



Eficiência de Encapsulação de Eugenol Microencapsulado por *Spray-Drying*

Encapsulation Efficiency of Microencapsulated Eugenol by Spray-drying

Kaoana Daiana Heemann*, Rosana Aparecida da Silva-Buzanello[†],
Emanuely Graeff[‡], Daniela Cristina Elsenbach[§], Cristiane Canan[¶],
Alex Sanches Torquato[‡]

RESUMO

O eugenol é um composto fenólico, extraído de plantas aromáticas, que apresenta propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Devido a sua instabilidade frente a agentes externos e sua volatilidade, a aplicação de eugenol na indústria de alimentos apresenta-se como um desafio. Assim, a microencapsulação apresenta-se como uma alternativa para melhorar a estabilidade e permitir a aplicação industrial do eugenol. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da variação das concentrações dos materiais de parede, maltodextrina e albumina sérica bovina, e de eugenol na eficiência de encapsulação (EE) das microcápsulas de eugenol obtidas por *spray-drying*. Um planejamento fatorial completo (2^3) com triplicata no ponto central foi utilizado para variar as concentrações de maltodextrina (de 5 a 15%), albumina sérica bovina (de 0,5 a 1,5%) e eugenol (de 0,2 a 0,6%). A EE foi determinada por espectrofotometria UV-Vis (283 nm). Valores de EE de 84,9% a 95,4% foram obtidos em função das condições experimentais variadas. O aumento das concentrações dos materiais de parede e do eugenol contribuíram negativamente para a EE. Um modelo matemático válido ($p < 0,05$) para prever a EE de eugenol foi determinado ($R^2 = 0,98$). A microencapsulação por *spray-drying* mostrou-se uma técnica robusta para obtenção de microcápsulas de eugenol.

Palavras-chave: albumina sérica bovina, maltodextrina, planejamento fatorial completo.

ABSTRACT

Eugenol is a phenolic compound extracted from aromatic plants. It has antioxidant and antimicrobial properties. Due to its instability against external agents, and its volatility, eugenol application in the food industry it is a challenge. Therefore, the microencapsulation is an alternative to ensure eugenol stability and allowing this industrial application. This study aimed to evaluate the effect of concentrations variation of wall materials, maltodextrin and bovine serum albumin, and eugenol in encapsulation efficiency (EE) of eugenol microcapsules obtained by *spray-drying*. A Full Factorial Design (2^3) with triplicate in a central point was used to vary the concentrations of maltodextrin (from 0,2 to 0,6%), bovine serum albumin (from 0,5 to 1,5%), and eugenol (from 0,2 to 0,6%). EE was determined by spectrophotometry of UV-Vis (283 nm). EE values from 84.9 to 95.4% were obtained according to the experimental conditions varied. Wall materials and eugenol concentrations increase negatively contributed to EE. A valid mathematic model ($p < 0,05$) to predict EE of eugenol was determined ($R^2 = 0.98$). The microencapsulation by *spray-drying* showed a robust technique to obtain eugenol microcapsules.

Keywords: bovine serum albumin, maltodextrin, full factorial design.

* Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil; kaoanaheemann1997@gmail.com

[†] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira; rbuzanello@utfpr.edu.br

[‡] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil; manugraeff@gmail.com

[§] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil; danielacelsenbach@gmail.com

[¶] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil; canan@utfpr.edu.br

[‡] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil; alexstorquato@utfpr.edu.br



1 INTRODUÇÃO

O eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) é um composto fenólico natural extraído de plantas aromáticas como canela, cravo, noz-moscada, manjerição. Por apresentar atividade antimicrobiana e antioxidante, o eugenol apresenta-se como uma alternativa natural para indústria alimentícia na substituição aditivos sintéticos (TALÓN *et al.*, 2019). Porém, o eugenol é um composto hidrofóbico que apresenta instabilidade frente à agentes externos, tais como, calor, luz, umidade, oxigênio, além de apresentar alta volatilidade (ALVARENGA BOTREL *et al.*, 2012). Portanto, de que forma seria possível melhorar a estabilidade do eugenol, viabilizando sua aplicação industrial?

A microencapsulação é um processo que é definido por pequenas partículas que são revestidas em uma matriz heterogênea ou homogênea, para formar cápsulas com propriedades eficientes (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007). O método utilizado com maior frequência para a microencapsulação é o de secagem por atomização (*spray-drying*). Essa técnica consiste no preparo de uma suspensão ou emulsão de materiais, seguida de secagem com vazão e temperaturas controladas. A evaporação do solvente acontece rapidamente e, com isso, proporciona a estabilidade das microcápsulas, sendo a água um dos solventes mais utilizados nesse método (DE SOUZA *et al.*, 2013). Portanto, a microencapsulação apresenta-se como uma alternativa viável para melhorar a estabilidade e aplicação de compostos sensíveis, como é o caso do eugenol.

A efetividade da encapsulação e a estabilidade das microcápsulas podem ser influenciadas pelo material de parede utilizado na microencapsulação (DE SOUZA *et al.*, 2013). Existem inúmeros polímeros que podem ser usados como material de parede, mas tem sido sugeridos materiais biodegradáveis e biocompatíveis na encapsulação, tais como, carboidratos, gomas, lipídios e proteínas.

As proteínas permitem reduzir a tensão interfacial na superfície óleo-água devido a sua natureza anfífilica. 42% das proteínas do soro bovino são albuminas (PRATA; SGARBIERI, 2005), apresenta características funcionais e permite sua aplicação em várias matrizes alimentares. Para se obter uma encapsulação estável é indicado a mistura de carboidratos e proteínas como materiais de parede (TALÓN *et al.*, 2019).

A maltodextrina é um carboidrato obtido pela hidrólise do amido e foi associado a proteínas na encapsulação para aprimorar as propriedades de secagem. Apresenta baixa viscosidade, alta concentração de sólidos, alta solubilidade, capacidade de formação de matriz, acessibilidade de custo e não tem sabor. Entretanto, a maltodextrina não possui propriedades emulsificantes, por isso a forma de utilização como material de parede é associada a proteínas, que apresentam ótima propriedade emulsificante, o que favorece a distribuição dos géis e na formação de filme (LOYEAU *et al.*, 2018). Portanto, a combinação de maltodextrina e albumina sérica bovina na microencapsulação do eugenol por *spray-drying* é sugerida.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da variação das concentrações dos materiais de parede, albumina sérica bovina (BSA) e maltodextrina, e de eugenol na eficiência de encapsulação das microcápsulas de eugenol obtidas por *spray-drying*, utilizando um planejamento fatorial completo com triplicata no ponto central.

2 MÉTODO

2.1 Encapsulação do eugenol

O processo de encapsulação do eugenol foi baseado no método descrito por Scremin *et al.* (2018), com algumas adaptações. Foi preparada uma suspensão dos reagentes pelo preparo de uma fase orgânica e de outra aquosa para a elaboração das microcápsulas. A fase orgânica consistiu na solubilização de eugenol (Sigma-Aldrich, 98%) e Tween-80 (Synth) em etanol (Neon, 99,5%) (10 mL) a temperatura de 25 °C. A fase aquosa



foi obtida em duas etapas, primeiramente a maltodextrina (DE 20, MOR-REX 1920) foi solubilizada em 200 mL de água destilada a temperatura de 65 °C, em vigorosa agitação mecânica por 15 minutos. Na segunda etapa, ocorreu a preparação de uma suspensão de albumina sérica bovina (Sigma-Aldrich, 96%), por sua solubilização em água destilada a temperatura de 25 °C. Um planejamento fatorial completo 2³, com triplicata no ponto central foi aplicado para se avaliar a influência da concentração dos materiais na eficiência da encapsulação do eugenol (Tab. 1).

Tabela 1 - Matriz dos ensaios com os valores codificados (valores reais) e os resultados de eficiência de encapsulação de eugenol (EE).

| Ensaio | X ₁ (%) | X ₂ (%) | X ₃ (%) | EE (%) |
|--------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|
| 1 | -1 (5,0) | -1 (0,5) | -1 (0,2) | 95,4 |
| 2 | 1 (15,0) | -1 (0,5) | -1 (0,2) | 93,7 |
| 3 | -1 (5,0) | 1 (1,5) | -1 (0,2) | 94,8 |
| 4 | 1 (15,0) | 1 (1,5) | -1 (0,2) | 90,9 |
| 5 | -1 (5,0) | -1 (0,5) | 1 (0,6) | 91,5 |
| 6 | 1 (15,0) | -1 (0,5) | 1 (0,6) | 95,7 |
| 7 | -1 (5,0) | 1 (1,5) | 1 (0,6) | 93,1 |
| 8 | 1 (15,0) | 1 (1,5) | 1 (0,6) | 84,9 |
| 9 | 0 (10,0) | 0 (1,0) | 0 (0,4) | 94,9 |
| 10 | 0 (10,0) | 0 (1,0) | 0 (0,4) | 93,2 |
| 11 | 0 (10,0) | 0 (1,0) | 0 (0,4) | 94,0 |

X₁ = concentração de maltodextrina; X₂ = concentração de albumina sérica bovina; X₃ = concentração de eugenol.

Fonte: Autoria própria (2021).

Após o preparo das suspensões, a suspensão de albumina foi adicionada à suspensão de maltodextrina e a mistura foi homogeneizada por 10 minutos, sob agitação mecânica.

Em seguida, a fase orgânica foi lentamente adicionada à fase aquosa, sob agitação mecânica por 5 minutos. Então, a suspensão foi homogeneizada em um Ultra-Turrax (T18, IKA, Alemanha), a 6000 rpm por 20 min.

A secagem por spray-drying foi realizada em um secador laboratorial *Spray Dryer* (Labmaq™ -MSD 1.0, São Paulo, Brasil) com câmara de secagem de 500 mm x 150 mm, bico aromatizador de duplo fluido com orifício de 0,7 mm de diâmetro. Foi utilizada uma bomba peristáltica para a alimentação com vazão de 0,6 L h⁻¹, a temperatura do ar de entrada foi de 150 °C e de saída 65 °C, com o fluxo do ar de secagem a 35 N m³ h⁻¹.

2.2 Eficiência de Encapsulação

Para a determinação da eficiência de encapsulação de eugenol adaptou-se a metodologia proposta por Ozdemir *et al.* (2021). O método consistiu na determinação do conteúdo de eugenol total (ET) e do eugenol livre (EL) (não encapsulado). Para determinar o teor de ET, as microcápsulas (10 mg) foram transferidas para tubos cônicos de 15 mL e adicionadas de 5 mL de água destilada, sendo homogeneizadas a temperatura de 25 °C, até a solubilização completa do pó e consequente abertura das microcápsulas (cerca de 2 min). Em seguida, adicionou-se 5 mL de n-heptano (Panreac, 99%) aos tubos e as amostras foram homogeneizadas por mais 2 min. Após, os tubos foram centrifugados a 6000 rpm por 5 min, a temperatura de 25 °C. O sobrenadante contendo eugenol e n-heptano foi coletado e o teor de eugenol total quantificado em espectrofotômetro UV-



Vis (Lambda XLS, Perkin Elmer, Reino Unido) no comprimento de onda de 283 nm (comprimento de onda máximo do eugenol em n-heptano), utilizando uma curva padrão de eugenol em n-heptano ($R^2 = 0,9997$).

Para a determinação do teor de EL, 10 mg de microcápsulas foram dispersas em 10 mL de n-heptano e homogeneizadas a temperatura de 25 °C, por cerca de 4 min. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 6000 rpm (CT-6000R, Cientec, Brasil) por 5 min, a temperatura de 25 °C. O sobrenadante contendo eugenol livre (não encapsulado) e n-heptano foi coletado e quantificado em espectrofotômetro UV-Vis, conforme previamente descrito para quantificação de ET. O cálculo da eficiência de encapsulação foi realizado de acordo com a Equação 1.

$$EE (\%) = \frac{ET - EL}{ET} \times 100 \quad (1)$$

Em que, EE (%) = percentual de eficiência de encapsulação; ET = teor de eugenol total (g); EL = teor de eugenol livre (não encapsulado) (g).

2.3 Análise Estatística

Os dados da eficiência de encapsulação obtidos no planejamento fatorial completo foram avaliados pela análise de efeitos estimados e pela metodologia de superfície de resposta ($p \leq 0,05$), utilizando o *software* Statistica 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

3 RESULTADOS

Os valores de eficiência de encapsulação (EE) para as diferentes formulações de microcápsulas de eugenol variaram de 84,9% (ensaio 8) a 95,4% (ensaio 1), conforme apresentado na Tab. 1. Os valores obtidos no presente estudo foram superiores aos reportados por Ozdemir *et al.* (2021) para microencapsulação de óleos essenciais de manjeriço, encapsulados em combinações de goma arábica, maltodextrina e proteína do soro de leite (de 82,34% a 87,19%) e, de Scremin *et al.* (2018) para a microencapsulação de eugenol em diferentes combinações de carragena, proteína do farelo de arroz, albumina sérica bovina (de 23,7% a 79,4%).

Na Tabela 2 é apresentada a análise de efeitos estimados para as variáveis estudadas em função da eficiência de encapsulação.

Pode ser observado que quando as concentrações de maltodextrina (X_1), albumina sérica bovina (X_2) e eugenol (X_3) aumentam do nível inferior (-1) para o nível superior (1), valores de efeitos negativos significativos ($p \leq 0,05$) são obtidos, indicando redução da eficiência de encapsulação do eugenol (Tab. 2). Adicionalmente, os efeitos da interação entre X_1 e X_2 e entre X_1 , X_2 e X_3 também foram negativos e significativos ($p \leq 0,05$), indicando que quando foram combinadas em um mesmo nível as concentrações de maltodextrina e de albumina e de maltodextrina, albumina e eugenol, também houve redução da eficiência de encapsulação. Já a combinação de albumina e eugenol em um mesmo nível também resultou em efeito negativo na eficiência de encapsulação, contudo, não foi significativo ($p > 0,05$).

A checagem da curvatura é um dos efeitos que pode ser avaliado em um planejamento fatorial completo para observar se o mesmo apresenta um ponto de máximo ou de mínimo para a resposta avaliada. Apesar do efeito da curvatura apresentar $p = 0,05996$, optou-se por mantê-lo no modelo, por apresentar p-valor próximo a 0,05. Assim, no presente estudo, o efeito da curvatura foi positivo (Tab. 2), indicando que nas condições estudadas houve um ponto de máximo para a eficiência de encapsulação de eugenol.

Tabela 2 – Análise de efeitos estimados para os valores de eficiência de encapsulação de eugenol.

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

X₁ = concentração de maltodextrina; X₂ = concentração de albumina sérica bovina; X₃ = concentração de eugenol.

*Fatores significativos (p ≤ 0,05).

**Fator considerado significativo por apresentar p = 0,05996.

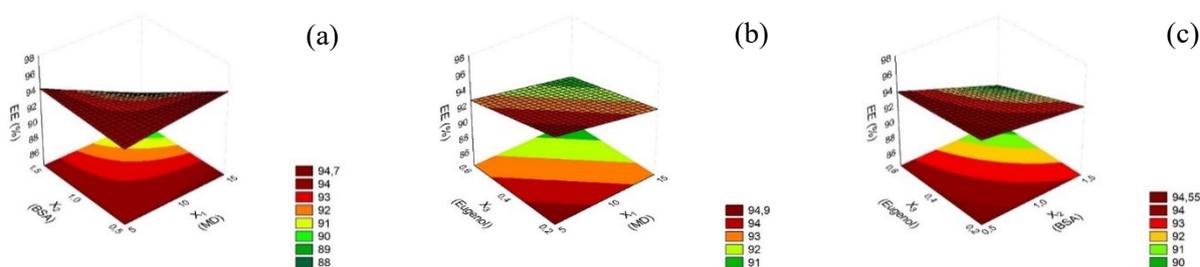
Nota: O fator X₂*X₃, apesar de não significativo ao nível de 5%, foi mantido no modelo para garantir melhor ajuste (R² = 0,98).

Fonte: Autoria própria (2021).

Na análise de variância (ANOVA) o valor de F calculado (22,29) foi superior ao F tabelado (8,8), portanto, pode-se dizer que modelo é válido (p ≤ 0,05) para prever a eficiência de encapsulação de eugenol. Portanto, a equação do modelo para a eficiência de encapsulação (R² = 0,98) e as superfícies de respostas puderam ser geradas.

Nas superfícies de resposta (Figuras 1a, 1b e 1c) é possível observar que o aumento da concentração de maltodextrina e de albumina sérica bovina reduz a eficiência de encapsulação, assim como, o aumento da concentração de eugenol.

Figura 1 - Superfícies de resposta para a eficiência de encapsulação de eugenol (a) em função da variação das concentrações de maltodextrina (MD) (X₁) e albumina sérica bovina (BSA) (X₂), mantendo a concentração de eugenol (X₃) fixa no ponto central; (b) em função da variação das concentrações MD (X₁) e eugenol (X₃), mantendo a concentração de BSA (X₂) fixa no ponto central; (c) em função da variação da concentração de BSA (X₂) e eugenol (X₃), mantendo a concentração de MD (X₁) fixa no ponto central. Equação do modelo para predição da eficiência de encapsulação (EE). C = curvatura.



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

Fonte: Autoria própria (2021).

A menor proporção dos materiais resultou em maior eficiência de encapsulação, nas condições experimentais estudadas. O aumento da concentração dos materiais de parede e do encapsulante podem



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

4 CONCLUSÃO

Microcápsulas de eugenol com eficiência de encapsulação acima de 84% foram obtidas nas condições estudadas. O aumento da concentração de maltodextrina (de 10 a 15%), de albumina sérica bovina (de 0,5 a 1,5%) e de eugenol (de 0,2 a 0,6%), resultaram na redução da eficiência de encapsulação de eugenol. Houve um ponto de máximo para a eficiência de encapsulação, sendo observado que as concentrações dos materiais aplicados em seus níveis inferiores resultaram em maiores valores de eficiência de encapsulação. A microencapsulação por *spray-drying* mostrou-se uma técnica robusta para obtenção de microcápsulas de eugenol.

AGRADECIMENTOS

A CAPES, CNPq e Fundação Araucária pela concessão de bolsas de estudo e suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA BOTREL, D. *et al.* Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 11, p. 2289-2296, 2012.
- DE SOUZA, J. R. R. *et al.* Spray-drying encapsulation of mangiferin using natural polymers. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 10–18, 2013.
- GHARSALLAOUI, A. *et al.* Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, 2007.
- LOYEAU, P. A. *et al.* Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis INL1 using whey proteins and dextrans conjugates as wall materials. **Food Hydrocolloids**, v. 85, p. 129–135, 2018.
- OZDEMIR, N. *et al.* Microencapsulation of basil essential oil: utilization of gum arabic/whey protein isolate/maltodextrin combinations for encapsulation efficiency and in vitro release. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, p. 1865–1876, 2021.
- PRATA, A. S.; SGARBIERI, V. C. Obtenção e caracterização química e nutricional in vitro das proteínas do soro de sangue bovino. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 327–332, 2005.
- SCREMIN, F. R. *et al.* Synthesis and characterization of protein microcapsules for eugenol storage. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1–8, 2017.
- TALÓN, E. *et al.* Antioxidant starch-based films with encapsulated eugenol. Application to sunflower oil preservation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 113, n. 10890, p. 1–10, 2019.