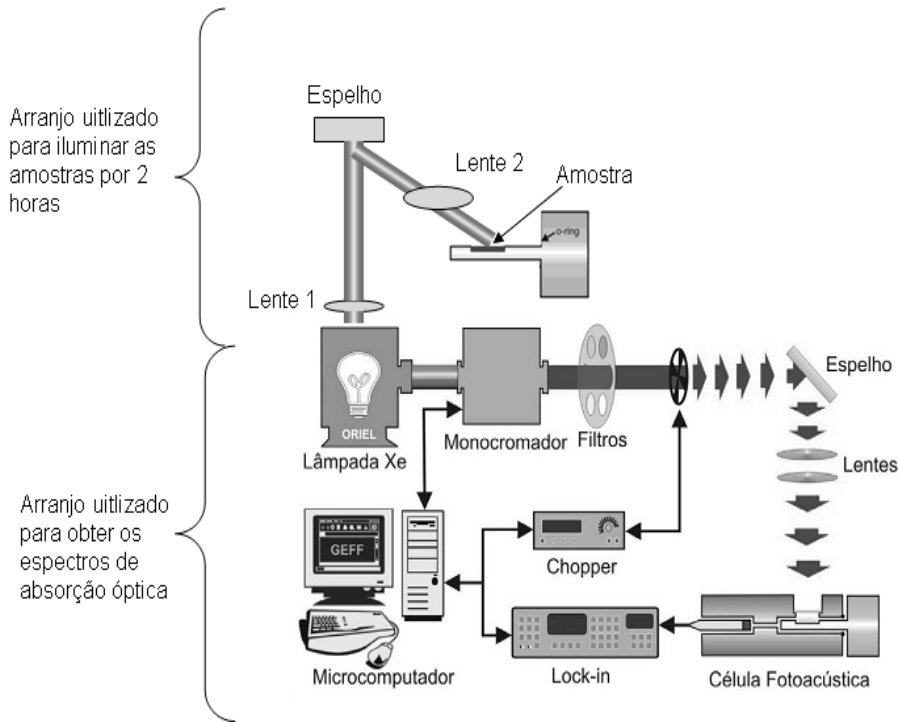
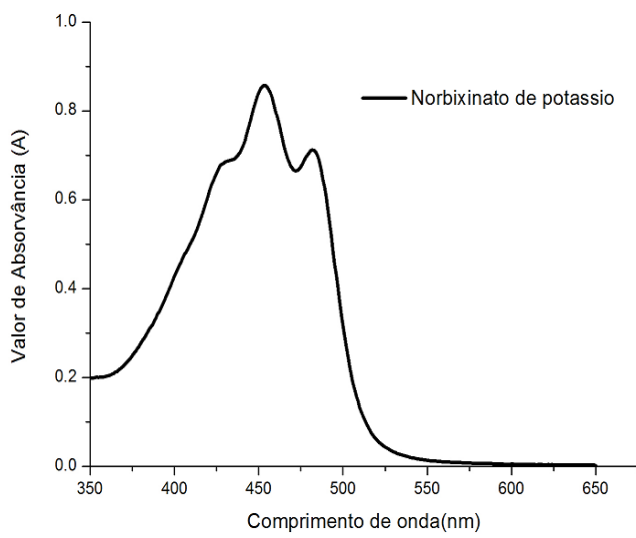
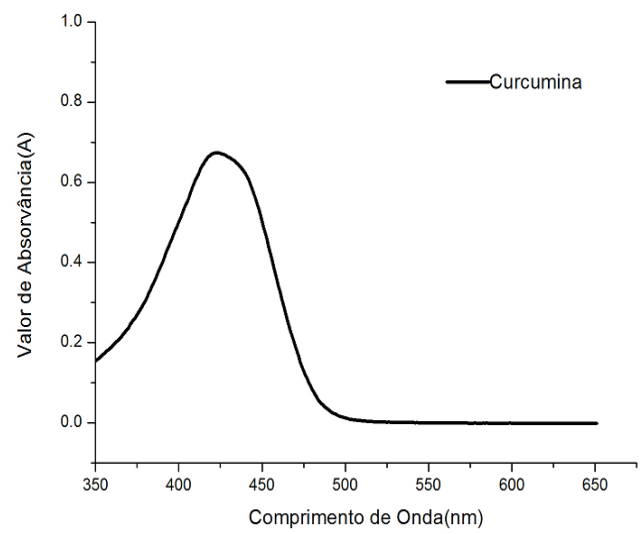


Figura 1: Arranjo experimental da Espectroscopia Fotoacústica.

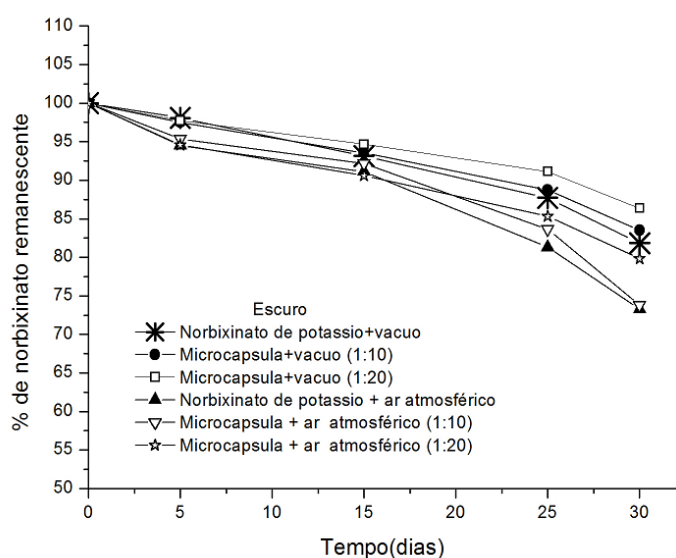


(A)

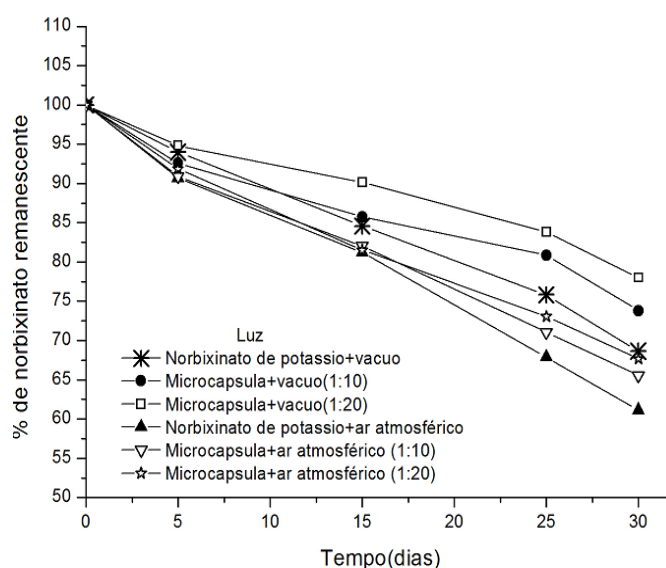


(B)

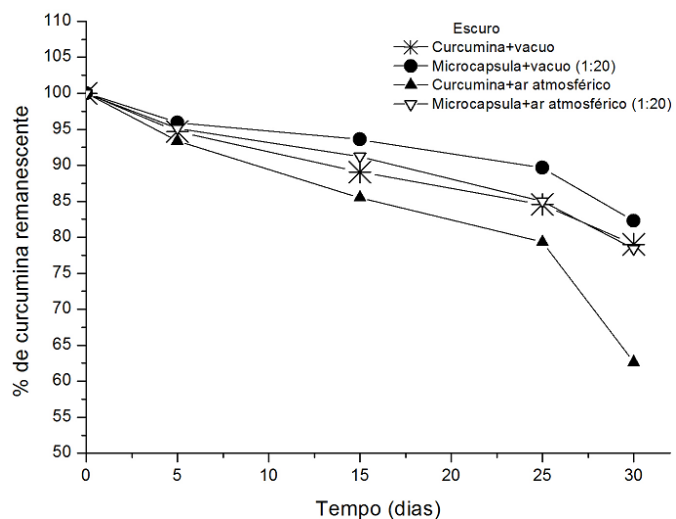
Figura 2: (A)-espectro de absorção do corante comercial norbixinato de potássio; (B)-espectro de absorção do corante comercial curcumina.



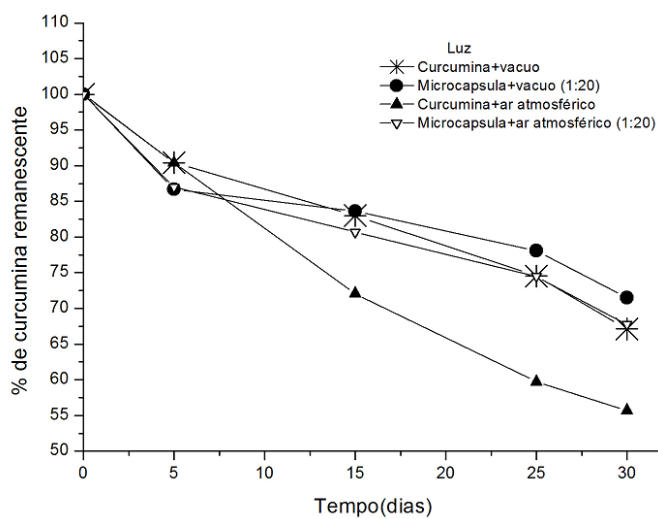
(A)



(B)

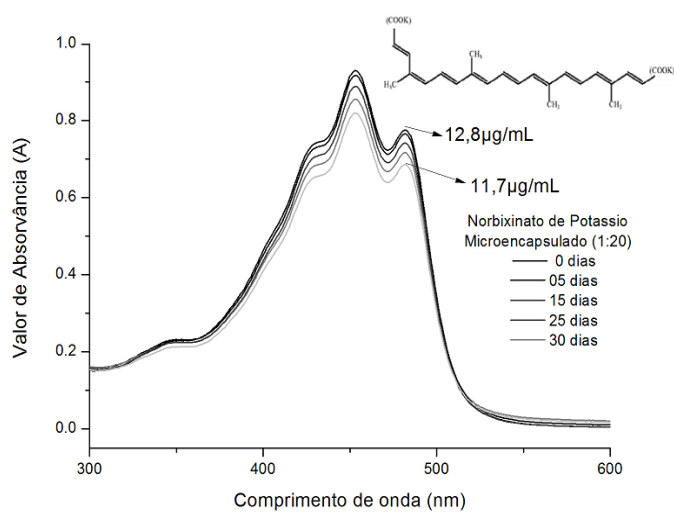


(C)

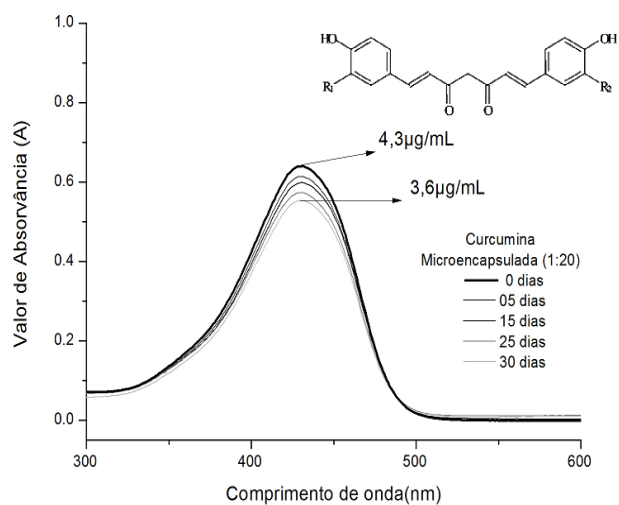


(D)

Figura 3: Estabilidade de norbixinato de potássio livre e microencapsulado com maltodextrina DE20 (proporções 1:10 e 1:20) armazenados no escuro com presença de oxigênio e à vácuo(A); armazenados sob incidência de luz natural com presença de oxigênio e à vácuo (B). Estabilidade da curcumina livre e microencapsulada com maltodextrina DE20 (proporção de 1:20) no escuro com presença de oxigênio e à vácuo; (C) armazenadas sob luz natural com presença de oxigênio e à vácuo (D).

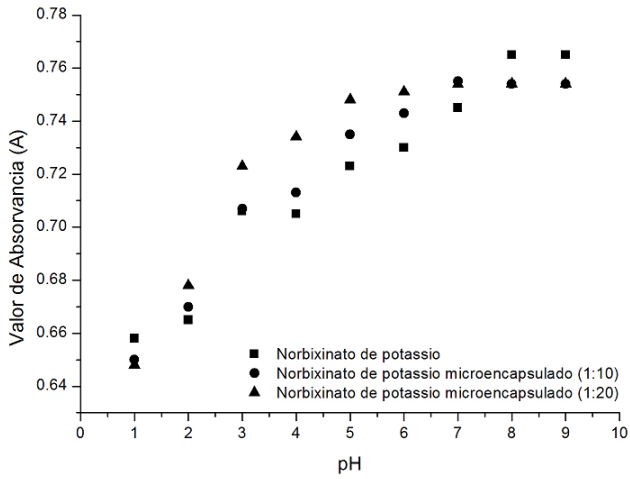


(A)

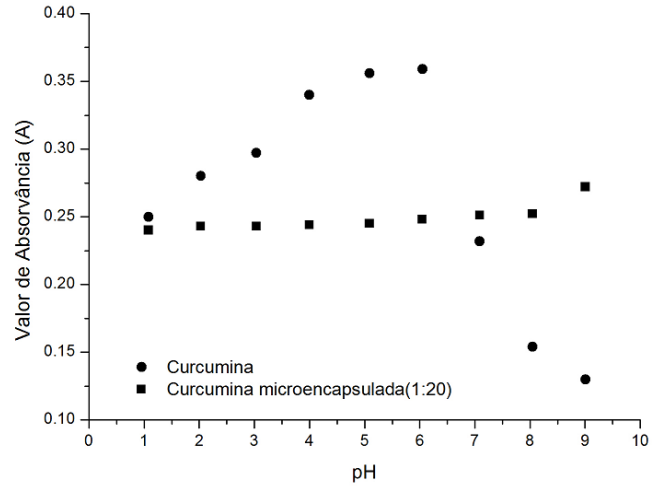


(B)

Figura 4: Monitoramento dos espectros de absorção de norbixinato de potássio microencapsulado com maltodextrina DE20 na proporção 1:20 (A) e de curcumina microencapsulada com maltodextrina DE20 na proporção de 1:20 (B) num período de 0 a 30 dias.

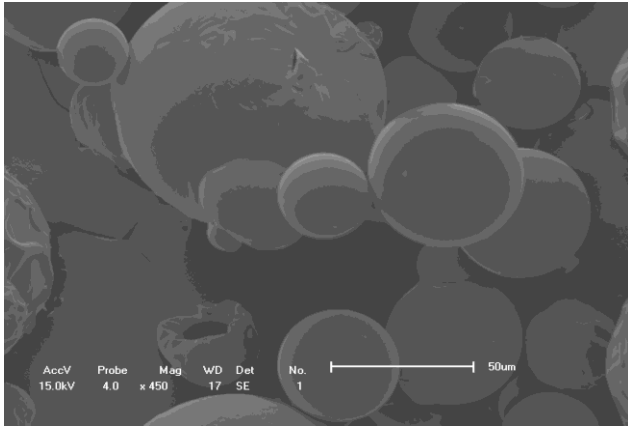


(A)

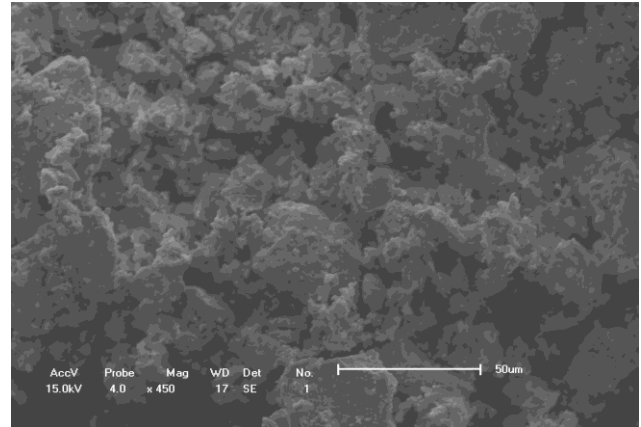


(B)

Figura 5: Estabilidade frente ao pH do norbixinato de potássio livre e microencapsulado com maltodextrina DE20 nas proporções 1:10 e 1:20 (A); curcumina e curcumina microencapsulada com maltodextrina DE20 na proporção 1:20 (B).



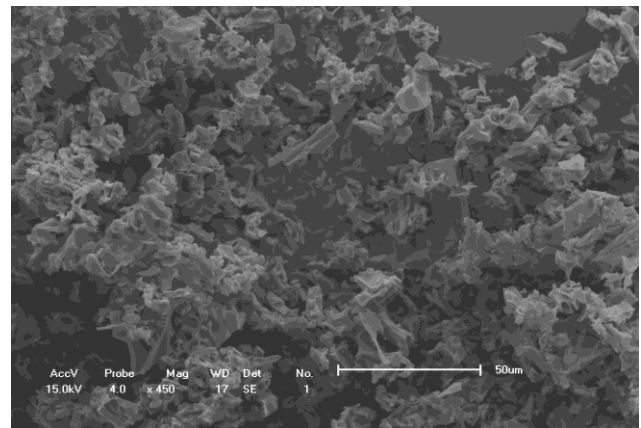
(A)



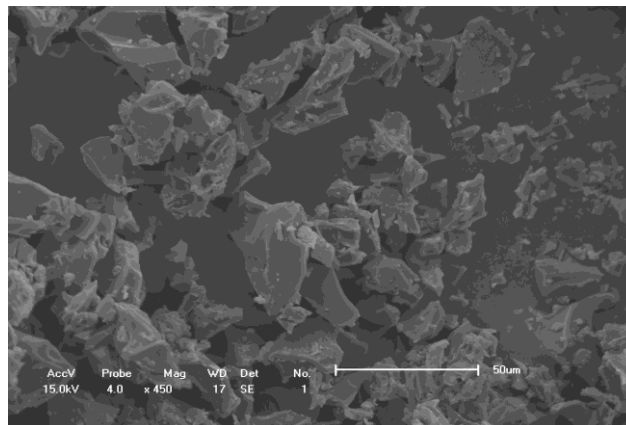
(B)



(C)

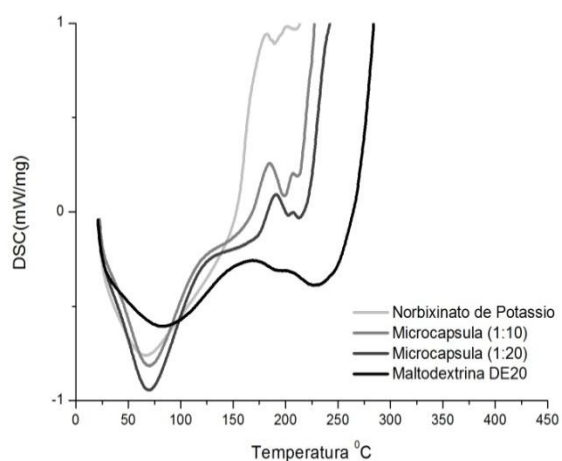


(D)

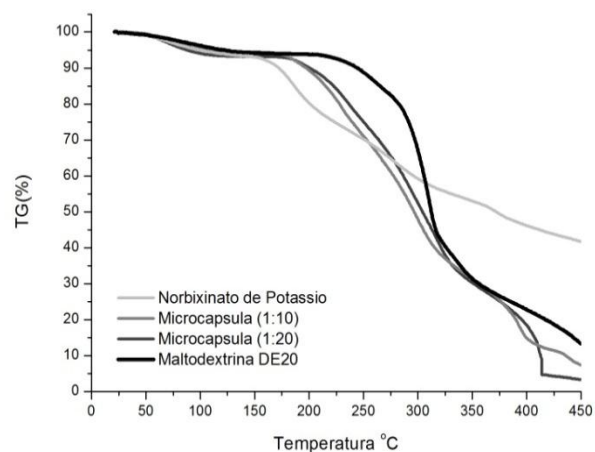


(E)

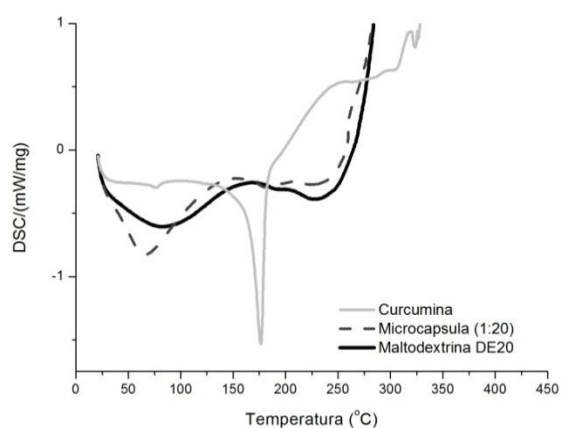
Figura 6: Microscopia eletrônica de varredura com aumento de 450 vezes: norbixinato de potássio livre (A); curcumina livre (B); maltodextrina DE20 (C); norbixinato de potássio microencapsulado com maltodextrina DE20 na proporção 1:20 (D) e curcumina microencapsulada com maltodextrina DE20 na proporção 1:20 (E).



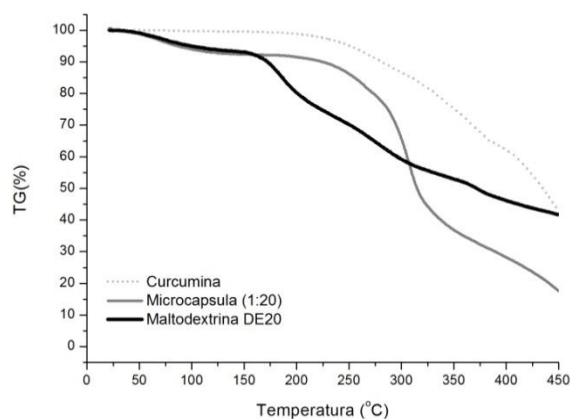
A



B



C



D

Figura 7: Termograma de Calorimetria Diferencial de Varredura (A) e Termograma de Termogravimetria (B) do norbixinato de potássio livre e microencapsulado com maltodextrina DE20 (proporções 1:10 e 1:20) e maltodextrina DE20. Termograma de Calorimetria Diferencial de Varredura (C) e Termograma de Termogravimetria (D) da curcumina livre e microencapsulada com maltodextrina DE20 na proporção 1:20.

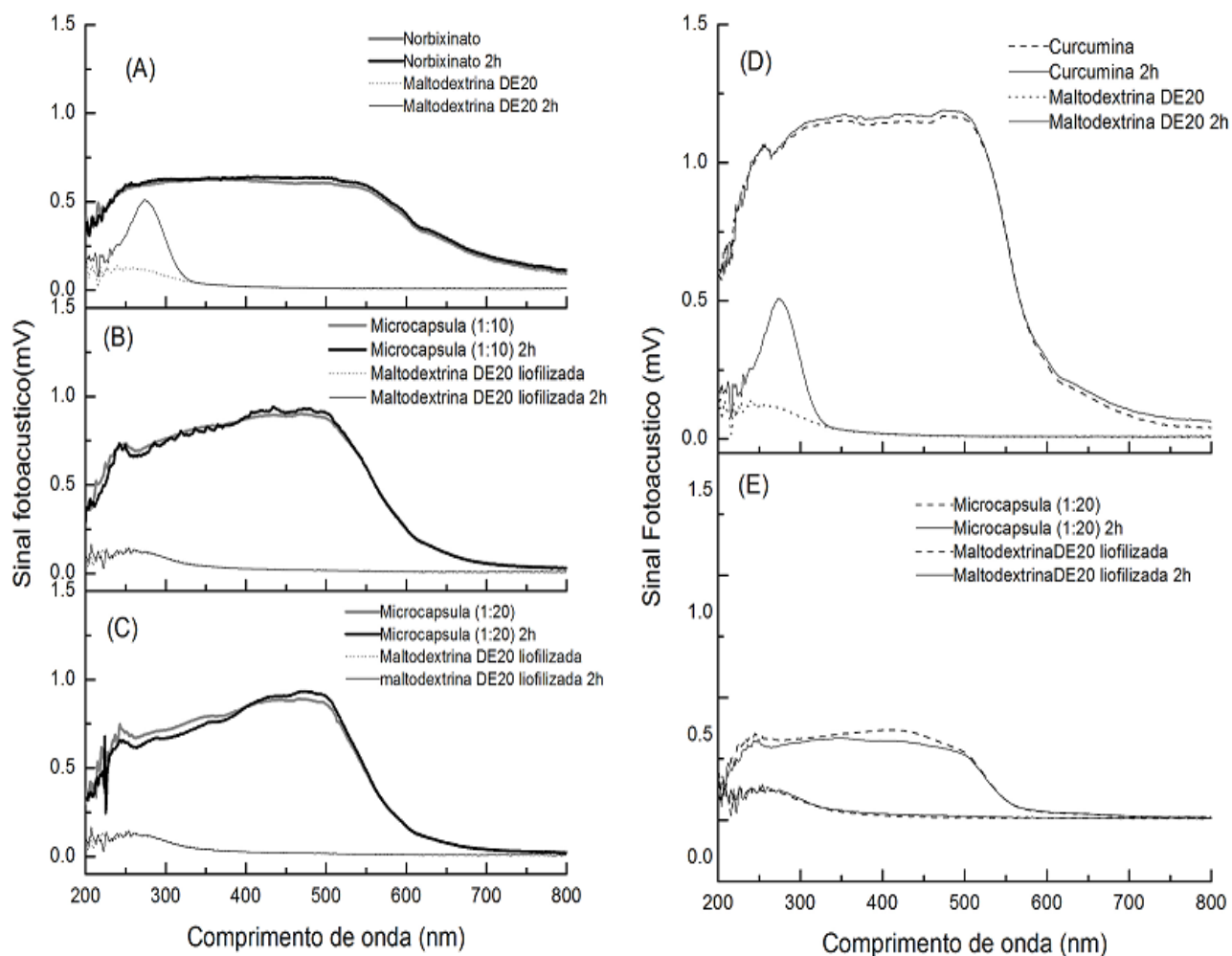


Figura 8: Espectros de absorção na região espectral do ultravioleta e do visível para: norbixinato de potássio livre tempo 0 e após 2h em luz; maltodextrina DE20 tempo 0 e após 2h em luz (A); norbixinato de potássio microencapsulado (1:10) tempo 0 e após 2h na luz; maltodextrina DE20 liofilizada tempo 0 e após 2h em luz (B); norbixinato de potássio microencapsulado (1:20) tempo 0 e após 2h em luz; maltodextrina DE20 liofilizada tempo 0 e após 2h na luz (C); curcumina livre tempo 0 e após 2h em luz; maltodextrina DE20 tempo 0 após 2h na luz (D); curcumina microencapsulada (1:20) tempo 0 e após 2h na luz; maltodextrina DE20 liofilizada tempo 0 e após 2h em luz (E).