

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**MARISTELA RAUPP DOS SANTOS**

**PROCESSO DE ELETROENCAPSULAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DE  
MICROCÁPSULAS CONTENDO *Spirulina platensis***

**MEDIANEIRA**

**2022**

**MARISTELA RAUPP DOS SANTOS**

**PROCESSO DE ELETROENCAPSULAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DE  
MICROCÁPSULAS CONTENDO *Spirulina platensis***

**Electroencapsulation process for obtaining microcapsules containing *Spirulina  
platensis***

Dissertação apresentada como requisito para  
obtenção do título de Mestre em Tecnologia de  
Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do  
Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Dra. Eliane Colla.

Coorientador(a): Dr. Paulo Rodrigo Stival Bittencourt.

**MEDIANEIRA**

**2022**



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

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



**Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Medianeira**



MARISTELA RAUPP DOS SANTOS

**PROCESSO DE ELETROENCAPSULAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DE MICROCÁPSULAS CONTENDO  
SPIRULINA PLATENSIS**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 01 de Abril de 2022

Prof.a Eliane Colla, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Deisy Alessandra Drunkler, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Luciane Maria Colla, Doutorado - Universidade de Passo Fundo (Upf)

Prof.a Rosana Aparecida Da Silva Buzanello, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 01/04/2022.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus que me sustentou e me deu forças para a conclusão deste trabalho e por seu infinito amor na realização deste sonho.

Aos Professores Dra. Eliane Colla, Dr. Paulo Rodrigo Stival Bittencourt, Dr. Leandro Herculano da Silva pela oportunidade e incansável dedicação para que esse projeto fosse concluído. Agradeço também a todos os colegas da universidade que me auxiliaram, de modo especial, ao Leandro Lima Aquino, a Luci Emi Ogava e a Pati Gamero que foram meu braço direito durante o período da pesquisa.

Agradeço a meu esposo Thiago Damião que me apoiou, acreditou em mim e fez-se dom para que eu continuasse nessa jornada, sem ele certamente não teria chegado aqui.

A toda a minha família, principalmente meus pais Clodoaldo e Marlene, minha irmã Márcia e meu cunhado Maiquiel que me encorajaram, me acolheram em suas casas e estiveram comigo durante os momentos alegres e também difíceis.

Por fim, a todos os Professores da UTFPR, que ao longo de toda a minha jornada acadêmica trouxeram, não somente ensinamentos para a carreira profissional, como também aprendizados e lições para toda a vida.

Agradeço também a CEANMED - Central Analítica Multiusuário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Medianeira, Paraná, Brasil, pelos ensaios realizados e a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

Dai-me a penetração da inteligência, a faculdade  
de lembrar-me, o método e a facilidade do estudo,  
a profundidade na interpretação e uma graça  
abundante de expressão.  
Fortificai o meu estudo, dirigi o seu curso,  
aperfeiçoai o seu fim.  
(SÃO TOMÁS DE AQUINO apud PIO XI, 1923).

## RESUMO

A biomassa de *Spirulina platensis* (Sp) têm motivado pesquisas para sua incorporação em alimentos devido seu potencial nutracêutico, entretanto, estando presente em uma matriz alimentar, pode conferir sabor e odor não desejáveis, além de perder parte de sua bioatividade e apresentar aspecto não homogêneo. A microencapsulação é uma das tecnologias que pode minimizar esses efeitos. Objetivou-se avaliar o método de eletroencapsulação para a microencapsulação da biomassa integral de Sp. Foram realizados ensaios com materiais de parede distintos, a citar: pectina (BTM) e Concentrado Proteico de Soro de Leite (CPSL) e posteriormente sem pectina e incluindo-se glicerol na composição das suspensões; também foram estudados os parâmetros vazão (0,15, 0,30, 0,49 e 1,2 mL/h), distância do coletor (8 e 12 cm), diâmetro do capilar (0,3 e 0,7 mm) e tensão (16, 17, 18, 20, 22, 25 e 28 kV) em equipamento de eletroencapsulacao de fabricação própria. As suspensões contendo 4 e 10 g/100 mL de pectina obstruíram os capilares e o aumento da vazão e voltagem não auxiliaram na desobstrução e consequentemente formação das microcápsulas (MC). Na concentração de 2 g/100 mL de pectina houve perda de material por gotejamento. Nas suspensões contendo glicerol formou-se um pó fino que foi caracterizado por microscopia óptica e de varredura (MEV) e as interações analisadas por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), a partir das quais foi possível observar a formação de MC esféricas de formato regular. Com base nos resultados de rendimento observados, foram fixados os parâmetros vazão (0,15 mL/h), distância do coletor (8 cm), tensão (28 kV) e diâmetro do capilar (0,7 mm). Posteriormente, variou-se as concentrações de CPSL (35 e 50 g/100 mL de suspensão) e glicerol (5,75; 6,5 e 11 g/100 mL de suspensão) e fixou-se a concentração de Sp (0,05 g/100 mL de suspensão) para avaliar os efeitos sobre as respostas de rendimento, umidade e atividade de água ( $A_w$ ), solubilidade e higroscopicidade. O ensaio contendo 50 g/100 mL de CPSL e 6,5 g/100 mL de glicerol resultou em maior rendimento (68,3%), menor teor de umidade (16,7%) e menor percentual de higroscopicidade (16,2%) comparado aos demais ensaios. Em relação a  $A_w$  e solubilidade os ensaios não diferiram entre si. A caracterização morfológica apresentou MC esféricas, lisas com leves rugosidades, inferindo-se tamanhos entre 1 a 3  $\mu\text{m}$ . A análise termogravimétrica demonstrou a degradação do glicerol em 150 °C e a degradação dos demais materiais a partir de 200 °C. Os resultados demonstraram a viabilidade da técnica de eletroencapsulação para o desenvolvimento de MC contendo Sp utilizando CPSL e glicerol como materiais de parede evitando o uso de solventes orgânicos e/ou altas temperaturas.

Palavras-chave: eletroencapsulação de biomassa microalgal; biomateriais avançados; compostos bioativos.

## ABSTRACT

*Spirulina platensis* (Sp) biomass has motivated researches for its incorporation into foods due to its nutraceutical potential, however, being present in a food matrix, it can give undesirable flavor and odor, in addition to losing part of its bioactivity and presenting an inhomogeneous aspect. Microencapsulation is one of the technologies that can minimize these effects. The objective was to evaluate the electroencapsulation method for the microencapsulation of the whole biomass of Sp. Tests were carried out with different wall materials: pectin (BTM) and Whey Protein Concentrate (WPC) and later without pectin and including glycerol in the composition of the suspensions; flow (0.15, 0.30, 0.49 and 1.2 mL/h), collector distance (8 and 12 cm), capillary diameter (0.3 and 0.7 mm) and voltage (16, 17, 18, 20, 22, 25 and 28 kV) parameters were also studied in own manufacturing electroencapsulation equipment. The suspensions containing 4 and 10 g/100 mL of pectin obstructed the capillaries and the increase in flow and voltage did not help in unblocking and consequently in the formation of microcapsules (MC). At the concentration of 2 g/100 mL of pectin, material was lost by dripping. In the suspensions containing glycerol, a fine powder was formed that was characterized by optical and scanning microscopy (SEM) and the interactions analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), from which it was possible to observe the formation of regular shaped spherical MC. Based on the observed yield results, the parameters flow (0.15 mL/h), collector distance (8 cm), voltage (28 kV) and capillary diameter (0.7 mm) were fixed. Subsequently, the concentrations of CPSL (35 and 50 g/100 mL of suspension) and glycerol (5.75; 6.5 and 11 g/100 mL of suspension) were varied and the concentration of Sp (0.05 g/100 mL of suspension) was fixed to evaluate the effects on yield, moisture and water activity ( $A_w$ ), solubility and hygroscopicity responses. The assay containing 50 g/100 mL of CPSL and 6.5 g/100 mL of glycerol resulted in higher yield (68.3%), lower moisture content (16.7%) and lower percentage of hygroscopicity (16.2%) compared to the other tests. Regarding  $A_w$  and solubility, the assays did not differ from each other. The morphological characterization showed spherical MC, smooth with slight roughness and sizes between 1 to 3  $\mu\text{m}$  can be inferred. The thermogravimetric analysis showed the degradation of glycerol at 150 °C and the degradation of other materials from 200 °C. The results demonstrated the feasibility of the electroencapsulation technique for the development of MC containing Sp using CPSL and glycerol as wall materials avoiding the use of organic solvents and/or high temperatures.

**Keywords:** electroencapsulation of microalgal biomass; advanced biomaterials; bioactive compounds.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Visão microscópica da microalga <i>Spirulina platensis</i> .....	16
Figura 2 - Composição de uma microcápsula .....	19
Figura 3 - Sistema básico (a) e mecanismo de eletropulverização (b) .....	20
Figura 4 - Fórmula estrutural do glicerol.....	24
Figura 5 - Estrutura química da cadeia de pectina.....	25
Figura 6 - Etapas do processo de eletroencapsulação contendo pectina .....	28
Figura 7 - Etapas do processo de eletroencapsulação contendo glicerol.....	31
Figura 8 - Espaço de cor CIE Lab .....	34
Figura 9 - Espectros de FTIR na faixa de 800–1800 cm <sup>-1</sup> para as microcápsulas de <i>Spirulina platensis</i> , amostra branco e <i>Spirulina platensis</i> pura .....	42
Figura 10 - Reograma do ensaio 13 (CPSL 35, glicerol 5,75, <i>Spirulina</i> 0,05 g/100 mL) e viscosidade <i>versus</i> taxa de cisalhamento nas temperaturas de 5, 25 e 45 °C .....	44
Figura 11 - Reograma do ensaio 14 (CPSL 50, glicerol 6,5, <i>Spirulina</i> 0,05 g/100 mL) e viscosidade <i>versus</i> taxa de cisalhamento nas temperaturas de 5, 25 e 45 °C .....	44
Figura 12 - Reograma do ensaio 15 (CPSL 35, glicerol 11, <i>Spirulina</i> 0,05 g/100 mL) e viscosidade <i>versus</i> taxa de cisalhamento nas temperaturas de 5, 25 e 45 °C .....	45
Figura 13 - Espectros de FTIR na faixa de 800–1800 cm <sup>-1</sup> dos ensaios 13 e 14 .....	50
Figura 14 - Curvas da análise termogravimétrica dos ensaios 13 e 14 .....	54
Figura 15 - Termogramas da análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC) dos ensaios 13 e 14.....	55
Fotografia 1 - Equipamento de eletroencapsulação .....	27
Fotografia 2 - <i>Spirulina platensis</i> vista a partir de microscópio óptico com aumento de 40x sem adição de água (A) e com adição de água (B). .....	36
Fotografia 3 - Suspensão (a) e coletor com destaque para a formação de um pequeno círculo com pó (b) ao fim do processo do ensaio 3.....	38
Fotografia 4 - Coletor do ensaio 10 no fim do processo .....	39
Fotografia 5 - Microcápsulas obtidas a partir do ensaio 10, vistas em um aumento de 40x em um microscópio óptico (A) e em um microscópio eletrônico de varredura (B).....	40
Fotografia 6 - Microcápsulas obtidas a partir do ensaio 11, vistas em um aumento de (A) 40x e (B) 100x em um microscópio óptico e em um microscópio eletrônico de varredura (C/D).....	41
Fotografia 7 - Coletor ao final do processo do ensaio 14 (a) e durante o processo (b).....	46
Fotografia 8 - Microcápsulas obtidas no ensaio 13 vistas por meio de microscópio eletrônico de varredura .....	52
Fotografia 9 - Microcápsulas obtidas no ensaio 14 vistas por meio de microscópio eletrônico de varredura .....	53



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição média dos nutrientes da biomassa de <i>Spirulina platensis</i> .....	17
Tabela 2 - Bioativos encapsulados através da eletropulverização.....	21
Tabela 3 - Parâmetros dos ensaios de eletroencapsulação da biomassa de Sp com pectina e CPSL.....	28
Tabela 4 - Parâmetros dos ensaios contendo glicerol.....	30
Tabela 5 - Composição centesimal da biomassa de <i>Spirulina platensis</i> .....	36
Tabela 6 - Resultados dos ensaios 13 (CPSL 35, glicerol 5,75, <i>Spirulina</i> 0,05 g/100 mL), 14 (CPSL 50, glicerol 6,5, <i>Spirulina</i> 0,05 g/100 mL) e 15 (CPSL 35, glicerol 11, <i>Spirulina</i> 0,05 g/100 mL).....	47

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b><i>Spirulina platensis</i></b> .....	<b>16</b>
<b>3.2</b>	<b>Encapsulação de compostos bioativos</b> .....	<b>18</b>
<b>3.2.1</b>	<b>Materiais de parede</b> .....	<b>22</b>
<b>3.2.1.1</b>	<b>Concentrado proteico de soro de leite - CPSL</b> .....	<b>22</b>
<b>3.2.1.2</b>	<b>Glicerol</b> .....	<b>23</b>
<b>3.2.1.3</b>	<b>Pectina</b> .....	<b>25</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
<b>4.1</b>	<b>Materiais</b> .....	<b>27</b>
<b>4.2</b>	<b>Obtenção das microcápsulas</b> .....	<b>27</b>
<b>4.3</b>	<b>Análise do comportamento reológico das suspensões</b> .....	<b>32</b>
<b>4.4</b>	<b>Caracterização química e físico química da biomassa e das microcápsulas</b> .....	<b>32</b>
<b>4.5</b>	<b>Medida instrumental de cor</b> .....	<b>33</b>
<b>4.6</b>	<b>Rendimento</b> .....	<b>34</b>
<b>4.7</b>	<b>Caracterização morfológica</b> .....	<b>34</b>
<b>4.8</b>	<b>Determinação das diferenças estruturais dos materiais livres e encapsulados</b> .....	<b>34</b>
<b>4.9</b>	<b>Análise de estabilidade térmica das microcápsulas</b> .....	<b>35</b>
<b>4.10</b>	<b>Análise estatística</b> .....	<b>35</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>5.1</b>	<b>Caracterização da biomassa microalgal</b> .....	<b>36</b>
<b>5.2</b>	<b>Obtenção das microcápsulas</b> .....	<b>37</b>
<b>5.2.1</b>	<b>Ensaio com CPSL e pectina como materiais de parede</b> .....	<b>37</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Ensaio com CPSL e glicerol como materiais de parede</b> .....	<b>38</b>
<b>5.3</b>	<b>Caracterização morfológica, análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC)</b> .....	<b>50</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>57</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A *Spirulina platensis* (Sp) ou *Arthrospira platensis* é uma microalga azul esverdeada, pertencente a classe das cianobactérias, considerada um organismo multicelular fotossintético, filamentoso, com estrutura cilíndrica em forma de espiral, com tamanhos de 0,5 mm de comprimento, que não se ramifica (VONSHAK, 1997; BECKER, 2007; ÇELEKLI; YAVUZATMACA; BOZKURT, 2009).

Essa microalga se apresenta como uma fonte de compostos biologicamente ativos, especialmente  $\beta$ -caroteno, astaxantina, luteína, ficobiliproteína, vitaminas do complexo B, ficocianina, clorofila, vitamina E, ácidos graxos poli-insaturados principalmente  $\omega$ -6 e vários minerais, dentre eles o cálcio, o fósforo e o potássio. Sua composição em matéria seca é 8–14% de carboidratos, 4–9% de lipídios e 46-70% de proteínas, incluindo aminoácidos essenciais, como leucina, valina e isoleucina (BECKER, 2007; GOUVEIA *et al.*, 2010; LUM; KIM; LEI, 2013; YAAKOB *et al.*, 2014; DE MORAIS *et al.*, 2015; VAZ *et al.*, 2016; LUPATINI MENEGOTTO *et al.*, 2019).

Alguns autores realizaram a incorporação da Sp em alimentos como em iogurtes (BARKALLAH *et al.*, 2017; ÇELEKLI; ALSLIBI; BOZKURT, 2019; DA SILVA *et al.*, 2019), massas (FRADINHO *et al.*, 2020; ZEN *et al.*, 2020), achocolatado (BATISTA DE OLIVEIRA *et al.*, 2021), *cookies* (BATISTA *et al.*, 2017), sorvete (TIEPO *et al.*, 2021), entretanto, dependendo da concentração adicionada, essa microalga pode conferir sabor e odor “a peixe” ao alimento, além de perder parte de sua bioatividade e apresentar aspecto não homogêneo (DA SILVA *et al.*, 2019). Neste contexto, uma alternativa para acrescentar a Sp em matrizes alimentares é a microencapsulação, que é uma tecnologia em que compostos bioativos são revestidos por cápsulas extremamente pequenas que liberam seu conteúdo em taxa controlada e/ou em condições específicas (KÖSE; BAŞPINAR; BAYRAKTAR, 2019).

Dentre as diversas técnicas de microencapsulação, a eletroencapsulação ou técnica eletro-hidrodinâmica, é um método de atomização de um líquido através de forças elétricas, podendo ser dividida em eletropulverização e eletrofiação. A diferença entre as duas técnicas é a concentração da suspensão polimérica: quanto mais baixa a concentração, a pulverização é favorecida em detrimento da fiação (CASTRO COELHO; NOGUEIRO ESTEVINHO; ROCHA, 2021). Na eletropulverização a suspensão polimérica passa por um capilar com alto potencial elétrico e obrigatoriamente se dispersa em gotículas finas. O tamanho das gotículas pode variar

de centenas de micrômetros a várias dezenas de nanômetros (JAWOREK; SOBCZYK, 2008). De acordo com Köse, Baspinar e Bayraktar (2019) a tensão, a distância do bico até o coletor e a vazão da solução são parâmetros que podem ser avaliados no processo. Com relação aos parâmetros da solução pode-se destacar a viscosidade, condutividade, tensão superficial e constante dielétrica. As vantagens da eletroencapsulação em relação a outros métodos estão associadas principalmente ao fato de não ser necessário a aplicação de temperaturas elevadas, utilização de soluções aquosas para dispersão de biopolímeros ao invés de soluções orgânicas e controle da morfologia e tamanho das microcápsulas através do ajuste dos parâmetros (PÉREZ-MASIÁ *et al.*, 2015; ECHEGOYEN *et al.*, 2017).

A seleção do material de parede é uma etapa importante, tendo em vista que esses materiais influenciam nas propriedades das microcápsulas e por isso devem possuir compatibilidade química e física, baixo custo e sabor agradável (DEWI; PURNAMAYATI; KURNIASIH, 2017; NORKAEW *et al.*, 2019). A eletroencapsulação permite a utilização de uma ampla gama de materiais de parede (ECHEGOYEN *et al.*, 2017). Os mais utilizados são polímeros sintéticos, porém polissacarídeos e proteínas lácteas também são empregadas visando aplicações alimentícias (STIJNMAN; BODNAR; HANS TROMP, 2011; NORKAEW *et al.*, 2019).

O presente trabalho se encaixa na linha de pesquisa Processos Tecnológicos na Indústria de Alimentos do PPGTA, objetivando-se contribuir ao trabalho de Da Silva *et al.* (2019), que utilizou a técnica de *spray drying* para a microencapsulação da biomassa de *Sp* e aplicação em iogurtes, concluindo que a microencapsulação da biomassa integral é uma alternativa para enriquecer alimentos, permitindo maior dispersão em matrizes hidrofílicas. Os autores observaram, entretanto, que as microcápsulas não apresentaram uniformidade quanto a morfologia e tamanho médio de 2,19 a 2,90  $\mu\text{m}$ . Dessa forma, buscou-se estudar o método de eletroencapsulação por este possibilitar a obtenção de microcápsulas com distribuição de tamanho uniforme e reduzido, e estrutura regular, comparado ao método de *spray drying*, propondo-se ainda a utilização de materiais de parede com caráter inovador para a microencapsulação da *Sp* e sem a aplicação de temperaturas elevadas, para a manutenção da integridade dos compostos bioativos. Vale ressaltar que a aplicação integral da biomassa de *Sp* em alimentos é interessante no que se refere ao aproveitamento de toda a sua bioatividade e por isso buscou-se também neste trabalho encapsular a biomassa integral.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar o processo de eletroencapsulação da biomassa de *Sp* por meio da técnica de eletropulverização, utilizando concentrado proteico de soro de leite (CPSL), glicerol e pectina como materiais de parede, visando futuras aplicações em matrizes alimentares.

### **2.2 Objetivos específicos**

- a) Avaliar o efeito das concentrações de concentrado proteico de soro de leite (CPSL), pectina e glicerol como materiais de parede, bem como da concentração de biomassa de *Sp* no processo de eletroencapsulação;
- b) Caracterizar as microcápsulas em relação a medida instrumental de cor, rendimento, umidade, atividade de água ( $A_w$ ), higroscopicidade, solubilidade, morfologia, estabilidade térmica e determinação das diferenças estruturais dos materiais livres e encapsulados;
- c) Determinar o comportamento reológico das suspensões formadoras das microcápsulas;

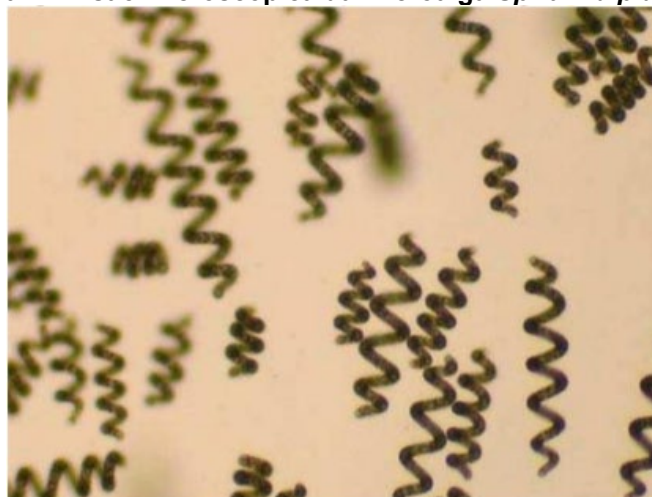
### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 *Spirulina platensis*

Na década de 40, o algologista francês Dangeard divulgou um relatório sobre um bolo de algas verdes, secas ao sol que era consumido pelo povo Kanembu próximo ao Lago Chade, este bolo endurecido era chamado *dihé* que continha uma microalga posteriormente identificada como SP (HENRIKSON, 2009).

A Sp também conhecida como *Atrhospira* é uma microalga pertencente a classe das cianobactérias, multicelular, filamentosa, fotossintética caracterizada por sua estrutura cilíndrica em forma de espiral não ramificável de coloração verde/azulada (Figura 1) (VONSHAK, 1997; BECKER, 2007; ÇELEKLI; YAVUZATMACA; BOZKURT, 2009; KORU, 2012).

Figura 1 - Visão microscópica da microalga *Spirulina platensis*



Fonte: Koru (2012)

A Sp é uma das principais tendências na indústria de alimentos (LAFARGA, 2019). Considerada um super alimento com concentrações de nutrientes superiores a plantas, grãos ou ervas (BHINGARDE; NIMSE, 2022).

Sua composição proteica varia entre 46 a 74% sendo estas proteínas de elevada digestibilidade (ANDRADE; COSTA, 2008; KORU, 2012) além de conter vitamina E, vitaminas do complexo B,  $\beta$ -caroteno, ferro, astaxantina, ficobiliproteína, ficocianina, clorofila, ácidos graxos poli-insaturados principalmente  $\omega$ -6 e muitos aminoácidos essenciais, como leucina, valina e isoleucina. Em matéria seca cerca de 8–14% são carboidratos e 4–9% são lipídios (BECKER, 2007; GOUVEIA *et al.*, 2010; LUM; KIM; LEI, 2013; YAAKOB *et al.*, 2014; DE MORAIS *et al.*, 2015; VAZ *et al.*, 2016;

LUPATINI MENEGOTTO *et al.*, 2019). A Tabela 1 apresenta a composição nutricional média da *Spirulina* em pó.

**Tabela 1 - Composição média dos nutrientes da biomassa de *Spirulina platensis***

<b>Composição</b>	<b>g/100 g</b>	<b>Composição</b>	<b>mg/100 g</b>
Água	4,68	Vitamina C	10,1
Proteína	57,5	Vitamina B6	0,364
Carboidratos	23,9	Tiamina	2,38
Fibra	3,6	Riboflavina	3,67
Cálcio	0,120	Niacina	12,8
Ferro	0,028	Vitamina E	5
Magnésio	0,195	Vitamina K	0,02
Fósforo	0,118	$\beta$ -caroteno	0,342
Potássio	1,36	Isoleucina	3210
Lipídios totais	7,72	Valina	3510
18:1n-9 <sup>a</sup>	0,347	Leucina	4950
18:2n-6 <sup>b</sup>	1,25	Arginina	4150
18:3n-3 <sup>c</sup>	0,823	Alanina	4520

<sup>a</sup>Ácido oleico; <sup>b</sup>Ácido linoléico; <sup>c</sup>Ácido linolênico.

Fonte: Adaptado de FDC - Food Data Central (2018)

A Sp é classificada como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e por esse motivo pode ser utilizada como alimento ou ingrediente (LAFARGA, 2019). Ela apresenta propriedades nutricionais e funcionais conferindo benefícios para a saúde humana como estimulante ao sistema imunológico (AMBROSI *et al.*, 2008), efeito protetor contra diabetes e obesidade (ANITHA; CHANDRALEKHA, 2010), além do controle de dislipidemias (NARMADHA *et al.*, 2012), inibição da replicação de alguns vírus (AMBROSI *et al.*, 2008), efeito anticarcinogênico (MAO; VAN DE WATER; GERSHWIN, 2005), entre outros. Esses benefícios tornam esta microalga uma excelente matéria-prima com composição apropriada para uma alimentação saudável podendo ser empregada no combate a desnutrição.

A Sp, assim como outras microalgas, tem sido incorporada em alimentos e são muitos os estudos na literatura com o objetivo de desenvolver produtos alimentícios nutricionalmente enriquecidos pela adição de Sp, como biscoitos (BATISTA *et al.*, 2017; PAULA DA SILVA; FERREIRA DO VALLE; PERRONE, 2021), barras de cereais (LUCAS *et al.*, 2020), massas (FRADINHO *et al.*, 2020; GRAHL *et al.*, 2020; ZEN *et al.*, 2020), bebidas lácteas (BATISTA DE OLIVEIRA *et al.*, 2021), sorvetes (TIEPO *et al.*, 2021; DA SILVA FARESIN *et al.*, 2022) e iogurte (BARKALLAH *et al.*, 2017; DA SILVA *et al.*, 2019). Entretanto, ainda existem vários desafios, relatados por alguns destes estudos a serem superados, como o seu impacto

indesejado na qualidade sensorial, visto que a biomassa geralmente confere sabor e aroma desagradáveis além de uma coloração verde, muitas vezes indesejável (PAULA DA SILVA; FERREIRA DO VALLE; PERRONE, 2021).

Nesse contexto a técnica de microencapsulação pode ser utilizada para melhorar os atributos sensoriais de alimentos enriquecidos com microalgas (ISLETEN HOSOGLU, 2018).

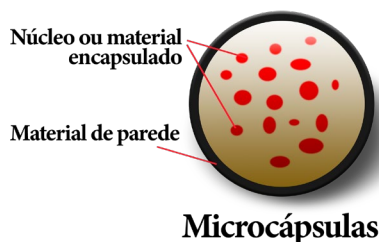
### **3.2 Encapsulação de compostos bioativos**

Os compostos bioativos como fenólicos, alcaloides, carboidratos não digeríveis, peptídeos, probióticos, carotenoides, vitaminas lipossolúveis, fitosteróis, lipídeos poliinsaturados e compostos organossulfurados possuem funções biológicas de prevenção de doenças e de melhoria da saúde e por esse motivo têm atraído a atenção da comunidade científica (SHISHIR *et al.*, 2018).

O método de microencapsulação é utilizado para proteger os compostos bioativos de ambientes adversos além de inseri-los em sistemas alimentares (HASSAN *et al.*, 1996; GOUIN, 2004; JONES; DECKER; MCCLEMENTS, 2010).

Neste processo os materiais bioativos são incorporados em uma matriz ou revestidos com outros materiais de proteção ou suas misturas (HUQ *et al.*, 2013), formando partículas que possuem vários microns a vários milímetros de diâmetro, embora haja um interesse crescente em nanoencapsulados (OBEIDAT, 2009; ZHANG; LAW; LIAN, 2010). Os compostos bioativos são imobilizados na matriz, que geralmente é chamada de núcleo (parte ativa), e a parte externa chamada de invólucro, parede ou material transportador (Figura 2) (KÖSE; BAŞPINAR; BAYRAKTAR, 2019).



**Figura 2 - Composição de uma microcápsula**

**Fonte: Adaptado e traduzido de Comunian e Favaro-Trindade (2016)**

A encapsulação confere uma série de benefícios para a indústria de alimentos entre eles estão a estabilidade do produto final, controle da taxa de liberação do material encapsulado, mascaramento de sabor e odor desagradáveis, facilidade no manuseio do material (conversão de uma formulação líquida em um sólido, por exemplo), controle do tamanho de partículas entre outros (GOUIN, 2004; JAWOREK; SOBCZYK, 2008; ZHANG; LAW; LIAN, 2010; SCHMATZ *et al.*, 2020).

A utilização da técnica correta de encapsulamento permite que os compostos passem pelo trato digestório sem sofrerem degradação, desde que se utilize material de parede adequado, o que resulta em um maior aproveitamento de suas funções benéficas (KÖSE; BAŞPINAR; BAYRAKTAR, 2019).

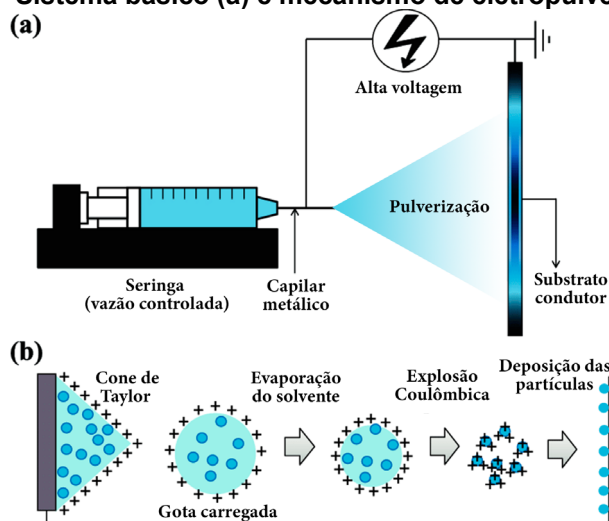
Existem diversas técnicas utilizadas na elaboração de microcápsulas, contudo a escolha do método depende de sua aplicação, mecanismo de liberação, substância ativa, tamanho da partícula desejado, produto final e etc. Pode-se destacar alguns métodos como o *spray drying*, *spray cooling*, eletroencapsulação (eletrofiação e eletropulverização), extrusão centrífuga, polimerização interfacial e coacervação, entretanto algumas dessas técnicas utilizam altas temperaturas e envolvem solventes orgânicos, não polares, que colaboram para a degradação dos compostos bioativos e acarretam em problemas de toxicidade (NIU *et al.*, 2020; RIBAS BARRETO *et al.*, 2015).

A eletropulverização e a eletrofiação são processos eletro-hidrodinâmicos em que uma solução polimérica pode ser fiada ou pulverizada devido a aplicação de um campo elétrico de alto potencial (NIU *et al.*, 2020). Quando a concentração do polímero é alta formam-se fibras e quando a concentração é muito baixa formam-se gotículas finas altamente carregadas, além disso, a evaporação do solvente torna as gotículas sólidas resultando em partículas poliméricas que ficam depositadas no

coletor, por isso a eletropulverização se difere da eletrofiação (NGUYEN; CLASEN; VAN DEN MOOTER, 2016).

A eletropulverização consiste em um sistema de bombeamento, geralmente uma seringa, um bico de metal que é ligado a uma fonte de alta tensão e um coletor (Figura 3a). O equipamento pode operar em condição ambiente ou em câmara fechada com temperatura e umidade relativa controladas (NGUYEN; CLASEN; VAN DEN MOOTER, 2016).

**Figura 3 - Sistema básico (a) e mecanismo de eletropulverização (b)**



Fonte: Adaptado e traduzido de Saallah e Lenggoro (2018)

Durante o processo o líquido é injetado pela bomba através do bico ao qual o potencial elétrico é aplicado, quando a tensão é alta as cargas livres presentes na superfície do líquido provocam um estresse elétrico fazendo com que o menisco da ponta do bico adquira forma cônica formando o cone de Taylor (Figura 3b). Na ponta do cone as cargas livres estão concentradas, a solução polimérica se afasta do bico formando um jato que em determinado momento se fragmenta em gotículas muito finas devido a explosão Coulombiana decorrente da força de repulsão (ANU BHUSHANI; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014; NGUYEN; CLASEN; VAN DEN MOOTER, 2016).

Existem alguns parâmetros em relação ao sistema, solução, condições instrumentais e ambientais que podem ser controlados no processo de eletropulverização e que influenciam na formação das microcápsulas, tais como o peso molecular e as características microestruturais do polímero, o tipo e concentração da solução polimérica e do solvente (viscosidade aparente,

condutividade elétrica, tensão superficial, pH), o potencial elétrico aplicado, a taxa de fluxo da solução, a distância do coletor, a umidade relativa do ar e a temperatura ambiente (RAGHAVAN *et al.*, 2012; ANU BHUSHANI; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014).

Com relação ao parâmetro solvente, dependendo do produto que se deseja obter é possível realizar uma mistura de solventes, incluindo álcoois como o etanol, para melhorar a estabilidade do jato e aumentar a velocidade de evaporação (WAHYUDIONO *et al.*, 2019) e/ou soluções iônicas (como a solução de cloreto de sódio) para aumentar a condutividade elétrica da solução polimérica (LUO *et al.*, 2012).

As vantagens da técnica de eletropulverização em relação a outras é o fato de não envolver altas temperaturas, o que torna a técnica segura pois preserva a estabilidade química e funções biológicas dos compostos bioativos, além de apresentar alta eficiência de encapsulação e versatilidade pois a morfologia das estruturas pode ser variada pelos parâmetros do processo; pode gerar microcápsulas em uma única etapa, sem necessitar de secagem e separação, com condições moderadas e sem solventes orgânicos e tóxicos sendo adequado para materiais hidrofílicos e hidrofóbicos ou ingredientes (CHAKRABORTY *et al.*, 2009; LÓPEZ-RUBIO *et al.*, 2009; ZAMANI; PRABHAKARAN; RAMAKRISHNA, 2013; GÓMEZ-MASCARAQUE; SANCHEZ; SOSNIK, 2016; TAPIA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2015;; LÓPEZ-RUBIO, 2016). A Tabela 2 apresenta alguns estudos que envolveram a microencapsulação de compostos bioativos através da técnica de eletropulverização.

**Tabela 2 - Bioativos encapsulados através da eletropulverização**

Bioativo	Material de Parede	Referência
Ácido docosa-hexaenóico (DHA)	Zeína	Torres-Giner et al (2010)
$\beta$ -caroteno	CPSL	López-Rubio e Lagaron (2012)
Curcumina	Zeína	Gomez-Estaca <i>et al.</i> (2012)
Galato de epigalocatequina	Gelatina	Gómez-Mascaraque, Lagarón e López-Rubio (2015)
Ácido $\alpha$ -linolênico	CPSL, gelatina e proteína de soja	Gómez-Mascaraque e López-Rubio (2016)
Extrato de Cenoura preta	Quitosana e gelatina	Atay <i>et al.</i> (2018)
Ficocianina	Alcool polivinílico (PVA)	Schmatz <i>et al.</i> (2020)

**Fonte: Autoria própria (2022)**

### 3.2.1 Materiais de parede

O desenvolvimento de microcápsulas por eletroencapsulação destinado a aplicações alimentares implica na utilização de polímeros e solventes de qualidade alimentar (GARCÍA-MORENO *et al.*, 2017). Desta forma, a seleção dos materiais de parede no processo de microencapsulação se torna uma etapa crucial para o desenvolvimento e resultado final das microcápsulas, pois esses materiais podem influenciar principalmente nas propriedades físicas do produto resultante (DEWI; PURNAMAYATI; KURNIASIH, 2017; NORKAEW *et al.*, 2019). Devem possuir compatibilidade química e física e algumas propriedades específicas como a capacidade de emulsificação, capacidade de formação de filme e baixa viscosidade em altas temperaturas (SANTIAGO-ADAME *et al.*, 2015) além de serem fáceis ao manuseio e possuírem sabor agradável e baixo custo.

Macronutrientes, normalmente ingeridos através da dieta, como os amidos, proteínas lácteas e gomas naturais são seguros e mais comumente empregados para uso como materiais de parede (GARCÍA-MORENO *et al.*, 2017; NORKAEW *et al.*, 2019).

#### 3.2.1.1 Concentrado proteico de soro de leite - CPSL

O soro do leite, subproduto da produção de queijos, possui proteínas de elevado teor nutricional e tecnológico, despertando o interesse da indústria alimentícia em utilizá-lo como matéria-prima para fabricação de diversos produtos, incluindo concentrados proteicos (LUZ, 2016).

De acordo com Baldasso, Barros e Tessaro (2011), cerca de 180 a 190 milhões de toneladas de soro de leite são produzidos por ano e apenas 50% são processados. O soro é constituído de beta-lactoglobulina, alfa-lactoalbumina, albumina do soro bovino, imunoglobulinas e glico-macropéptídeos. Esses péptídeos conferem características especiais ao soro que podem variar em tamanho, peso molecular e função (KINSELLA; WHITEHEAD, 1989).

Uma das formas que a indústria encontrou para o reaproveitamento dessas proteínas é a produção de suplementos alimentares, como é o caso dos concentrados e isolados proteicos (NOURBAKHSI *et al.*, 2016; PESIC *et al.*, 2011). Buscar alternativas para seu uso é fundamental, tendo em vista o volume de produção do

soro, seu teor nutritivo e os impactos ambientais provocados pelo descarte incorreto (LUZ, 2016).

As proteínas do soro do leite são caracterizadas como uma fonte nutricional versátil, possuem estabilidade estrutural devido a sua forma globular contendo pontes de dissulfeto, e são classificadas como ingredientes funcionais (KINSELLA; WHITEHEAD, 1989; SMITHERS, 2008).

O CPSL pode apresentar em sua composição 35 a 80% de proteínas, enquanto o isolado proteico apresenta mais de 90% (GHANIMAH, 2018). Dependendo das condições de processamento como pH, temperatura, concentração, entre outros, o CPSL possui a capacidade de formar diferentes estruturas como nanofibrilas, nanotubos, fitas flexíveis, microgéis, nano e micro partículas (NICOLAI; BRITTEN; SCHMITT, 2011).

De acordo com Drosou, Krokida e Biliaderis (2018) a utilização de CPSL para eletroencapsulação é um desafio, justamente por sua estrutura globular e alta condutividade elétrica. Os desafios encontrados durante o processamento são elencados por García-Moreno *et al.* (2018), sendo eles: alta tensão superficial, emaranhamentos de cadeia limitados e natureza polieletrólítica das cadeias polipeptídicas.

A alta tensão superficial pode interferir na formação e estabilidade do cone de Taylor principalmente em soluções que utilizam a água como solvente. Os emaranhamentos limitados ocorrem devido ao baixo peso molecular e estrutura globular e por fim (MARTINS; OLIVO; CONSOLI, 2014) a natureza polieletrólítica das cadeias enfraquecem a acumulação de carga para iniciar o jateamento (GARCÍA-MORENO *et al.*, 2018).

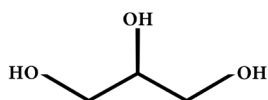
Algumas formas de contornar esses problemas são a desnaturação da proteína para desdobramento das cadeias polipeptídicas e melhor emaranhamento de cadeia, uso de solventes orgânicos, controle de pH, temperatura, adição de surfactantes que alteram a conformação molecular e minimizam a tensão superficial, utilização de outros biopolímeros ou polímeros sintéticos (MENDES *et al.*, 2018; NIEUWLAND *et al.*, 2014).

### 3.2.1.2 Glicerol

Quimicamente o glicerol é um tri-álcool com 3 carbonos (Figura 4), seu nome deriva da palavra grega *glykys* (doce) é um líquido incolor, com gosto adocicado, sem

cheiro e muito viscoso e pode ser obtido por fontes naturais (BEATRIZ; ARAÚJO; DE LIMA, 2011).

**Figura 4 - Fórmula estrutural do glicerol**



**Fonte: Koupantsis, Pavlidou e Paraskevopoulou (2016)**

O glicerol é uma das mais versáteis e valiosas substâncias químicas conhecidas para o homem, sendo um material seguro e barato, de baixo peso molecular amplamente utilizado em produtos alimentícios como solvente ou plastificante de filmes proteicos e tem se apresentado como um agente reticulante promissor na formação de microcápsulas (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993; PARETA; EDIRISINGHE, 2006; HUANG *et al.*, 2007).

Sua utilização na microencapsulação está associada ao reforço das paredes das MC, tendo em vista que a natureza iônica das interações entre os materiais de parede não são suficientes para a formação de MC com estrutura fixa (KROUPANTSIS; PAVLIDOU; PARASKEVOPOULOU, 2016)

O glicerol possui a capacidade de reduzir as interações entre as cadeias de proteínas, diminuindo a resistência, aumentando a flexibilidade, melhorando as características mecânicas dos filmes (COLAK *et al.*, 2015; DONHOWE; FENNEMA, 1993). Essas características foram determinantes para o desenvolvimento de fibras de alginato (NIE *et al.*, 2008).

Nie *et al.* (2008) utilizaram glicerol e água como co-solvente, e verificaram que o glicerol melhorou a flexibilidade e o emaranhamento das cadeias de alginato em solução, permitindo a formação de fibras através da técnica de eletrofiação.

Koupantsis, Pavlidou e Paraskevopoulou (2016) testaram o efeito da concentração de glicerol e ácido tânico na microencapsulação de  $\beta$ -pineno com caseinato de sódio e proteína isolada de soro de leite com carboximetilcelulose por coacervação e verificaram que a adição de glicerol levou a um aumento de mais de duas vezes na eficiência de encapsulação.

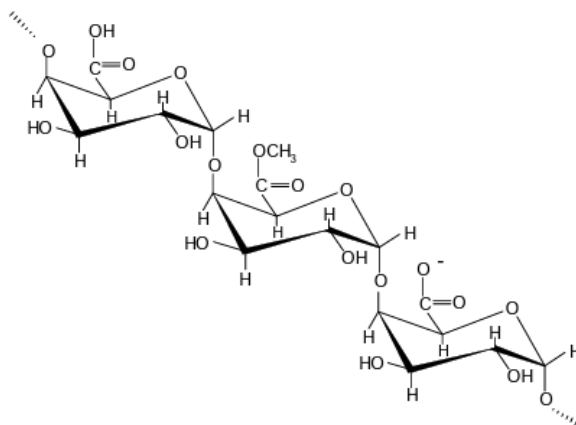
López-Rubio e Lagaron (2012) microencapsularam, por eletropulverização,  $\beta$ -caroteno utilizando CPSL e glicerol e observaram uma eficiência de encapsulação de 90%, além de estabilidade das microcápsulas contra a foto-oxidação.

Huang *et al.* (2007) microencapsularam extrato contendo *shikonina* por meio do método de coacervação utilizando gelatina-acácia, substituindo o agente reticulante (formaldeído) pelo glicerol e verificaram que o glicerol possui os mesmos efeitos de reticulação em comparação ao formaldeído para microencapsulação de *shikonina*.

### 3.2.1.3 Pectina

A pectina está presente na maioria dos tecidos vegetais principalmente na parede celular das plantas e confere rigidez as camadas intracelulares (THAKUR; SINGH; HANDA, 1997). Trata-se de um polissacarídeo composto por uma cadeia linear de unidades de ácido galacturônico (Figura 5) e possui a capacidade de formação de complexos com outros polímeros, devido seu balanço de cargas (RIBAS BARRETO *et al.*, 2015), além de, apresentar efeitos positivos na saúde humana, como a redução dos níveis de colesterol e glicose sérica e a redução do câncer (JACKSON *et al.*, 2007)

**Figura 5 - Estrutura química da cadeia de pectina**



**Fonte: Brandão e Andrade (1999)**

As cadeias lineares de ácido galacturônico são unidas por ligações  $\alpha$  1,4 em que os grupos carboxílicos podem estar esterificados por grupamentos metil (THAKUR; SINGH; HANDA, 1997). O grau de metoxilação (GM) é a relação de unidades de ácidos galacturônicos esterificados por unidade de ácido galacturônico total (SILVA; OLIVEIRA; MENDES, 2020). Sendo assim, a pectina pode ser subdividida em duas classes: com alto grau de metoxilação (ATM), ou seja, com grau de esterificação (DE) superior a 50% ou de baixa metoxilação (BTM), com DE inferior a 50% (BRANDÃO; ANDRADE, 1999; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006)

A pectina comercial em pó ATM apresenta teores na faixa de 55 a 75%, enquanto a BTM apresenta teores entre 15 a 45% e quando amidadas 10 a 25% (BRANDÃO; ANDRADE, 1999).

As moléculas de pectina encontram-se carregadas negativamente em pH acima de 2,9 e abaixo desse valor não apresentam carga devido seu pKa de 2,9, por esse motivo a formação de complexos com outros polímeros é favorecida (RIBAS BARRETO *et al.*, 2015).

Devido às suas propriedades eletrostáticas e gelificantes, pectinas intactas ou modificadas, bem como pectinas combinadas com outros polímeros naturais ou sintéticos, têm sido investigadas como materiais de revestimento em microcápsulas (RALET; DRONNET; THIBAUT, 2001; GEREZ *et al.*, 2012).

Mohammadi *et al.* (2016) nanoencapsularam compostos fenólicos da folha de oliveira através de complexos CPSL-pectina ATM e verificaram que quando a pectina foi adicionada ao CPSL para formar um complexo de biopolímero interfacial solúvel, observou-se um aumento na estabilidade e uma liberação dos compostos encapsulados mais lenta.

Segundo Gerez *et al.*, (2012), foi possível encontrar uma melhor sobrevivência de *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1505 microencapsulado com pectina e CPSL após exposição a condições gástricas.

Ghasemi *et al.* (2018) nanoencapsularam *D*-limoneno e concluíram que a formação de nanocomplexos entre a pectina BTM e CPSL como materiais de parede foi capaz de encapsular quantidades apreciáveis de *D*-limoneno (88% de eficiência de encapsulação em pH 3). A razão entre os materiais de parede foi de 4% de CPSL e 1% de pectina. Em pH 9 obtiveram maior estabilidade e em pH 3 obtiveram a formação de um complexo abrangente com base na cor, viscosidade e estabilidade.

Tendo em vista a literatura estudada nesta revisão, buscou-se desenvolver microcápsulas de biomassa em pó de *Sp* utilizando CPSL, glicerol e pectina como materiais de parede, até então nunca estudadas e desenvolvidas pela técnica de eletropulverização, para uma possível aplicação em uma matriz alimentar, contornando os desafios do processo e variando alguns parâmetros para a obtenção de uma morfologia desejável para a técnica.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

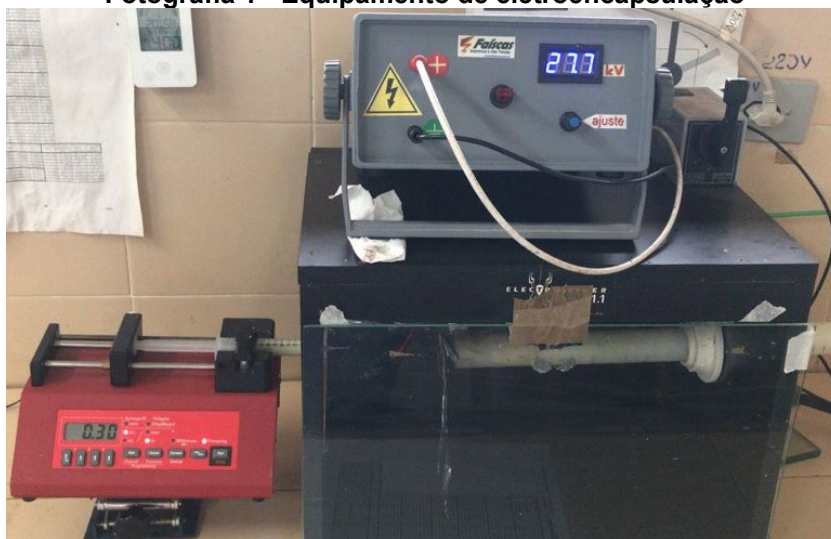
### 4.1 Materiais

A biomassa desidratada de Sp foi adquirida em estabelecimento comercial de produtos naturais localizado na cidade de Foz do Iguaçu; o CPSL 80% (Sooro Renner Nutrição S/A, Marechal Cândido Rondon, PR., Brasil) o glicerol (Alphatec, São Bernardo do Campo, SP, Brasil) e a pectina cítrica BTM (GM: <0,5) (Êxodo, CAS 9000-69-5, Sumaré, SP, Brasil) foram adquiridos de empresas especializadas no ramo. Os reagentes empregados foram de procedência analítica.

### 4.2 Obtenção das microcápsulas

Os procedimentos realizados foram adaptados de acordo com o proposto por Schmatz *et al.* (2020), López-Rubio e Lagaron (2012) e Gerez *et al.* (2012) empregando equipamento de eletroencapsulação de fabricação própria (Fotografia 1).

Fotografia 1 - Equipamento de eletroencapsulação



Fonte: Autoria própria (2021)

Inicialmente foram conduzidos ensaios utilizando-se pectina e CPSL como materiais de parede, de acordo com Gerez *et al.* (2012) com modificações. Na Tabela 3 são apresentados as condições dos ensaios contendo pectina e na Figura 6, um esquema com as etapas do processo adaptado de Schmatz *et al.* (2020).

A pectina (BTM) foi utilizada nos testes preliminares por ser sugerida na literatura como material de revestimento de microcápsulas, em associação com

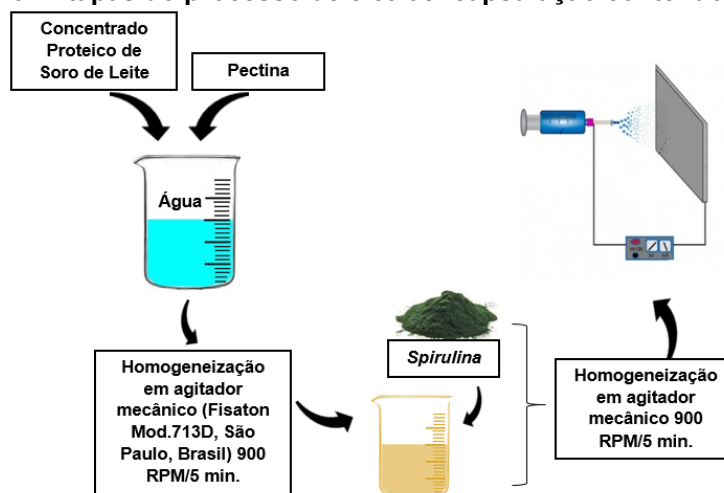
polímeros naturais (GEREZ *et al.*, 2012; GHASEMI *et al.*, 2018; MOHAMMADI *et al.*, 2016).

**Tabela 3 - Parâmetros dos ensaios de eletroencapsulação da biomassa de Sp com pectina e CPSL**

Ensaio	CPSL <sup>*a</sup>	Pectina <sup>*</sup>	Sp <sup>*b</sup>	Teor de sólidos <sup>*</sup>	Vazão (mL/h)	Tensão (kV)
1	40	10	2	52	0,3	16
2	40	4	2	46	0,3	18
3	40	4	2	46	1,2	18
4	40	2	2	44	1,2	18

<sup>\*</sup> g/100 mL de suspensão; <sup>a</sup> Concentrado proteico de soro de leite; <sup>b</sup> *Spirulina platensis*  
Fonte: Autoria própria (2021)

**Figura 6 - Etapas do processo de eletroencapsulação contendo pectina**



Fonte: Adaptado de Schmatz *et al.* (2020)

Primeiramente o CPSL e a pectina foram dispersos em 100 mL de água procedendo-se a homogeneização; em seguida a biomassa de Sp foi adicionada de acordo com as concentrações apresentadas na Tabela 3. A suspensão foi novamente homogeneizada. Após a homogeneização, o pH da suspensão foi aferido (pH: 6,4) e em seguida a suspensão foi introduzida em uma seringa plástica de 5 mL conectada a uma agulha de metal (diâmetro 0,3 e 0,7 mm) a uma distância de 12 cm do coletor e submetida a eletroencapsulação aplicando as condições definidas na Tabela 3.

Além dos estudos com pectina, optou-se por estudar o glicerol como material de parede para a formação das MC, tendo em vista seu potencial como agente plastificante (HUANG *et al.*, 2007).

Na Tabela 4 são apresentadas as condições para os demais ensaios contendo glicerol. As etapas do processo foram adaptadas de Schmatz *et al.* (2020) e López-Rubio e Lagaron (2012) e são apresentadas no fluxograma da Figura 7.

Como se trata de um processo eletro-hidrodinâmico e a condutividade elétrica da suspensão é um parâmetro que pode ser avaliado, alguns ensaios foram acrescidos de uma solução de Cloreto de sódio (NaCl) para modificar a condutividade elétrica, além disso também foi acrescentado etanol para auxiliar no processo de evaporação do solvente. Nos testes que foram acrescentados soluções de NaCl e etanol, a incorporação ocorreu após o período de repouso.

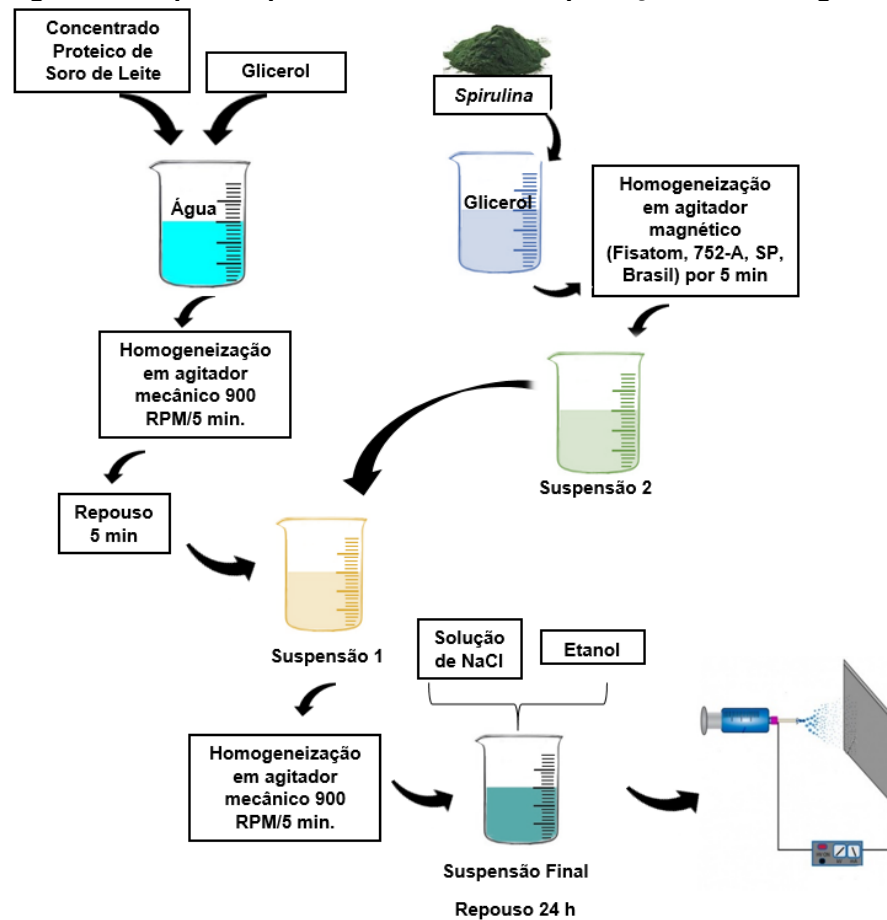
Tabela 4 - Parâmetros dos ensaios contendo glicerol

Ensaio	CPSL <sup>a</sup>	Glicerol <sup>*</sup>	Sp <sup>*b</sup>	NaCl <sup>*c</sup>	Etanol 10% **	Teor de sólidos*	Vazão (mL/h)	Tensão (kV)	Distância do coletor (cm)	Diâmetro do capilar (mm)
5	50	12,06	0,02	-----	-----	62,08	0,49	17	12	0,3/0,7
6	48,07	11,75	0,02	0,38	-----	60,22	0,49	18	8	0,3/0,7
7	47,16	11,60	0,02	0,18	1,88	58,96	0,3	20	8	0,7
8	47,16	11,60	0,02	0,03	1,88	58,81	0,3	20	8	0,7
9	47,16	11,60	0,02	0,01	1,88	58,79	0,3	22	8	0,7
10	47,16	11,60	0,02	0,009	1,88	58,78	0,3	25	8	0,7
11	40	8	0,02	-----	-----	48,02	0,3	25	8	0,7
12	40	8	0,06	-----	-----	48,06	0,15	28	8	0,7
13	35	5,75	0,05	-----	-----	40,8	0,15	28	8	0,7
14	50	6,5	0,05	-----	-----	56,55	0,15	28	8	0,7
15	35	11	0,05	-----	-----	46,05	0,15	28	8	0,7

\* g/100 mL de suspensão; \*\* mL/ 100 mL de suspensão final; <sup>a</sup> Concentrado proteico de soro de leite; <sup>b</sup> *Spirulina platensis*; <sup>c</sup> Cloreto de sódio

Fonte: Autoria própria (2021)

**Figura 7 - Etapas do processo de eletroencapsulação contendo glicerol**



Fonte: Adaptado de Schmatz *et al.* (2020)

Para a obtenção da suspensão final contendo glicerol foram necessárias duas etapas. Para a formação da suspensão 1 (etapa 1) levou-se em consideração o volume de 100 mL de água destilada, dispersou-se o CPSL e o glicerol e homogeneizou-se, mantendo-se a suspensão 1 em repouso por 5 minutos. Para a formação da suspensão 2 (etapa 2) a Sp foi suspensa em 4 g do total de glicerol usado no preparo da suspensão final, homogeneizou-se e posteriormente procedeu-se a mistura com a suspensão 1, seguida de homogeneização e repouso por 24 h.

Após o repouso a suspensão foi introduzida em uma seringa plástica de 3 mL conectada a uma agulha de metal e submetida a eletroencapsulação aplicando as condições determinadas na Tabela 4. As microcápsulas formadas foram coletadas em uma placa de metal envolvida por papel alumínio e posteriormente armazenadas em recipiente vedado.

### 4.3 Análise do comportamento reológico das suspensões

Para análise do comportamento reológico, aproximadamente 5 mL das suspensões foram analisadas em viscosímetro (Brookfield, mod. DV-III Ultra, Middleboro, MA, Estados Unidos), acoplado com um banho termostático (Brookfield, mod. TC-602, Middleboro, MA, Estados Unidos) e o programa computacional Rheocalc V33 (Brookfield). Utilizou-se temperaturas de análise de 5, 25, 45 °C em rampa ascendente e descendente de 9 velocidades (20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 rpm) para cada rampa, com o *spindle* SC4-18. Cada velocidade foi mantida por 3 min onde foram coletados os dados da viscosidade aparente, tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento para plotagem dos reogramas.

### 4.4 Caracterização química e físico química da biomassa e das microcápsulas

A composição centesimal da biomassa de Sp e o teor de umidade das MC foram realizadas de acordo com os métodos descritos pela AOAC (1997): umidade (925.45b); cinzas (N° 923.03); proteínas, pelo método de Micro-Kjeldahl (N° 960.52) utilizando 6,25 como fator de correção, teor de lipídios (N° 920.39) e carboidratos obtido por diferença conforme a Equação 2.

$$\% \text{ Carboidrato} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ proteína} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ lipídios}) \quad (2)$$

A atividade de água foi quantificada em determinador de Atividade de Água (Aqualab 4TE, Decagon, São Paulo, Brasil). A solubilidade foi determinada de acordo com Cano-Chauca *et al.* (2005) em que 0,5g de amostra foram adicionadas em um béquer de 100 mL contendo 50 mL de água destilada. A suspensão foi agitada em manta magnética em 100 rpm por 30 min. Posteriormente disposto em tubo de centrifugação e centrifugado a 6.000 rpm por 15 min. Uma alíquota de 12,5 mL do sobrenadante foi coletada em cadinho de porcelana previamente tarado e pesado e em seguida foi levado ao banho a aproximadamente 50 °C até evaporação do solvente. Após a evaporação, o cadinho foi seco em estufa a 50 °C até peso constante. A solubilidade foi calculada pela Equação 3.

$$\text{Solubilidade} = \left( \frac{(P_{ca} - P_c)}{P_a} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:  $P_{ca}$  é o peso do cadinho mais amostra,  $P_c$  é o peso do cadinho e  $P_a$  é o peso da amostra.

A higroscopicidade foi determinada de acordo com o método descrito por Cai e Corke (2000) com algumas modificações. Amostras com 0,3 g foram colocadas em cadinhos de porcelana e armazenadas por sete dias em dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio (40%) (Umidade relativa a 25 °C: 75%). A higroscopicidade foi determinada de acordo com a Equação 4.

$$\text{Higroscopicidade (g água / g de produto)} = 100 \times \frac{m_f - m_i}{m_i} \quad (4)$$

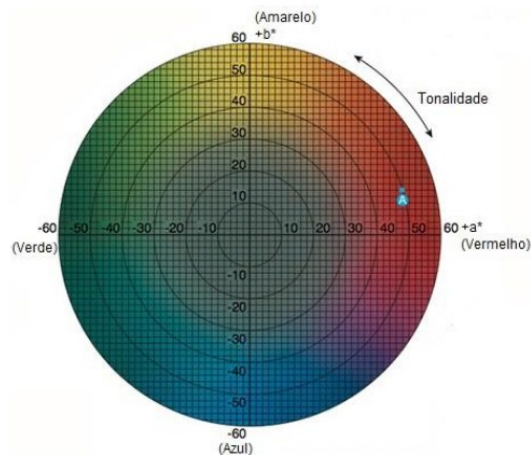
Em que  $m_i$  e  $m_f$  correspondem a massa da amostra (g) antes e após o período de sete dias.

#### **4.5 Medida instrumental de cor**

A avaliação da cor das microcápsulas foi determinada com colorímetro (Konica Minolta Sensing, INC, Chroma Meter CR-400, Japão) utilizando os parâmetros instrumentais de cor de acordo com o sistema CIE Lab  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , definido pela CIE – Comissão Internacional de Iluminação.

Os resultados foram expressos em valores  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , onde  $L^*$  (luminosidade ou brilho) varia do preto (0) ao branco (100),  $a^*$  do verde (-60) ao vermelho (+60) e  $b^*$  do azul (-60) ao amarelo (+60).

**Figura 8 - Espaço de cor CIE Lab**



Fonte: Konica Minolta Sensing Americas INC. (2013)

#### 4.6 Rendimento

O rendimento (R) foi determinado gravimetricamente como a razão entre a massa de microesferas recolhida no final do processo e a massa dos materiais encapsulados, conforme a Equação 5.

$$R = \frac{M_f}{M_i} \times 100 \quad (5)$$

Onde  $M_i$  é a soma das massas dos materiais utilizados na encapsulação e  $M_f$  o valor da massa obtida de microesferas após eletroencapsulação.

#### 4.7 Caracterização morfológica

A caracterização morfológica foi determinada em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (Zeiss, EVO MA-10, Oberkochen, Alemanha); para a análise foram utilizados elétrons acelerados em um potencial de 20 kV. As imagens foram obtidas com elétrons secundários (SHAN *et al.*, 2020).

#### 4.8 Determinação das diferenças estruturais dos materiais livres e encapsulados

A biomassa livre, microencapsulada e microcápsulas sem a presença de Sp foram analisadas por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) (PerkinElmer, FTIR Spectrum 100s, Estados Unidos), utilizando acessório de Refletância Total Atenuada (ATR) (intervalo de número de onda: 4000-



600  $\text{cm}^{-1}$ ; resolução 4 pontos por  $\text{cm}^{-1}$ ) (LUPATINI MENEGOTTO *et al.*, 2019). Os espectros foram avaliados quanto a presença de interação entre os materiais encapsulantes e encapsulados.

#### **4.9 Análise de estabilidade térmica das microcápsulas**

Para obtenção das curvas de TGA e DSC, 2,0 mg ( $\pm 0,2$  mg) de amostra de MC foram acondicionadas em cadinhos de alumínio selados, aquecidos de 30 °C a 500 °C (razão de aquecimento - 10 °C.min<sup>-1</sup>) e mantidos sob fluxo constante de N<sub>2</sub> (20 mL min<sup>-1</sup>). O equipamento STA 6000 (Perkin Elmer Frontier, Simultaneous Thermal Analyser 6000, Estados Unidos) foi previamente calibrado com padrão de índio (FRANCISCO *et al.*, 2018).

#### **4.10 Análise estatística**

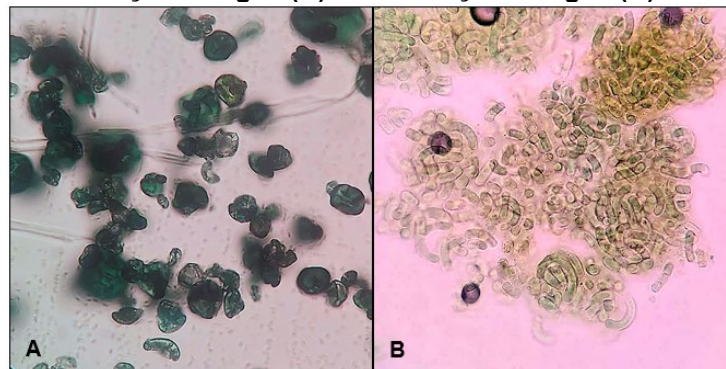
Todos os resultados foram expressos pela média  $\pm$  desvio padrão e submetidos à Análise de Variância (ANOVA) utilizando o software *Statistica* 11.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de significância para diferenciação de médias.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização da biomassa microalgal

A Fotografia 2 apresenta a estrutura da biomassa de Sp em pó, em microscópio óptico sem adição de água e com adição de água. A caracterização microscópica foi realizada para verificar a estrutura da Sp e possivelmente comparar a morfologia das MC e a possível presença de aglomerados de Sp cobertos com CPSL. A Sp apresentou formato espiral com padrão fragmentado que pode estar associado ao processo de secagem, tendo em vista que foi utilizada a biomassa desidratada em pó (DA SILVA *et al.*, 2019).

**Fotografia 2 - *Spirulina platensis* vista a partir de microscópio óptico com aumento de 40x sem adição de água (A) e com adição de água (B)**



Fonte: Autoria própria (2021)

Na Tabela 5 são apresentados os valores da composição centesimal para a biomassa em pó de Sp. Mudanças na composição química total das microalgas são comuns, principalmente devido às condições de cultivo, com teor de proteínas variando de 46% a 63%, teor de carboidratos variando de 8% a 14% e teor de lipídios variando de 4% a 9% (BECKER, 2007).

**Tabela 5 - Composição centesimal da biomassa de *Spirulina platensis***

<b>g/100 g</b>	<b>Biomassa microalgal</b>
Proteína bruta	58,97±4,86
Lipídios totais	4,07±0,39
Umidade	2,93±0,07
Cinzas	7,43±0,03

**Resultados expressos como Média ± Desvio padrão das análises em triplicata. Os carboidratos foram calculados por diferença: 100 – (% umidade +% cinzas + % proteína bruta + % lipídios).**

Fonte: Autoria própria (2021)

Observa-se na Tabela 5 que a maior parte da composição da biomassa é de proteína, tendo em vista o percentual de proteína bruta de aproximadamente 59%.

Valor similar ao de Lupatini Menegotto *et al.* (2019) que obtiveram 59,5% na biomassa desengordurada e abaixo de Batista *et al.* (2017) que obtiveram 68,9% de proteína bruta.

O teor de lipídeos foi inferior (4,07%) ao valores citados por Batista *et al.* (2017) (10,7%) e Batista de Oliveira *et al.* (2021) 8,27% (*Spirulina* sp. LEB-18 ).

Em relação ao teor de umidade a amostra de biomassa apresentou 2,93%, valor abaixo do encontrado por Batista de Oliveira *et al.* (2021) para a *Spirulina* sp. LEB-18 de 9,5%.

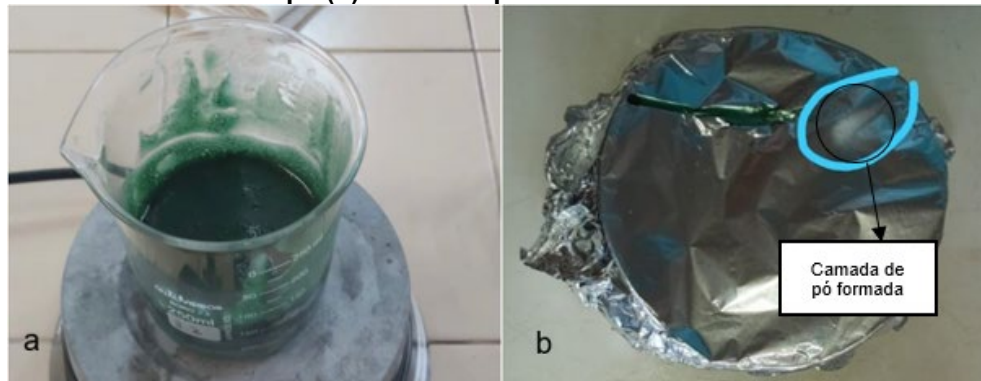
Em relação ao percentual de cinzas os valores obtidos (7,43%) foram superiores aos de Batista *et al.* (2017) que obtiveram 6,1%. Os valores de carboidratos (26,58%) se assemelham aos indicados por Lupatini Menegotto *et al.* (2019) (26,44%).

## **5.2 Obtenção das microcápsulas**

### **5.2.1 Ensaios com CPSL e pectina como materiais de parede**

O ensaio 1 (Tabela 3) possuía aparência de um líquido muito espesso e como consequência obstruiu os capilares. Mesmo com o aumento do diâmetro do capilar houve obstrução. Posteriormente, nos ensaios 2 e 3 optou-se por diminuir a concentração de pectina BTM e aumentar os parâmetros de vazão e voltagem. Pode-se observar no ensaio 2, novamente, a obstrução dos capilares, entretanto com o aumento da vazão e do diâmetro do capilar no ensaio 3 houve o desprendimento de gotas da suspensão no coletor, no início do processo. No ensaio 4 optou-se pela diminuição da concentração de pectina BTM mantendo os mesmos parâmetros do ensaio anterior, entretanto, houve um aumento no gotejamento, dessa forma, com a mesma suspensão variou-se a vazão entre 0,3 a 1,2 mL/h e a voltagem de 16 kV a 20 kV. Em todos os ensaios a perda de material por gotejamento foi observada e a formação de uma leve camada de pó, intercalada com o gotejamento, não sendo possível raspá-lo do coletor conforme apresentado na Fotografia 3.

**Fotografia 3 - Suspensão (a) e coletor com destaque para a formação de um pequeno círculo com pó (b) ao fim do processo do ensaio 3**



Fonte: Autoria própria (2021)

De acordo com Gebara *et al.* (2013) as interações eletrostáticas entre o CPSL e a pectina BTM podem ocorrer em valores de pH abaixo de 4,5, tendo em vista o ponto isoelétrico do CPSL (4,4 - 4,5) e o pKa da pectina (2,9). Nesse sentido verifica-se que a suspensão estudada apresentava valor de pH 6,4 o que pode ter contribuído para o comportamento de obstrução dos capilares e a não formação das MC.

### 5.2.2 Ensaio 3 - Suspensão (a) e coletor com destaque para a formação de um pequeno círculo com pó (b) ao fim do processo do ensaio 3

Tendo em vista o equipamento utilizado, a literatura (LAELORSPOEN *et al.*, 2014; LÓPEZ-RUBIO; LAGARON, 2012) e os testes anteriores optou-se pela não utilização da pectina. De acordo com Lim, Mendes e Chronakis (2019) a solução aquosa de CPSL para eletroencapsulação é obtida pela adição de um co-solvente polar forte de baixo peso molecular, como é o caso do glicerol.

Dessa forma, incorporou-se glicerol nos ensaios. Colak *et al.* (2015) afirmam que o glicerol auxilia reduzindo as interações intermoleculares melhorando a flexibilidade das moléculas. López-Rubio e Lagaron (2012) atribuíram a adição de glicerol a formação de maior proporção de microcápsulas maiores.

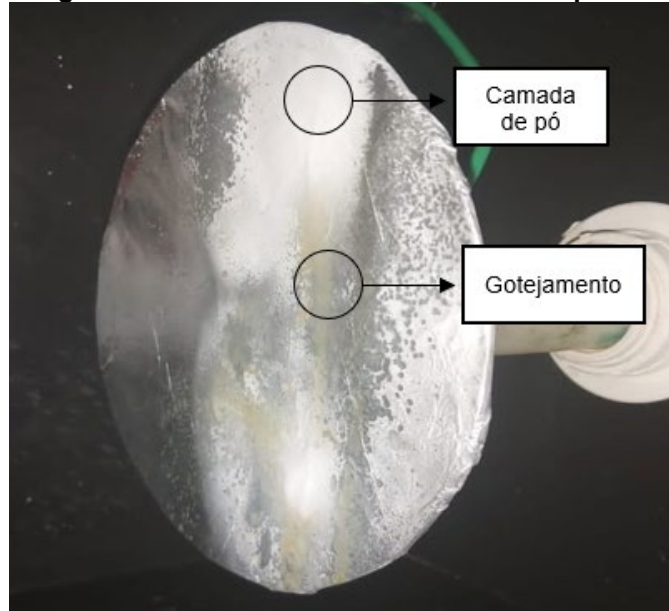
Além da incorporação de glicerol, ao final do processo de preparação manteve-se a suspensão em repouso, pois de acordo com Mohammadian *et al.* (2019) o repouso se faz necessário para a completa hidratação da proteína. O autor sugere 12 h de repouso, entretanto, durante o presente estudo verificou-se que 24 h foram necessárias para a completa hidratação do CPSL.

No ensaio 5 (Tabela 4) houve a formação de uma pequena quantidade de pó nas primeiras horas, porém com aparência úmida. Com o passar do tempo os capilares foram obstruídos, sendo assim, decidiu-se acrescentar uma alíquota (8% em

relação a massa de CPSL na suspensão) de uma solução salina (NaCl 10%) no ensaio 6, para melhorar a condutividade elétrica e possivelmente não obstruir o capilar. O ensaio 6 apresentou comportamento semelhante ao ensaio 5, embora as variáveis de tensão (18 kV) e distância do coletor (8 cm) tenham sido modificadas.

Para auxiliar na evaporação do solvente e possível formação de um pó mais seco, adicionou-se etanol nos ensaios 7, 8, 9 e 10 e variou-se as concentrações de NaCl (0,009; 0,01; 0,03; 0,18; 0,38 g/100 mL de suspensão). Nos ensaios com concentração de 0,009 e 0,01 g/100 mL de NaCl houve maior formação de pó. A Fotografia 4 apresenta a imagem do coletor do ensaio 10, as partes brancas referem-se ao pó, raspável.

**Fotografia 4 - Coletor do ensaio 10 no fim do processo**



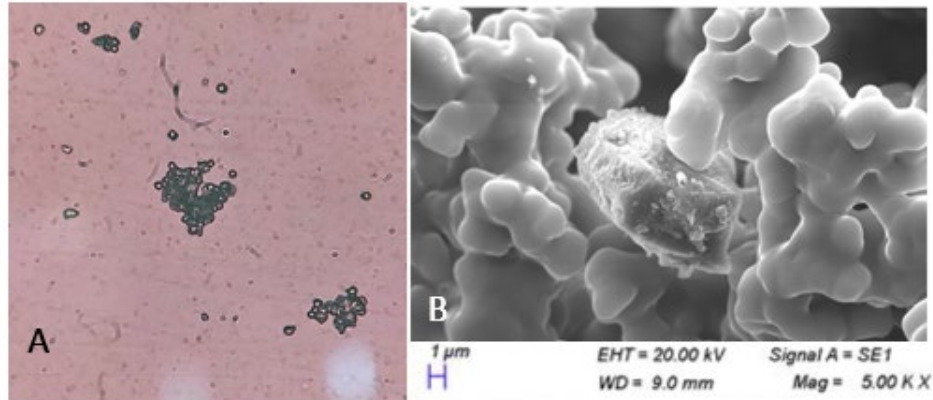
**Fonte: Autoria própria (2021)**

É possível verificar na Fotografia 4 que apesar da formação do pó ainda houve gotejamento. Durante as primeiras horas forma-se pó e posteriormente a produção diminui e o gotejamento aumenta. Entretanto, um gotejamento muito menor se comparado com os testes anteriores.

De acordo com Tang, Munro e Mocarthy (1993) as soluções de CPSL são conhecidas por exibirem um comportamento de cisalhamento dependente do tempo em concentrações acima de 35%. Essa instabilidade nas características físicas da solução de CPSL justifica a perda de material por gotejamento. López-Rubio e Lagaron (2012) observaram esse gotejamento no coletor após aproximadamente meia hora em uma solução de CPSL com pH 4,5.

Na Fotografia 5 são apresentadas imagens das MC obtidas a partir do ensaio 10, por microscopia óptica (a) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (b).

**Fotografia 5 - Microcápsulas obtidas a partir do ensaio 10, vistas em um aumento de 40x em um microscópio óptico (A) e em um microscópio eletrônico de varredura (B)**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

Pode-se observar na Fotografia 5A, que houve a formação das MC, agrupadas e isoladas. Quando vistas com uma aproximação maior (Fotografia 5B), verifica-se a formação de MC achatada com formato irregular.

De acordo com Bock, Dargaville e Woodruff (2012) quando a concentração do polímero é baixa ou há um aumento no peso molecular, ocorre uma deformação na morfologia, ou seja, partículas não esféricas, em forma de concha, enrugadas, ocas, fibras peroladas ou partículas com caudas são formadas. De acordo com os mesmos autores o aumento da condutividade elétrica e uma vazão baixa durante o processo de eletropulverização podem interferir na formação de emaranhados, não sendo fortes o suficiente para preservar a partícula da deformação por estiramento durante o processo de fissão apresentando partículas de tamanho e morfologia desforme.

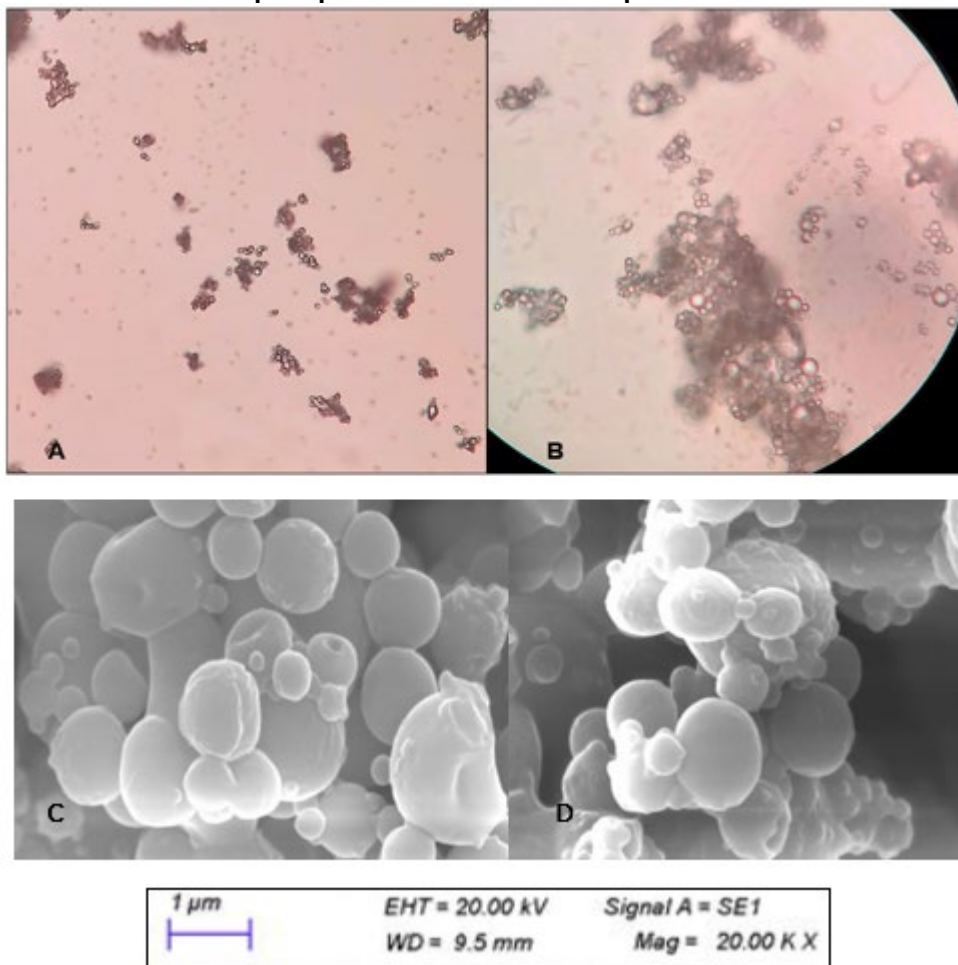
Nos ensaios 11 e 12, a solução salina e o etanol não foram acrescentados e apenas as concentrações de CPSL (40 g/100 mL de suspensão), glicerol (8 g/100 mL de suspensão), Sp (0,02 e 0,06 g/100 mL de suspensão) e os parâmetros de vazão (0,3 e 0,15 mL/h) e tensão (25 kV) foram alterados. Assim como no ensaio 10, nos ensaios 11 e 12 também foi possível verificar a formação das MC.

Foi observado que com o aumento da tensão de 25 kV para 28 kV no ensaio 12, o cone de Taylor manteve-se estável durante todo o processo, visto que houve pouca perda por gotejamento. As imagens de microscopia óptica (Fotografia 6 A/B) e MEV (Fotografia 6 C/D) do teste 11 demonstram MC redondas fundamentalmente

lisas, com depressões e fissuras eventuais, resultado esperado para a técnica de eletroencapsulação (LÓPEZ-RUBIO; LAGARON, 2012).

Embora a distribuição do tamanho das MC não tenha sido determinada, pode-se inferir sobre seu tamanho na faixa de 1  $\mu\text{m}$  a 3  $\mu\text{m}$ , observando a escala da Fotografia 6. Da Silva *et al.* (2019) utilizando a técnica de *spray drying* encontraram tamanhos variados de 1,09  $\mu\text{m}$  a 6,25  $\mu\text{m}$  na distribuição e tamanhos médios entre 2,19  $\mu\text{m}$  a 2,90  $\mu\text{m}$

**Fotografia 6 - Microcápsulas obtidas a partir do ensaio 11, vistas em um aumento de (A) 40x e (B) 100x em um microscópio óptico e em um microscópio eletrônico de varredura (C/D)**



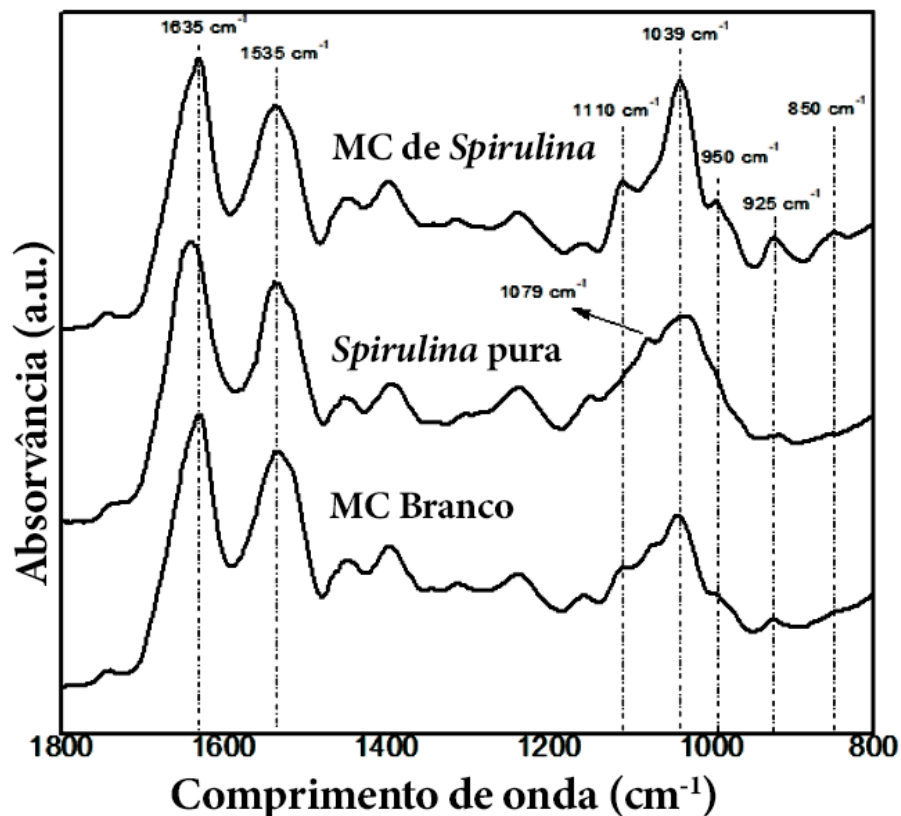
Fonte: Autoria própria (2021)

A ocorrência de rugosidades na superfície de determinadas partículas ocorre como resultado típico da secagem, durante a qual uma camada dura polimérica é criada nas partes superficiais, seguida do encolhimento das partículas por meio da evaporação do solvente (NEO *et al.*, 2013; NIU *et al.*, 2020). Microcápsulas enrugadas também podem estar associadas a uma baixa concentração polimérica (BOCK; DARGAVILLE; WOODRUFF, 2012).

Soleimanifar *et al.* (2021), microencapsulando extrato de folha de oliveira utilizando CPSL, observaram que o aumento da concentração do polímero para 20 e 30% formou nanoestruturas compactas e esféricas bem definidas, além disso, houve um aumento na aglomeração das partículas, como também pode ser visto neste estudo (Fotografia 6C) e foi justificado pelos autores devido a formação de redes inter-superficiais entre proteínas e compostos fenólicos não encapsulados.

Na Figura 9 são apresentados os espectros de FTIR para a Sp pura, MC branco (sem Sp) e MC de Sp do ensaio 11.

Figura 9 - Espectros de FTIR na faixa de 800–1800  $\text{cm}^{-1}$  para as microcápsulas de *Spirulina platensis*, amostra branco e *Spirulina platensis* pura



Fonte: Autoria própria (2021)

A faixa espectral entre 1600  $\text{cm}^{-1}$ -1700  $\text{cm}^{-1}$  é conhecida como a região da amida primária (Amida I) que corresponde ao estiramento C=O da estrutura peptídica (DROSOU; KROKIDA; BILIADERIS, 2018). Esta banda contém uma combinação de folha- $\beta$  e  $\alpha$ -hélice. Pode-se verificar que a banda em 1635  $\text{cm}^{-1}$  na MC de Sp e na MC branco apresenta um efeito hipsocrômico em relação a *Spirulina* pura, ou seja, houve um deslocamento da banda de absorção para um comprimento de onda menor.



A faixa entre  $1495\text{ cm}^{-1}$ -  $1580\text{ cm}^{-1}$  é característica da amida secundária (Amida II) que corresponde a vibração de flexão da ligação N–H e o estiramento C–N que são conformacionalmente sensíveis (DROSOU; KROKIDA; BILIADERIS, 2018). É possível verificar que a banda em  $1535\text{ cm}^{-1}$  está presente nos três espectros apresentados.

A banda em  $1110\text{ cm}^{-1}$  se apresenta de forma mais intensa na MC de Sp isso pode estar associado a alguma interação entre os componentes das microcápsulas. De acordo com Nourmohammadi, Soleimani-zad e Shekarchizadeh (2020) o espectro de CPSL tem as bandas principais em  $800\text{--}1150\text{cm}^{-1}$  correspondendo a C–H.

De acordo com Sayadi *et al.* (2018) as bandas localizadas em  $1074\text{ cm}^{-1}$  e  $1080\text{ cm}^{-1}$  ilustram a presença de alongamento C–O de álcoois, ácidos carboxílicos e grupos éster e éter. O espectro das microcápsulas de Sp manteve as bandas características da amostra branco, e não apresentou a banda em  $1079\text{ cm}^{-1}$  que é visualizado no espectro da Sp, sugerindo a encapsulação da biomassa de Sp.

A banda em  $1039\text{ cm}^{-1}$  apresenta-se de forma mais intensa nas microcápsulas e de acordo com os estudos de López-Rubio e Lagaron (2012) pode-se associar essa banda com o estiramento C–O. Os autores também indicam uma possível interação molecular entre o WPC e o glicerol pelo fato de que em sua pesquisa houve um deslocamento considerável da banda de  $1030\text{ cm}^{-1}$  para  $1040\text{ cm}^{-1}$ .

A banda em  $850\text{ cm}^{-1}$  encontra-se presente apenas no espectro das microcápsulas do teste 11 e pode ser atribuído a uma ligação N–H de amida ou amina (DOTTO *et al.*, 2013).

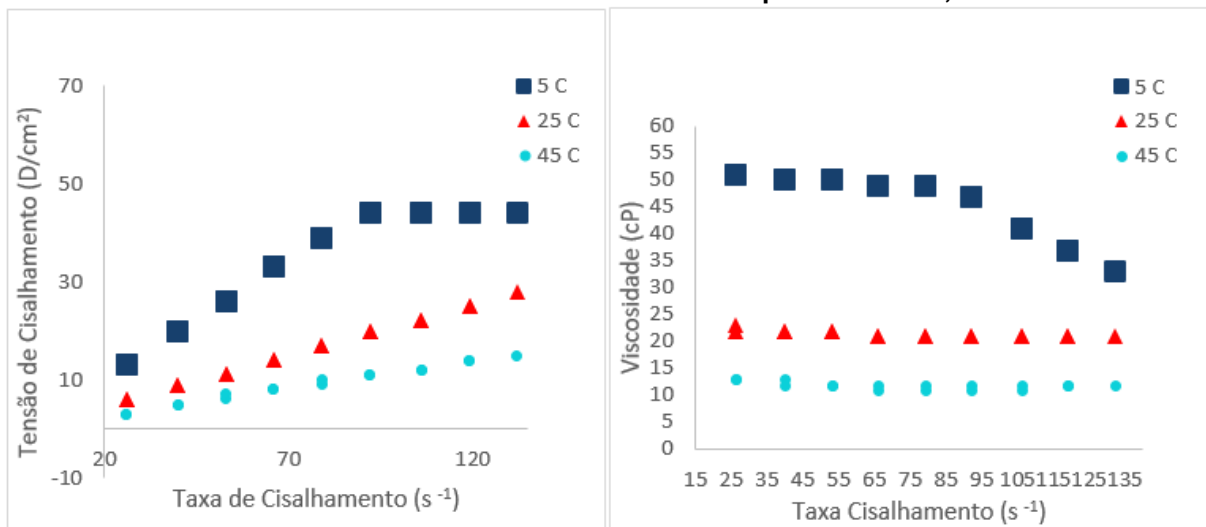
A partir dos ensaios 11 e 12 e dos resultados obtidos para esses ensaios optou-se por desenvolver mais três ensaios subsequentes (ensaios 13,14 e 15) variando as concentrações de CPSL, glicerol e Sp.

Tendo em vista que nenhum ensaio foi desenvolvido com menos de 40 g CPSL/ 100 mL de suspensão, nos ensaios 13 e 15 fixou-se o valor de 35 g CPSL/100 mL de de suspensão 0,05 g Sp/100 mL de suspensão e variou-se apenas a concentração de glicerol; e no ensaio 14 optou-se por verificar o comportamento da solução com 50 g CPSL/100 mL de suspensão e 0,05 g Sp/100 mL de suspensão, porém com menor concentração de glicerol (6,5 g/100 mL de suspensão).

Sabe-se que a morfologia dos materiais que passam por processos eletro-hidrodinâmicos dependem muito das características físicas da solução polimérica

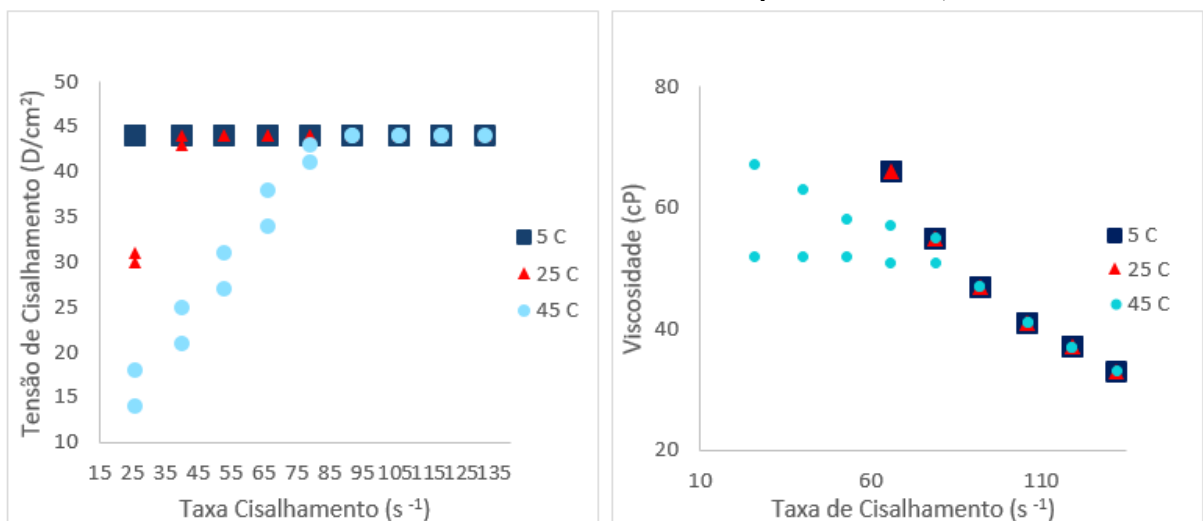
inicial (LÓPEZ-RUBIO; LAGARON, 2012). A viscosidade é um dos parâmetros cruciais para prever a capacidade de uma suspensão ser submetida a eletroencapsulação, pois viscosidades altas e baixas dão origem ao gotejamento das suspensões ou formação de fibras (MOREIRA *et al.*, 2021; PAXIMADA; KANAVOU; MANDALA, 2020). Dessa forma, a viscosidade aparente das suspensões dos ensaios 13, 14 e 15 foram avaliadas e são apresentadas nas Figuras 10, 11 e 12.

**Figura 10 - Reograma do ensaio 13 (CPSL 35, glicerol 5,75, *Spirulina* 0,05 g/100 mL) e viscosidade versus taxa de cisalhamento nas temperaturas de 5, 25 e 45 °C**



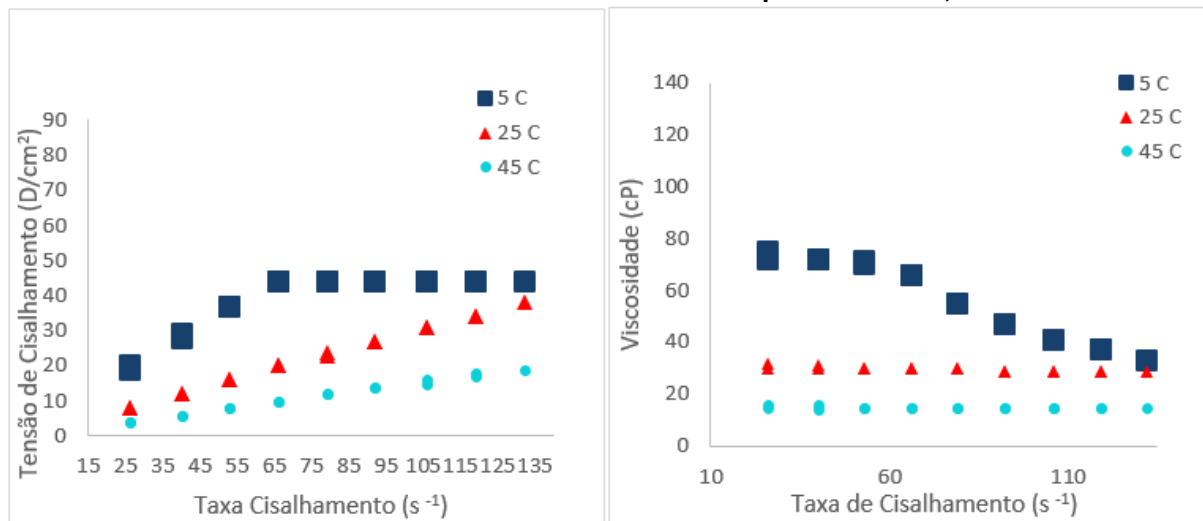
Fonte: Autoria própria (2021)

**Figura 11 - Reograma do ensaio 14 (CPSL 50, glicerol 6,5, *Spirulina* 0,05 g/100 mL) e viscosidade versus taxa de cisalhamento nas temperaturas de 5, 25 e 45 °C**



Fonte: Autoria própria (2021)

**Figura 12 - Reograma do ensaio 15 (CPSL 35, glicerol 11, *Spirulina* 0,05 g/100 mL) e viscosidade versus taxa de cisalhamento nas temperaturas de 5, 25 e 45 °C**



Fonte: Autoria própria (2021)

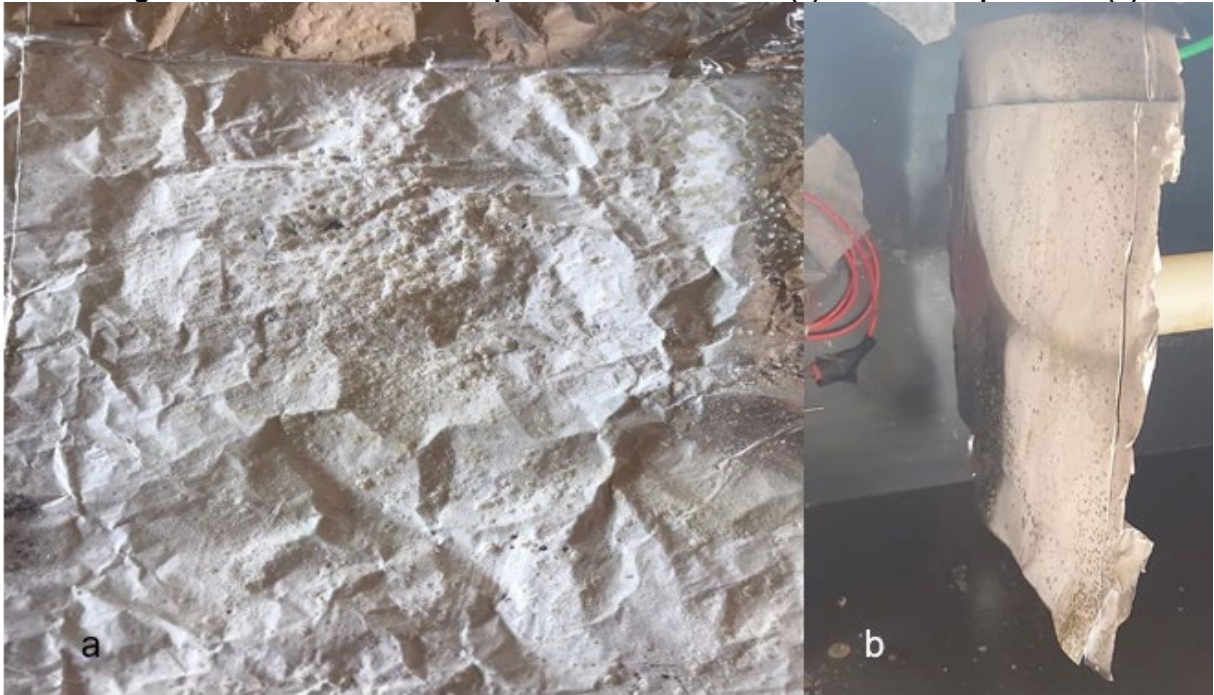
De acordo com Moreira *et al.* (2021) para que ocorra a formação de fibras a viscosidade da solução requer um polímero altamente viscoso, em contra partida para a formação de partículas é necessário viscosidades mais baixas. A viscosidade deve ser alta o suficiente para permitir a formação do cone de Taylor, mas baixa o suficiente para evitar a obstrução dos capilares.

De acordo com as Figuras 10, 11 e 12, pode-se observar que para todas as suspensões, independentemente da temperatura, houve uma redução da viscosidade aparente à medida que a taxa de cisalhamento se elevou. Este é um comportamento reológico característico de fluido não-Newtoniano e fica mais evidente no ensaio 14 (Figura 11). Kaltsa *et al.* (2014) observaram o mesmo comportamento para emulsões contendo isolado proteico de soro de leite sem pectina.

Vale ressaltar que os ensaios foram realizados em três diferentes temperaturas e o processo de eletroencapsulação ocorreu em temperatura ambiente (25 °C). Em temperatura ambiente o que se observa nos três ensaios é que no ensaio 14 a viscosidade aparente é maior do que nos ensaios 13 e 15. Esse resultado pode estar associado ao fato de que no ensaio 14 há uma concentração maior do polímero (CPSL) e quanto maior a concentração do polímero maior a viscosidade (KAL TSA *et al.*, 2014; PAXIMADA; KANAVOU; MANDALA, 2020).

O ensaio 14 também foi o ensaio que apresentou maior rendimento (Tabela 6) e menor perda por gotejamento conforme mostra a Fotografia 7 do coletor no final do processo.

**Fotografia 7 - Coletor ao final do processo do ensaio 14 (a) e durante o processo (b)**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

Na Tabela 6 são apresentadas as respostas de rendimento, umidade, atividade de água, solubilidade, higroscopicidade e os parâmetros instrumentais de cor para os três ensaios.

Tabela 6 - Resultados dos ensaios 13 (CPSL 35, glicerol 5,75, *Spirulina* 0,05 g/100 mL), 14 (CPSL 50, glicerol 6,5, *Spirulina* 0,05 g/100 mL) e 15 (CPSL 35, glicerol 11, *Spirulina* 0,05 g/100 mL)

Ensaio	Rendimento (%)	Umidade (%)	Aw	Sol.** (%)	Hy***	Cor		
						L*	a*	b*
13	37,65 ±0,53 <sup>b</sup>	20,62 ±1,22 <sup>b</sup>	0,48±0,02 <sup>a</sup>	74,6±1,95 <sup>a</sup>	29,7±0,00 <sup>a</sup>	59,50±1,12 <sup>a</sup>	-4,05±0,17 <sup>a</sup>	9,65±0,66 <sup>c</sup>
14	68,30 ±1,40 <sup>a</sup>	16,73 ±0,59 <sup>c</sup>	0,52±0,01 <sup>a</sup>	74,9±1,68 <sup>a</sup>	16,2±0,17 <sup>b</sup>	57,48±0,75 <sup>a</sup>	-3,98±0,01 <sup>ab</sup>	11,64±0,044 <sup>b</sup>
15	2,47 ±0,46 <sup>c</sup>	40,22 ±1,58 <sup>a</sup>	0,51±0,00 <sup>a</sup>	74,7±0,00 <sup>a</sup>	---	47,01±0,61 <sup>b</sup>	-3,79±0,04 <sup>b</sup>	16,42±0,08 <sup>a</sup>

\*\* Solubilidade; \*\*\* Higroscopicidade. Resultados expressos como Média ± Desvio padrão das análises em triplicata. Os ensaios seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente no teste de Tukey a um intervalo de confiança de 95%.

Fonte: Autoria própria (2021)

Com base no cálculo do rendimento da microencapsulação, houve diferença significativa entre os ensaios ( $p < 0,05$ ). Esses resultados indicaram que quanto maior a concentração de glicerol (ensaio 15) menor foi o rendimento do processo.

Koupantsis, Pavlidou e Paraskevopoulou (2016) avaliaram o efeito da adição de ácido tânico e de glicerol na encapsulação de beta pineno por coacervação utilizando carboximetilcelulose e isolado proteico de soro de leite e verificaram que a adição de glicerol teve efeito negativo em relação ao rendimento de encapsulação e que na ausência de glicerol, o rendimento dependeu principalmente da concentração de proteína. Os autores justificaram o efeito negativo a estrutura molecular do glicerol. Devido ao baixo volume molecular e alta mobilidade, o glicerol pode interagir com as cadeias laterais dos biopolímeros não permitindo interações intermoleculares e conseqüentemente formando agregados difíceis de serem separados do soro resultando em menor rendimento de encapsulação (HAMBLETON *et al.*, 2009).

O glicerol é considerado um fluído altamente higroscópico devido aos três grupos hidroxila hidrofílicos presentes em sua composição (FLUHR; DARLENSKI; SURBER, 2008) o que corrobora para o aumento no teor de umidade e pode ser visto nos ensaios 13, 14 e 15 que diferiram entre si, sendo o ensaio 14 o que apresentou menor percentual (16,73%); o ensaio 15 que continha maior percentual de glicerol resultou no maior teor de umidade (40,22%).

Essa característica do glicerol já foi observada em outras pesquisas como é o caso de Coupland *et al.* (2000), que observaram aumento no teor de umidade dos filmes de proteína de soro de leite a medida que a concentração de glicerol aumentava.

O teor de umidade é uma propriedade importante quando se trata de microcápsulas secas, pois pode influenciar na estabilidade das microcápsulas e de maneira geral, produtos alimentícios com teor de umidade entre 3 e 10% são preferíveis em termos de estabilidade durante o armazenamento (PARTHASARATHI; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2016).

Embora os valores de umidade apresentados terem diferido entre si os valores para  $A_w$  não apresentaram diferença significativa variando entre 0,48 e 0,52.

A atividade da água ( $A_w$ ) é definida como a razão entre a pressão parcial da água em equilíbrio com o alimento e a pressão parcial da água pura na mesma temperatura. Assim como a umidade a  $A_w$  também é importante para prever a

estabilidade dos alimentos frente as reações de deterioração e o crescimento de microrganismos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2007).

Em relação aos valores de solubilidade verifica-se que os ensaios não diferiram entre si, apresentando alta solubilidade, diferentemente dos valores de higroscopicidade que diferiram entre si apresentando elevado percentual (29,7%) no ensaio 13 comparado ao ensaio 14 (16,2%). Esse comportamento pode estar relacionado ao maior percentual de glicerol (14% com base no teor de sólidos totais) no ensaio 13 e que o glicerol é altamente higroscópico por possuir três grupos hidroxila hidrofílicos em sua estrutura (FLUHR; DARLENSKI; SURBER, 2008).

De acordo com Comunian e Favaro-Trindade (2016) os valores de higroscopicidade e solubilidade ajudam a prever as condições de armazenamento e o tipo de produto em que as cápsulas poderão ser aplicadas.

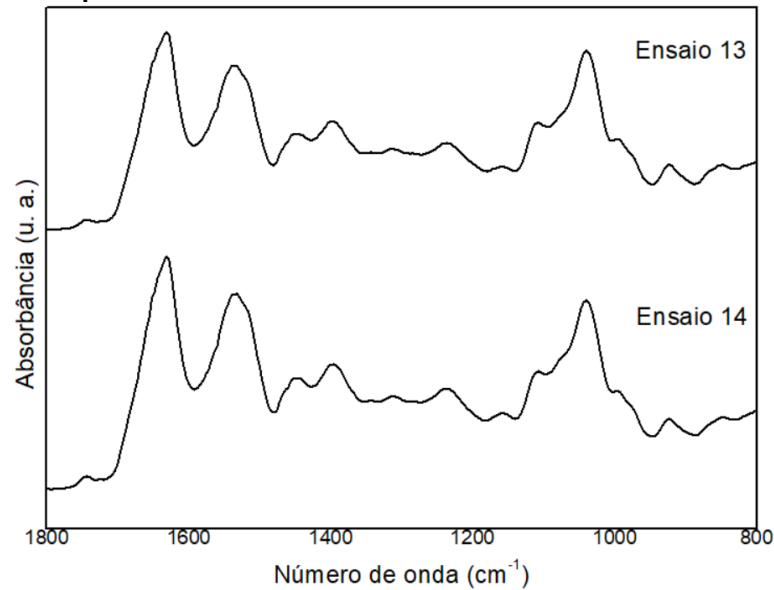
Tendo em vista os resultados de rendimento, umidade e solubilidade, decidiu-se por não realizar as análises de higroscopicidade, termogravimétricas e a caracterização morfológica do ensaio 15.

Em relação a característica cor, observa-se na Tabela 6, que os ensaios 13 e 14 não se distinguem no parâmetro luminosidade ( $L^*$ ), e apresentam maior valor neste critério. Com relação ao parâmetro  $a^*$  verifica-se a coloração de um tom esverdeado, pois  $a^*$  varia de verde (-60) a vermelho (+60); neste parâmetro, o ensaio 13 apresentou maior tendência ao verde, embora as concentrações de Sp sejam semelhantes nos três ensaios realizados. Entretanto, no parâmetro  $b^*$ , no ensaio 15 obteve-se maior média, sendo possível afirmar que tende a uma coloração mais amarela, haja visto que  $b^*$  varia do azul (-60) ao amarelo (+60).

Nourmohammadi, Soleimani-Zas e Shekarchizadeh (2020) microencapsularam Sp com alginato e recobriram com CPSL e obtiveram valores para luminosidade ( $L^*$  60,45) tendência ao verde ( $a^*$  = -8,86) e tendência ao amarelo ( $b^*$  = 14,64). Esses autores relataram que as microcápsulas revestidas com CPSL apresentaram uma cor mais branca, demonstrando o efeito positivo em mascarar a cor da Sp.

Na Figura 13 são apresentados os espectros de FTIR para os ensaios 13 e 14.

**Figura 13 - Espectros de FTIR na faixa de 800–1800  $\text{cm}^{-1}$  dos ensaios 13 e 14**



Fonte: Autoria própria (2021)

Pode-se verificar que ambos os espectros são semelhantes, apresentando as mesmas bandas já demonstradas na Figura 9 para as MC de *Spirulina*. Ressalta-se que a banda em  $1079 \text{ cm}^{-1}$  não está presente, sugerindo que a biomassa foi microencapsulada.

### **5.3 Caracterização morfológica, análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC)**

Nas Fotografias 8 e 9 são apresentadas imagens de microscopia eletrônica de varredura das MC dos ensaios 13 e 14 com diferentes aumentos.

É possível verificar em ambos os ensaios a formação de MC com formato esférico, levemente rugosas. Resultados semelhantes foram encontrados por Pérez-Masiá *et al.* (2015) que microencapsularam ácido fólico por meio de eletropulverização utilizando CPSL 80% e amido resistente como materiais de parede, López-Rubio e Lagaron (2012) que microencapsularam, por eletropulverização,  $\beta$ -caroteno utilizando CPSL 80% e glicerol como materiais de parede e Gómez-Mascaraque e López-Rubio (2016), que microencapsularam ácido  $\alpha$ -linolênico por eletropulverização utilizando uma emulsão contendo CPSL 80% e um surfactante não iônico.

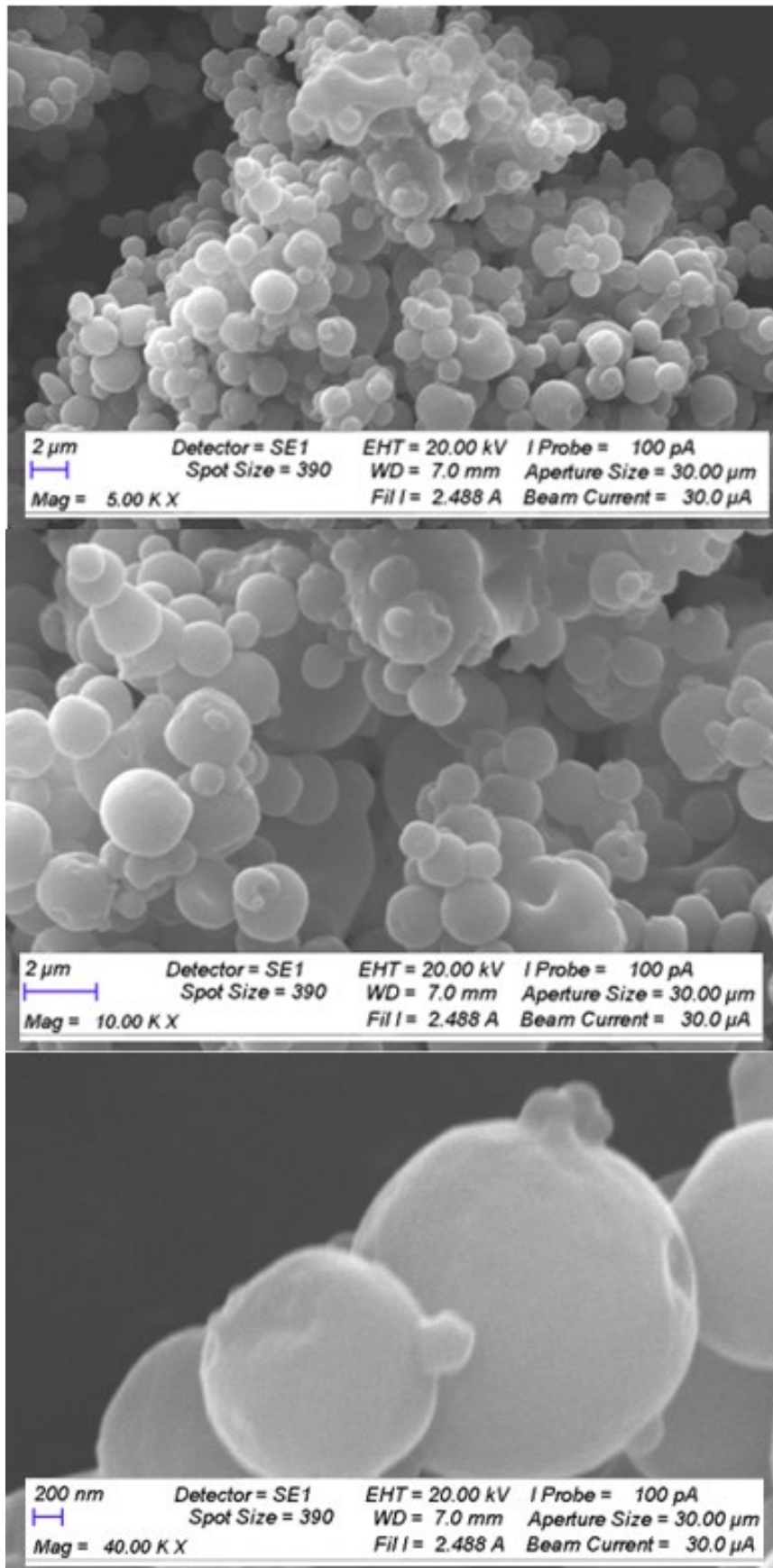
Em relação ao tamanho médio das MC pode-se inferir, tendo em vista as escalas apresentadas nas Fotografias 8 e 9, que apresentaram tamanhos inferiores a  $3 \mu\text{m}$ .



Em paralelo aos autores citados anteriormente verifica-se que Pérez-Masiá *et al.* (2015) comparando as técnicas de *spray drying* e eletropulverização observaram um maior controle sobre a distribuição de tamanho das MC, sendo estas menores na técnica de eletropulverização (0,5 - 2  $\mu\text{m}$ ). López-Rubio e Lagaron (2012) verificaram que houve uma relação entre o aumento no tamanho das MC e a quantidade de glicerol adicionada, entretanto as cápsulas apresentaram tamanhos entre 11,5 nm a 524 nm em pH 6,4 e Gómez-Mascaraque e López-Rubio (2016) observaram que as MC obtidas a partir da eletropulverização apresentaram tamanhos médios menores quando comparadas as MC obtidas pela técnica de *spray drying*; entretanto esse fenômeno não foi observado para as MC contendo CPSL. Os autores justificaram o resultado a partir da tensão superficial e condutividade elétrica da emulsão de CPSL que pode ter sido aumentada com o processo de ultrassom.

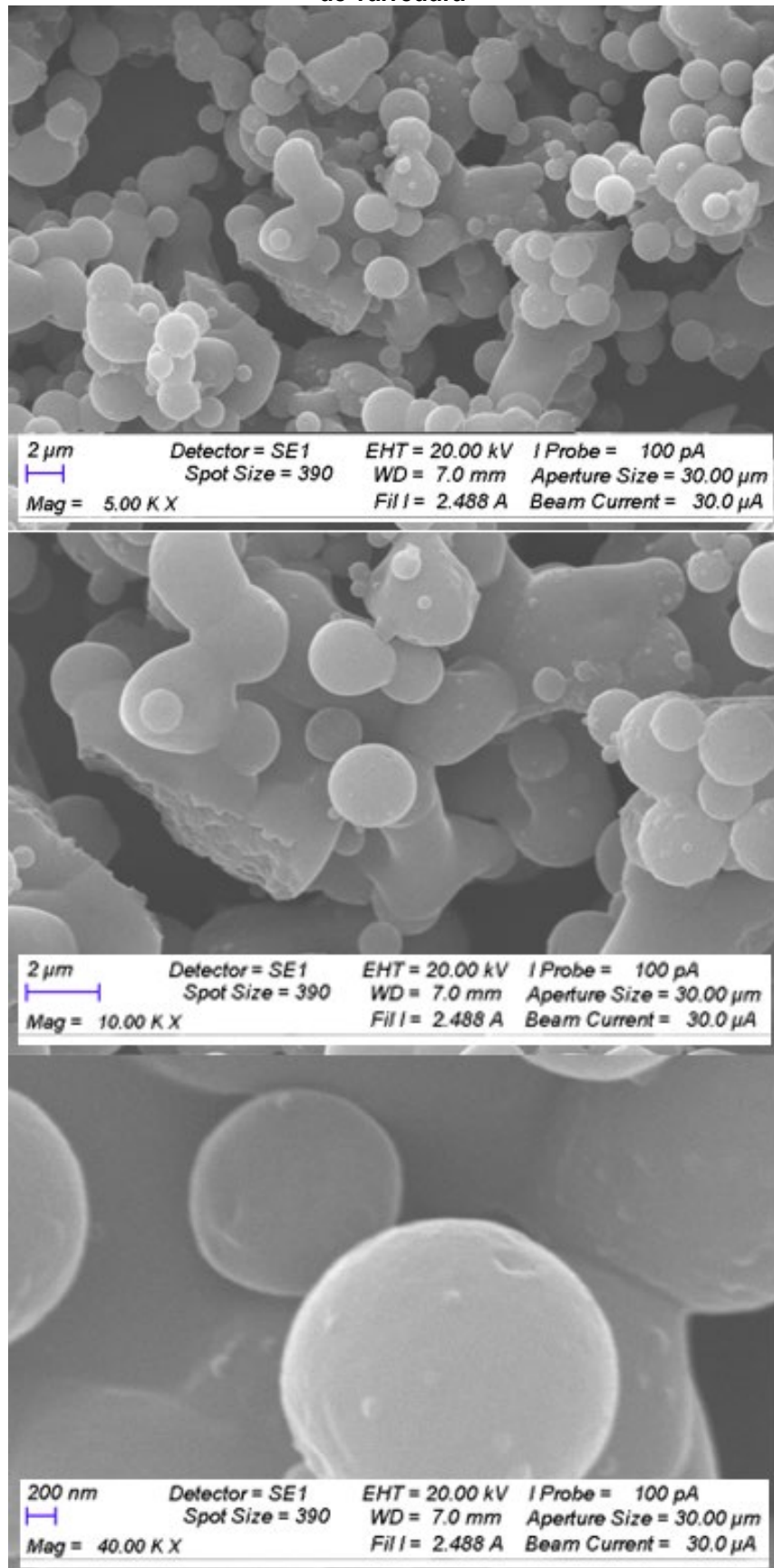
Vale ressaltar que para a aplicação de MC em matrizes alimentares não sólidas e semi-sólidas é importante que o tamanho das MC seja diminuído para que sua incorporação não afete as qualidades sensoriais do alimento (AUGUSTIN, 2003).

Fotografia 8 - Microcápsulas obtidas no ensaio 13 vistas por meio de microscópio eletrônico de varredura



Fonte: Autoria própria (2021)

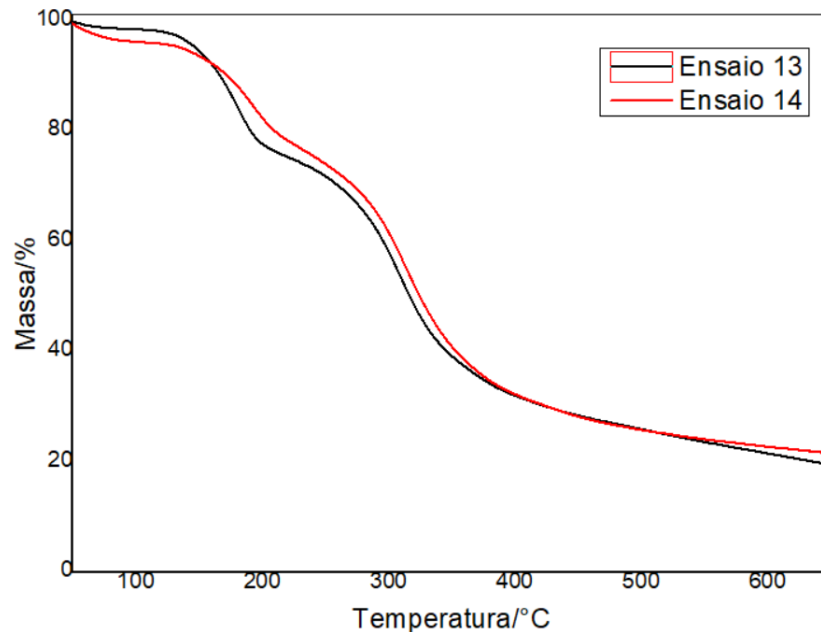
Fotografia 9 - Microcápsulas obtidas no ensaio 14 vistas por meio de microscópio eletrônico de varredura



Fonte: Autoria própria (2021)

A análise termogravimétrica foi realizada para verificar a degradação térmica e a perda de peso das MC dos ensaios 13 e 14. A Figura 14 apresenta as curvas da análise termogravimétrica.

**Figura 14 - Curvas da análise termogravimétrica dos ensaios 13 e 14**

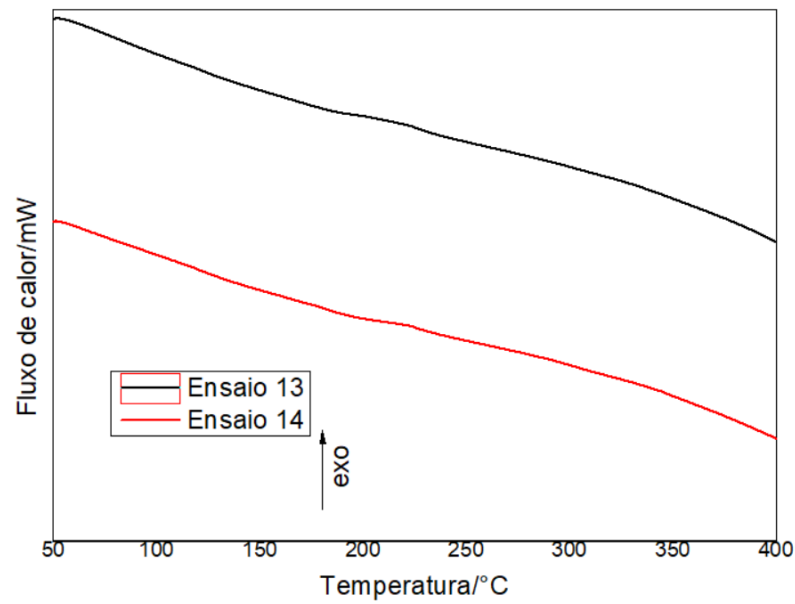


Fonte: Autoria própria (2022)

Embora os ensaios apresentaram comportamento similar, verifica-se que no ensaio 13 há maior umidade e que a partir de 150 a 180 °C há a degradação do glicerol que está mais evidente nesse ensaio que contém 14% de glicerol (em relação ao teor de sólidos totais) em detrimento do ensaio 14 que possui 11%. A partir de 200 °C verifica-se que há a degradação da matéria. Koupantsis, Pavlidou e Paraskevopoulou (2016) microencapsulando  $\beta$ -pineno com caseinato de sódio e proteína isolada de soro de leite com glicerol e ácido tânico por coacervação, encontraram o mesmo padrão de degradação para o glicerol entre 150 a 240 °C e os demais materiais iniciaram sua degradação em 250 °C.

Na Figura 15 são apresentados os termogramas da análise de calorimetria diferencial de varredura dos dois ensaios.

**Figura 15 - Termogramas da análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC) dos ensaios 13 e 14**



**Fonte: Autoria própria (2022)**

Em relação aos termogramas apresentados não foi observado uma variação entre as amostras, que pode ser justificada devido a sensibilidade do equipamento que é um analisador térmico simultâneo e por esse motivo possui o porta amostras aberto.

## 6 CONCLUSÃO

Foi demonstrado neste trabalho que é possível a eletroencapsulação da biomassa integral de *Sp* utilizando solução aquosa como meio de dispersão para os materiais de parede nas concentrações de 35 e 50 g/100 mL de CPSL; 5,75 e 6,5 g/100 mL de glicerol e 0,05 g/100 mL de biomassa de *Spirulina* em uma vazão de 0,15 mL/h, tensão de 28kV, distância de 8 cm até o coletor e diâmetro de capilar de 0,7 mm.

A incorporação de pectina BTM ao CPSL não apresentou suspensões adequadas para o processo sendo necessário mais estudos referentes ao seu uso na eletroencapsulação, principalmente em relação às concentrações e pH das suspensões.

Através da determinação das diferenças estruturais dos materiais livres e encapsulados por meio de FTIR foi possível sugerir que houve a microencapsulação de *Sp* utilizando CPSL e glicerol como materiais de parede por meio de eletroencapsulação de soluções aquosas em diferentes concentrações de CPSL e glicerol. Pode-se verificar também que a presença do glicerol auxilia na formação das MC melhorando as ligações e conferindo maior flexibilidade as moléculas, entretanto possui efeito negativo em relação ao rendimento e teor de umidade, aumentando a higroscopicidade.

Quanto a morfologia obteve-se resultados esperados de acordo com a literatura estudada, obtendo-se MC esféricas, uniformes, fundamentalmente lisas com tamanho aproximado de 1 a 3  $\mu\text{m}$ . As análises termogravimétricas demonstraram que a degradação das MC se inicia a partir de 150 °C com a degradação do glicerol.

Vale ressaltar que os resultados apresentados aqui concernem aos estudos desenvolvidos no equipamento de fabricação própria utilizado no Campus Medianeira da UTFPR, portanto sugere-se estudos futuros com relação ao acréscimo na concentração de *Sp* para possíveis aplicações em matrizes alimentares.

## REFERÊNCIAS

- AMBROSI, M. A. *et al.* Propriedades de saúde de Spirulina spp. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 29, n. n2, p. 109–117, 2008.
- ANDRADE, M. DA R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga spirulina platensis em fontes alternativas de nutrientes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1551–1556, 2008.
- ANITHA, L.; CHANDRALEKHA, K. Effect of Supplementation of Spirulina on Blood Glucose, Glycosylated Hemoglobin and Lipid Profile of Male Non- Insulin Dependent Diabetics. **Asian J. Exp. Biol.Sci. Asian J. Exp. Biol. Sci**, 2010.
- ANU BHUSHANI, J.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Electrospinning and electro spraying techniques: Potential food based applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 21–33, 2014.
- AOAC. Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. **Choice Reviews Online**, 1997.
- ATAY, E. *et al.* Development and characterization of chitosan/gelatin electro sprayed microparticles as food grade delivery vehicles for anthocyanin extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 699–710, 2018.
- AUGUSTIN, M. A. The role of microencapsulation in the development of functional dairy foods. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 58, n. 2, p. 156, 2003.
- BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, n. 1–3, p. 381–386, 2011.
- BARKALLAH, M. *et al.* Effect of Spirulina platensis fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. **LWT - Food Science and Technology**, 2017.
- BATISTA, A. P. *et al.* Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. **Algal Research**, v. 26, n. June, p. 161–171, 2017.
- BATISTA DE OLIVEIRA, T. T. *et al.* Microencapsulation of Spirulina sp. LEB-18 and its incorporation in chocolate milk: Properties and functional potential. **Lwt**, v. 148, n. March, p. 111674, 2021.
- BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; DE LIMA, D. P. Glicerol: Um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Quimica Nova**, v. 34, n. 2, p. 306–319, 2011.
- BECKER, E. W. **Micro-algae as a source of protein** *Biotechnology Advances*, 2007.
- BHINGARDE, S.; NIMSE, A. Spirulina farming : a superfood. **Just Agriculture e-Newsletter**, v. 2, n. 6, 2022.
- BOCK, N.; DARGAVILLE, T. R.; WOODRUFF, M. A. Electro spraying of polymers

- with therapeutic molecules: State of the art. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 11, p. 1510–1551, 2012.
- BRANDÃO, E. M.; ANDRADE, C. T. Influência de fatores estruturais no processo de gelificação de pectinas de alto grau de metoxilação. **Polímeros**, v. 9, n. 3, p. 38–44, 1999.
- CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus betacyanin* pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1248–1252, 2000.
- CANO-CHAUCA, M. *et al.* Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, n. 4, p. 420–428, 2005.
- CASTRO COELHO, S.; NOGUEIRO ESTEVINHO, B.; ROCHA, F. Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electrospraying – A review. **Food Chemistry**, v. 339, n. December 2019, p. 127850, 2021.
- ÇELEKLI, A.; ALSLIBI, Z. A.; BOZKURT, H. ÜSEYİN. Influence of incorporated *Spirulina platensis* on the growth of microflora and physicochemical properties of ayran as a functional food. **Algal Research**, 2019.
- ÇELEKLI, A.; YAVUZATMACA, M.; BOZKURT, H. Modeling of biomass production by *Spirulina platensis* as function of phosphate concentrations and pH regimes. **Bioresource Technology**, 2009.
- CHAKRABORTY, S. *et al.* Electrohydrodynamics: A facile technique to fabricate drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 61, n. 12, p. 1043–1054, 2009.
- COLAK, B. Y. *et al.* Study of the influences of film processing conditions and glycerol amount on the water sorption and gas barrier properties of novel sodium caseinate films. **Journal of Membrane Science**, v. 478, p. 1–11, 2015.
- COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 442–457, 2016.
- COUPLAND, J. N. *et al.* Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 43, n. 1, p. 25–30, 2000.
- DA SILVA FARESIN, L. *et al.* Development of ice cream with reduction of sugar and fat by the addition of inulin, *Spirulina platensis* or phycocyanin. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 27, n. August 2021, p. 100445, 2022.
- DA SILVA, S. C. *et al.* Spray-dried *Spirulina platensis* as an effective ingredient to improve yogurt formulations: Testing different encapsulating solutions. **Journal of Functional Foods**, v. 60, n. June, 2019.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's food chemistry**. [s.l.] CRC press, 2007.



DE MORAIS, M. G. *et al.* Biofunctionalized nanofibers using *Arthrospira* (spirulina) biomass and biopolymer. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

DEWI, E. N.; PURNAMAYATI, L.; KURNIASIH, R. A. Physical Characteristics of Phycocyanin from *Spirulina* Microcapsules using Different Coating Materials with Freeze Drying Method. **IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science**, v. 55, p. 1–7, 2017.

DONHOWE, G.; FENNEMA, O. R. The effects of plasticizers on crystallinity, permeability, and mechanical properties of methylcellulose films. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 17, p. 247–257, 1993.

DOTTO, G. L. *et al.* Equilibrium and thermodynamics of azo dyes biosorption onto *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 1, p. 13–21, 2013.

DROSOU, C.; KROKIDA, M.; BILIADERIS, C. G. Composite pullulan-whey protein nanofibers made by electrospinning: Impact of process parameters on fiber morphology and physical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 726–735, 2018.

ECHEGOYEN, Y. *et al.* High throughput electro-hydrodynamic processing in food encapsulation and food packaging applications: Viewpoint. **Trends in Food Science and Technology**, v. 60, p. 71–79, 2017.

FLUHR, J. W.; DARLENSKI, R.; SURBER, C. Glycerol and the skin: Holistic approach to its origin and functions. **British Journal of Dermatology**, v. 159, n. 1, p. 23–34, 2008.

FRADINHO, P. *et al.* Effect of *Arthrospira platensis* (spirulina) incorporation on the rheological and bioactive properties of gluten-free fresh pasta. **Algal Research**, v. 45, n. June 2019, 2020.

FRANCISCO, C. R. L. *et al.* Functionalization of yogurts with *Agaricus bisporus* extracts encapsulated in spray-dried maltodextrin crosslinked with citric acid. **Food Chemistry**, v. 245, n. September 2017, p. 845–853, 2018.

GARCÍA-MORENO, P. J. *et al.* Development of carbohydrate-based nano-microstructures loaded with fish oil by using electrohydrodynamic processing. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 273–285, 2017.

GARCÍA-MORENO, P. J. *et al.* **Biopolymers for the nanomicroencapsulation of bioactive ingredients by electrohydrodynamic processing.** [s.l.: s.n.].

GEBARA, C. *et al.* Viability of *Lactobacillus acidophilus* La5 in pectin-whey protein microparticles during exposure to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 872–878, 2013.

GEREZ, C. L. *et al.* Whey protein coating bead improves the survival of the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1505 to low pH. **Letters in Applied Microbiology**, v. 54, n. 6, p. 552–556, 2012.

GHANIMAH, M. A. Functional and technological aspects of whey powder and whey protein products. **International Journal of Dairy Technology**, v. 71, n. 2, p. 454–459, 2018.

- GHASEMI, S. *et al.* Nanoencapsulation of D-limonene within nanocarriers produced by pectin-whey protein complexes. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 152–162, 2018.
- GOMEZ-ESTACA, J. *et al.* Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 1, p. 82–91, 2012.
- GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; LAGARÓN, J. M.; LÓPEZ-RUBIO, A. Electrospayed gelatin submicroparticles as edible carriers for the encapsulation of polyphenols of interest in functional foods. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 42–52, 2015.
- GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; LÓPEZ-RUBIO, A. Protein-based emulsion electrospayed micro- and submicroparticles for the encapsulation and stabilization of thermosensitive hydrophobic bioactives. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 465, p. 259–270, 2016.
- GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; SANCHEZ, G.; LÓPEZ-RUBIO, A. Impact of molecular weight on the formation of electrospayed chitosan microcapsules as delivery vehicles for bioactive compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 150, p. 121–130, 2016.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. -L. Water and Glycerol as Plasticizers Affect Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of an Edible Wheat Gluten Film. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 206–211, 1993.
- GOUIN, S. Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 7–8, p. 330–347, 2004.
- GOUVEIA, L. *et al.* Microalgae – source of natural bioactive molecules as functional ingredients. **Food Science & Technology Bulletin: Functional Foods**, 2010.
- GRAHL, S. *et al.* Alternative protein sources in Western diets: Food product development and consumer acceptance of spirulina-filled pasta. **Food Quality and Preference**, v. 84, n. August 2019, p. 103933, 2020.
- HAMBLETON, A. *et al.* Interface and aroma barrier properties of iota-carrageenan emulsion-based films used for encapsulation of active food compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 93, n. 1, p. 80–88, 2009.
- HASSAN, A. N. *et al.* Textural Properties of Yogurt Made with Encapsulated Nonropy Lactic Cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 12, p. 2098–2103, 1996.
- HENRIKSON, R. **Earth Food Spirulina - The Complete Guide To A Powerful New Food That Can Help Rebuild Our Health and Restore Our Environment**. 6. ed. Hana: Ronore Enterprises, Inc., 2009.
- HUANG, Y. I. *et al.* Microencapsulation of extract containing shikonin using gelatin-acacia coacervation method: A formaldehyde-free approach. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 58, n. 2, p. 290–297, 2007.
- HUQ, T. *et al.* Encapsulation of Probiotic Bacteria in Biopolymeric System. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 9, p. 909–916, 2013.

ISLETEN HOSOGLU, M. Aroma characterization of five microalgae species using solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry/olfactometry. **Food Chemistry**, v. 240, n. June 2017, p. 1210–1218, 2018.

JACKSON, C. L. *et al.* Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: Correlation of apoptotic function with pectin structure. **Glycobiology**, v. 17, n. 8, p. 805–819, 2007.

JAWOREK, A.; SOBCZYK, A. T. Electro spraying route to nanotechnology: An overview. **Journal of Electrostatics**, 2008.

JONES, O.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Thermal analysis of  $\beta$ -lactoglobulin complexes with pectins or carrageenan for production of stable biopolymer particles. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 2–3, p. 239–248, 2010.

KALTSA, O. *et al.* Physical characteristics of submicron emulsions upon partial displacement of whey protein by a small molecular weight surfactant and pectin addition. **Food Research International**, v. 66, p. 401–408, 2014.

KINSELLA, J. E.; WHITEHEAD, D. M. Proteins in whey: chemical, physical, and functional properties j. e. **Advances in food and nutrition research**, v. 33, p. 343–438, 1989.

KONICA MINOLTA SENSING AMERICAS INC. **Entendendo o espaço de cor L\*a\*b\***. Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.br/2013/11/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>. Acesso em: 25 ago. 2021.

KORU, E. Earth Food Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Standarts. In: EL-SAMRAGY, Y. (Ed.). **Food Additive**. 1. ed. [s.l.] BoD–Books on Demand, 2012. p. 191–202.

KÖSE, M. D.; BAŞPINAR, Y.; BAYRAKTAR, O. Electroencapsulation (Electro spraying & Electro spinning) of Active Compounds for Food Applications. **Current pharmaceutical design**, v. 25, p. 1881–1888, 2019.

KOUPANTISIS, T.; PAVLIDOU, E.; PARASKEVOPOULOU, A. Glycerol and tannic acid as applied in the preparation of milk proteins - CMC complex coavervates for flavour encapsulation. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 62–71, 2016.

LAELORSPOEN, N. *et al.* Microencapsulation of Lactobacillus acidophilus in zein-alginate core-shell microcapsules via electro spraying. **Journal of Functional Foods**, v. 7, n. 1, p. 342–349, 2014.

LAFARGA, T. Effect of microalgal biomass incorporation into foods: Nutritional and sensorial attributes of the end products. **Algal Research**, v. 41, n. June, p. 101566, 2019.

LIM, L. T.; MENDES, A. C.; CHRONAKIS, I. S. **Electro spinning and electro spraying technologies for food applications**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. v. 88

LÓPEZ-RUBIO, A. *et al.* Encapsulation of living bifidobacteria in ultrathin PVOH electro spun fibers. **Biomacromolecules**, v. 10, n. 10, p. 2823–2829, 2009.

LÓPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J. M. Whey protein capsules obtained through electrospraying for the encapsulation of bioactives. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 13, n. JANUARY, p. 200–206, 2012.

LUCAS, B. F. *et al.* Snack bars enriched with spirulina for schoolchildren nutrition. **Food Science and Technology**, v. 40, n. June, p. 146–152, 2020.

LUM, K. K.; KIM, J.; LEI, X. G. **Dual potential of microalgae as a sustainable biofuel feedstock and animal feed** **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 2013.

LUO, C. J. *et al.* Electrospraying and electrospinning of chocolate suspensions. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2285–2300, 2012.

LUPATINI MENEGOTTO, A. L. *et al.* Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food enrichment. **Lwt**, v. 114, n. June, p. 108267, 2019.

LUZ, G. B. Proteico. **Tecnologias para Competitividade Industrial**, v. 9, p. 137–150, 2016.

MAO, T. K.; VAN DE WATER, J.; GERSHWIN, M. E. Effects of a *Spirulina*-based dietary supplement on cytokine production from allergic rhinitis patients. **Journal of Medicinal Food**, 2005.

MARTINS, T. R.; OLIVO, A. DE M.; CONSOLI, K. M. Desenvolvimento De Pão De Queijo Com Teor Reduzido De Sódio. **Colloquium Agrariae**, v. 10, n. 2, p. 11–19, 2014.

MENDES, A. C. *et al.* Morphological, mechanical and mucoadhesive properties of electrospun chitosan/phospholipid hybrid nanofibers. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 8, 2018.

MOHAMMADI, A. *et al.* Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through WPC-pectin complexes and evaluating their release rate. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 816–822, 2016.

MOHAMMADIAN, M. *et al.* Enhancing the aqueous solubility of curcumin at acidic condition through the complexation with whey protein nanofibrils. **Food Hydrocolloids**, v. 87, n. September 2018, p. 902–914, 2019.

MOREIRA, A. *et al.* Protein encapsulation by electrospinning and electrospraying. **Journal of Controlled Release**, v. 329, n. July 2020, p. 1172–1197, 2021.

NARMADHA, T. *et al.* Effect of *Spirulina* on lipid profile of hyperlipidemics. **World Journal of Nuclear Science and Technology**, v. 1, n. 1, 2012.

NEO, Y. P. *et al.* Encapsulation of food grade antioxidant in natural biopolymer by electrospinning technique: A physicochemical study based on zein-gallic acid system. **Food Chemistry**, v. 136, n. 2, p. 1013–1021, 2013.

NGUYEN, D. N.; CLASEN, C.; VAN DEN MOOTER, G. Pharmaceutical Applications of Electrospraying. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 9, p. 2601–2620, 2016.

NICOLAI, T.; BRITTEN, M.; SCHMITT, C.  $\beta$ -Lactoglobulin and WPI aggregates: Formation, structure and applications. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1945–1962, 2011.

NIE, H. *et al.* Effects of chain conformation and entanglement on the electrospinning of pure alginate. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 5, p. 1362–1365, 2008.

NIEUWLAND, M. *et al.* Reprint of “food-grade electrospinning of proteins”. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 24, p. 138–144, 2014.

NIU, B. *et al.* Recent advances of electrosprayed particles as encapsulation systems of bioactives for food application. **Food Hydrocolloids**, v. 99, n. September 2019, p. 105376, 2020.

NORKAEW, O. *et al.* Effect of wall materials on some physicochemical properties and release characteristics of encapsulated black rice anthocyanin microcapsules. **Food Chemistry**, v. 294, n. December 2018, p. 493–502, 2019.

NOURBAKSH, H. *et al.* One-pot nanoparticulation of potentially bioactive peptides and gallic acid encapsulation. **Food Chemistry**, v. 210, p. 317–324, 2016.

NOURMOHAMMADI, N.; SOLEIMANIAN-ZAD, S.; SHEKARCHIZADEH, H. Effect of Spirulina (*Arthrospira platensis*) microencapsulated in alginate and whey protein concentrate addition on physicochemical and organoleptic properties of functional stirred yogurt. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2020.

OBEIDAT, W. Recent Patents Review in Microencapsulation of Pharmaceuticals Using the Emulsion Solvent Removal Methods. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 3, n. 3, p. 178–192, 2009.

PARETA, R.; EDIRISINGHE, M. J. A novel method for the preparation of starch films and coatings. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 3, p. 425–431, 2006.

PARTHASARATHI, S.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Enhancement of oral bioavailability of vitamin E by spray-freeze drying of whey protein microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 469–476, 2016.

PAULA DA SILVA, S.; FERREIRA DO VALLE, A.; PERRONE, D. Microencapsulated Spirulina maxima biomass as an ingredient for the production of nutritionally enriched and sensorially well-accepted vegan biscuits. **Lwt**, v. 142, n. January, p. 110997, 2021.

PAXIMADA, P.; KANAVOU, E.; MANDALA, I. G. Effect of rheological and structural properties of bacterial cellulose fibrils and whey protein biocomposites on electrosprayed food-grade particles. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, n. February, p. 116319, 2020.

PÉREZ-MASIÁ, R. *et al.* Encapsulation of folic acid in food hydrocolloids through nanospray drying and electrospinning for nutraceutical applications. **Food Chemistry**, v. 168, p. 124–133, 2015.

PESIC, M. B. *et al.* The distributions of major whey proteins in acid wheys obtained from caprine/bovine and ovine/bovine milk mixtures. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 10, p. 831–838, 2011.

RAGHAVAN, P. *et al.* Electrospun polymer nanofibers: The booming cutting edge technology. **Reactive and Functional Polymers**, v. 72, n. 12, p. 915–930, 2012.

RALET, M.-C.; DRONNET, V.; THIBAUT, J.-F. Enzymatically and chemically de-esterified lime pectins: Physico-chemical characterisation, polyelectrolyte behaviour and calcium binding properties. **Carbohydrate Research**, v. 336, p. 117–125, 2001.

RIBAS BARRETO, A. *et al.* Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 164, 2015.

SAALLAH, S.; LENGGORO, I. W. Nanoparticles carrying biological molecules: Recent advances and applications. **KONA Powder and Particle Journal**, v. 2018, n. 35, p. 89–111, 2018.

SANTIAGO-ADAME, R. *et al.* Spray drying-microencapsulation of cinnamon infusions (*Cinnamomum zeylanicum*) with maltodextrin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 571–577, 2015.

SAYADI, M. H. *et al.* Bio-synthesis of palladium nanoparticle using *Spirulina platensis* alga extract and its application as adsorbent. **Surfaces and Interfaces**, v. 10, n. November 2017, p. 136–143, 2018.

SCHMATZ, D. A. *et al.* Encapsulation of phycocyanin by electrospraying: A promising approach for the protection of sensitive compounds. **Food and Bioprocess Technology**, v. 119, p. 206–215, 2020.

SHAN, Z. *et al.* Mechanism of Precipitate Microstructure Affecting. p. 1–16, 2020.

SHISHIR, M. R. I. *et al.* Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. **Trends in Food Science and Technology**, v. 78, n. December 2017, p. 34–60, 2018.

SILVA, L. A. S. DA; OLIVEIRA, V. C. DE; MENDES, F. B. Principais aplicações dos resíduos da laranja e sua importância industrial. **Revista Artigos.Com**, v. 22, p. 1–11, 2020.

SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins — From ‘ gutter-to-gold ’. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 695–704, 2008.

SOLEIMANIFAR, M. *et al.* Electrosprayed whey protein nanocarriers containing natural phenolics; thermal and antioxidant properties, release behavior and stability. **Journal of Food Engineering**, v. 307, n. April, p. 110644, 2021.

SOSNIK, A. Production of drug-loaded polymeric nanoparticles by electrospraying technology. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 10, n. 9, p. 2200–2217, 2014.

STIJNMAN, A. C.; BODNAR, I.; HANS TROMP, R. Electrospinning of food-grade polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1393–1398, 2011.

TANG, Q.; MUNRO, P. A.; MOCARTHY, O. J. Rheology of whey Protein Concentrate Solutions as a Function of Concentration, Temperature, pH and Salt Concentration. **Journal of Dairy Research**, v. 60, n. 3, p. 349–361, 1993.

TAPIA-HERNÁNDEZ, J. A. *et al.* Micro- and Nanoparticles by Electrospray: Advances and Applications in Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 19, p. 4699–4707, 2015.

THAKUR, B. R.; SINGH, R. K.; HANDA, A. K. Chemistry and Uses of Pectin - A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 1, p. 47–73, 1997.

TIEPO, C. B. V. *et al.* Addition of *Spirulina platensis* in handmade ice cream: Physicochemical and sensory effects / Adição de *Spirulina platensis* em sorvete caseiro: Efeitos físico-químicos e sensoriais. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 88106–88123, 2021.

TORRES-GINER, S. *et al.* Stabilization of a nutraceutical omega-3 fatty acid by encapsulation in ultrathin electrosprayed zein prolamine. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 6, 2010.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **FDC - Food Data Central**. Disponível em: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170495/nutrients>. Acesso em: 11 mar. 2022.

VAZ, B. DA S. *et al.* **Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements** *Current Opinion in Food Science*, 2016.

VONSHAK, A. **Spirulina platensis (Arthrospira) : physiology, cell-biology and biotechnology**. [s.l.] CRC press, 1997.

WAHYUDIONO H. *et al.* Electrospraying technique under pressurized carbon dioxide for hollow particle production. **Reactive and Functional Polymers**, v. 142, n. May, p. 44–52, 2019.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 97–104, 2006.

XI, Pío. Carta encíclica "Studiorum ducem". **Ciencia Tomista**, v. 28, 1923.

YAAKOB, Z. *et al.* **An overview: Biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture** *Journal of Biological Research (Greece)*, 2014.

ZAMANI, M.; PRABHAKARAN, M. P.; RAMAKRISHNA, S. Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. **International Journal of Nanomedicine**, v. 8, p. 2997–3017, 2013.

ZEN, C. K. *et al.* Development of functional pasta with microencapsulated *Spirulina*: technological and sensorial effects. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 5, p. 2018–2026, 2020.

ZHANG, Z.; LAW, D.; LIAN, G. Characterization methods of encapsulates. **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**, p. 101–125, 2010.