

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

EMANUELY GRAEFF

**MICROENCAPSULAÇÃO DE EUGENOL EM MATERIAIS
BIODEGRADÁVEIS/BIOCOMPATÍVEIS POR *SPRAY-DRYING***

MEDIANEIRA

2021

EMANUELY GRAEFF

**MICROENCAPSULAÇÃO DE EUGENOL EM MATERIAIS
BIODEGRADÁVEIS/BIOCOMPATÍVEIS POR *SPRAY-DRYING***

**Eugenol microencapsulation in biodegradable and biocompatible materials by
spray-drying**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Profa. Dra. Rosana Aparecida da Silva Buzanello.

Coorientador(a): Prof. Dr. Alex Sanches Torquato.

MEDIANEIRA

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

EMANUELY GRAEFF

**MICROENCAPSULAÇÃO DE EUGENOL EM MATERIAIS BIODEGRADÁVEIS/BIOCOMPATÍVEIS
POR *SPRAY-DRYING***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 03 de dezembro de 2021

Profa. Rosana Aparecida da Silva Buzanello
Doutora em Ciência de Alimentos
UTFPR Campus Medianeira

Prof. Alex Sanches Torquato
Doutor em Química
UTFPR Campus Medianeira

Profa. Carolina Castilho Garcia
Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos
UTFPR Campus Medianeira

Profa. Marinês Paula Corso
Doutora em Ciência de Alimentos
UTFPR Campus Medianeira

MEDIANEIRA

2021

Dedico este trabalho à minha família, à minha orientadora e amigos, pelos momentos de apoio para a concretização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível devido o amparo e apoio das pessoas que me cercam, tanto pessoalmente ou em pensamento e com isso agradeço a:

Em primeiro lugar a Deus, pois sem Ele não teria acreditado e tido fé para seguir nessa jornada.

Aos meus familiares que são eles, avós, Agostinho, Maria, Marino e Ana, meus pais, Amauri e Claudete e meus irmãos, Daniele, Rafael e Francieli, por todo amor, carinho, amparo e dedicação nessa caminhada.

Aos parentes de coração Walter, Eliane e Bruno pela participação e apoio.

A todas as pessoas que passaram pela minha caminhada, mas em especial a Hadassa, Bruno, Mariana e Bianca que de alguma forma me auxiliaram para a finalização desta etapa.

A todas as amigas que fiz ao longo desta jornada de estudos, em especial a Daniela que esteve presente desde o início e o companheirismo nas análises e também a Iasmim e Marciele pelas noites de estudos para a realização do mesmo.

À minha orientadora, Professora Dra. Rosana Aparecida Buzanello, pela atenção, ensinamentos e dedicação durante a realização do trabalho, tanto escrito como nas análises no laboratório.

Ao meu co-orientador, Professor Dr. Alex Sanches Torquato, por toda disponibilidade e interesse para a concretização deste trabalho.

Às colegas de laboratório e servidores da UTFPR, pelas risadas em meio as análises e dedicação.

À CEANMED – Central Analítica Multiusuário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Medianeira, ao LABMULT-LD – Laboratório Multiusuário da UTFPR Campus Londrina e, à Central de Análises – Laboratório Multiusuário da UTFPR Campus Pato Branco pelos ensaios realizados.

A todos, agradeço o prazer de poder compartilhar essa história com vocês.

Obrigada!

RESUMO

Devido às suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e por ser um composto natural, o eugenol é indicado como substituto de aditivos sintéticos em alimentos. Entretanto, por ser instável frente aos agentes externos, sua utilização acaba sendo comprometida no processamento industrial. Com isso, a encapsulação se torna uma alternativa viável para que o mesmo possa ser aplicado e suas condições de obtenção devem ser investigadas. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da combinação de maltodextrina (MD) e albumina sérica bovina (BSA) na microencapsulação de eugenol por *spray-drying*. Um planejamento fatorial completo (2^3) com triplicata no ponto central foi utilizado variando as concentrações de MD (5 a 15%), BSA (0,5 a 1%) e eugenol (0,2 a 0,6%), buscando otimizar as respostas recuperação percentual (*REC*) e a eficiência de encapsulação de eugenol (*EE*), determinadas por espectroscopia UV-Vis. A análise de efeitos estimados e a metodologia de superfície de resposta permitiram observar que o aumento da concentração das três variáveis estudadas resultou na redução da *EE*, enquanto que para a *REC*, as concentrações de BSA e eugenol também afetaram sua redução, contudo, a MD exerceu efeito positivo. Por meio da análise de desejabilidade foi possível definir a condição ótima para obtenção de microcápsulas de eugenol, visando maximização da *REC* e *EE* (MD = 10%; BSA = 0,5%; eugenol = 0,2%), sendo a *REC* próximo a 45% e a *EE* próximo de 92%. As microcápsulas exibiram morfologia enrugada visualizada pela análise de microscopia eletrônica de varredura, e tamanho médio entre 1,3 e 4,2 μm , determinado pela técnica de espalhamento de luz dinâmico. As microcápsulas foram caracterizadas em termos de atividade de água ($< 0,1575$), umidade ($< 3,06\%$), higroscopicidade ($< 16,11 \text{ g água } 100 \text{ g}^{-1}$) e solubilidade ($< 160 \text{ s}$), apresentando valores adequados para produtos secos por atomização. As análises termogravimétricas e de infravermelho confirmaram a estabilidade térmica e a eficiência de encapsulação das microcápsulas. As condições experimentais estudadas demonstram que o processo de encapsulação de eugenol foi eficiente, possibilitando o aumento de sua estabilidade para aplicação industrial.

Palavras-chave: análise térmica; espectroscopia de infravermelho, morfologia.

ABSTRACT

Due to its antimicrobial, antioxidant and natural compound properties, eugenol is indicated as a substitute for synthetic additives in food. However, because it is unstable to external agents, its use is compromised in industrial processing. Thus, encapsulation becomes a viable alternative so that it can be applied and its obtaining conditions must be investigated. This study aimed to evaluate the effect of the combination of maltodextrin (MD) and bovine serum albumin (BSA) on eugenol microencapsulation by spray-drying. A full factorial design (2^3) with triplicate in the central point was used varying the concentrations of MD (5 to 15%), BSA (0.5 to 1%), and eugenol (0.2 to 0.6%), aiming to optimize the responses of eugenol percent recovery (REC), and eugenol encapsulation efficiency (EE), determined by UV-Vis spectroscopy. The analysis of estimated effects and the response surface methodology allowed to observe that the increase of the concentration of the three studied variables resulted in the reduction of EE, while for REC, the concentrations of BSA and eugenol also affected its reduction; however, the MD had a positive effect. Through the analysis of desirability, it was possible to define the optimal condition for obtaining eugenol microcapsules maximizing *REC* and *EE* (MD = 10%; BSA = 0.5%; eugenol = 0.2%), with *REC* close to 45%, and *EE* close to 92%. The microcapsules exhibited wrinkled morphology visualized by scanning electron microscopy analysis, and average size between 1.3 and 4.2 μm , determined by the dynamic light scattering technique. The microcapsules were characterized in terms of water activity (<0.1575), moisture ($<3.06\%$), hygroscopicity (<16.11 g water 100 g $^{-1}$), and solubility (<160 s), exhibiting adequate values for spray-dried products. Thermogravimetric and infrared analysis confirm the thermal stability and encapsulation efficiency of the microcapsules, respectively. The experimental conditions studied demonstrated that the eugenol encapsulation process was efficient, allowing the increase of its stability for industrial application.

Keywords: thermal analysis; infrared spectroscopy; morphology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química do eugenol	17
Figura 2 - Espectros UV-Vis, em duplicata, de amostras de microcápsulas branco (sem eugenol) e microcápsulas de eugenol (0,6% m/v) nas condições aberta (a) e fechada (b), aplicando as condições de solubilização para quantificação do eugenol total (ET) e eugenol livre (EL), respectivamente	27
Figura 3 - Superfícies de resposta para a recuperação percentual de eugenol (REC) (a) em função da variação das concentrações de maltodextrina (MD) (X1) e albumina sérica bovina (BSA) (X2), mantendo a concentração de eugenol (X3) fixa no ponto central; (b) em função da variação das concentrações MD (X1) e eugenol (X3), mantendo a concentração de BSA (X2) fixa no ponto central; (c) em função da variação da concentração de BSA (X2) e eugenol (X3), mantendo a concentração de MD (X1) fixa no ponto central. Equação do modelo para predição da recuperação percentual de eugenol (REC). C = curvatura.	32
Figura 4 - Superfícies de resposta para a eficiência de encapsulação de eugenol (a) em função da variação das concentrações de maltodextrina (MD) (X1) e albumina sérica bovina (BSA) (X2), mantendo a concentração de eugenol (X3) fixa no ponto central; (b) em função da variação das concentrações MD (X1) e eugenol (X3), mantendo a concentração de BSA (X2) fixa no ponto central; (c) em função da variação da concentração de BSA (X2) e eugenol (X3), mantendo a concentração de MD (X1) fixa no ponto central. Equação do modelo para predição da eficiência de encapsulação (EE). C = curvatura.	33
Figura 5 - Análise de desejabilidade para obtenção da condição ótima para recuperação percentual e eficiência de encapsulação de eugenol.....	35
Figura 6 - Morfologia das microcápsulas de eugenol em maltodextrina e albumina sérica bovina correspondente ao ensaio 1 (a) (alta EE) e ensaio 8 (b) (baixa EE), e microcápsulas branco (sem eugenol) (c).	36
Figura 7 - Curvas termogravimétricas (TG) das amostras de eugenol puro, microcápsulas de MD e BSA sem eugenol (MC branco), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 13 (MC 13), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 1 (MC 1), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 5 (MC 5) e microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 8 (MC 8)	41
Figura 8 - Curvas derivadas (DTG) correspondentes às termogravimétricas (TG) das amostras de eugenol puro, microcápsulas de MD e BSA sem eugenol (MC branco), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 13 (MC 13), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 1 (MC 1), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 5 (MC 5) e microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 8 (MC 8)	42
Figura 9 - Espectros FTIR das amostras de mistura física (MF) correspondente as microcápsulas branco (sem eugenol) e eugenol, das microcápsulas de eugenol do ensaio 5 (MC 5), das microcápsulas de eugenol ensaio (MC 13), das microcápsulas branco (MC branco) e do eugenol puro.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Níveis reais e codificados das variáveis independentes do planejamento fatorial completo ²³	22
Tabela 2 - Matriz dos ensaios com os resultados de recuperação percentual de eugenol (REC) e eficiência de encapsulação de eugenol (EE).....	23
Tabela 3 - Análise de efeitos estimados para os valores de recuperação percentual de eugenol.	29
Tabela 4 - Análise de efeitos estimados para os valores de eficiência de encapsulação de eugenol.....	30
Tabela 5 - Análise de variância para a recuperação percentual de eugenol (REC)...	31
Tabela 6 - Análise de variância para a eficiência de encapsulação de eugenol (EE)..	31
Tabela 7 - Valores de tamanho médio (μm) e da medida instrumental de cor em termos de L* (luminosidade), a* (+a = vermelho; -a = verde) e b* (+b = amarelo; -b = azul) das microcápsulas de eugenol em maltodextrina e albumina sérica bovina, de acordo com a variação das condições experimentais, e microcápsulas branco (sem eugenol) (ensaio 12).....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATR	Refletância total atenuada
BSA	Albumina sérica bovina
DLS	Espalhamento de luz dinâmico
EE	Eficiência de encapsulação
EL	Eugenol livre
ET	Eugenol total
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
MC	Microcápsulas de eugenol em MD e BSA
MD	Maltodextrina
MF	Microcápsulas branco (sem eugenol)
OE	Óleos essenciais
REC	Recuperação percentual de eugenol
TG	Análises termogravimétricas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo geral	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	Óleos essenciais (OE)	15
3.2	Encapsulação	16
3.3	Material de parede	17
3.4	Encapsulação de eugenol	19
3.5	Eficiência da encapsulação de microcápsulas	20
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	Material	21
4.2	Métodos	21
4.2.1	Encapsulação do Eugenol.....	21
4.2.2	Recuperação percentual de eugenol (REC) e eficiência de encapsulação (EE)	22
4.2.3	Especificidade do método de quantificação de eugenol.....	23
4.2.4	Caracterização das microcápsulas.....	24
4.3	Análise estatística	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1	Recuperação percentual de eugenol (REC) e eficiência de encapsulação (EE)	27
5.1.1	Análise de efeitos estimados.....	28
5.1.2	Análise de variância (ANOVA) e superfícies de resposta.....	30
5.1.3	Otimização da REC e EE de eugenol.....	34
5.2	Caracterização das microcápsulas	35
5.2.1	Morfologia e tamanho médio	35
5.2.2	Medida Instrumental de Cor	38
5.2.3	Atividade de água, umidade, higroscopicidade e solubilidade	38
5.2.4	Análises termogravimétricas	40
5.2.5	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em modo de refletância total atenuada (ATR).....	43
6	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

O eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) é extraído de plantas aromáticas, como cravo, noz-moscada, canela, manjeriço, entre outros. A utilização do mesmo tem sido uma alternativa para a indústria alimentícia como substituto de aditivos sintéticos por causa de características antimicrobianas e antioxidantes (CHATTERJEE; BHATTACHARJEE, 2013; GARCÍA-GARCÍA; LÓPEZ-MALO; PALOU, 2011; TALÓN et al., 2019). Entretanto, este óleo essencial é um composto hidrofóbico que é sensível a agentes externos, tais como luz, calor, ar, umidade e apresenta alta volatilidade, o que dificulta seu uso na indústria alimentícia (ALVARENGA BOTREL *et al.*, 2012). Com isso, o método de microencapsulação se tornou uma alternativa viável para obter mais estabilidade e aplicação do eugenol.

A microencapsulação é capaz de tornar viável a aplicação de ingredientes considerados instáveis antes da encapsulação. Este processo é definido por pequenas partículas que são revestidas em uma matriz homogênea ou heterogênea para formar cápsulas com propriedades úteis (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007). Um método utilizado com mais frequência para microencapsulação é o de secagem por atomização (*spray-drying*) por ser mais acessível financeiramente. Esta técnica consiste no preparo de uma suspensão de materiais, seguida de secagem com vazão e temperaturas controladas. A evaporação rápida do solvente possibilita a estabilidade das microcápsulas, sendo a água um dos solventes mais utilizados nesse método (DE SOUZA *et al.*, 2013).

A eficácia da encapsulação e a estabilidade das microcápsulas podem ser influenciadas pelo material de parede utilizado na microencapsulação (DE SOUZA *et al.*, 2013). Apesar de existir inúmeros polímeros que podem ser usados como material de parede, tem sido sugerido o uso dos materiais biocompatíveis e biodegradáveis na encapsulação. Gomas, lipídeos e proteínas são alguns materiais de parede usados com frequência (DUBEY, 2009).

Proteínas permitem reduzir a tensão interfacial na superfície óleo-água devido a sua natureza anfifílica (LAM; NICKERSON, 2013), o que beneficia seu uso na encapsulação de compostos hidrofóbicos. Das proteínas do sangue bovino, 42% são albuminas (do inglês, *Bovine Serum Albumin*, BSA) (PRATA; SGARBIERI, 2005), apresentando características funcionais e permitindo sua aplicação em várias matrizes alimentares. Para ter-se encapsulação estável é indicada a mistura de

carboidratos e proteínas como materiais de parede (FAVARO-TRINDADE; PINHO, 2008; TALÓN *et al.*, 2019).

A maltodextrina é obtida pela hidrólise do amido e foi associada a proteínas na encapsulação para aprimorar as propriedades de secagem (ANEKELLA; ORSAT, 2013). Apresenta baixa viscosidade, alta concentração de sólidos, alta solubilidade, atividade antioxidante, capacidade de formação de matriz, custo acessível e, ainda, não tem sabor (KOÇ *et al.*, 2015). Entretanto, a maltodextrina não possui propriedades emulsificantes, por isso a forma de utilização como material de parede é associada a proteínas (LOYEAU *et al.*, 2018), que apresentam ótima propriedade emulsificante, o que favorece a distribuição dos géis e a formação de filme (WANG; TIAN; CHEN, 2011).

Portanto, a combinação de maltodextrina e albumina sérica bovina (BSA) na microencapsulação do eugenol por *spray-drying* apresenta-se como uma alternativa viável.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do material de parede constituído por albumina sérica bovina e maltodextrina na encapsulação de eugenol por *spray-drying*.

2.2 Objetivos específicos

Produzir microcápsulas de eugenol utilizando os materiais de parede maltodextrina e albumina sérica bovina, por *spray-drying*, variando a concentração dos materiais de parede e do eugenol por meio de um planejamento fatorial completo;

Avaliar a recuperação percentual de eugenol e eficiência de encapsulação das microcápsulas por espectrofotometria UV-Vis;

Determinar as propriedades físico-químicas das microcápsulas, em termos de atividade de água, umidade, solubilidade e higroscopicidade;

Caracterizar as microcápsulas obtidas por meio de análises de microscopia eletrônica de varredura, análises térmicas e de infravermelho.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Óleos essenciais (OE)

Os OE são misturas complexas de compostos voláteis naturais extraídos de plantas comestíveis e medicinais, em que seus constituintes são álcoois terpenos, éteres terpenos alifáticos, hidrocarbonetos alifáticos e terpenos aromáticos, cujas características são de forte odor e também fonte comum de compostos bioativos (BARKY *et al.*, 2016; DIMA *et al.*, 2014).

Além da nutrição básica, os OE possuem várias propriedades funcionais, o que favorece seu uso gastronômico, sensoriais, antioxidantes, anti-inflamatórias, antitrombóticas, antimicrobianas, antienvelhecimento, anticancerígenas, antidiabéticas, antidepressivas, repelente de insetos, entre outros (BARKEY *et al.*, 2016).

Tem-se que em média 3.000 OE são conhecidos, dentre esses, cerca de 300 são utilizados comercialmente devido sua importância na indústria de alimentos, farmacêutica e de cosméticos/perfumaria (CHEN; ZHANG; ZHONG, 2015; FELIX *et al.*, 2017).

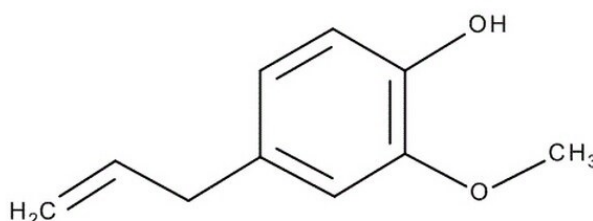
O Brasil é o fornecedor unitário de OE de pau-rosa no mundo. O óleo é extraído da madeira por arraste a vapor, rico em linalol. Foi o primeiro óleo essencial extraído em larga escala e exportado pelo Brasil, a princípio no Pará, em 1993, e depois no Amazonas, chegando a atingir 200 toneladas de produção nacional em 1927 (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

O óleo essencial de menta que tem um volume e valor mais significativo é o associado à *Mentha arvensis* (menta japonesa), cuja produção estabeleceu-se em São Paulo e no Paraná, cultura trazida pelos imigrantes japoneses nos anos 30 (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Esses são alguns exemplos de óleos essenciais com grande produção nacional.

O eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$; 4-alilo-2-metoxifenol) (Figura 1) é um fenilpropeno, um guaiacol de cadeia alílica, encontrado em óleos essenciais, extraídos de plantas como cravo da Índia, noz-moscada, manjeriço, folha de louro e canela. O mesmo tem um grande potencial terapêutico pela sua capacidade de desnaturar proteínas e podendo reagir com fosfolípidos modificando sua permeabilidade (CHATTERJEE;

BHATTCHARJEE, 2013). O crescente interesse no uso do eugenol se dá pelas suas propriedades antioxidantes (KAMATOU; VERMAAK; VILJOEN, 2012; OGATA *et al.*, 2000; RAUSCHER; SANDERS; WATKINS, 2002) e antimicrobiana, pois este OE mostrou-se efetivo contra microrganismos distintos, como *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhi* (DEVI *et al.*, 2010; GARCÍA-GARCÍA *et al.*, 2011). Na Figura 1 é apresentada a estrutura química do eugenol.

Figura 1 – Estrutura química do eugenol



Fonte: Merck (2021).

Dentre as fontes de eugenol tem-se o óleo essencial de cravo, que são os botões de flores aromáticas secas, que contém 88,58% de eugenol. O mesmo é extraído comumente de botões de cravo por destilação a vapor (CHATTERJEE; BHATTCHARJEE, 2013). Contudo, os benefícios da aplicação dos OE como o eugenol, ainda exibem algumas limitações para sua utilização, devido sua instabilidade quando expostos a agentes externos, como por exemplo, luz, oxigênio, calor, podendo sofrer interações, volatilização e oxidação. Com isso a encapsulação de óleos essenciais é viável para produção em larga escala na indústria alimentícia (VEIGA *et al.*, 2019).

3.2 Encapsulação

A encapsulação foi definida como a tecnologia de revestimento com finas coberturas poliméricas em pequenas partículas sólidas, líquidas ou gasosas que podem ser liberadas sob velocidade e condições específicas. As microcápsulas tem como objetivo proteger os compostos de diversas circunstâncias ambientais, como

umidade, oxigênio, luz e interação com outros componentes do ambiente (FAVARO-TRINDADE; PINHO, 2008).

Existem diversas técnicas para encapsulação, das quais se destaca o método de *spray-drying* (CHATTERJEE; BHATTACHARJEE, 2013; SCREMIN *et al.*, 2018), inclusão molecular (CHOI *et al.*, 2009), emulsão múltipla (BANERJEE *et al.*, 2013), coacervação (ALVIM; GROSSO, 2010; DIMA *et al.*, 2014; PENG *et al.*, 2014; SUTAPHANIT; CHITPRASERT, 2014), extrusão (YULIANI *et al.*, 2004), co-cristalização (ASTOLFI-FILHO *et al.*, 2005) e leiteo fluidizado (FUCHS *et al.*, 2006).

A técnica de secagem por atomização (*spray drying*) envolve a dispersão do material fluido em gotículas em uma câmara de secagem que está em contato com o ar aquecido e proporciona evaporação rápida a partir da superfície das mesmas (FERNANDES *et al.*, 2008). A rápida evaporação de solvente permite a estabilidade das microcápsulas produzidas, sendo a água um dos solventes mais utilizados nesta metodologia (DE SOUZA *et al.*, 2013). É uma técnica comumente utilizada para a microencapsulação de compostos bioativos, tais como flavorizantes, lipídios e carotenoides (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007).

3.3 Material de parede

Os materiais de parede são os que possibilitam a proteção dos compostos encapsulados, formando uma barreira protetiva. Microcápsulas podem ser definidas como um material extremamente pequeno constituído por um polímero como material de parede e um material ativo chamado de núcleo (CASTRO *et al.*, 2003; FUCHS *et al.*, 2006; SANTOS; FAVARO-TRINDADE; GROSSO, 2005). As partículas a serem encapsuladas podem ter classificação quanto a seu tamanho que é disposto em três categorias: macro ($> 5000 \mu\text{m}$), micro ($0,2\text{-}5000 \mu\text{m}$) e nanopartículas ($< 0,2 \mu\text{m}$) (RÉ, 1998).

Os materiais de parede usados com mais frequência contêm carboidratos (amidos, maltodextrina, xarope de milho, dextranas, sacarose, ciclodextrinas, celulose e quitosana); gomas (acácia, ágar, alginato de sódio e carragena); lipídeos (ceras, parafina, ácido esteárico, tristearina, mono- e di-glicérides, óleos e gorduras) e proteínas (zeína, glúten, caseína, gelatina, albumina, hemoglobina e peptídeos) (DUBEY *et al.*, 2009. MARTINS *et al.*, 2014).

O material de parede considerado ideal é aquele que apresenta baixa viscosidade em alta concentração; baixa higroscopicidade e evita aglomerações; características emulsificantes; características solúveis nos solventes usados com frequência; sabor leve; características de liberação desejadas; e ser de baixo custo (FAVARO-TRINDADE; PINHO 2008; GOUIN, 2004; JAFARI *et al.*, 2008; RÉ, 1998; MADENE *et al.*, 2006; REINECCIUS, 2004). As propriedades do material de parede citadas acima facilitam o processo de encapsulação e sua aplicação.

Um dos materiais utilizados na constituição da parede é a maltodextrina, que é um polissacarídeo obtido pela hidrólise do amido. Apresenta baixa viscosidade, alta concentração de sólidos, alta solubilidade, proteção contra oxidação, custo acessível, capacidade de formar matrizes, e também não tem sabor, o que a torna ideal para a encapsulação (ANEKELLA; ORSAT, 2013; KOÇ *et al.*, 2015). Entretanto, a maltodextrina não apresenta propriedades emulsificantes, então é sugerido seu uso associado a proteínas (LOYEAU *et al.*, 2018; ZHANG; ROSENBERG; ROSENBERG, 2018), que possuem ótimas propriedades emulsificantes, contribuindo para uma melhor distribuição do gel e na formação de filme (WANG; TIAN; CHEN, 2011).

A albumina sérica bovina, que consiste em 42% das proteínas do sangue bovino, devido a suas características funcionais tecnológicas tem aplicações específicas (PRATA; SGARBIERI, 2005), desta forma acaba sendo uma fonte de proteína animal que pode ser aplicada como material de parede na microencapsulação, sendo uma boa aposta de combinação com os demais ingredientes utilizados.

Na encapsulação de óleos essenciais há uma etapa de emulsificação ou suspensão requerida para ocorrer a dispersão do mesmo em uma solução aquosa. Após a obtenção da emulsão ou suspensão, esta pode passar pelo processo de secagem por *spray-drying*, assim obtendo as microcápsulas, permitindo a utilização dos óleos essenciais em distintas matrizes alimentares pelo aumento de sua solubilidade que é melhorada pelos materiais de parede utilizados na encapsulação (BAKRY *et al.*, 2016).

3.4 Encapsulação de eugenol

A retenção de óleo nas microcápsulas ocorre de forma variada no método de *spray-drying*, sendo comumente associada a três situações: a de uma grande área superficial durante a pulverização, o que pode favorecer a volatilização; a difusão das substâncias voláteis quando a membrana das microcápsulas não sofre moldação instantânea e a formação de bolhas de vapor no interior das microcápsulas que podem transferir os materiais voláteis para o exterior (FELIX *et al.*, 2017). Essas são as principais desvantagens da encapsulação de óleos essenciais por *spray-drying*. Entretanto, as variáveis temperatura de entrada e vazão da alimentação podem ser controladas para amenizar a degradação do óleo essencial pelo calor durante a secagem (VEIGA *et al.*, 2018).

A secagem por *spray* resulta em pós de ótima qualidade, baixa atividade de água, facilidade de manuseio e armazenamento e também protege o material ativo de reações inesperadas. Tanto os materiais de parede como as propriedades de seleção da emulsão podem afetar a eficiência do processo e estabilidade do produto. Para que o processo seja bem sucedido o resultado deve ser um pó com baixa quantidade de óleo de superfície e alta retenção do material ativo (CARNEIRO *et al.*, 2013).

Foram reportados na literatura trabalhos que encapsularam eugenol por *spray drying*, porém utilizando materiais de parede diferentes. Por exemplo, a encapsulação de eugenol em quitosana em três diferentes proporções foi realizada pelo método de *spray-drying*, nas proporções 4:1, 3:1 e 2:1. Após análises térmicas e de infravermelho das amostras atomizadas, constatou-se interação entre o eugenol e a quitosana e a quantidade de óleo retido nas amostras atomizadas manteve-se estável por 94 dias (PEREIRA *et al.*, 2007).

Em outro trabalho, utilizou-se proteína de farelo de arroz e albumina de soro bovino como material encapsulante, que mostraram boa propriedade de estabilização quando combinada com a carragena, contribuindo para maior eficiência de encapsulação (79,4%) (SCREMIN *et al.*, 2018).

3.5 Eficiência da encapsulação de microcápsulas

Para se obter uma boa eficiência na encapsulação e na estabilidade das microcápsulas o material de parede utilizado exerce importante influência (WANG *et al.*, 2009; ZBICINSKI *et al.*, 2002). A escolha do material pode ser de acordo com as características do material encapsulado e da aplicação em que será destinada, bem como, da maneira e do mecanismo de liberação controlada (ALVARENGA BOTREL *et al.*, 2012; GOUIN, 2004). Polímeros biodegradáveis e biocompatíveis têm sido de grande uso e recomendação para a encapsulação (ALVARENGA BOTREL *et al.*, 2012).

Técnicas como espectroscopia de infravermelho (IV), análises termogravimétricas (TGA), microscopia, difração de raio-X, calorimetria diferencial de varredura, entre outras, são utilizadas para verificar a eficiência da microencapsulação.

A técnica de IV é utilizada com frequência para a identificação de compostos químicos. A região do espectro eletromagnético, que corresponde ao infravermelho, representa a maior parte das vibrações moleculares de energia. Uma amostra estudada apresenta as frequências características podendo ser feito um estudo minucioso para determinar as estruturas esperadas ou não (SILVERSTEIN, 2000).

Já as análises termogravimétricas se baseiam na perda de massa de uma amostra em função da temperatura em um determinado tempo (PEREIRA *et al.*, 2007). Existem outras técnicas que serão utilizadas para se identificar a eficiência de encapsulação que também serão abordadas neste trabalho. Geralmente, uma combinação de técnicas é aplicada para se inferir sobre a eficiência do processo de encapsulação e obter conclusões sobre o material obtido.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Eugenol (V900001, Sigma-Aldrich, 98,0%), etanol P.A. (Neon, 99,5%) e Tween-80 (Synth) foram utilizados na preparação da fase orgânica. Para a preparação da fase aquosa, albumina sérica bovina (BSA, A7906, Sigma-Aldrich, 98%) e maltodextrina (DE 20, MOR-REX 1920) foram utilizadas. Os demais reagentes utilizados apresentaram grau de pureza analítico.

4.2 Métodos

4.2.1 Encapsulação do Eugenol

O processo de encapsulação do eugenol foi baseado no método descrito por Scremin *et al.* (2018), com algumas adaptações. Foi preparada uma suspensão dos reagentes pelo preparo de uma fase orgânica e de outra aquosa para a elaboração das microcápsulas. A fase orgânica consistiu na solubilização de eugenol e Tween-80 em etanol (10 mL) à temperatura ambiente. A fase aquosa foi obtida em duas etapas, primeiramente a maltodextrina foi solubilizada em 200 mL de água destilada à temperatura de 65 °C em vigorosa agitação mecânica por 15 minutos. Na segunda etapa, ocorreu a preparação de uma suspensão de albumina sérica bovina (BSA), por sua solubilização em água destilada a temperatura ambiente. Um planejamento fatorial completo 2^3 , com triplicata no ponto central foi aplicado para avaliar a influência da concentração dos materiais na eficiência da encapsulação do eugenol. Na tabela 1 são apresentados os níveis reais e codificados das variáveis independentes do planejamento fatorial completo 2^3 :

Tabela 1 - Níveis reais e codificados das variáveis independentes do planejamento fatorial completo 2³.

Variáveis reais	Variáveis Nominiais	Níveis codificados (níveis reais)	
Concentração de maltodextrina (% m/m)	X ₁	-1 (5,0)	+1 (15,0)
Concentração de albumina sérica bovina (% m/m)	X ₂	-1 (0,5)	+1 (1,5)
Concentração de eugenol (% m/m)	X ₃	-1 (0,2)	+1 (0,6)

Fonte: Aatoria própria (2021).

Em seguida, a fase orgânica obtida foi lentamente adicionada à fase aquosa, sob agitação mecânica por 5 minutos. Então, a suspensão foi homogeneizada em um ultraturrax (T18, IKA), a 6000 rpm por min.

A secagem por *spray-drying* foi realizada em um secador laboratorial *Spray Dryer* com câmara de secagem de 500 mm x 150 mm, bico atomizador de duplo fluido com orifício de 1,2 mm de diâmetro. Foi utilizada uma bomba peristáltica para a alimentação com vazão de 0,6 L h⁻¹, a temperatura do ar de entrada foi de 150 °C com fluxo do ar de secagem a 35 cm³ h⁻¹ (SCREMIN *et al.*, 2018).

O mesmo procedimento foi aplicado, contudo, sem a presença de eugenol, apenas com o material de parede para obtenção de microcápsulas do branco.

4.2.2 Recuperação percentual de eugenol (REC) e eficiência de encapsulação (EE)

A determinação da eficiência de encapsulação de eugenol foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Ozdemir *et al.* (2021), com adaptações, sendo determinada a quantidade de eugenol total (ET) e a de eugenol livre (EL) nas microcápsulas. Na determinação do teor de ET foram pesados 10 mg de pó em tubos cônicos adicionados de 5 mL de água destilada. A mistura foi agitada em vórtex para solubilização completa à temperatura ambiente e, então, foram adicionados 5 mL de n-heptano com homogeneização por mais 2 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 6000 rpm por 5 minutos a 25 °C, sendo coletado o sobrenadante contendo eugenol e n-heptano. O sobrenadante coletado foi analisado em um espectrofotômetro UV-Vis em um comprimento de onda de 283 nm, no qual o eugenol apresenta máxima absorção (SHINDE; NAGARSENKER, 2011). A concentração de ET foi calculada com base em uma curva padrão preparada com soluções de 1 a 56 µg mL⁻¹ de eugenol em n-heptano.

Para a determinação do EL, as microcápsulas foram pesadas (10 mg) em tubos cônicos, sendo adicionados 10 mL de n-heptano, pois eugenol não é solúvel em n-heptano. Em seguida, procedeu-se agitação por 2 minutos em vórtex e, após, centrifugação a 6000 rpm por 5 minutos à temperatura de 25 °C. O sobrenadante contendo EL não encapsulado foi analisado no espectrofotômetro UV-Vis conforme previamente descrito para a determinação de ET.

A recuperação percentual de eugenol (*REC*), que representa o conteúdo de eugenol total presente nas microcápsulas após o processo de encapsulação, foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$REC (\%) = \frac{ET}{Ei} \times 100 \quad (1)$$

Em que, *ET* = concentração de eugenol total nas microcápsulas; *Ei* = concentração inicial adicionada no processo de microencapsulação.

A eficiência de encapsulação (*EE*) do eugenol foi determinada de acordo com a Equação 2.

$$EE (\%) = \frac{ET - EL}{ET} \times 100 \quad (2)$$

Em que, *ET* = concentração de eugenol total presente nas microcápsulas; *EL* = concentração de eugenol livre (não encapsulado).

4.2.3 Especificidade do método de quantificação de eugenol

Para avaliar a especificidade do método em quantificar eugenol, garantindo que não houve interferência na região de absorvância tomada como referência para quantificar o eugenol, os espectros UV-Vis das microcápsulas branco (sem eugenol) e de microcápsulas contendo 0,6% de eugenol foram determinados após as amostras terem sido submetidas aos procedimentos descritos no item 4.2.2 para determinação de *ET* e *EL*, em duplicata.

4.2.4 Caracterização das microcápsulas

4.2.4.1 Morfologia e tamanho médio

Foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura (TM 3000, HITACHI, EUA) para avaliar a morfologia das microcápsulas. O tamanho médio das microcápsulas foi estimado pela técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) por meio de um analisador de tamanho de partícula Litesizer 500 (Anton Paar, Graz, Áustria), de acordo com a metodologia proposta por Ahmadian, Niazmand e Pourfarzad (2019). As medidas foram conduzidas em triplicata a 25 °C.

4.2.4.2 Medida instrumental de cor

A medida instrumental de cor foi realizada na superfície das amostras de microcápsulas, tomando três pontos diferentes de leitura por amostra, utilizando o colorímetro Konica Minolta® CR400 (Minolta Corporation, Ramsay, NJ, EUA) com iluminante D65 a 10° do observador. Foram determinados os valores de L* (luminosidade), a* (componente verde-vermelho) e b* (componente azul-amarelo), expressos no sistema de cor CIELAB (*Comission International for Illumination*).

4.2.4.3 Atividade de água, umidade, solubilidade e higroscopicidade

Para a determinação da atividade de água foi utilizado o equipamento Aqualab® (4TE, Decagon, Brasil). Para a análise de umidade foi utilizado o método gravimétrico em estufa a 105 °C (AOAC, 2005).

A análise de solubilidade foi determinada conforme metodologia descrita por Goula e Adampoulos (2008), com alterações. A solubilidade das amostras foi determinada pela adição de 2 g do material a 50 mL de água destilada, mantido a temperatura ambiente (25 °C) sob agitação mecânica branda. A solubilidade foi expressa como o tempo (s) necessário para solubilizar completamente o material, sendo verificado visualmente.

A higroscopicidade foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Fritzen-Freire *et al.* (2012), com algumas adaptações. As amostras de

microcápsulas (1 g) foram pesadas e acondicionadas em um dessecador equilibrado à umidade relativa de 75% com solução saturada de cloreto de sódio à temperatura ambiente. As amostras foram mantidas nestas condições por 7 dias e, após, novamente pesadas. A higroscopicidade foi calculada gravimetricamente por meio da Equação 3.

$$\text{Higroscopicidade (g água / 100 g de produto)} = 100 \times \frac{m_f - m_i}{m_i} \quad (3)$$

Em que: m_i e m_f correspondem a massa da amostra (g) antes e após o acondicionamento em umidade relativa de 75%.

4.2.4.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em modo de refletância total atenuada (ATR)

As análises de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em modo de refletância atenuada (ATR) (Frontier PerkinElmer™), foram realizadas para avaliar a presença de possíveis interações entre os materiais de parede e o eugenol. Os espectros FTIR-ATR foram determinados no intervalo de número de onda de 4000 a 450 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} . Foi utilizada uma média de dez acumulações para cada amostra, sendo avaliadas as amostras do branco (microcápsulas sem eugenol) e das microcápsulas com eugenol, bem como, a mistura física dos materiais.

4.2.4.5 Análises termogravimétricas

As análises termogravimétricas (TG) e as análise de calorimetria diferencial (DTA) foram realizadas em um analisador termogravimétrico (TGA-DTA-DSC) (modelo SDT Q600, TA Instruments). As amostras (10 mg) foram inseridas em um cadinho de platina que foi aquecido de 50 a 600 $^{\circ}\text{C}$, a uma taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, sob atmosfera de nitrogênio à vazão de 20 mL min^{-1} .

4.3 Análise estatística

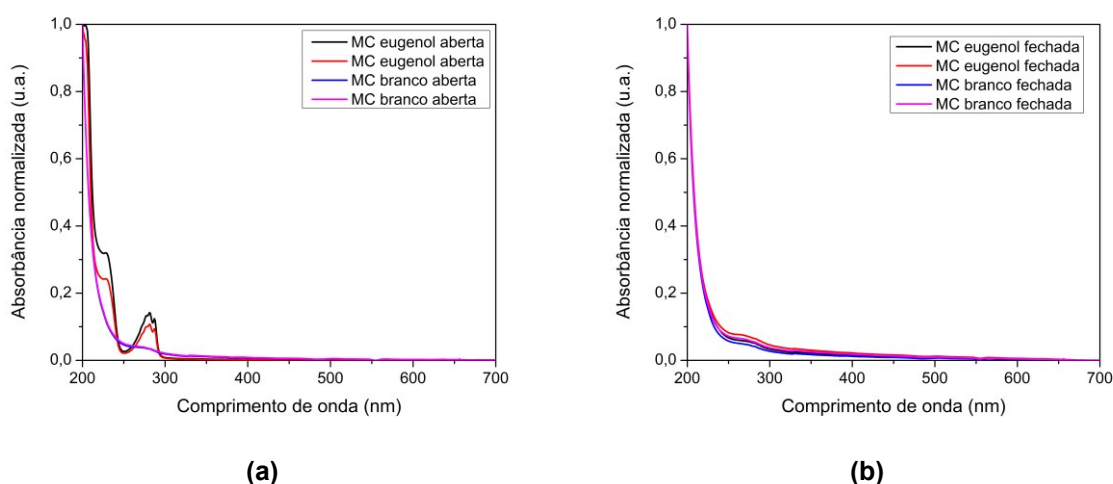
Os dados da recuperação percentual de eugenol e eficiência de encapsulação obtidos no planejamento fatorial completo foram avaliados pela análise de efeitos estimados e pela metodologia de superfície de resposta ($p \leq 0,05$). Os demais dados foram avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Recuperação percentual de eugenol (*REC*) e eficiência de encapsulação (*EE*)

O comprimento de onda de absorção máxima de eugenol encontra-se próximo a 283 nm (SHINDE; NAGARSENKER, 2011). Conforme pode ser observado na Figura 2, os espectros UV-Vis para as amostras de microcápsulas branco (sem eugenol), tanto na condição aberta (solubilizadas na condição de determinação de *ET*), quanto fechada (condição de quantificação de *EL*), apresentaram sinal baixo, próximo a zero, indicando que nas condições do método, o material de parede não influenciou na quantificação do eugenol.

Figura 2 - Espectros UV-Vis, em duplicata, de amostras de microcápsulas branco (sem eugenol) e microcápsulas de eugenol (0,6% m/v) nas condições aberta (a) e fechada (b), aplicando as condições de solubilização para quantificação do eugenol total (*ET*) e eugenol livre (*EL*), respectivamente.



Fonte: Autoria própria (2021).

Na Tabela 2 é apresentada a matriz dos ensaios do planejamento fatorial completo 2^3 , com triplicata no ponto central acompanhada dos valores de *REC* e *EE* em função da variação das concentrações de maltodextrina (MD) (X_1), albumina sérica bovina (BSA) (X_2) e eugenol (X_3).

Tabela 2 - Matriz dos ensaios com os resultados de recuperação percentual de eugenol (REC) e eficiência de encapsulação de eugenol (EE).

Ensaio	X ₁ (%)	X ₂ (%)	X ₃ (%)	REC (%)	EE (%)
1	-1 (5)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	44,0	95,4
2	1 (15)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	42,9	93,7
3	-1 (5)	1 (1,5)	-1 (0,2)	40,4	94,8
4	1 (15)	1 (1,5)	-1 (0,2)	39,4	90,9
5	-1 (5)	-1 (0,5)	1 (0,6)	19,1	91,5
6	1 (15)	-1 (0,5)	1 (0,6)	36,9	95,7
7	-1 (5)	1 (1,5)	1 (0,6)	26,5	93,1
8	1 (15)	1 (1,5)	1 (0,6)	35,5	84,9
9	0 (10)	0 (1,0)	0 (0,4)	39,2	94,9
10	0 (10)	0 (1,0)	0 (0,4)	38,9	93,2
11	0 (10)	0 (1,0)	0 (0,4)	38,3	94,0

X₁ = concentração de maltodextrina (MD); X₂ = concentração de albumina sérica bovina (BSA); X₃ = concentração de eugenol.
Fonte: Autoria própria (2021).

Valores de 19,1% (ensaio 5) a 44,0% (ensaio 1) foram obtidos para a *REC*. Estes valores representam o conteúdo de óleo total retido nas microcápsulas (encapsulado e não encapsulado). Conforme reportado por Felix *et al.* (2017), a concentração de óleo retido nas microcápsulas pode ser influenciada pela área superficial dos materiais durante a pulverização, difusão de substâncias voláteis quando a membrana de formação das cápsulas não é instantânea, além da transferência de materiais voláteis devido a formação de bolhas durante o processo de secagem.

Os valores de *EE* do eugenol variaram de 84,9% (ensaio 8) a 95,4% (ensaio 1) (Tabela 2), evidenciando a viabilidade técnica da obtenção de eugenol microencapsulado por *spray drying*. Estes valores foram superiores aos reportados por Ozdemir *et al.* (2021) (82,34% a 87,19%), que obtiveram microcápsulas de óleos essenciais de manjerição por *spray drying*, tendo como material de parede goma arábica, maltodextrina e proteína do soro do leite.

5.1.1 Análise de efeitos estimados

Para identificar o efeito de cada variável na resposta, os valores de *REC* foram submetidos a análise de efeitos estimados (Tabela 3). Observa-se que todas as variáveis exerceram efeito significativo nos valores médios de *REC* ($p \leq 0,05$), com exceção da concentração de BSA (X₂) ($p > 0,05$). O aumento da concentração de MD

(X_1) do nível -1 para o nível +1 e a combinação de MD e eugenol ($X_1 \times X_3$) e de BSA e eugenol ($X_2 \times X_3$) em um mesmo nível exibiram efeito positivo no valor médio da *REC*.

Tabela 3 - Análise de efeitos estimados para os valores de recuperação percentual de eugenol.

Fator	Efeito	Erro padrão	t(3)	p-valor
Média	35,59	0,15	230,67	<0,00001*
Curvatura	6,43	0,59	10,87	0,0017*
X_1	6,17	0,31	20,01	0,0003*
X_3	-12,18	0,31	-39,46	<0,00001*
$X_1 \times X_2$	-2,18	0,31	-7,05	0,0059*
$X_1 \times X_3$	7,23	0,31	23,42	0,0002*
$X_2 \times X_3$	3,28	0,31	10,61	0,0018*
$X_1 \times X_2 \times X_3$	-2,22	0,31	-7,21	0,0055*

X_1 = concentração de maltodextrina; X_2 = concentração de albumina sérica bovina; X_3 = concentração de eugenol.

*Fatores significativos ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).

Já, o aumento da concentração de eugenol (X_3) e a combinação as variáveis MD e BSA ($X_1 \times X_2$) e das três variáveis ($X_1 \times X_2 \times X_3$) em um mesmo nível apresentaram efeito negativo, resultando na redução de *REC*. Sendo assim, as concentrações dos materiais de parede, e de eugenol resultaram em impacto significativo na retenção de eugenol, principalmente quando observados os efeitos da concentração de MD, eugenol e a combinação destas duas variáveis em um mesmo nível, resultando em redução da *REC*. Em um estudo sobre a microencapsulação de óleo de buriti, rico em carotenoides, por *spray drying* reportado por Ribeiro *et al.* (2020), o aumento da concentração de MD como material de parede também impactou significativamente no aumento da retenção de óleo nas microcápsulas. Os autores sugerem que estes resultados estariam relacionados ao maior conteúdo de MD propiciar uma melhor barreira de proteção, reduzindo as perdas operacionais que poderiam impactar na retenção de óleo. Em contrapartida, o impacto do aumento da concentração de eugenol adicionado no presente estudo se dá pelo requerimento de uma maior proporção de material de parede para assegurar a sua proteção.

Outro efeito que pode ser avaliado em um planejamento fatorial completo é a checagem da curvatura para observar se o delineamento tem um ponto de máximo ou de mínimo para a resposta avaliada. Efeitos significativos positivos indicam ponto de máximo nas condições estudadas e efeitos significativos negativos indicam ponto de mínimo. Neste caso, o valor da curvatura foi positivo e significativo ($p \leq 0,05$) indicando, portanto, um ponto de máximo para a *REC* nas condições experimentais avaliadas.

Os valores de *EE* também foram submetidos a análise de efeitos estimados (Tabela 4). O aumento das concentrações de MD (X_1), BSA (X_2) e eugenol (X_3) do nível inferior (-1) para o superior (1) resultou em efeitos negativos significativos ($p \leq 0,05$), indicando redução da eficiência de encapsulação. Além disso, os efeitos da interação entre X_1 e X_2 e entre X_1 , X_2 e X_3 também foram negativos e significativos ($p \leq 0,05$), indicando que quando foram combinadas em um mesmo nível as concentrações de MD e de BSA e de MD, BSA e eugenol, também houve redução da eficiência de encapsulação. Já a combinação de BSA e eugenol em um mesmo nível também resultou em efeito negativo na eficiência de encapsulação, contudo, não foi significativo ($p > 0,05$). Com relação a checagem da curvatura, apesar do efeito da curvatura apresentar $p = 0,05996$, optou-se por mantê-lo no modelo, por apresentar p-valor próximo a 0,05. Assim, no presente estudo, o efeito da curvatura foi positivo (Tabela 4), indicando que nas condições estudadas houve um ponto de máximo para a *EE* de eugenol.

Tabela 4 - Análise de efeitos estimados para os valores de eficiência de encapsulação de eugenol.

Fator	Efeito	Erro padrão	t(3)	p-valor
Média	92,50	0,27	340,93	<0,00001*
Curvatura	3,07	1,04	2,95	0,05996
X_1	-2,40	0,54	-4,42	0,02146*
X_2	-3,15	0,543	-5,81	0,01017*
X_3	-2,40	0,543	-4,42	0,02146*
X_1*X_2	-3,65	0,543	-6,73	0,00671*
X_2*X_3	-1,45	0,543	-2,67	0,07555
$X_1*X_2*X_3$	-2,55	0,543	-4,70	0,01823*

X_1 = concentração de maltodextrina; X_2 = concentração de albumina sérica bovina; X_3 = concentração de eugenol.

*Fatores significativos ($p \leq 0,05$).

Nota: As variáveis X_1 e X_1*X_2 , apesar de não significativas ao nível de 5%, foram mantidas no modelo para melhor ajuste.

5.1.2 Análise de variância (ANOVA) e superfícies de resposta

A análise de variância foi determinada para os valores de *REC* e de *EE*, sendo apresentadas nas Tabelas 5 e 6, respectivamente. Observa-se que em ambas as respostas o valor de F calculado foi superior ao F crítico, portanto, pode-se dizer que o modelo de regressão é válido ($p \leq 0,05$) para prever a *REC* e *EE* de eugenol. Sendo assim, as equações dos modelos para a *REC* ($R^2 = 0,9989$) e *EE* ($R^2 = 0,9811$),

bem como, suas superfícies de resposta puderam ser geradas (Figuras 3 e 4, respectivamente).

Tabela 5 - Análise de variância para a recuperação percentual de eugenol (REC).

Fontes de variação	SQ	GL	QM	Fcalc	p-valor
Regressão	540,45	7	77,21	405,47	0,0002*
Resíduo	0,57	3	0,19		
Total	541,03	10			

SQ = soma dos quadrados; GL = graus de liberdade; QM = quadrados médios; Fcalc = F calculado.

***p ≤ 0,05.**

Fonte: Autoria própria (2021).

Tabela 6 - Análise de variância para a eficiência de encapsulação de eugenol (EE).

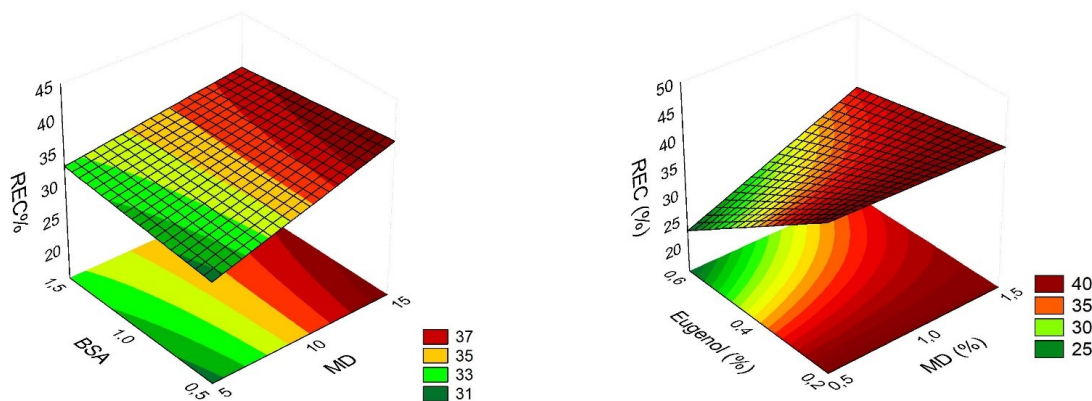
Fontes de variação	SQ	GL	QM	Fcalc	p-valor
Regressão	91,87	7	13,12	22,29	0,0137*
Resíduo	1,77	3	0,59		
Total	93,64	10			

SQ = soma dos quadrados; GL = graus de liberdade; QM = quadrados médios; Fcalc = F calculado.

***p ≤ 0,05.**

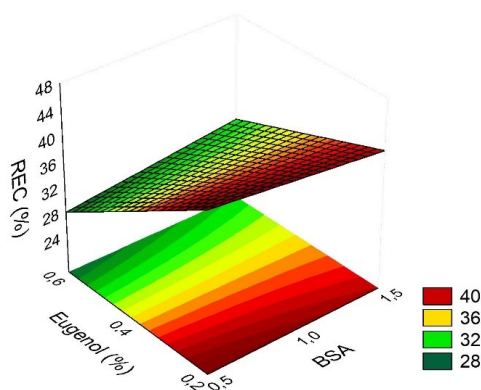
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 3 - Superfícies de resposta para a recuperação percentual de eugenol (REC) (a) em função da variação das concentrações de maltodextrina (MD) (X_1) e albumina sérica bovina (BSA) (X_2), mantendo a concentração de eugenol (X_3) fixa no ponto central; (b) em função da variação das concentrações MD (X_1) e eugenol (X_3), mantendo a concentração de BSA (X_2) fixa no ponto central; (c) em função da variação da concentração de BSA (X_2) e eugenol (X_3), mantendo a concentração de MD (X_1) fixa no ponto central. Equação do modelo para predição da recuperação percentual de eugenol (REC). C = curvatura.



(a)

(b)

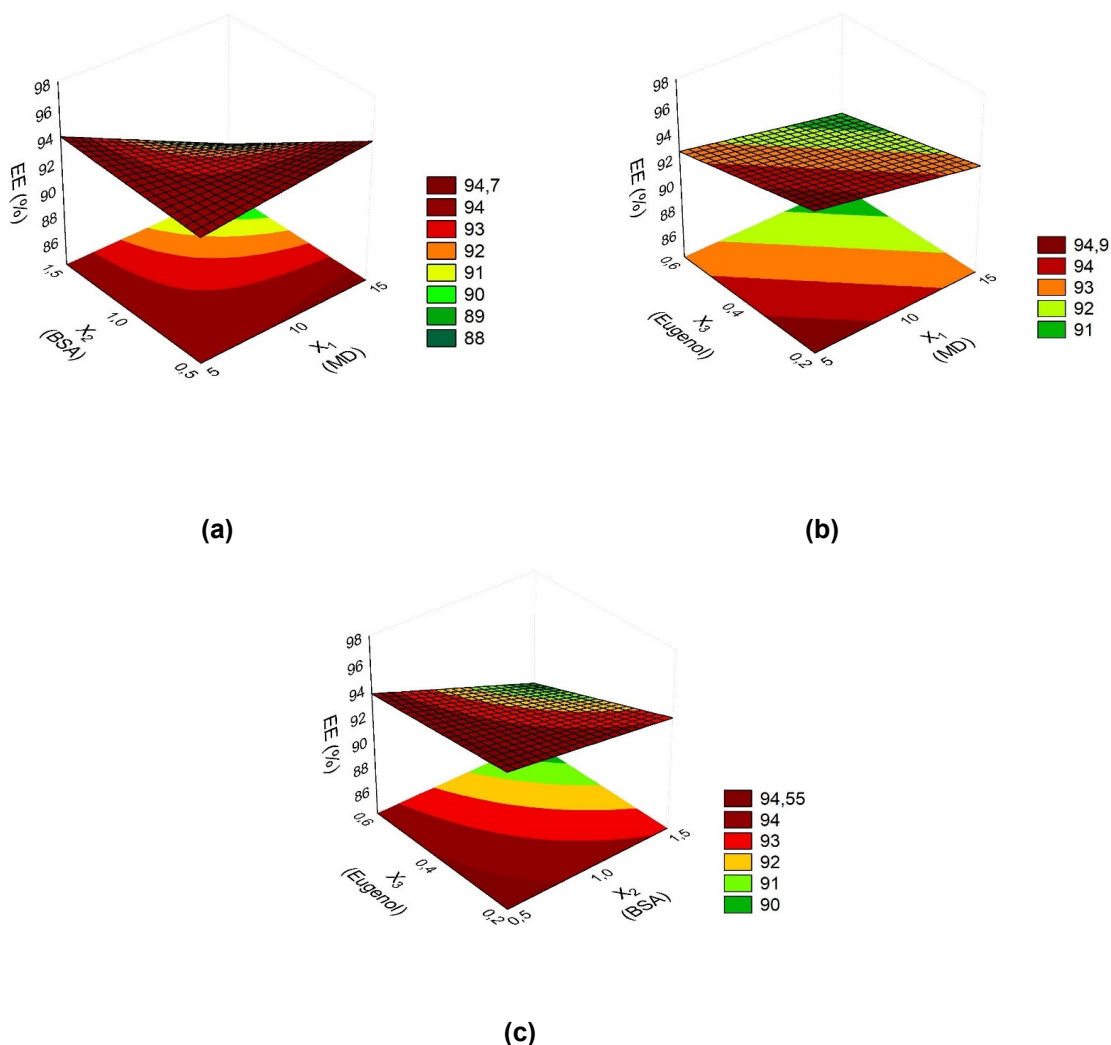


(c)

$$REC (\%) = 35,59 - 3,09X_1 - 6,09X_2 - 1,09X_1X_2 + 3,61X_1X_3 - 1,64X_2X_3 - 1,11X_1X_2X_3 + 3,21C$$

Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 4 - Superfícies de resposta para a eficiência de encapsulação de eugenol (a) em função da variação das concentrações de maltodextrina (MD) (X_1) e albumina sérica bovina (BSA) (X_2), mantendo a concentração de eugenol (X_3) fixa no ponto central; (b) em função da variação das concentrações MD (X_1) e eugenol (X_3), mantendo a concentração de BSA (X_2) fixa no ponto central; (c) em função da variação da concentração de BSA (X_2) e eugenol (X_3), mantendo a concentração de MD (X_1) fixa no ponto central. Equação do modelo para predição da eficiência de encapsulação (EE). C = curvatura.



$$EE (\%) = 92,5 - 2,40X_1 - 3,15X_2 - 2,40X_3 - 3,65X_1X_2 - 1,45X_2X_3 - 2,55X_1X_2X_3 + 3,07C$$

Fonte: Autoria própria (2021).

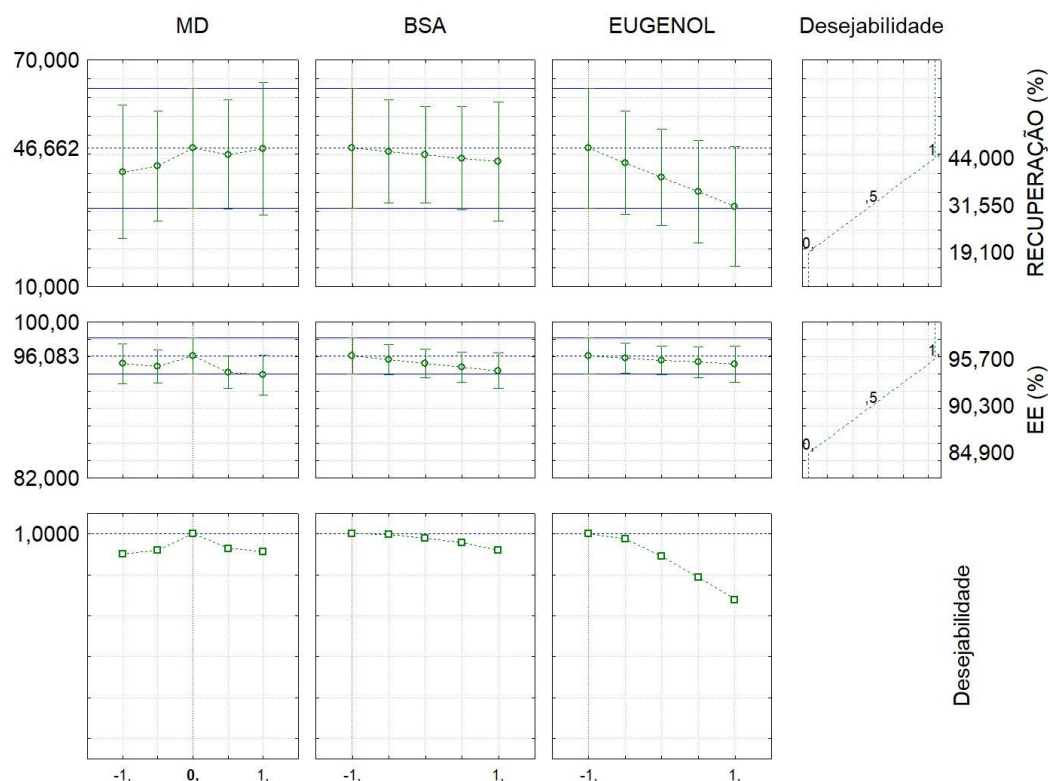
Nas superfícies de resposta para a *REC* (Figuras 3a, 3b e 3c) observa-se que o aumento da concentração de MD e redução da concentração de BSA resultam no aumento da *REC*, conforme previamente observado na análise de efeitos estimados. Nas superfícies de resposta para a *EE* (Figuras 4a, 4b e 4c) é possível observar que o aumento da concentração de MD e de BSA reduz a eficiência de encapsulação, assim como, o aumento da concentração de eugenol. Portanto, a menor proporção dos materiais resultou em maior eficiência de encapsulação, nas condições experimentais estudadas. O aumento da concentração dos materiais de parede e do

encapsulado podem contribuir com o aumento do teor de sólidos e, conseqüente, com o aumento da viscosidade da suspensão. Apesar do aumento da concentração dos materiais ter sido relacionada com aumento da eficiência de microencapsulação, devido a formação do núcleo superficial antes da formação da crosta em torno das gotículas durante a secagem (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007), o aumento da viscosidade acima do nível ideal pode induzir a diminuição na retenção de voláteis na suspensão, expondo-os a altas temperaturas durante a secagem por atomização. Além disso, esta situação pode resultar na formação lenta de gotículas distintas durante a atomização (OZDEMIR *et al.*, 2021), o que pode justificar os resultados obtidos no presente estudo.

5.1.3 Otimização da *REC* e *EE* de eugenol

A análise de desejabilidade (Figura 5) permitiu identificar as concentrações do ponto ótimo das condições estudadas para *REC* (44%) e *EE* (95,7%), sendo MD no ponto central (0 / 10%), BSA no nível inferior (-1 / 0,5%) e eugenol no nível inferior (-1 / 0,2%). Assim, o ensaio do ponto ótimo foi conduzido (ensaio 13) em duplicata e foi obtida *REC* de $45,0 \pm 2,9\%$ e *EE* de $92,9 \pm 0,8\%$.

Figura 5 - Análise de desejabilidade para obtenção da condição ótima para recuperação percentual e eficiência de encapsulação de eugenol.



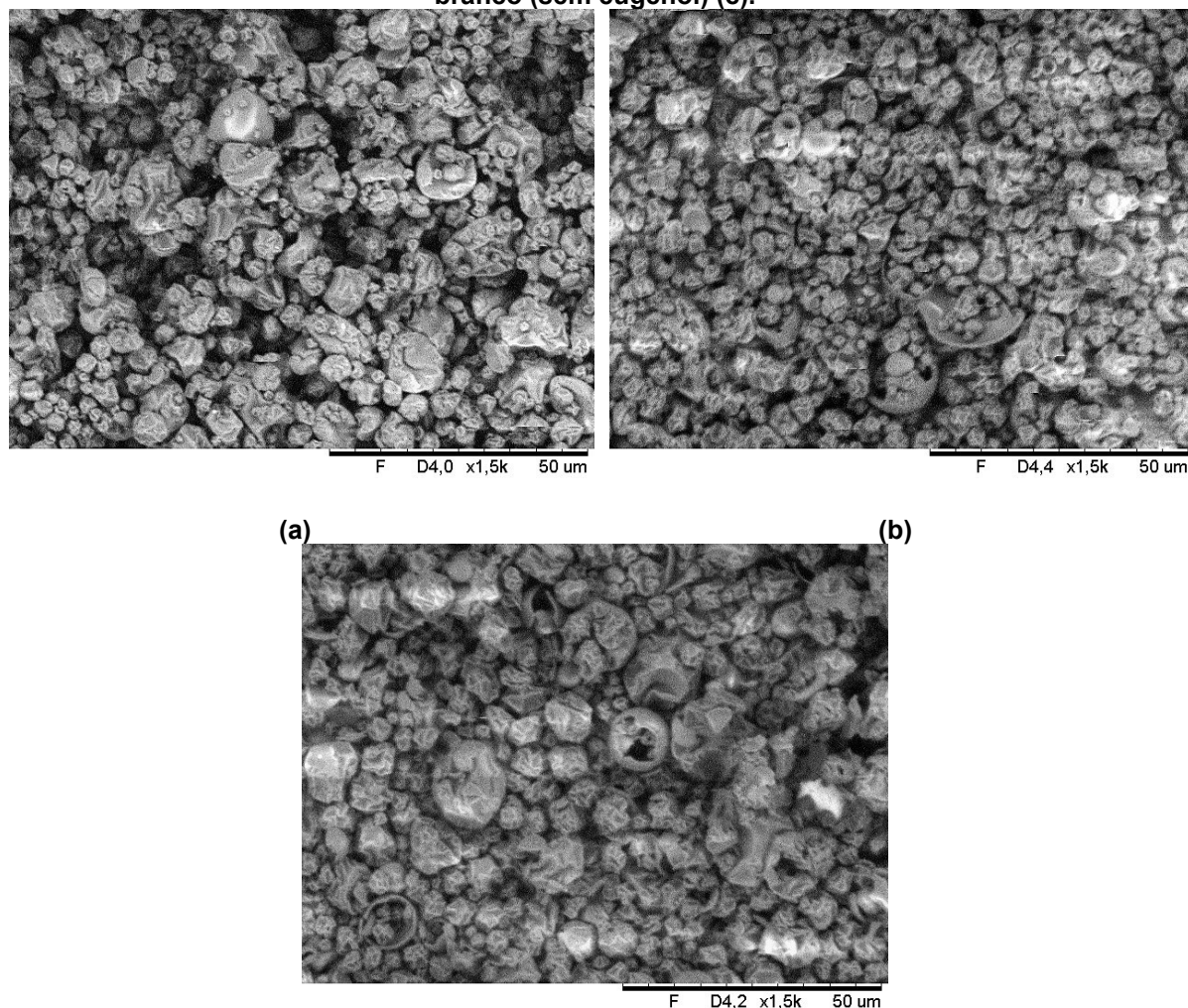
Fonte: Autoria própria (2021).

5.2 Caracterização das microcápsulas

5.2.1 Morfologia e tamanho médio

As microcápsulas obtidas no presente estudo apresentam superfície rugosa (Figura 6). Resultados similares foram reportados por Campelo *et al.* (2017) em óleo essencial de lima microencapsulado em concentrado proteico de soro de leite e maltodextrina. Os autores comentam que a ocorrência de rugosidade superficial das microcápsulas poderia estar associada ao encolhimento do material de parede durante as fases iniciais de secagem. Além disso, a presença de fissuras pode ser observada nas micrografias correspondentes aos ensaios 12 (sem eugenol) e 8; neste último, todas as variáveis foram adicionadas em seu nível superior, corroborando com os resultados do delineamento experimental de *EE* obtidos em comparação aos demais ensaios.

Figura 6 - Morfologia das microcápsulas de eugenol em maltodextrina e albumina sérica bovina correspondente ao ensaio 1 (a) (alta *EE*) e ensaio 8 (b) (baixa *EE*), e microcápsulas branco (sem eugenol) (c).



(c)
Fonte: Autoria própria (2021).

O tamanho médio das microcápsulas variou de 1,3 μm (ensaio 2) a 4,2 μm (ensaio 12, sem eugenol), conforme pode ser visualizado na Tabela 7, sendo diferentes estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$). Valores entre 0,2 a 10 μm foram reportados por Pereira *et al.* (2007) para eugenol microencapsulado em quitosana, por *spray drying*. Bittencourt *et al.* (2021) em seu estudo sobre microencapsulação de eugenol em albumina sérica bovina, carragena e proteína do farelo de arroz por *spray drying* reportaram valores de tamanho médio entre 3,4 e 4,6 μm . Os valores obtidos no presente estudo, portanto, foram similares aos reportados na literatura.

Tabela 7 - Valores de tamanho médio (μm) e da medida instrumental de cor em termos de L* (luminosidade), a* (+a = vermelho; -a = verde) e b* (+b = amarelo; -b = azul) das microcápsulas de eugenol em maltodextrina e albumina sérica bovina, de acordo com a variação das condições experimentais, e microcápsulas branco (sem eugenol) (ensaio 12).

Ensaio	MD (% m/v)	BSA (% m/v)	Eugenol (% m/v)	Tamanho médio (μm)	L*	a*	b*
1	-1 (5)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	2,2 ^{cd} \pm 0,3	64,62 ^{bc} \pm 0,71	-3,90 ^{abc} \pm 0,08	9,23 ^{cd} \pm 0,81
2	1 (15)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	1,3 ^d \pm 0,4	66,06 ^b \pm 1,11	-3,79 ^a \pm 0,12	7,42 ^f \pm 0,14
3	-1 (5)	1 (1,5)	-1 (0,2)	3,6 ^{abc} \pm 1,3	65,27 ^{bc} \pm 0,40	-3,80 ^{ab} \pm 0,08	10,11 ^c \pm 0,23
4	1 (15)	1 (1,5)	-1 (0,2)	2,3 ^{cd} \pm 0,3	65,81 ^b \pm 0,30	-3,88 ^{abc} \pm 0,07	8,18 ^{def} \pm 0,42
5	-1 (5)	-1 (0,5)	1 (0,6)	2,8 ^{abcd} \pm 0,2	63,14 ^c \pm 0,69	-3,91 ^{abc} \pm 0,11	13,07 ^a \pm 0,10
6	1 (15)	-1 (0,5)	1 (0,6)	4,0 ^{ab} \pm 0,7	65,53 ^{bc} \pm 0,59	-3,96 ^{abcd} \pm 0,01	7,97 ^{ef} \pm 0,27
7	-1 (5)	1 (1,5)	1 (0,6)	2,9 ^{abcd} \pm 0,2	64,33 ^{bc} \pm 0,09	-4,04 ^{abcde} \pm 0,05	11,58 ^b \pm 0,03
8	1 (15)	1 (1,5)	1 (0,6)	1,9 ^d \pm 0,5	64,13 ^{bc} \pm 0,82	-4,03 ^{abcde} \pm 0,01	9,30 ^{cd} \pm 0,12
9	0 (10)	0 (1,0)	0 (0,4)	1,9 ^d \pm 0,5	64,45 ^{bc} \pm 0,36	-4,27 ^e \pm 0,03	9,07 ^{cde} \pm 0,16
10	0 (10)	0 (1,0)	0 (0,4)	1,9 ^d \pm 0,8	64,84 ^{bc} \pm 0,83	-4,17 ^{de} \pm 0,04	8,01 ^{ef} \pm 0,11
11	0 (10)	0 (1,0)	0 (0,4)	2,5 ^{bcd} \pm 0,3	64,73 ^{bc} \pm 0,08	-4,16 ^{de} \pm 0,01	8,51 ^{def} \pm 0,06
12	0 (10)	0 (1,0)	-	4,2 ^a \pm 0,4	63,42 ^c \pm 0,52	-4,11 ^{cde} \pm 0,06	6,26 ^g \pm 0,19
13	0 (10)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	-	72,29 ^a \pm 0,33	-4,04 ^{bcde} \pm 0,01	7,80 ^f \pm 0,01

Valores expressos como média \pm desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes da mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).

5.2.2 Medida Instrumental de Cor

Com relação a medida instrumental de cor (Tabela 7), observa-se que o parâmetro L^* (luminosidade) variou de 63,14 a 72,29 diferindo entre as condições experimentais ($p \leq 0,05$), sendo que o maior valor foi observado para o ensaio 13 (ponto ótimo) e menor valor para o ensaio 5. Isto pode estar relacionado a proporção dos materiais de parede, enquanto no ensaio 13 tem-se BSA e eugenol em seus níveis inferiores e MD em seu ponto central, no ensaio 5 tem-se todas as variáveis em seu nível superior, de modo que o aumento da BSA e do eugenol podem ter contribuído com a redução da luminosidade das amostras.

Para o parâmetro a^* (componente verde-vermelho) foram observados valores negativos para todas as amostras variando de -4,37 (ensaio 9) a -3,79 (ensaio 2), o que indica uma tonalidade esverdeada para as amostras. Já para o parâmetro b^* (componente azul-amarelo), os valores variaram de 6,26 (ensaio 12) a 13,07 (ensaio 5), exibindo, portanto, tonalidade amarelada, sendo o menor valor observado para as microcápsulas do ensaio branco (sem eugenol) e o maior para o ensaio com menor recuperação percentual de eugenol (ensaio 5). Estes resultados demonstraram que a concentração de eugenol afetou a tonalidade amarelada das amostras.

5.2.3 Atividade de água, umidade, higroscopicidade e solubilidade

Na Tabela 8 são apresentados os valores de atividade de água (A_w), umidade, higroscopicidade e solubilidade das amostras de microcápsulas produzidas. Com relação a A_w , os valores obtidos variaram entre 0,0660 (ensaio 13) a 0,1814 (ensaio 5), diferindo estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$). Estes resultados demonstram que o processo de secagem foi eficiente, uma vez que se recomendam valores menores do 0,6 para garantia de segurança microbiológica em produtos secos por atomização (FAVARO-TRINDADE *et al.*, 2010).

Tabela 8 - Valores de atividade de água (Aw), umidade, higroscopicidade e solubilidade em água das microcápsulas de eugenol em maltodextrina e albumina sérica bovina, de acordo com a variação das condições experimentais, e microcápsulas branco (sem eugenol) (ensaio 12).

Ensaio	MD (% m/v)	BSA (% m/v)	Eugenol (% m/v)	Aw	Umidade (%)	Higroscopicidade (g água 100 g ⁻¹)	Solubilidade em água (s)
1	-1 (5)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	0,1575 ^{ab} ± 0,0159	2,95 ^{ab} ± 0,06	14,00 ± 0,68	71 ^b ± 4
2	1 (15)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	0,1017 ^{bcd} ± 0,0258	2,27 ^{abc} ± 0,67	15,02 ± 0,38	160 ^a ± 65
3	-1 (5)	1 (1,5)	-1 (0,2)	0,1490 ^{abc} ± 0,0122	3,06 ^a ± 0,17	13,81 ± 0,88	106 ^{ab} ± 8
4	1 (15)	1 (1,5)	-1 (0,2)	0,0959 ^{cd} ± 0,0122	2,05 ^{abc} ± 0,08	14,56 ± 0,11	150 ^{ab} ± 14
5	-1 (5)	-1 (0,5)	1 (0,6)	0,1814 ^a ± 0,0281	2,96 ^{ab} ± 0,07	13,98 ± 0,75	102 ^{ab} ± 15
6	1 (15)	-1 (0,5)	1 (0,6)	0,1152 ^{bcd} ± 0,0205	1,74 ^c ± 0,04	14,83 ± 0,16	97 ^{ab} ± 12
7	-1 (5)	1 (1,5)	1 (0,6)	0,1479 ^{abc} ± 0,0276	2,58 ^{abc} ± 0,02	13,44 ± 0,72	87 ^{ab} ± 6
8	1 (15)	1 (1,5)	1 (0,6)	0,1095 ^{bcd} ± 0,0148	1,72 ^c ± 0,19	14,52 ± 0,30	132 ^{ab} ± 22
9	0 (10)	0 (1,0)	0 (0,4)	0,1389 ^{abc} ± 0,0117	2,22 ^{abc} ± 0,20	14,55 ± 0,66	114 ^{ab} ± 12
10	0 (10)	0 (1,0)	0 (0,4)	0,1208 ^{bcd} ± 0,0077	1,88 ^{bc} ± 0,10	14,64 ± 0,65	124 ^{ab} ± 19
11	0 (10)	0 (1,0)	0 (0,4)	0,1149 ^{bcd} ± 0,0186	1,90 ^{abc} ± 0,07	14,71 ± 0,64	135 ^{ab} ± 7
12	0 (10)	0 (1,0)	-	0,1179 ^{bcd} ± 0,0274	1,98 ^{abc} ± 0,11	14,57 ± 0,45	88 ^{ab} ± 1
13	0 (10)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	0,0660 ^d ± 0,0016	1,96 ^{abc} ± 0,74	16,11 ± 1,05	108 ^{ab} ± 3

Valores expressos como média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes da mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).

Os valores para o teor de umidade foram similares entre as amostras, sendo observado o maior valor para o ensaio 3 (3,09%) e o menor valor para o ensaio 6 (1,74%). De acordo com Gardiner *et al.* (2000), para o melhor armazenamento de pós é recomendado um residual de umidade de 4% ou menos, portanto, todos os ensaios apresentaram valores adequados.

A higroscopicidade representa a habilidade das amostras em absorver a umidade da atmosfera, de modo que valores muito altos podem resultar na agregação do pó, afetando sua estabilidade (MAHDI *et al.*, 2019). Os valores obtidos no presente estudo variaram entre 13,44 e 16,11 g água 100 g⁻¹ e não diferiram entre as amostras, sendo inferiores aos reportados por Alvarenga Botrel *et al.* (2012) em seu estudo sobre microencapsulação de óleo essenciais de orégano em maltodextrina, amido modificado e goma arábica (de 22,30 a 26,27 g água 100 g⁻¹).

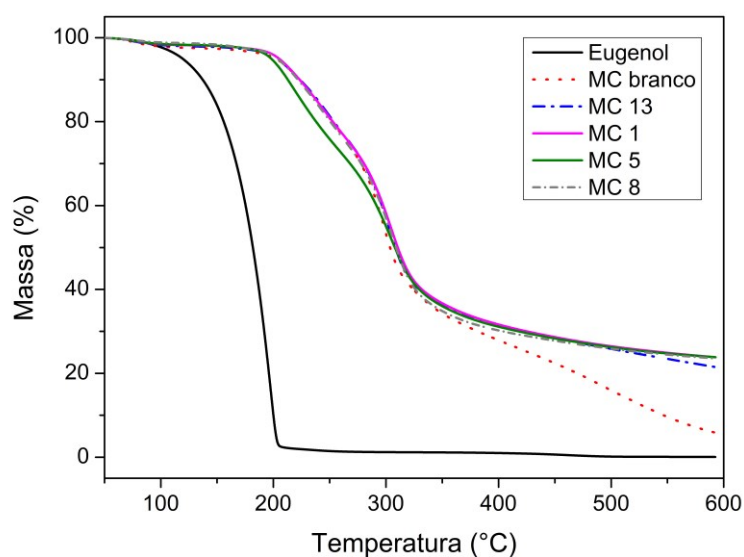
Na análise de solubilidade das microcápsulas valores entre 71 s (ensaio 1) e 160 s (ensaio 2) foram obtidos, em função das condições experimentais, sendo estes dois valores estatisticamente diferentes entre si ($p \leq 0,05$) e similares entre as demais amostras. Como do ensaio 1 para o ensaio 2 houve o aumento da concentração de MD, esta diferença poderia estar relacionada a maior proporção de MD da formulação. A obtenção de microcápsulas de eugenol solúveis em água possibilitam a ampliação de sua aplicação, uma vez que em sua forma livre apresenta baixa solubilidade em água. Segundo Mahdi *et al.* (2019) a solubilidade de pós microencapsulados é um fator decisivo para a qualidade dos mesmos quanto a sua aplicação como ingrediente na indústria alimentícia. Pós que apresentam baixa solubilidade podem causar dificuldades de processamento e perdas econômicas.

5.2.4 Análises termogravimétricas

Na Figura 7 são apresentadas as curvas termogravimétricas (TG) para as amostras de eugenol puro e para as formulações de microcápsulas de eugenol e microcápsulas branco (sem eugenol). Com relação à curva correspondente ao eugenol puro, observa-se uma perda de massa de 5% à temperatura de 115 °C, que corresponde ao início da temperatura de degradação do eugenol. A temperatura de degradação ocorreu próximo a 203 °C, com uma perda de massa de 97%. Resultados similares foram reportados por Figueroa-Lopez *et al.* (2020) ao avaliar o eugenol puro,

em seu estudo sobre encapsulação de eugenol em poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) por *electrospinning*. Estes resultados confirmam a instabilidade térmica do eugenol, o que dificulta sua aplicação industrial na forma livre. Esta perda de massa acentuada próxima a 200 °C está relacionada a completa degradação dos compostos orgânicos do eugenol (PILETTI *et al.*, 2017).

Figura 7 - Curvas termogravimétricas (TG) das amostras de eugenol puro, microcápsulas de MD e BSA sem eugenol (MC branco), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 13 (MC 13), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 1 (MC 1), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 5 (MC 5) e microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 8 (MC 8).



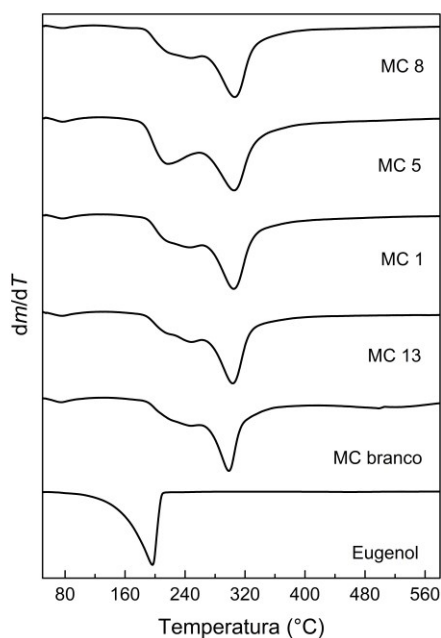
Fonte: Autoria própria (2021).

A perda de massa para as amostras de microcápsulas ocorreu em temperaturas superiores às registradas para o eugenol puro. Perdas de 10% e 60% de massa foram observadas nas respectivas temperaturas de 225 e 325 °C, para MC branco (sem eugenol) e para as microcápsulas correspondentes aos ensaios 13 (MC 13: ponto ótimo), ensaio 1 (MC 1: valor de *EE* elevado) e ensaio 8 (MC 8: valor de *EE* inferior). Para as microcápsulas do ensaio 5 (MC 5: menor *REC*) as perdas de 10 e 60% foram registradas em 210 e 325 °C, respectivamente. Perdas de massa entre 200 e 380 °C podem estar relacionadas a desidratação e decomposição da proteína presente no material de parede (ZHOU *et al.*, 2017). Estes resultados sugerem que o processo de encapsulação resultou em melhoria na estabilidade térmica do eugenol.

As curvas derivadas (DTG) correspondentes às curvas TG das amostras (Figura 8) também foram geradas apenas para facilitar a visualização dos principais

eventos térmicos registrados. O eugenol puro apresentou um único evento térmico próximo a 200 °C, conforme previamente discutido na curva TG como degradação térmica do mesmo. Com relação as microcápsulas, um primeiro evento térmico é observado próximo a 220 °C para MC branco e para as microcápsulas MC 13 (ponto ótimo), MC 1 (*REC* e *EE* superiores) e MC 8 (*EE* inferior). Porém, para MC 5 (*REC* inferior), este primeiro evento apresenta um pico mais pronunciado quando comparado às demais amostras, em uma temperatura inferior, próxima a 210 °C, o que poderia indicar liberação do eugenol, sugerindo fraca interação entre os materiais de parede e o eugenol nas condições experimentais estudadas. Um segundo pico pronunciado foi observado para todas as amostras de microcápsulas em uma temperatura próxima a 300 °C, o que caracteriza a degradação do material de parede e, portanto, a liberação completa do eugenol.

Figura 8 - Curvas derivadas (DTG) correspondentes às termogravimétricas (TG) das amostras de eugenol puro, microcápsulas de MD e BSA sem eugenol (MC branco), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 13 (MC 13), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 1 (MC 1), microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 5 (MC 5) e microcápsulas de eugenol em MD e BSA ensaio 8 (MC 8).

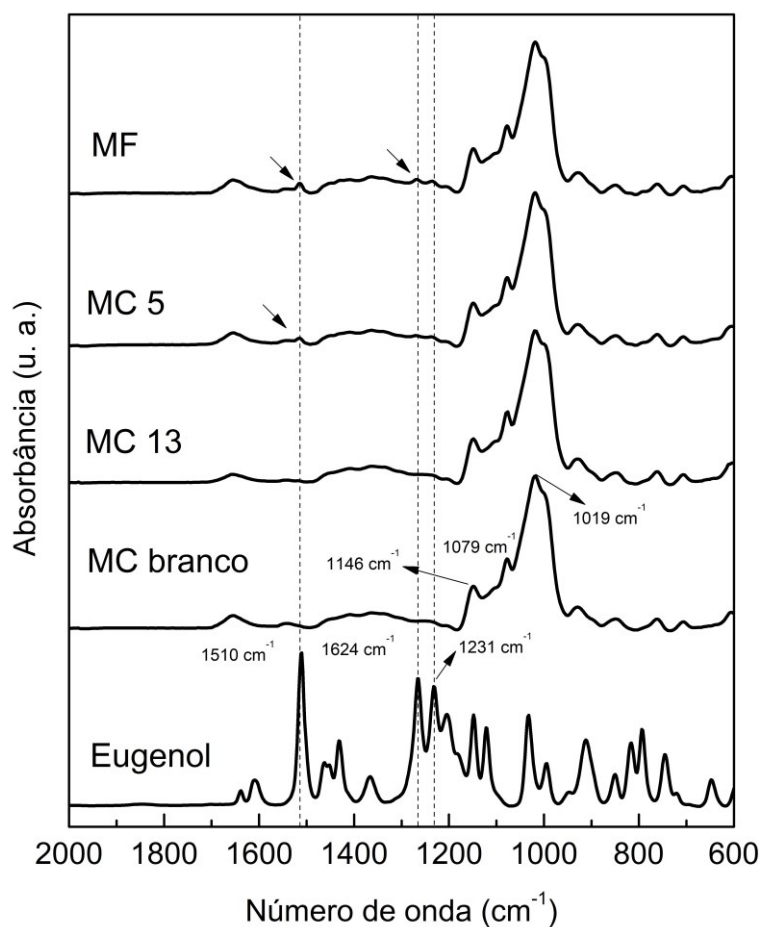


Fonte: Autoria própria (2021).

5.2.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em modo de refletância total atenuada (ATR)

A análise de FTIR-ATR foi aplicada para confirmar a eficiência de encapsulação, uma vez que bandas de infravermelho características do composto bioativo no espectro FTIR-ATR sugerem a sua presença na superfície das microcápsulas, indicando baixa eficiência de encapsulação (SCREMIN *et al.*, 2018; WORANUCH; YOKSAN, 2013). Na Figura 9 são apresentados os espectros FTIR-ATR do eugenol puro, da amostra de microcápsula branco e das amostras de eugenol microencapsulado correspondentes aos ensaios 13 (MC 13), 5 (MC 5) e a mistura física das microcápsulas branco e eugenol (MF).

Figura 9 - Espectros FTIR das mistura física (MF) correspondente as microcápsulas branco (sem eugenol) e eugenol, das microcápsulas de eugenol do ensaio 5 (MC 5), das microcápsulas de eugenol ensaio (MC 13), das microcápsulas branco (MC branco) e do eugenol puro.



Fonte: Autoria própria (2021).

Observa-se que o espectro das microcápsulas do ensaio 13 apresenta similaridade ao das microcápsulas branco, sendo observadas bandas características nas regiões de 1146, 1079 e 1019 cm^{-1} , relacionadas as vibrações C-O e C-O-H da maltodextrina (KARRAR *et al.*, 2021). Já na mistura física (MF) de microcápsulas branco e eugenol, além das bandas características do material de parede, bandas características de eugenol são observadas na região de 1510, 1264 e 1231 cm^{-1} , correspondentes as vibrações C=C do anel aromático, vibração C-O e vibração C-O-C, respectivamente (CELEBIOGLU *et al.*, 2018). Assim, os resultados confirmam a eficiência de encapsulação do eugenol nas condições de otimização estudadas. Ademais, no espectro das microcápsulas do ensaio 5 (MC 5) também são observadas as mesmas bandas de eugenol identificadas na mistura física, mas em menor intensidade. Estes resultados corroboram com o observado nas análises termogravimétricas, indicando a presença de eugenol próximo à face externa das microcápsulas, o que sugere menor estabilidade das mesmas.

6 CONCLUSÃO

O aumento das concentrações dos materiais de parede e do eugenol reduziram os valores médios de *REC* e *EE*, com exceção do aumento da MD que resultou em aumento da *REC*. Portanto, na análise de desejabilidade, a condição experimental otimizada compreendeu a MD em seu ponto central e a BSA e o eugenol em seus níveis inferiores. Quanto a caracterização, as microcápsulas obtidas apresentaram superfície rugosa, tamanhos médios inferiores a 5 μm e valores de atividade de água, umidade, higroscopicidade e solubilidade adequados quando comparados com a literatura. As análises termogravimétricas e de infravermelho permitiram confirmar a estabilidade térmica e a eficiência de encapsulação das microcápsulas, respectivamente. Portanto, o processo de microencapsulação foi considerado eficiente e a obtenção de eugenol microencapsulado apresenta-se como uma alternativa tecnológica viável para uso industrial.

REFERÊNCIAS

- AHMADIAN, Z.; NIAZMAND, R.; POURFARZAD, A. Microencapsulation of Saffron Petal Phenolic Extract: Their Characterization, In Vitro Gastrointestinal Digestion, and Storage Stability. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 10, p. 2745-2757, 2019.
- ALVARENGA BOTREL, D.; *et al.* Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 11, p. 2289-2296, 2012.
- ALVIM, I. D. GROSSO, C. R. F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 1069-1076, 2010.
- ANEKELLA, K.; ORSAT, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 17-24, 2013.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (method 900.02)**. Arlington: A.O.A.C., 2005.
- ASTOLFI-FILHO, Z.; *et al.* Encapsulação de suco de maracujá por co-cristalização com sacarose: cinética de cristalização e propriedades físicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 795-801, 2005.
- BAKRY, A. M.; *et al.* Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 143-182, 2016.
- BANERJEE, S.; *et al.* Influence of process variables on essential oil microcapsule properties by carbohydrate polymer-protein blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, n. 2, p. 691-697, 2013.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BITTENCOURT, P. R. S.; *et al.* Optimization of eugenol-loaded microcapsules obtained by spray drying using a simplex-centroid mixture design. **Química Nova**, v. XY, n. 0, p. 1-7, 2021.
- CAMPELO, P. H.; *et al.* Effect of dextrose equivalent on physical and chemical properties of lime essential oil microparticles. **Industrial Crops and Products**, v. 102, p. 105-114.
- CARNEIRO, H. C. T; *et al.* Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v. 115, p. 443-451 2013.
- CASTRO, I. A.; *et al.* Simultaneous optimization of response variables in protein mixture formulation: Constrained simplex method approach. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 103-110, 2003.
- CELEBIOGLU, A.; *et al.* Fabrication of electrospun eugenol/cyclodextrin inclusion complex nanofibrous webs for enhanced antioxidant property, water solubility, and

high temperature stability. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 66, p. 457–466, 2018.

CHATTERJEE, D.; BHATTACHARJEE, P. Comparative evaluation of the antioxidant efficacy of encapsulated and un-encapsulated eugenol-rich clove extracts in soybean oil: Shelf-life and frying stability of soybean oil. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 545–550, 2013.

CHEN, H.; ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of spray-dried zein–casein nanocapsules with co-encapsulated eugenol and thymol. **Journal of Food Engineering**, v. 144, p. 93–102, 2015.

CHOI, M.-J.; *et al.* Physical and light oxidative properties of eugenol encapsulated by molecular inclusion and emulsion–diffusion method. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 148–156, 2009.

DE SOUZA, J. R. R.; *et al.* Spray-drying encapsulation of mangiferin using natural polymers. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 10–18, 2013.

DEVI, K. P.; *et al.* Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 1, p. 107–115, 2010.

DIMA, C.; *et al.* Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 22, p. 203–211, 2014.

DUBEY, R.; *et al.* Microencapsulation technology and applications. **Defence Science Journal**, v. 59, n. 1, p. 82–95, 2009.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C. Revisão - Microencapsulação de ingredientes alimentícios.pdf. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 2, p. 103–112, 2008.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; *et al.* The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 336–340, 2010.

FERNANDES, L. P. **Desenvolvimento tecnológico de produtos particulados obtidos a partir de *Lippia sidoides* pela técnica de spray drying e avaliação das propriedades antifúngicas**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FELIX, P. H. .C; *et al.* Physicochemical and Thermal Stability of Microcapsules of Cinnamon Essential Oil by Spray Drying. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, p. 1–9, 2017.

FIGUEROA-LOPEZ, K. J. *et al.* Development of electrospun poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) monolayers containing eugenol and their application in multilayer antimicrobial food packaging. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, n. 147, 2020.

FUCHS, M.; *et al.* Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, v. 75, n. 1, p. 27–35, 2006.

FRITZEN-FREIRE, C. B.; *et al.* Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 306–312, 2012.

GARCÍA-GARCÍA, R.; LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E. Bactericidal Action of Binary and Ternary Mixtures of Carvacrol, Thymol, and Eugenol against *Listeria innocua*. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. 95–100, 2011.

- GARDINER, G.; *et al.* Comparative survival of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 2605-2612, 2000.
- GOULA, A. M.; *et al.* Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. **Journal of Food Engineering**, v. 85, n. 1, p. 73-83, 2008
- GHARSALLAOUI, A.; *et al.* Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, 2007.
- GOUIN, S. Microencapsulation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 7–8, p. 330–347, 2004.
- JAFARI, S. M.; *et al.* Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. **Drying Technology**, v. 26, n. 7, p. 816–835, 2008.
- KAMATOU, G. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M. Eugenol - From the remote Maluku Islands to the international market place: A review of a remarkable and versatile molecule. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6953–6981, 2012.
- KARRAR, E.; *et al.* Effect of maltodextrin combination with gum arabic and whey protein isolate on the microencapsulation of gurum seed oil using a spray-drying method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 171, p. 208-216, 2021.
- KOÇ, M.; *et al.* Microencapsulation of Extra Virgin Olive Oil by Spray Drying: Effect of Wall Materials Composition, Process Conditions, and Emulsification Method. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 2, p. 301–318, 2015.
- LAM, R. S. H.; NICKERSON, M. T. Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure–function approach. **Food Chemistry**, v. 141, p. 975–984, 2013.
- LOYEAU, P. A.; *et al.* Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 using whey proteins and dextrans conjugates as wall materials. **Food Hydrocolloids**, v. 85, p. 129–135, 2018.
- MADENE, A.; *et al.* Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 1-21, 2006.
- MAHDI, A. A.; *et al.* Microencapsulation of Fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 152, n. 1 June 2020, p. 1125-1134, 2019.
- MARTINS, I. M.; *et al.* Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 245, p. 191–200, 2014.
- MERCK. **Eugenol Sigma-Aldrich**. 2021. Disponível em: https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Eugenol,MDA_CHEM-818455 Acesso em: 19 nov. 2021.
- OGATA, M; HOSHI, M; URANO, S; ENDO, T. Antioxidant activity of eugenol and related monomeric and dimeric compounds. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, n. 10, p. 1467–1469, 2000.

- OZDEMIR, N.; *et al.* Microencapsulation of basil essential oil: utilization of gum arabic/whey protein isolate/maltodextrin combinations for encapsulation efficiency and in vitro release. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, p. 1865-1876, 2021.
- PENG, C.; ZHAO, S.-Q.; ZHANG, J.; HUANG, G.-Y.; CHEN, L.-Y.; ZHAO, F.-Y. Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed essential oil by complex coacervation. **Food Chemistry**, v. 165, p. 560-568, 2014.
- PEREIRA, T.; *et al.* **Microencapsulação do óleo eugenol pelo método de spray drying**. 2007. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Bacharelado em Química). Departamento de Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis (SC). Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/105202/Taize_Pereira.pdf?sequence=1&isAllowed=y Acesso em: 20 nov. 2021.
- PILETTI, R.; *et al.* Microencapsulation of eugenol molecules by β -cyclodextrine as a thermal protection method of antibacterial action. **Materials Science and Engineering: C**, v. 75, p. 259-271.
- PRATA, A. S.; SGARBIERI, V. C. Obtenção e caracterização química e nutricional in vitro das proteínas do soro de sangue bovino. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 327–332, 2005.
- RAUSCHER, F. M.; SANDERS, R. A; WATKINS, J. B. Effects of combined quercetin and coenzyme Q(10) treatment on oxidative stress in normal and diabetic rats. **Journal of biochemical and molecular toxicology**, v. 16, n. 4, p. 197–202, 2002.
- RÉ, M. I. Drying Technology: An International Journal. **Drying Technology**, v. 16, n. 2, p. 1195–1236, 1998.
- REINECCIUS, G. A. The Spray Drying of Food Flavors. **Drying Technology**, v. 22, n. 6, p. 1289–1324, 2004.
- RIBEIRO, M. L. F. F.; *et al.* Effects of maltodextrin content in double-layer emulsion for production and storage of spray-dried carotenoid-rich microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, v. 124, p. 208-221, 2020.
- SANTOS, A. B; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 322-326, 2005
- SHINDE, U.; NAGARSENKER, M. Microencapsulation of eugenol by gelatinsodium alginate complex coacervation. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 73, p. 311-315, 2011.
- SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro, RJ; 6° ed.; 2000.
- SCREMIN, F. R.; *et al.* Synthesis and characterization of protein microcapsules for eugenol storage. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, p. 653-660, 2018.
- SUTAPHANIT, P.; CHITPRASERT, P. Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 150, p. 313–320, 2014.

- TALÓN, E.; *et al.* Antioxidant starch-based films with encapsulated eugenol. Application to sunflower oil preservation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 113, n. 10890, p. 1–10, 2019.
- VEIGA, R. S.; *et al.* Uso de carragena na microencapsulação de eugenol. In: VIEIRA, Vanessa Bordin (ed.). **Desafios da Ciência e Tecnologia de Alimentos 4**. 4th ed. Ponta Grossa: Athena Editora, 2018. p. 123.
- WANG, R.; TIAN, Z.; CHEN, L. A novel process for microencapsulation of fish oil with barley protein. **Food Research International**, v. 44, n. 9, p. 2735–2741, 2011.
- WANG, Y.; *et al.* Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. **International journal of food microbiology**, v. 136, n. 1, p. 71-74, 2009.
- WORANUCH, S.; YOKSAN, R. Eugenol-loaded chitosan nanoparticles: I. Thermal stability improvement of eugenol through encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 96, p. 578–585, 2013.
- YULIANI, S.; *et al.* Application of Microencapsulated Flavor to Extrusion Product. **Food Reviews International**, v. 20, n. 2, p. 163–185, 2004.
- ZBICINSKI, I.; *et al.* Advanced experimental analysis of drying kinetics in spray drying. **Chemical Engineering Journal**, v. 86, n. 1–2, p. 207–216, 2002.
- ZHANG, J.; ROSENBERG, Y.; ROSENBERG, M. Microencapsulation properties of wall systems consisting of WHPI and carbohydrates. **AIMS - Agriculture and Food**, v. 3, n. 1, p. 66–84, 2018.
- ZHOU, D.; *et al.* Preparation of walnut oil microcapsules employing soybean protein isolate and maltodextrin with enhanced oxidation stability of walnut oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 83, p. 292-297, 2017.