



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

VIVIAN BOESSO ORIANI

Spray chilling technique to obtain solid lipid microparticles containing
ginger oleoresin: Characterization, release and stability

Utilização da técnica de spray chilling para obtenção de
micropartículas lipídicas sólidas como carreadoras de oleoresina de
gingibre: Caracterização, liberação e estabilidade

**CAMPINAS
2018**

VIVIAN BOESSO ORIANI

Spray chilling technique to obtain solid lipid microparticles containing ginger oleoresin: Characterization, release and stability

Utilização da técnica de spray chilling para obtenção de micropartícula lipídica sólida como carreadora de oleoresina de gengibre: Caracterização, liberação e estabilidade

Thesis presented to the Faculty of Food Engineering of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Food Engineering

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Engenharia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger

Coorientadora: Dra. Izabela Dutra Alvim

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DE TESE DEFENDIDA
PELA ALUNA VIVIAN BOESSO ORIANI E
ORIENTADA PELA PROFA. DRA. MIRIAM
DUPAS HUBINGER.

CAMPINAS
2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 140281/2013-4

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5124-417>

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Márcia Regina Garbelini Sevillano - CRB 8/3647

Or4s Oriani, Vivian Boesso, 1986-
Utilização da técnica de *spray chilling* para obtenção de micropartículas lipídicas sólidas como carreadoras de oleoresina de gengibre : caracterização, liberação e estabilidade / Vivian Boesso Oriani. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Miriam Dupas Hubinger.
Coorientador: Izabela Dutra Alvim.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Gingeróis. 2. Antioxidantes. 3. Estocagem. 4. Óleo essencial. I. Hubinger, Miriam Dupas. II. Alvim, Izabela Dutra. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Spray chilling technique to obtain solid lipid microparticles containing ginger oleoresin : characterization, release and stability

Palavras-chave em inglês:

Gingerols

Antioxidants

Storage

Essential oil

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Doutora em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Miriam Dupas Hubinger [Orientador]

Gustavo César Dacanal

Louise Emy Kurozawa

Renata Valeriano Tonon

Wanderlei Pereira de Oliveira

Data de defesa: 23-02-2018

Programa de Pós-Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger – Presidente da Banca Examinadora

Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA)
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP

Prof. Dr. Gustavo César Dacanal - Membro Titular

Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA)
Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, SP

Profa. Dra. Louise Emy Kurozawa - Membro Titular

Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA)
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP

Dra. Renata Valeriano Tonon - Membro Titular

EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ

Prof. Dr. Wanderley Pereira de Oliveira - Membro Titular

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP

Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

***AOS MEUS PAIS,
COM MUITO AMOR!***

AGRADECIMENTOS

À Deus, presente em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais, Mario e Neide, que me apoiam, incentivam, dão forças para seguir em frente e principalmente pelo carinho e ternura que tem por mim.

Aos meus irmãos, Leandro e Andressa, pela verdadeira amizade e sinceridade.

Ao meu namorado, Eduardo, pela paciência, conselhos, companheirismo e muito carinho dedicado a mim e também pela compreensão em alguns momentos durante a caminhada do mestrado e principalmente do doutorado.

À professora Dra. Miriam Dupas Hubinger pela oportunidade de aprendizado, orientação, paciência e dedicação a mim durante esses sete anos de convivência. Serei eternamente agradecida por tudo que fez por mim. Muito obrigada!!

À Izabela Dutra Alvim, pela orientação, amizade e por sempre me passar palavras confiantes em que era possível a realização deste trabalho. Muito obrigada!!

Ao Laboratório de Bioaromas, na realização da análise de voláteis.

Ao laboratório LAMULT do Instituto de Física “Gleb Wataghin”, pela análise FTIR, principalmente à técnica Rosane Palissari.

À banca examinadora, pelas correções e sugestões deste trabalho.

As amigas de laboratório, que também foram companheiras de comilanças e conversas. Muito obrigada pela companhia durante esses anos, sentirei saudades de todas!!

À Vanessinha, pelas conversas para descontrair e principalmente pelas ajudas práticas e teóricas durante esses sete anos. Sentirei saudades!!

À Zildene pelos auxílios laboratoriais.

Aos CNPq pelo auxílio da bolsa.

À Capes e à FAPESP pelo auxílio financeiro.

À UNICAMP e a FEA pela contribuição na minha formação.

E a todos aqueles que de certa forma contribuíram para este trabalho,

Muito Obrigada !!!!

RESUMO GERAL

As especiarias de alto valor agregado, como a oleoresina de gengibre, podem ser carreadas em uma matriz sólida para facilitar o manuseio, evitar a evaporação prematura dos voláteis ou para fornecer proteção para compostos específicos. Entre os diferentes processos utilizados para carrear ativos, a encapsulação é uma técnica promissora. A microencapsulação por *spray chilling* utiliza lipídios como carreadores para a formação de partículas sólidas e pode ser considerada uma alternativa interessante aos métodos convencionais. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi produzir micropartículas lipídicas sólidas, por *spray chilling*, para carrear oleoresina de gengibre, estudando as características das micropartículas, aplicação em um meio simulando um alimento para verificar a liberação dos compostos e por fim, avaliar a estabilidade da partícula e dos compostos da oleoresina de gengibre em diferentes temperaturas. O desenvolvimento experimental foi iniciado com o estudo de misturas de lipídios com a oleoresina, sendo constatada a afinidade e melhor homogeneização com os seguintes ácidos graxos livres: palmítico, esteárico e oleico. A gordura de palma pode ser adicionada em até 15% (m/m) na mistura lipídica com oleoresina (10% m/m), desde que um ácido graxo esteja presente. Assim, a próxima etapa foi a formação e caracterização das micropartículas lipídicas sólidas, utilizando ácido palmítico (90; 85; 75% m/m) como carreador sólido majoritário e diferentes lipídios insaturados (ácido oleico e gordura de palma – 0; 5; 15% m/m), mantendo fixa a concentração de oleoresina de gengibre (10% m/m). Os resultados mostraram que a incorporação de ácido oleico ou gordura de palma alteraram o comportamento térmico das micropartículas, diminuíram o índice de cristalização em 8%, consequentemente houve menor retenção de voláteis com valores variando de 75% a 37,5%. Na etapa de liberação e estocagem, partículas compostas por ácido esteárico (65-90% m/m), ácido oleico (0 e 15% m/m) e duas concentrações de oleoresina de gengibre (10 e 20% m/m) foram estudadas. No estudo de liberação, as partículas foram caracterizadas e adicionadas em uma emulsão. Todas as micropartículas apresentaram até 75% de liberação dos compostos voláteis e até 92% dos compostos de pungência, após a adição na emulsão modelo, no dia zero. Tanto a oleoresina liberada das micropartículas quanto a oleoresina livre garantiram para o óleo da emulsão proteção contra a oxidação após o armazenamento a 10, 25 e 40°C durante 28 dias. Isso significa que o processo de microencapsulação não afetou as propriedades antioxidantes da oleoresina. Por fim, a estocagem das micropartículas, em diferentes temperaturas durante 84 dias, mostrou que a 40°C as partículas com ácido oleico apresentaram degradação do composto de pungência 6-gingerol. A 25°C partículas com ácido oleico foram eficientes para garantir maior retenção de voláteis e melhor estabilidade dos compostos α -zingibereno e β -sesquifelandreno, além de manter os compostos de pungência estáveis quando comparado a oleoresina livre. As micropartículas lipídicas sólidas contendo oleoresina de gengibre mostraram eficácia para substituir a oleoresina não encapsulada, além de poder melhorar a distribuição durante a aplicação em alimentos ou medicamentos devido à sua conversão para pó.

Palavras-chave: gingeróis; antioxidantes; estocagem; óleo essencial.

ABSTRACT

Value-added spices, such as ginger oleoresin, can be carried in a solid matrix in order to facilitate handling, prevent premature evaporation of volatiles or to provide protection against the external environment. Among the different processes used for carrier the active, encapsulation is a promising technique. Microencapsulation by spray chilling employs lipids as carriers for the formation of solid particles, and can be considered as an interesting alternative to conventional methods. The objective of this work was to produce solid lipid microparticles, by spray chilling, to carry ginger oleoresin by studying the characteristics of the microparticles and their application in an emulsion to verify the compounds release and finally to evaluate the particles stability and ginger oleoresin compounds at different temperatures. The experimental development was initiated with the study of lipid mixtures with the oleoresin, verifying the affinity and better homogenization with the free fatty acids: palmitic, stearic and oleic. Palm fat can be added until 15% (w/w) in the lipid mixture with ginger oleoresin (10% w/w), on condition that a fatty acid is present. Thus, the next step was the formation and characterization of the solid lipid microparticles using palmitic acid (90; 85; 75% w/w) as the major solid carrier and the addition of different unsaturated lipids (oleic acid and palm fat – 0; 5; 15% w/w), maintaining the concentration of ginger oleoresin fixed (10% w/w). The results showed that the addition of oleic acid or palm fat altered the thermal behavior of the microparticles, decreasing the crystallization index by 8%. Consequently there was less retention of volatiles with values ranging from 75% to 37.5%. In release and stability study, particles composed of stearic acid (65-90% w/w), oleic acid (0 and 15% w/w) and two concentrations of ginger oleoresin (10 and 20% w/w) were analyzed. In release study, the particles were characterized and added in an emulsion. All microparticle samples showed up to 75% release of the volatile compounds and up to 92% of the pungent compounds after incorporation in the model emulsion, day zero. The oleoresin released from the microparticles and free oleoresin ensured the emulsion oil oxidation protection after storage at 10, 25 and 40°C for 28 days. This means that the microencapsulation process did not affect the antioxidant properties of oleoresin. Finally, the storage of the microparticles at different temperature during 84 days, showed that the particles with oleic acid leads to the degradation of 6-gingerol, at 40°C. At 25°C particles with oleic acid were efficient to ensure higher volatiles retention and better stability of the volatile α -zingiberene and β -sesquiphellandene compounds and maintaining the pungency compounds stable when compared to free oleoresin. Solid lipid microparticles containing ginger oleoresin showed efficacy to be substitute for un-encapsulated oleoresin, and could improve the distribution during application in foods or pharmaceuticals due to their conversion to powder.

Keywords: gingerols; antioxidant; storage; essential oil.

LISTA DE FIGURAS

- CAPÍTULO II -	29
Figura 2.1. Degradação Gingerol.	32
Figura 2.2. Estrutura dos compostos voláteis predominantes na oleoresina de gengibre (http://www.chemspider.com/).	33
Figura 2.3. Classificação da morfologia das partículas a) Reservatório mononucleado - microcápsulas. b) Reservatório multinucleado - microcápsulas. c) Recheio disperso no carreador (matriz) –microesferas. d) Combinação das partículas a e c. (Fonte: ZUIDAM; SHIMONI, 2010; RAYBAUDI-MASSILIA; MOSQUEDA-MELGAR, 2012).	34
Figura 2.4. Diagrama esquemático para atomização pela técnica de <i>spray chilling</i> (Fonte: OKURO; MATOS-JR; FAVARO-TRINDADE, 2013; OH et al., 2014).	38
Figura 2.5. Esquema da obtenção de ácidos graxos livres a partir da hidrólise (Moléculas obtidas pelo site: http://www.chemspider.com/).	43
Figura 2.6. Esquematização da formação dos cristais de lipídios. (Fonte: SATO, 2013).	45
Figura 2.7. Esquema para representação do espaçamento interplanar, d spacing.	46
Figura 2.8. a) Tipos comuns de organização molecular das formas cristalinas do tipo α , β' e β . b) Fotomicrografia de cristais de gordura em luz polarizada do tipo α , β' e β . (Fonte: STAUFFER, 1996).	46
Figura 2.9. Esquema dos arranjos moleculares apresentando diferentes estados polimórficos para ácidos graxos, A; B; C e E (Adaptado de: SALA et al., 2010)	47
Figura 2.10. a) Expulsão do ativo durante a armazenagem da partícula. b) Estrutura com imperfeições – molécula espacialmente muito diferente; ativo entre as cadeias da molécula lipídica (Fonte: MUELLER; RADTKE; WISSING, 2002).	48
Figura 2.11. Imagem de um difractômetro em raios-X de pó. Disponível em: http://lipidlibrary.aocs.org/Biochemistry	50
Figura 2.12. Alguns mecanismos comuns responsáveis pela liberação dos ativos: difusão, intumescimento, fragmentação e dissolução/erosão (Fonte: MCCLEMENTS, 2014a).	51
Figura 2.13. Esquema dos possíveis modelos estruturais das partículas contendo o ativo. (Fonte: WISSING; KAYSER; MUELLER (2004) adaptado de MÜHLEN; SCHWARZ; MEHNERT (1998)).	52
Figura 2.14. Ilustração do processo de dissolução da partícula. (FONTE: SIEPMANN; SIEPMANN, 2013 adaptado).	53
- CAPÍTULO III -	61
Fig. 3.1. Visual observation of ginger oleoresin miscibility in a lipid matrix. (A) Ginger oleoresin and palm fat. (B) Ginger oleoresin and palmitic acid.	69
Fig. 3.2. DSC thermograms and melting temperature peaks (T_{mp}) of solid lipid microparticles carrying GO. All formulations contain 10% (w/w) GO. P1: 90% PA. P2: 85% PA 5% OA. P3: 75% PA 15% OA. P4: 85% PA 5% PF. P5: 75% PA 15% PF.	71
Fig. 3.3. X-ray diffraction of bulk palmitic acid and lipid microparticles loaded with GO. Spacing in 4.1Å and 3.7Å are characteristic of the orthorhombic crystal structure. All formulations contain 10% (w/w) GO. P1: 90% PA. P2: 85% PA 5% OA. P3: 75% PA 15% OA. P4: 85% PA 5% PF. P5: 75% PA 15% PF.	73

Fig. 3.4. FTIR spectra of carriers and lipid microparticles loaded with GO. All formulations contain 10% (w/w) GO. P1: 90% PA. P2: 85% PA 5% OA. P3: 75% PA 15% OA. P4: 85% PA 5% PF. P5: 75% PA 15% PF..... 75

Fig. 3.5. 1) Morphology of lipid microparticle loaded with GO obtained by SEM with 500× and 5000×. 2) Confocal scanning laser microscopy of lipid microparticle loaded with GO A) Fluorescence of particle with GO. B) Fluorescence intensity profile along the diameter of a particle selected. All formulations contain 10% (w/w) GO. P1: 90% PA. P2: 85% PA 5% OA. P3: 75% PA 15% OA. P4: 85% PA 5% PF. P5: 75% PA 15% PF. 77

- CAPÍTULO IV -.....84

Figure 4.1. Morphology of lipid microparticles loaded with GO, obtained by SEM with 5000×. Particles behavior during melting obtained by hot stage microscopy (320×), and the respective thermal properties properties (T_{ON} ; $T_{Melting}$; T_{END}) during DSC analysis. (I) 90%SA; 10%GO. (II) 75%SA; 10%GO; 15%OA. (III) 80%SA; 20%GO. (IV) 65%SA; 20%GO; 15%OA. 93

Figure 4.2. X-ray diffraction of stearic acid and solid lipid microparticles containing ginger oleoresin. I) 10%GO; 90%SA; II) 10%GO; 75%SA; 15%OA; III) 20%GO; 80%SA; IV) 20%GO; 65%SA; 15%OA. 94

Figure 4.3. Antioxidant properties of ginger oleoresin release into the model emulsion during storage at different temperature and the retention of ginger lipid microparticles on filter paper during emulsion filtration. : 90%SA; 10%GO. : 75%SA; 10%GO; 15%OA. : 80%SA; 20%GO. 99

- CAPÍTULO V -.....104

Figure 5.1. Isothermal solid diagrams to verify compatibility of lipids and ginger oleoresin blend. SFC: solid fat content 112

Figure 5. 2. X-ray diffraction of SLMs on days 0 and 84, storage at 25°C and 40°C. Trace indicates the crystal spacing corresponding to crystalline structure on day 0..... 115

Figure 5.3. Scanning electron microscopy at magnifications 500× and 5000×. Mean volumetric diameter ($D_{4,3}$) obtained during storage at different temperatures. SA: stearic acid. OA: oleic acid. GO: ginger oleoresin.^{a,b} Different lowercase letters in each line represent statistically significant difference ($p \leq 0.05$) by Tukey test. 116

Figure 5.4. Pungent compounds stability. (GO) Un-encapsulated ginger oleoresin. Solid lipid microparticles: (I) 90%SA; 10%GO (II)75%SA; 15%OA; 10%GO (III)80%SA; 20%GO (IV)65%SA; 15%AO; 20%GO. SA:stearic acid. OA:oleic acid. 118

Figure 5.5. Volatile retention during storage at 25 and 40°C. (Ginger Oleoresin) Un-encapsulated ginger oleoresin. Solid lipid microparticles: (I) 90%SA; 10%GO (II)75%SA; 15%OA; 10%GO (III)80%SA; 20%GO (IV)65%SA; 15%AO; 20%GO. SA:stearic acid. OA:oleic acid. 119

APÊNDICE A: CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS E MISCIBILIDADE DA MISTURA BINÁRIA OLEORESINA - LIPÍDIO.....155

Figura 1. Curva de aquecimento e resfriamento do ácido palmítico obtida por DSC..... 157

Figura 2. Curva de aquecimento e resfriamento do ácido esteárico obtida por DSC.....	157
Figura 3. Curva de aquecimento e resfriamento do ácido oleico obtida por DSC.	158
Figura 4. Curva de fusão da gordura de palma obtida por DSC. Linha pontilhada representa a temperatura de fusão da gordura de palma.	158
Figura 5. Curva de cristalização da gordura de palma obtida por DSC.	159
Figura 6. Difratoograma dos ácidos graxos palmítico e esteárico obtido por DRX. As linhas tracejadas correspondem aos espaçamentos típicos de estrutura ortorrômbica.....	160
Figura 7. Espectrograma obtido por FTIR dos ácidos graxos palmítico e esteárico. O pontilhado observado na figura está relacionado à banda em 941 cm^{-1}	160
Figura 8. Miscibilidade da oleoresina em lipídios. AO: ácido oleico. AP: ácido palmítico. GP: gordura de palma. OG: oleoresina de gengibre. As setas brancas indicam alguns pontos de oleoresina de gengibre dispersa no carreador lipídico. As fotos A e B apresentam escala de $50\text{ }\mu\text{m}$ e a foto C escala de $25\text{ }\mu\text{m}$	166
APÊNDICE B: OLEORESINA DE GENGIBRE IMISCÍVEL EM LIPÍDIOS.....	169
Figura 1. Mistura 90% Osth + 10% OG	169
Figura 2. Mistura 90% OS + 10% OG	169
Figura 3. Mistura 90% CC + 10% OG. A seta indica oleoresina imiscível.	169
APÊNDICE C: PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS.....	170
Figura 1. Esquema do equipamento de <i>spray chilling</i> para produção das micropartículas lipídicas contendo oleoresina de gengibre.....	171
Figura 2. Partículas retidas no ciclone após a atomização. (A) Partículas contendo somente lipídio saturado. (B) Partículas contendo lipídios saturados com adição de ácido oleico na formulação.....	171
APÊNDICE D: ASPECTO FÍSICO DOS PÓS PRODUZIDOS.....	172
Figura 1. Aspectos dos pós - Capítulo III.	172
Figura 2. Aspectos dos pós - Capítulo IV.	172

LISTA DE TABELAS

- CAPÍTULO II -	29
Tabela 2.1. Produtos de valor agregado provenientes de diferentes especiarias.	30
Tabela 2.2. Diferentes técnicas utilizadas para encapsular/carrear compostos alimentícios....	36
Tabela 2.3. Principais materiais de revestimento utilizados na formação de partículas para aplicação em alimentos.....	37
Tabela 2.4. Ativos e carreadores lipídicos utilizados pela técnica de <i>spray chilling</i> para formação de partículas lipídicas	40
- CAPÍTULO III -	61
Table 3.1. Formulations and compositions of SLM loaded with ginger oleoresin.	65
Table 3.2. Thermal properties, pungent and volatile compounds retention of SLM loaded with GO.	71
Table 3.3. Mean diameter ($D_{[4,3]}$) and size distribution of lipid microparticles.	74
- CAPÍTULO IV -	84
Table 4.1. Solid lipid microparticles composition.....	87
Table 4.2. Ginger oleoresin compounds retention in solid lipid microparticles after spray chilling process.....	95
Table 4.3. SLMs-GO compounds release into emulsion after dispersion (day 0) and SLMs-GO release into emulsion on day 28, storage at different temperatures.....	97
Table 4.4. Peroxide value of emulsion model with ginger oleoresin microparticles (I; II; III; IV), control emulsion with free ginger oleoresin and model emulsion.	100
- CAPÍTULO V -	104
Table 5.1. Samples use to study the stability of SLMs	108
Table 5.2. Best-fitting models for volatile release. Release-kinetics correlation coefficients (R^2) for derived models	121
Table 5.3. Weibull shape b parameter values indicating the transport mechanism.....	121
Table 5.4. Retention of majority compounds (ar-curcumene, α -zingiberene and β -sesquiphellandrene) in SLMs and the ratio of major compounds as an indication of GO quality during storage.	124
APÊNDICE A: CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS E MISCIBILIDADE DA MISTURA BINÁRIA OLEORESINA - LIPÍDIO.	155
Tabela 1. Composição em ácidos graxos dos carreadores lipídicos.....	155
Tabela 2. Composição lipídica e classificação triacilglicerólica da gordura de palma.	156
Tabela 3. Composição em percentual de ácidos graxos.	161
Tabela 4. Ácidos graxos livres e composição lipídica obtida pela análise de HPSEC, da oleoresina de gengibre.....	161
Tabela 5. Composição dos compostos voláteis presentes na oleoresina de gengibre	162
Tabela 6. Miscibilidade da oleoresina de gengibre com os lipídios, estado físico da mistura a temperatura ambiente e possibilidade de formação de partícula.....	164

Tabela 7. Ensaio com adição de ácido graxo sólido palmítico ou esteárico (AP ou AE) na oleoresina de gengibre (OG), seguida da adição da gordura de palma (GP).	165
---	-----

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	7
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS.....	12
SUMÁRIO.....	14
- CAPÍTULO I -.....	20
1.1. INTRODUÇÃO GERAL.....	21
1.2. OBJETIVOS.....	24
1.2.1. OBJETIVO GERAL DA TESE	24
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
1.3. ESTRUTURAÇÃO DA TESE EM CAPÍTULOS	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
- CAPÍTULO II -	29
2.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	30
2.1.1. OLEORESINAS DE ESPECIARIAIS	30
2.1.1.1. Oleoresina de Gengibre	31
2.1.2. MICROENCAPSULAÇÃO EM ALIMENTOS	33
2.1.3. SPRAY CHILLING	37
2.1.3.1. Carreadores Lipídicos.....	39
2.1.3.2. Lipídios	40
2.1.3.2.1. Ácidos Graxos	42
2.1.3.2.2. Gordura de Palma	44
2.1.3.3. Cristalização e Polimorfismo de Lipídios.....	45
2.1.4. CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS LIPÍDICAS OBTIDAS POR SPRAY CHILLING... 48	
2.1.4.1. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	49
2.1.4.2. Difração de Raios-X	49
2.1.4.3. Microscopia	50
2.1.4.3.1. Microscopia Confocal de Varredura a Laser.....	50
2.1.4.3.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	50
2.1.4.4. Liberação do Ativo	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
- CAPÍTULO III -.....	61
<i>SOLID LIPID MICROPARTICLES PRODUCED BY SPRAY CHILLING TECHNIQUE TO DELIVER GINGER OLEORESIN: STRUCTURE AND COMPOUND RETENTION.....</i>	<i>61</i>
ABSTRACT	62
3.1. INTRODUCTION.....	63

3.2. MATERIALS AND METHODS	64
3.2.1. MATERIALS	64
3.2.2. METHODS	65
3.2.2.1. Selection of lipid carriers	65
3.2.2.2. Production of SLM by spray chilling	65
3.2.2.3. Characterization of SLM	66
3.2.2.3.1. Thermal analysis.....	66
3.2.2.3.2. Crystalline structure.....	66
3.2.2.3.3. Particle size.....	66
3.2.2.3.4. Fourier transform infrared spectroscopy-FTIR	66
3.2.2.3.5. Morphology and GO distribution over SLM	67
3.2.2.4. Retention of GO in SLM	67
3.2.2.4.1. Pungent compounds retention	67
3.2.2.4.2. Volatiles retention	67
3.2.2.5. Statistical analysis.....	68
3.3. RESULTS AND DISCUSSION	68
3.3.1. SELECTION OF LIPID CARRIERS.....	68
3.3.2. CHARACTERIZATION OF SLM.....	69
3.3.2.1. Thermal analysis.....	69
3.3.2.2. Crystalline structure.....	72
3.3.2.3. Particle size.....	73
3.3.2.4. FTIR analysis.....	74
3.3.2.5. Morphology and GO distribution over the SLM	76
3.3.3. RETENTION OF GO IN SLM	76
3.3.3.1. Pungent and volatile compounds retention.....	76
3.4. CONCLUSIONS	79
REFERENCES	80
- CAPÍTULO IV -.....	84
<i>RELEASE BEHAVIOR OF GINGER OLEORESIN LIPID MICROPARTICLES: ADDITION IN MODEL EMULSION</i>	84
ABSTRACT	85
4.1. INTRODUCTION.....	86
4.2. MATERIAL AND METHODS	87
4.2.1. MATERIAL	87
4.2.2. METHODS	87
4.2.2.1. Production of solid lipid microparticles	87
4.2.2.2. Thermal characterization, surface morphology and crystalline structure of solid lipid microparticles	88
4.2.2.2.1. Thermal analysis.....	88
4.2.2.2.1.1 Hot stage microscopy	88
4.2.2.2.2. Surface morphology	88

4.2.2.2.3. Crystalline structure.....	88
4.2.2.2.4. Active retention.....	88
4.2.2.3. Model emulsion preparation with addition of ginger oleoresin microparticles and storage conditions.....	89
4.2.2.3.1. Model emulsion preparation.....	89
4.2.2.3.1.1. <i>Addition of ginger oleoresin lipid microparticles on model emulsion</i>	89
4.2.2.3.2. Storage conditions.....	89
4.2.2.3.3.1. <i>Release of pungent and volatile compounds into emulsion</i>	90
4.2.2.3.3.2. <i>Antioxidant analysis of ginger oleoresin release on emulsion</i>	90
4.2.2.3.3.3. <i>Peroxide value</i>	90
4.2.2.4. Statistical analysis.....	91
4.3. RESULTS AND DISCUSSION.....	91
4.3.1. THERMAL CHARACTERIZATION, SURFACE MORPHOLOGY AND CRYSTALLINE STRUCTURE OF SOLID LIPID MICROPARTICLES.....	91
4.3.2. COMPOUNDS RETENTION IN SOLID LIPID MICROPARTICLES AFTER SPRAY CHILLING PROCESS.....	94
4.3.3. EVALUATION OF GINGER OLEORESIN RELEASE INTO THE MODEL EMULSION.....	95
4.3.3.1. Release of pungent and volatile compounds into emulsion.....	95
4.3.3.2. Antioxidant capacity of ginger oleoresin release into model emulsion.....	98
4.3.3.3. Peroxide value of the oil contained in the emulsion.....	100
4.4. CONCLUSIONS.....	101
REFERENCES.....	101
- CAPÍTULO V -.....	104
<i>EVALUATION OF STORAGE TEMPERATURE ON STABILITY OF LIPID MICROPARTICLES CONTAINING GINGER OLEORESIN</i>.....	104
ABSTRACT.....	105
5.1. INTRODUCTION.....	106
5.2. MATERIAL AND METHODS.....	107
5.2.1. MATERIAL.....	107
5.2.2. METHODS.....	107
5.2.2.1. Compatibility of lipids and ginger oleoresin blend.....	107
5.2.2.2. Production of SLMs.....	108
5.2.2.3. Storage Conditions for the Stability Study.....	108
5.2.2.4. Characterization of microparticles during storage.....	108
5.2.2.4.1. Crystalline structure.....	108
5.2.2.4.2. Surface morphology.....	109
5.2.2.4.3. Mean volumetric diameter.....	109
5.2.2.4.4. Stability of pungent compounds.....	109
5.2.2.4.5. Retention and stability of volatile compounds.....	109
5.2.2.4.5.1 <i>Kinetics models for the volatile release during storage</i>	110
5.2.2.5. Statistical analysis.....	110

5.3. RESULTS AND DISCUSSION	111
5.3.1. COMPATIBILITY OF LIPIDS AND GINGER OLEORESIN BLEND	111
5.3.2. CHARACTERIZATION OF SLMs DURING STABILITY AT DIFFERENT TEMPERATURES.....	112
5.3.2.1. Crystalline structure, surface morphology and mean volumetric diameter	112
5.3.3. STABILITY OF 6-GINGEROL, 6-SHOGAOL AND ZINGERONE	117
5.3.4. VOLATILE RETENTION DURING STORAGE	119
5.3.4.1. Kinetics models for the volatile release during stability	120
5.3.5. STABILITY OF THE MAIN VOLATILE COMPOUNDS	122
5.4. CONCLUSION	125
REFERENCES	125
- CAPÍTULO VI -	128
6.1. DISCUSSÃO GERAL	129
- CAPÍTULO VII -	132
7.1. CONCLUSÃO GERAL.....	133
- CAPÍTULO VIII -	134
8.1. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	135
8.2. PRODUÇÃO CIENTÍFICA E ATIVIDADES ACADÊMICAS.....	136
- REFERÊNCIAS -.....	139
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS.....	139
- APÊNDICES -	154
APÊNDICE A: CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS E MISCIBILIDADE DA MISTURA BINÁRIA OLEORESINA - LIPÍDIO.....	155
ETAPA 1: CARACTERIZAÇÃO DE CARREADORES LIPÍDICOS E OLEORESINA DE GENGIBRE	155
CARACTERIZAÇÃO DOS CARREADORES LIPÍDICOS	155
Caracterização Lipídica em Ácidos Graxos.....	155
Comportamento Térmico	156
CARACTERIZAÇÃO DA OLEORESINA DE GENGIBRE.....	161
Caracterização Lipídica	161
Composição dos Compostos Voláteis.....	162
Composição dos Compostos de Pungência.....	162
ETAPA 2: VERIFICAÇÃO DA HOMOGENEIDADE DAS MISTURAS BINÁRIAS LIPÍDIO – OLEORESINA PARA ESTUDOS DE FORMAÇÃO DE PARTÍCULAS LIPÍDICAS A PARTIR DA TÉCNICA DE <i>SPRAY CHILLING</i>	163
VERIFICAÇÃO DA MISTURA DE OLEORESINA DE GENGIBRE E LIPÍDIO	163
Utilização da Gordura de Palma como Carreador Modulador.....	165
Utilização do Ácido Oleico como Carreador Modulador	166
MISCIBILIDADE DA OLEORESINA NOS CARREADORES	166

DEFINIÇÃO DOS ENSAIOS PARA OS CAPÍTULOS III, IV E V.....	167
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	167
APÊNDICE B: OLEORESINA DE GENGIBRE IMISCÍVEL EM LIPÍDIOS.....	169
APÊNDICE C: PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS.....	170
APÊNDICE D: ASPECTO FÍSICO DOS PÓS PRODUZIDOS	172
- ANEXOS -.....	173

- CAPÍTULO I -

Introdução Geral
Objetivos
Estruturação da Tese

1.1. INTRODUÇÃO GERAL

As especiarias são vegetais cultivados e processados devido a características específicas como, por exemplo, aroma, pungência, sabor, fragrância, cor natural e propriedades medicinais. Elas são obtidas a partir de rizomas, bulbos, cascas, botões florais, estigmas, frutos, sementes e folhas de origem vegetal. O mercado de especiarias se diversificou bastante desde o início do século XXI. As especiarias *in natura* vêm sendo substituídas pelas de valor agregado, como os pós de especiarias, óleos essenciais, oleoresinas, entre outros, visto que as especiarias *in natura* apresentam vida de prateleira limitada. Algumas das vantagens da agregação de valor são: menores espaços para armazenagem, ausência de contaminação microbiana, aumento da vida de prateleira, diversificação de produtos (PREMAVALLI, 2007; DATTA; GUHA; SHARANGI, 2015).

O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) é um rizoma, sendo uma das espécies mais utilizadas da família das Zingiberaceae, cultivado em algumas regiões tropicais, como a Índia, China, Nigéria, Austrália e Jamaica. É usado em todo o mundo como uma especiaria para alimentos. Apresenta atividades farmacológicas, incluindo proteção cardiovascular, potencial antioxidante, anti-inflamatório, redutor de glicose, entre outros. Os principais constituintes que transmitem as propriedades sensoriais e benéficas a saúde são os compostos de pungência, nomeados como gingeróis e shogaóis e a fração de voláteis classificada como sesquiterpenos e monoterpenos (BUTT; SULTAN, 2011; SAID et al., 2015; SRINIVASAN, 2017).

O uso de oleoresinas de especiarias tem aumentado significativamente na indústria de alimentos, especialmente por facilitar a padronização do sabor através do monitoramento dos compostos relacionados, além da ausência de contaminação microbiológica, em comparação à especiaria *in natura*. A oleoresina é extraída a partir da especiaria *in natura* utilizando solventes orgânicos, resultando na extração de óleos e matéria resinosa. É considerada um alimento GRAS (Generally Recognized As Safe) e devido a esse ingrediente ser apresentado na forma concentrada, o armazenamento em espaços reduzidos é facilitado. No setor de alimentos, a oleoresina de gengibre é utilizada em molhos e sopas, embutidos e produtos de panificação, confeitaria, aromatizantes e tempero (BALAKRISHNAN, 2005; BAILEY-SHAW et al., 2008; MURTHY; GAUTAM; NAIK, 2015).

A oleoresina de gengibre é um produto viscoso, com presença de compostos voláteis e não voláteis. Os compostos de pungência, óleo volátil e lipídios são os majoritários

e em concentrações inferiores encontram-se outros compostos não voláteis. Os voláteis estão presentes no óleo essencial do gengibre, que pode ser adicionado na oleoresina para proporcionar característica similar ao produto *in natura*, em relação ao odor e sabor (ZACHARIAH, 2008; SAID et al., 2015).

Os compostos pungentes e voláteis da oleoresina de gengibre podem apresentar instabilidade quando expostos a condições adversas de armazenagem (alta temperatura), resultando em uma vida de prateleira curta. Além disso, o aquecimento no preparo do alimento pode conduzir à perda repentina de compostos voláteis e degradação dos pungentes, causando a redução da qualidade do aroma e sabor global. Em muitos casos, processos específicos de microencapsulação podem ser usados para superar esses desafios, como por exemplo, as técnicas de *spray drying*, *spray chilling*, coacervação, gelificação iônica, entre outros (RÉ, 1998; BALAKRISHNAN, 2005). As várias técnicas de microencapsulação refletem no progresso e desenvolvimento de muitas outras tecnologias. Esta tendência pode ser observada em tecnologias até então não relacionadas, por exemplo, uma microcápsula pode ser utilizada para a liberação controlada de um ingrediente alimentício, resultando em um novo produto. Tal como acontece com a maioria das inovações, as tecnologias são desenvolvidas ou aprimoradas para uma determinada aplicação ou indústria, então são fundidas para criar um novo produto inovador (SOBEL; VERSIC; GAONKAR, 2014).

Assim, visto que a oleoresina de gengibre apresenta certas limitações em relação a condições adversas do ambiente externo devido à perda de voláteis, degradação dos compostos de pungência, e características que podem dificultar sua aplicação em determinados alimentos, o estudo de técnicas de encapsulação é justificado. Além do efeito de proteção, dependendo da técnica usada pode oferecer liberação controlada da oleoresina para o meio, apresentar comodidade no manuseio devido à conversão de líquido em pó, e permitir uma dispersão uniforme na matriz alimentícia.

Técnicas de *spray chilling*, *cooling* ou *congealing* para a formação de micropartículas tem sido estudadas nos últimos anos nas áreas farmacêutica e veterinária (MEUNIER et al., 2007; PASSERINI et al., 2010; MARTINS; SIQUEIRA; FREITAS, 2012), mas há poucos estudos para aplicações em alimentos em comparação à técnica de *spray drying*. A formação de partículas pela técnica de *spray chilling* consiste na utilização de carreadores como os ácidos graxos, triacilgliceróis e ceras, sendo que devem ser sólidos à temperatura ambiente ou a mistura deles resultar em uma ‘blenda’ com consistência sólida, para garantir partículas com boa dispersibilidade, facilidade no manuseio e armazenamento. O

ativo de interesse, que pode ser hidrofóbico, na forma de cristais, partículas secas ou emulsões do tipo água/óleo, é disperso ou emulsionado no material lipídico, que se apresenta fundido, sendo atomizado em uma câmara refrigerada, onde ocorre a solidificação e formação das partículas (ZUIDAM; SHIMONI, 2010; OKURO; MATOS-JR; FAVARO-TRINDADE, 2013; OH et al., 2014).

A utilização de lipídios na formação de partículas pela técnica de *spray chilling* pode desencadear a liberação do ativo através de diferentes meios, dependendo da finalidade desejada para a partícula, como por exemplo, a liberação através da temperatura, a liberação desencadeada mecanicamente por forças externas, pressão ou cisalhamento, ou liberação por biodegradação, no qual os lipídios são quebrados por lipases durante a digestão (MADENE; JACQUOT; SCHER; DESOBRY, 2006). As partículas obtidas neste trabalho terão como principal gatilho a liberação em função da temperatura ou dissolução da partícula devido à afinidade com o meio no qual for inserida.

Os ácidos graxos, como o oleico, palmítico e esteárico, são encontrados em abundância na natureza o que garante fácil aquisição, porém o processo para obtenção de ácidos graxos livres é tido como de alto custo quando comparado aos lipídios a base de triacilgliceróis, como os óleos e gorduras. Apesar do alto valor, a utilização de ácidos graxos livres torna-se uma opção viável para este trabalho, pois não há na literatura ou disponíveis comercialmente micropartículas lipídicas obtidas por *spray chilling* contendo oleoresina de gengibre. Assim, o objetivo deste trabalho foi utilizar a técnica de *spray chilling* para obtenção de micropartículas lipídicas sólidas como carreadoras de oleoresina de gengibre para conversão de um produto viscoso para pó, facilitando o manuseio e aplicação, além de manter ou preservar as propriedades de pungência e voláteis da oleoresina de gengibre.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. *Objetivo Geral da Tese*

O objetivo deste trabalho foi utilizar a técnica de *spray chilling* para obter micropartículas lipídicas sólidas como carreadoras de oleoresina de gengibre, resultando em um produto em pó para facilitar a aplicação e manter ou preservar a estabilidade dos compostos de pungência e voláteis da oleoresina de gengibre.

1.2.2. *Objetivos Específicos*

Caracterizar micropartículas lipídicas preparadas por *spray chilling* contendo oleoresina de gengibre.

Obter micropartículas lipídicas sólidas carreadas com oleoresina de gengibre.

Caracterizar as micropartículas lipídicas contendo oleoresina de gengibre em relação ao comportamento térmico e polimórfico e estrutura cristalina.

Avaliar a retenção dos compostos de pungência e voláteis da oleoresina de gengibre nas micropartículas lipídicas.

Verificar a influência da adição dos lipídios insaturados sobre o diâmetro médio de partícula, comportamento térmico e polimórfico, retenção dos ativos e morfologia de superfície.

Observar a distribuição da oleoresina sobre a partícula a partir da técnica de microscopia confocal de varredura a laser.

Verificar a liberação da oleoresina de gengibre, contida nas micropartículas lipídicas, em uma emulsão modelo (óleo/água) durante a estocagem em diferentes temperaturas.

Investigar o comportamento da liberação da oleoresina de gengibre logo após a homogeneização na emulsão e ao final da estocagem em diferentes temperaturas, acompanhando os compostos voláteis e de pungência.

Acompanhar a capacidade antioxidante das micropartículas contendo oleoresina de gengibre, em emulsão, e estocada em diferentes temperaturas.

Avaliar a estabilidade à estocagem das micropartículas lipídicas carregadas com oleoresina de gengibre.

Avaliar a retenção dos compostos voláteis durante o estudo de estabilidade das micropartículas contendo oleoresina de gengibre em diferentes temperaturas, comparando com a oleoresina de gengibre não encapsulada.

Verificar os aspectos morfológicos, tamanho de partícula e a cristalinidade das micropartículas durante a estocagem.

Acompanhar, durante o armazenamento em diferentes temperaturas, a degradação dos compostos voláteis e pungentes majoritários.

1.3. ESTRUTURAÇÃO DA TESE EM CAPÍTULOS

Para a apresentação dos trabalhos desenvolvidos durante o doutorado, esta Tese será apresentada na forma de Capítulos, sendo o **Capítulo I** destinado a introduzir o tema aos leitores, seguido dos objetivos do trabalho.

Para o **Capítulo II**, uma revisão bibliográfica desenvolvida em tópicos apresenta os temas principais da Tese, destacando a utilização da oleoresina para a indústria alimentícia, técnicas de microencapsulação, abordagem sobre lipídios e características físicas dos mesmos. A seguir, nos **Capítulos III, IV e V** são apresentadas as atividades práticas desenvolvidas:

Capítulo III: Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compounds retention

O objetivo deste artigo foi estudar a caracterização das micropartículas produzidas pela técnica *spray chilling*, a partir de diferentes combinações de lipídios carreadores com a oleoresina de gengibre.

A oleoresina de gengibre foi fixada em 10 g/100 g mistura, sendo que foi realizada a adição do carreador sólido ácido palmítico em diferentes proporções (90; 85; 75 g/100 g mistura) para avaliar a influência na retenção da oleoresina diante da incorporação de um lipídio líquido (ácido oleico - 0; 5; 15 g/100 g mistura) ou um lipídio semissólido (gordura de palma - 0; 5; 15 g/100 g mistura). As análises do comportamento térmico da partícula, polimorfismo dos cristais lipídicos da partícula, morfologia de superfície, distribuição da oleoresina na partícula através da técnica confocal, tamanho de partícula e a retenção dos ativos voláteis e de pungência foram analisados neste capítulo.

Capítulo IV: Release behavior of ginger oleoresin lipid microparticles: Addition in model emulsion

Esse capítulo abordou a incorporação das micropartículas lipídicas utilizando ácido esteárico como carreador da oleoresina de gengibre em um sistema modelo de emulsão, juntamente com o estudo de estocagem em diferentes temperaturas.

Nesta etapa, formulações contendo 10 e 20% (g/100g de mistura) de oleoresina de gengibre foram caracterizadas. Após a caracterização, as micropartículas foram adicionadas em uma emulsão modelo e armazenadas em três diferentes temperaturas (10; 25; 40 °C) durante 28 dias. Foi analisada a atuação da oleoresina como antioxidante no meio emulsionado e a retenção dos voláteis e compostos de pungência na emulsão.

Capítulo V: Evaluation of storage temperature on stability of lipid microparticles containing ginger oleoresin

Para o estudo de estabilidade das partículas, as mesmas foram estocadas em potes herméticos a 25°C e 40°C durante 84 dias, a fim de verificar o comportamento das partículas diante de condições adversas de temperatura assim como a estabilidade dos compostos voláteis e de pungência da oleoresina de gengibre.

No **Capítulo VI** foi apresentada uma **Discussão Geral** voltada para os principais pontos de cada capítulo acima mencionado, seguido do **Capítulo VII**, no qual uma **Conclusão Geral** da tese foi apresentada através da discussão dos principais resultados. O último capítulo, **Capítulo VIII**, foi finalizado com as **Sugestões para Trabalhos Futuros** acompanhado da **Produção Científica e Atividades Acadêmicas** desenvolvidas durante o período desta tese.

No **Apêndice** são apresentados os resultados dos testes preliminares para a caracterização de carreadores lipídicos e oleoresina de gengibre e verificação da homogeneidade das misturas binárias lipídio – oleoresina, para definição das formulações utilizadas nos **Capítulos III, IV e V**. Por fim, os **Anexos** apresenta a licença para a utilização do artigo publicado neste documento.

Referências Bibliográficas

BAILEY-SHAW, Y. A. WILLIAMS, L. A. D.; JUNOR, G. A. O.; (...); SALMON, C. N. A.; SMITH, A. M. Changes in the contents of oleoresin and pungent bioactive principles of Jamaican ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) during maturation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5564-5571, 2008.

BALAKRISHNAN, K. V. Postharvest and Industrial Processing of Ginger. IN: Babu, K. N., Ravindran, P.N. (Editores). **Ginger The Genus Zingiber**. Capítulo 11, p. 391-434, 2005.

BUTT, M.S.; SULTAN, M.T. Ginger and its health claims: molecular aspects. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 51, n.5, p. 383-393, 2011.

DATTA, S.; GUHA, S.; SHARANGI, A.B. Value addition in spice crops. In: SHARANGI, A. B.; DATTA, S. (Editores). **Value Addition of Horticultural Crops: Recent Trends and Future Directions**, Springer, p. 59-82, 2015.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, n. 1, p. 1–21, 2006.

MARTINS, R. M.; SIQUEIRA, S.; FREITAS, L. A. P. Spray Congealing of Pharmaceuticals: Study on Production of Solid Dispersions Using Box-Behnken Design. **Drying Technology**, v.30, n.9, p. 935-945, 2012.

MEUNIER, J.P.; CARDOT, J.M.; MANZANILLA, E. G.; WYSSHAAR, M.; ALRIC, M. Use of spray-cooling technology for development of microencapsulated capsicum oleoresin for the growing pig as an alternative to in-feed antibiotics: A study of release using in vitro models. **Journal of Animal Science**, v.85, p. 2699–2710, 2007.

MURTHY, P.S.; GAUTAM, R.; NAIK, J, P. Ginger oleoresin chemical composition, bioactivity and application as bio-preservatives. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n.6, p. 1905-1912, 2015.

OH, C.M.; GUO, Q.; HENG, P.W.S.; CHAN, L. W. Spray-congealed microparticles for drug delivery – an overview of factors influencing their production and characteristics. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v.11, n.7, p.1047-1060, 2014.

OKURO, P. K.; MATOS-JR, F.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. **Food Technology and Biotechnology**, v. 51, n.2, p. 171-182, 2013.

PASSERINI, N.; SHENG, Q.; ALBERTINI, B.; GRASSI, M.; RODRIGUEZ, L.; CRAIG, D. Q. M. Solid lipid microparticles produced by spray congealing: Influence of the atomizer on microparticle characteristics and mathematical modeling of the drug release. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n.2, p. 916-931, 2010.

PREMAVALLI, K. S. Ginger as a Spice and Flavorant. In: BABU, K. N., RAVINDRAN, P.N. (Editores). **Ginger The Genus Zingiber**. Capítulo 15, p.1-17, 2004.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, n.6, p. 1195-1236, 1998.

SAID, P.P.; ARYA, O.P.; PRADHAN, R.C.; SINGH, R.S.; RAI, B.N. Separation of Oleoresin from Ginger Rhizome Powder Using Green Processing Technologies. **Journal of Food Process Engineering**, v.38, n.2, p. 107-114, 2015.

SOBEL, R.; VERSIC, R.; GAONKAR, A.G. Introduction to Microencapsulation and Controlled Delivery in Foods. In: GAONKAR, A. G.; VASISHT, N.; KHARE, A. R.; SOBEL, R. (Editores). **Microencapsulation in the Food Industry - A Practical Implementation Guide**. Academic Press of Elsevier. 2014. Capítulo 1, p.3-12.

SRINIVASAN, K. Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. **Pharma Nutrition**, v.5, p. 18-28, 2017.

ZACHARIAH, T. J. Ginger. In: PARTHASARATHY, V. A.; CHEMPAKAM, B.; ZACHARIAH, T. J. (Editores). **Chemistry of Spices**. CAB International, 2008. Capítulo 5, p. 70-98.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: ZUIDAM, N .J.; NEDOVIĆ, V. A. (Editores).

Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing.
LLC:Ration. 2010. Capítulo 2, p. 3-29.

- CAPÍTULO II -
Revisão Bibliográfica

2.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.1. Oleoresinas de Especiarias

Especiarias são condimentos e aromatizantes de origem vegetal, que podem ser utilizados para temperar ou conservar os alimentos, além de algumas aplicações farmacêuticas. As especiarias são obtidas das sementes, cascas e folhas de plantas aromáticas. Hoje em dia, muitas especiarias *in natura* vêm sendo substituídas pelas de valor agregado devido à demanda de mercado, como os pós de especiarias, óleos essenciais, oleoresinas, entre outros. Alguns outros exemplos de produtos de valor agregado das especiarias que foram incluídos são os óleos microencapsulados, cápsulas contendo a especiaria em pó ou óleo, destacando as especiarias de açafrão, gengibre, pimenta, páprica, noz moscada, pimenta malagueta entre outros. A Tabela 2.1 apresenta alguns produtos de valor agregado que podem ser obtidos através das especiarias *in natura* (PANDA, 2010; DATTA; GUHA; SHARANGI, 2015).

Tabela 2. 1. Produtos de valor agregado provenientes de diferentes especiarias.

Nome da especiaria	Produto de valor agregado
Pimenta preta (<i>Piper nigrum</i>)	Pó, oleoresina, óleo, pimenta desidratada, etc.
Páprica (<i>Capsicum annuum</i>)	Pigmento natural, oleoresina, pó.
Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	Pó, óleo volátil, oleoresina, óleo encapsulado, desidratado, molhos.
Açafrão/cúrcuma (<i>Curcuma longa</i>)	Pigmento natural, desidratado, óleo, oleoresina, curcuminóides.
Coentro (<i>Coriandrum sativum</i>)	Pó, oleoresina.
Cominho (<i>Cuminum cyminum</i>)	Pó, oleoresina.
Erva doce (<i>Foeniculum vulgare</i>)	Oleoresina, óleo volátil, erva doce revestida com açúcar.
Pimenta malagueta (<i>Capsicum frutescens</i>)	Pó, pickles, oleoresina, óleo, molhos, etc.

(Fonte: PANDA, 2010; DATTA; GUHA; SHARANGI, 2015).

Esse aumento na procura de especiarias de valor agregado, dando destaque para as oleoresinas, deve-se à alteração do comportamento do mercado, como por exemplo, o aumento da exportação das especiarias *in natura*, que apresentam vida de prateleira reduzida.

A crescente demanda dos consumidores por produtos alimentícios saudáveis e naturais fez com que a indústria iniciasse a utilização de compostos aromatizantes/saborizantes naturais nos alimentos, o que conduziu a um aumento na produção de oleoresina; além de estudos farmacológicos envolvendo os compostos dessas especiarias. Entre as especiarias destinadas à produção de oleoresinas as principais são a pimenta preta, pimenta malagueta, páprica, açafraão/cúrcuma, gengibre, noz moscada, coentro, cominho, aipo e alho. A Índia é a maior fabricante de oleoresinas, respondendo por 60% do mercado mundial (KRISHNAKUMAR; BUREAU, 2013). A produção mundial de oleoresinas no ano de 2011 foi de 13.500 toneladas, correspondendo a 425 milhões de dólares americanos (BAVU, 2012; KRISHNAKUMAR; BUREAU, 2013).

As especiarias são utilizadas em alimentos com quatro finalidades básicas: dar sabor, mascarar algum odor ou *flavor*, fornecer pungência e cor. A oleoresina pode ser definida como "verdadeira essência" e pode substituir a especiaria *in natura* em produtos alimentícios sem alterar o perfil de sabor. Os compostos voláteis conferem perfis aromáticos e o não volátil responsável pela presença dos compostos de pungência e de outros sabores. Apresenta-se na forma líquida viscosa, devido aos compostos resinosos concentrados, resultado da extração com solvente. O solvente residual presente na oleoresina deve ser inferior a 30 ppm, sendo utilizados solventes orgânicos para a extração, podendo-se empregar um ou uma mistura, tal como: acetona, acetato de etila, hexano, etanol, metanol, brometo de metileno, cloreto de etileno, dicloreto de etileno, cloreto de metileno, éter de petróleo, entre outros. A escolha do solvente é um aspecto importante para obter maior rendimento e melhor qualidade dos produtos (PREMAVALLI, 2004; DATTA; GUHA; SHARANGI, 2015).

2.1.1.1. Oleoresina de Gengibre

O gengibre (*Zingiber officinale* R.), um rizoma pertencente à família das Zingiberaceae, originário do Sudeste asiático e encontrado em muitas regiões do mundo; tem sido cultivado há milhares de anos como especiaria alimentícia e para fins medicinais (SHUKLA; SINGH, 2007; ALI; BLUNDEN; TANIRA; NEMMAR, 2008).

A oleoresina de gengibre vem sendo amplamente incluída na indústria de alimentos processados na formulação de temperos para carnes, aves, frutos do mar e vegetais preparados. Também encontra aplicação em produtos para panificação, confeitaria, bebidas, xaropes, licores, molhos picantes, sopas, preparações farmacêuticas para xaropes de tosse e cremes para o alívio de dores nas articulações. No entanto, a oleoresina de gengibre apresenta

sensibilidade durante a estocagem e pode apresentar vida de prateleira curta se for armazenada em altas temperaturas (BALAKRISHNAN, 2005; SHAIKH; BHOSALE; SINGHAL, 2006).

Os compostos aromáticos presentes no gengibre fornecem as propriedades de odor. A pungência, não volátil é responsável pelas sensações de sabor. Em geral, ambos os componentes voláteis e não voláteis são importantes para a transmissão das propriedades de sabor, odor e pungência (PREMAVALLI, 2004).

Na oleoresina de gengibre, a pungência é quase inteiramente atribuída aos compostos gingeróis (compostos fenólicos) que são termolábeis, podendo sofrer alterações durante o processamento e armazenamento. Os compostos de pungência correspondem à aproximadamente 20% na composição da oleoresina de gengibre, sendo o 6-gingerol encontrado em maior concentração, e em quantidades menores também se encontram os compostos 8 e 10-gingerol (BALAKRISHNAN, 2005; SALEA; VERIANSYAH; TJANDRAWINATA, 2017). Duas vias de degradação são estabelecidas para os gingeróis, conforme a Figura 2.1:

- ✓ A desidratação para 6; 8; 10 – shogaóis.
- ✓ Condensação para zingerona, composto de pungência que pode causar *off-flavors*.

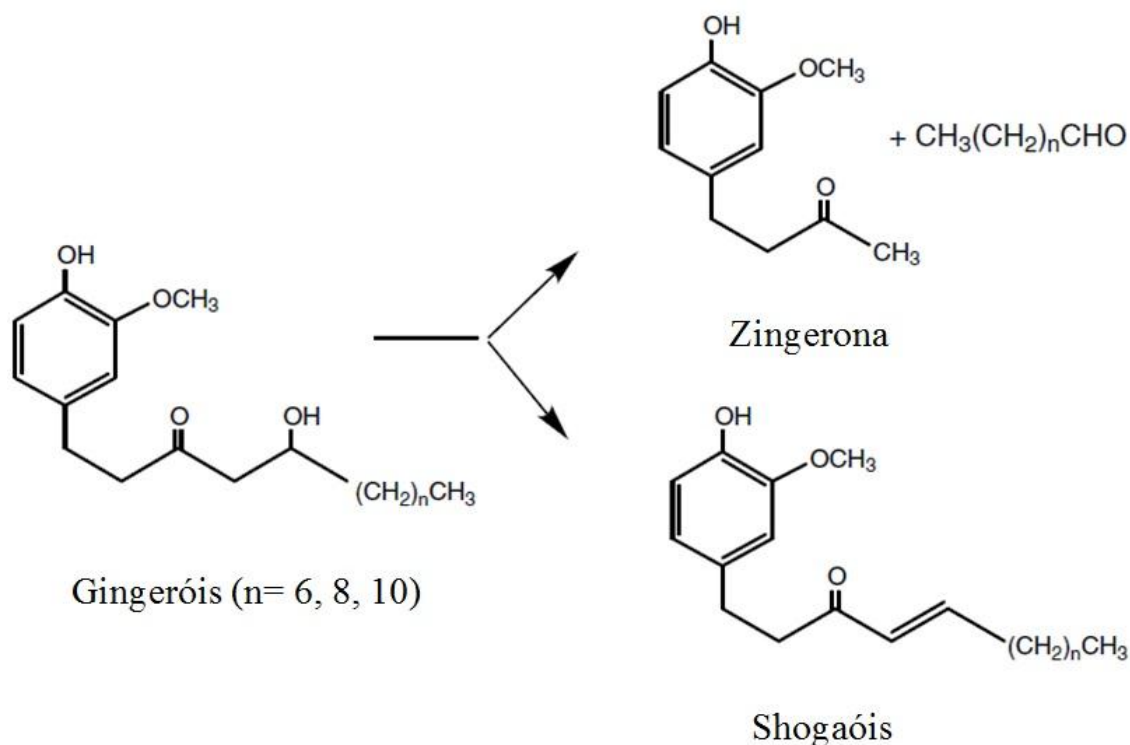


Figura 2.1. Degradação Gingerol.

A conversão de gingeróis em qualquer um destes dois compostos, citados anteriormente, indica a perda de qualidade da oleoresina. A conversão para zingerona é um processo relativamente lento em comparação com a que produz shogaol. O shogaol não está presente no gengibre *in natura*, mas é normalmente formado durante o processamento de obtenção de um produto específico, como extração da oleoresina, ocorrendo a desidratação dos gingeróis durante o processamento, tal como secagem, meio ácido, calor e também durante o armazenamento por um longo período (PREMAVALLI, 2004; HUANG et al., 2011). Os gingeróis e shogaóis são componentes biologicamente ativos que apresentam contribuição significativa em aplicação medicinal, como analgésicos, sedativos, antioxidantes e antimicrobianos. Quimicamente os gingeróis são da mesma família da capsaicina, composto presente em pimenta, que é conhecida por sua pungência (KUBRA; RAO, 2012).

Os compostos voláteis predominantes na oleoresina de gengibre são os hidrocarbonetos, classificados como sesquiterpenos com alta volatilidade, sendo eles o zingibereno, β -sesquifelandreno e curcumeno. Esses compostos em armazenagem inadequada, como excesso de luz e calor, se convertem para ar-curcumeno, indicando perda de qualidade do óleo volátil (VERNIN; PARKANYL, 2005; ZACHARIAH, 2008). A Figura 2.2 apresenta a estrutura química dos compostos voláteis predominantes na oleoresina de gengibre.

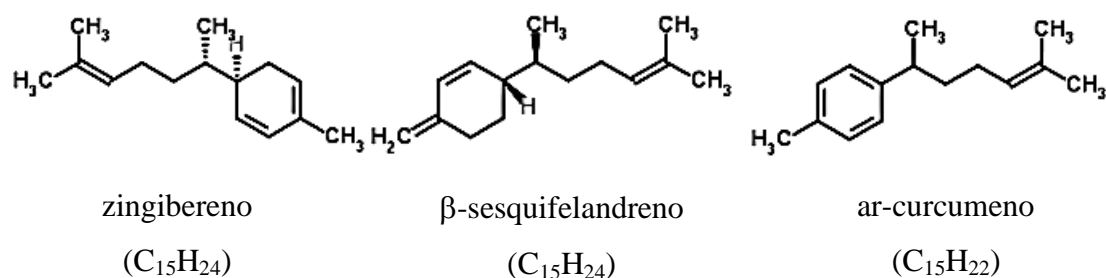


Figura 2. 2. Estrutura dos compostos voláteis predominantes na oleoresina de gengibre (<http://www.chemspider.com/>).

2.1.2. Microencapsulação em Alimentos

O conceito de microencapsulação foi desenvolvido pela indústria farmacêutica, com o objetivo de controlar e/ou modificar a liberação de substâncias. Hoje em dia, a área farmacêutica representa a maior fração que utiliza as técnicas de microencapsulação, com 68%, enquanto o setor alimentício representa 13% (DIAS; FERREIRA; BARREIRO, 2015).

A microencapsulação é um processo em que compostos com características sólidas, líquidas ou até mesmo gasosas são revestidos ou incorporados em uma matriz para

obter micropartículas com tamanho entre 1–1000 μm e diversos propósitos (GHOSH, 2006; GHARSALLAOUI et al., 2007; NAZZARO et al., 2012).

O material encapsulado é designado como material de recheio, núcleo, fase interna ou ativo, e o material que o protege ou envolve pode ser chamado de material de parede, membrana, revestimento, casca ou carreador. As micropartículas são classificadas com base no seu tamanho ou morfologia (RAYBAUDI-MASSILIA; MOSQUEDA-MELGAR, 2012). A composição do material que envolve o ativo e a técnica de microencapsulação usada definem os tipos de partículas que, de acordo com a morfologia, podem ser classificadas em duas categorias (reservatório e matriz):

Reservatório - São caracterizadas por apresentarem o ativo envolto pelo material que o protege, denominadas como mononucleadas. São também chamadas de microcápsulas (Figura 2.3a). Também podem se apresentar na forma multinucleada, ou seja, exibem vários núcleos distintos dentro da mesma cápsula, e também recebem a denominação de microcápsulas (Figura 2.3b) (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

Matriz - O ativo na matriz apresenta-se disperso sobre o material carreador e recebe o nome de microesfera (Figura 2.3c) (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

Reservatório + Matriz - A partir das duas classificações anteriores pode haver a associação de partículas, com o ativo disperso internamente, recobertas com o material carreador (Figura 2.3d).

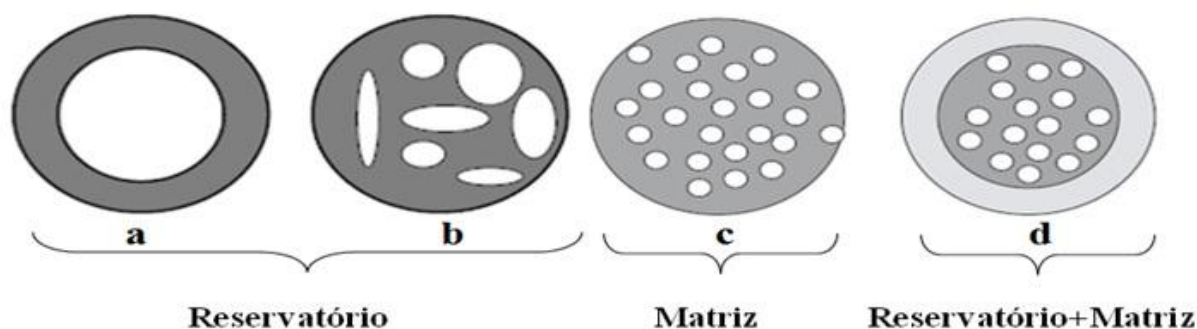


Figura 2. 3. Classificação da morfologia das partículas **a)** Reservatório mononucleado - microcápsulas. **b)** Reservatório multinucleado - microcápsulas. **c)** Recheio disperso no carreador (matriz) –microesferas. **d)** Combinação das partículas a e c. (Fonte: ZUIDAM; SHIMONI, 2010; RAYBAUDI-MASSILIA; MOSQUEDA-MELGAR, 2012).

As principais razões para a encapsulação do ativo estão apresentadas a seguir (RÉ, 1998; ARSHADY; BOH, 2003; DUBEY et al., 2009):

Proteção em relação ao ambiente externo (temperatura, umidade, radiação UV, interação com outros materiais).

Manter a estabilidade do composto.

Separação do ativo em relação a componentes incompatíveis.

Mascaramento do odor e sabor.

Liberação controlada de compostos ativos (liberação prolongada ou retardada).

Liberação direcionada.

Conversão de líquido ou sólido pegajoso para pós que fluem livremente.

A microencapsulação pode ser empregada em diversas áreas de conhecimento. Na agricultura pode ser aplicada para o desenvolvimento de pesticidas e fertilizantes com liberação controlada. Uma das maiores áreas para aplicação da microencapsulação é a farmacêutica, destacando a liberação controlada de medicamento, além da microencapsulação de medicamentos instáveis e irritantes. A técnica também pode ser empregada nas áreas químicas e cosméticas. Na indústria de alimentos, os ingredientes podem ser encapsulados para proteger o material em si (um ingrediente pode apresentar comportamento instável na presença de outros ingredientes alimentícios ou meio externo - temperatura, umidade, pH), prolongar a estabilidade e, conseqüentemente, o *shelf life* do produto (permite que sua ação nutricional ou tecnológica não seja significativamente diminuída) ou facilitar o processo de produção e formas de utilização (converter materiais líquidos em pós) (GIBBS, et al., 1999; ARSHADY; BOH, 2003; MADENE et al., 2006; KUANG, OLIVEIRA, CREAN, 2010).

Os principais ingredientes alimentícios microencapsulados são os óleos essenciais, oleoresinas, adoçantes, lipídios, enzimas ou microorganismos, agentes de fermentação, antioxidantes, conservantes, corantes, ingredientes com sabores e odores indesejáveis, extratos vegetais, aminoácidos, vitaminas, probióticos e minerais (GIBBS et al., 1999; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Estão disponíveis várias técnicas para a encapsulação. Os métodos são divididos em três tipos: Químicos, Físico-Químicos ou Físico-Mecânicos, que estão apresentados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2. Diferentes técnicas utilizadas para encapsular/carrear compostos alimentícios.

Químicos	Físico-Químicos	Físico-Mecânicos
Polimerização <i>in-situ</i> Emulsão, suspensão e dispersão	Coacervação e separação de fases	<i>Spray Drying</i> e <i>Spray Chilling/Cooling</i>
Policondensação interfacial	Layer-by-layer	Leito fluidizado
	Encapsulação polimérica pela expansão rápida de fluídos supercríticos	Coextrusão
		Evaporação de solvente Liofilização Co-cristalização

(Fonte: Ghosh, 2006)

A seguir estão citados alguns exemplos de ingredientes alimentícios microencapsulados e qual a consequência da microencapsulação para o ingrediente:

Comunian et al. (2013) microencapsularam ácido ascórbico por coacervação e observaram baixa higroscopicidade e maior estabilidade do composto em temperatura ambiente em comparação ao ácido ascórbico em solução, além de mascarar o sabor ácido característico do composto e favorecer o manuseio e armazenamento.

A utilização do processo de *spray chilling* utilizando o carreador lipídico derivado da palma juntamente com o prebiótico polidextrose para a formação de micropartículas lipídicas carregadas com probiótico (*Lactobacillus acidophilus*) revelou ser um processo interessante para a proteção, liberação e estabilidade do ativo (OKURO et al., 2013).

Oleoresina de açafrão é utilizada como um corante natural para alimentos, porém em contato com a luz e altas temperaturas o composto ativo chamado curcumina pode ser degradado. A microencapsulação por *spray drying* mostrou-se eficiente para a proteção desse composto ativo (DELFIYA et al., 2015).

Os materiais de parede ou carreadores podem ser selecionados a partir de uma ampla variedade de polímeros naturais ou sintéticos, dependendo do ativo e das características desejadas nas micropartículas finais (DESAI; PARK, 2005; DIAS; FERREIRA; BARREIRO, 2015). A Tabela 2.3 mostra os principais materiais utilizados nas técnicas de microencapsulação. As gomas normalmente são utilizadas como ingrediente de textura para estabilizar emulsões, melhorando assim as propriedades do material de revestimento. Os lipídios são geralmente utilizados para a encapsulação de ingredientes insolúveis em água, mas dependendo da aplicação das micropartículas também podem ser utilizados para outros tipos de ingredientes. A utilização de proteína como material de revestimento é considerada

eficaz para a microencapsulação de ingredientes alimentícios pela técnica de *spray drying*. Os polissacarídeos e gomas são os materiais de parede mais utilizados pela maioria dos métodos de encapsulação (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2005).

Tabela 2.3. Principais materiais de revestimento utilizados na formação de partículas

Categoria	Material de Parede
Polissacarídeos	Amidos, maltodextrinas, amidos modificados, ciclodextrinas, celulose
Gomas	Goma acácia, guar, alginato de sódio, carragenana, pectina
Lipídios	Ácidos graxos, cera de carnaúba, parafina, cera de abelha, mono e diacilgliceróis, óleos, gorduras
Proteínas	Caseína, gelatina, albumina, isolado e concentrado proteico de soro (WPI e WPC)
Polímeros	Polietileno glicol (PEG), polivinil acetato (PVA), quitosana

(Fonte: Shahidi; Han, 1993; Desai; Park, 2005; Sobel; Versic; Gaonkar, 2014)

2.1.3. *Spray Chilling*

Spray chilling é uma técnica de microencapsulação utilizada para carrear ativos como: minerais, vitaminas, enzimas, acidulantes e *flavors* com a finalidade de melhorar a estabilidade, retardar a liberação de compostos, mascarar sabores ou odores e/ou converter ingredientes líquidos em pós (PEGG; SHAHIDI, 2007). Em comparação com outras tecnologias, a técnica de *spray chilling* pode ser considerada como um rápido processo de obtenção de partículas, porque não há uso de solventes para a formação da partícula, além da possibilidade de produção contínua e de grandes quantidades de produto em uma única operação. É uma técnica de fácil ampliação de escala, além de não produzir resíduos. As partículas após o processo estão prontas para serem utilizadas, sem necessidade adicional de outra técnica. O produto resultante na forma de pó torna-se fácil para manusear, transportar, distribuir, dosar e armazenar (CORDEIRO; TEMTEM; WINTERS, 2013; FÁVARO-TRINDADE; OKURO; MATOS-JR, 2015).

As partículas formadas a partir desse método podem ser utilizadas no setor alimentício principalmente para produtos de panificação; misturas para sopas em pó; molhos emulsionados; alimentos que contenham altos níveis de gordura; utilização da partícula para liberação térmica controlada, onde o ativo é liberado com o aumento da temperatura. A técnica de *spray chilling* não é um processo novo, porém é menos explorada que a técnica de *spray drying*, principalmente na área de alimentos (OXLEY, 2012).

A microencapsulação pela técnica de *spray chilling* é baseada na atomização de misturas lipídicas na forma líquida, contendo o ativo de interesse. Quando o material é colocado em contato com o ar frio na câmara refrigerada do spray, que está abaixo do ponto de fusão da matriz lipídica (aproximadamente $<10\text{ }^{\circ}\text{C}$), as gotículas formadas por atomização se tornam rígidas e formam as micropartículas lipídicas sólidas. As micropartículas finas são transportadas pelo ar para um ciclone, no qual são recolhidas para o pote coletor (Figura 2.4). A principal vantagem da atomização por *spray chilling* quando comparada com *spray drying* é que as soluções são preparadas sem o uso de uma fase aquosa ou solventes orgânicos, o que torna uma tecnologia ambientalmente amigável (DESAY; PARK, 2005; CORDEIRO; TEMTEM; WINTERS, 2013; OKURO; MATOS-JR; FAVARO-TRINDADE, 2013).

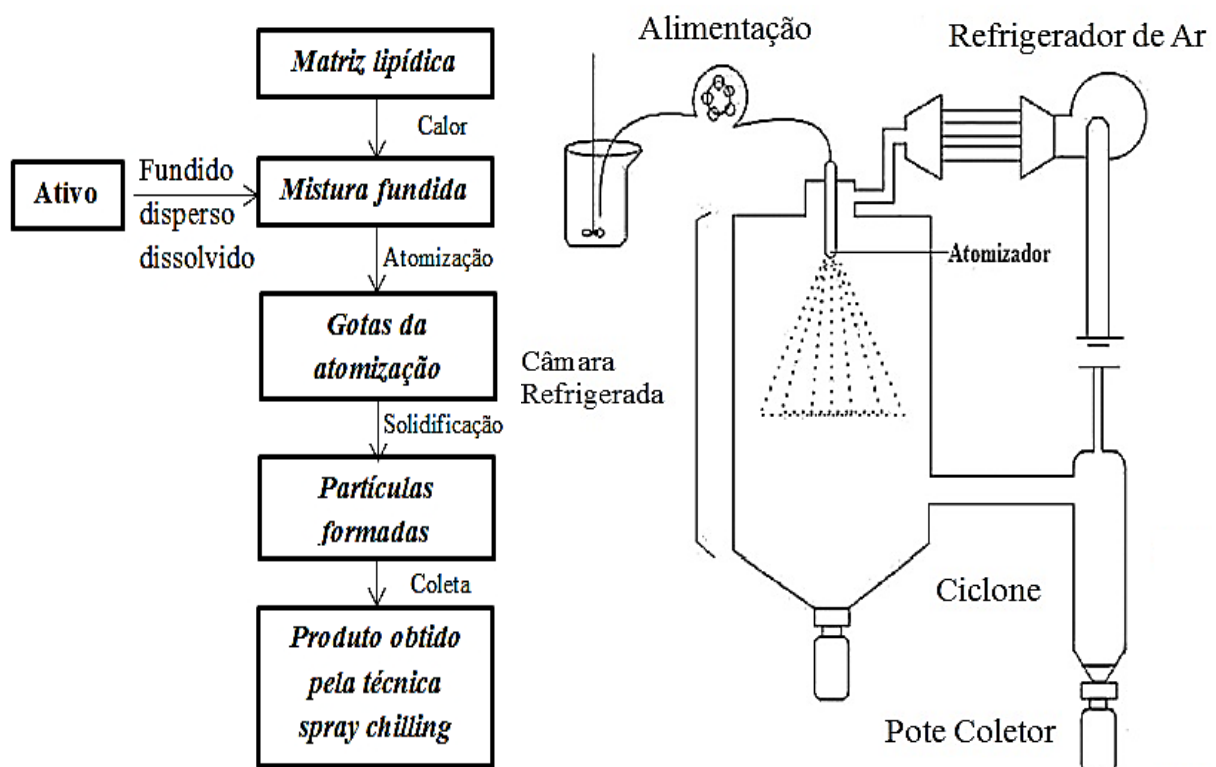


Figura 2.4. Diagrama esquemático para atomização pela técnica de *spray chilling* (Fonte: OKURO; MATOS-JR; FAVARO-TRINDADE, 2013; OH et al., 2014).

O ativo pode ser solúvel em lipídios, ou estar presente como cristais ou emulsões do tipo água/óleo. Os carreadores/materiais de parede podem ser gorduras vegetais, ácidos graxos, ceras ou suas misturas a fim de modular o ponto de fusão e as propriedades para retenção do ativo, sendo que para fins alimentícios esses lipídios devem ser de grau alimentícios (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

Essa técnica tem como característica produzir micropartículas do tipo ‘matriz’, que se apresentam na forma maciça e densa com o ativo disperso (OKURO; MATOS-JR;

FAVARO-TRINDADE, 2013). Esses tipos de partículas podem apresentar proporção significativa do ativo sobre a superfície ou fora das micropartículas lipídicas, sofrendo assimilação direta do ambiente externo (GOUIN, 2004; OKURO; MATOS-JR; FAVARO-TRINDADE, 2013).

Tulini et al. (2017) utilizaram a técnica do *spray chilling* para microencapsular extrato de canela contendo proantocianidina para enriquecimento de alimentos funcionais e nutraceuticos, além de promover uma alternativa para a liberação controlada do ativo no intestino.

Micropartículas obtidas por *spray chilling* como carreadores de ácido ascórbico foram utilizadas para a aplicação em biscoitos. Os resultados obtidos mostraram que as partículas podem ser potenciais veículos para a proteção de substância sensível para aplicação em produtos de panificação (ALVIM et al., 2016).

2.1.3.1. Carreadores Lipídicos

Os carreadores lipídicos utilizados pela técnica de *spray chilling* para aplicação em alimentos são derivados de ácidos graxos, ceras, óleos e gorduras, devem ser de grau alimentício e reconhecido como substância segura para a utilização em alimentos (GRAS – Generally Recognized As Safe) (OKURO et al., 2013; FAVARO-TRINDADE; OKURO; MATOS-JR, 2015).

A seleção do carreador irá depender do material encapsulado, por exemplo, se o recheio for sensível a altas temperaturas o correto é selecionar lipídios que apresentem ponto de fusão que não interfira nas propriedades do material encapsulado, mas que sejam capazes de proteger contra o ambiente externo (OKURO; MATOS-JR; FAVARO-TRINDADE, 2013). Porém, a utilização de carreadores lipídicos com baixo ponto de fusão pode requerer armazenamento com temperatura controlada após a formação das partículas, para garantir a integridade até a aplicação. Lipídios com temperatura de fusão acima de 50 °C são desejáveis para a formação de micropartículas lipídicas e conseqüentemente sua aplicação (VASISHT, 2014). Alguns recentes estudos relacionados à utilização da técnica de *spray chilling* empregando diferentes lipídios, com o intuito de carrear ativos, podem ser observados na Tabela 2.4.

Tabela 2.4. Ativos e carreadores lipídicos utilizados pela técnica de *spray chilling* para formação de partículas lipídicas

Ativo	Carreadores	Autores
<i>Saccharomyces boulardii</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Óleo hidrogenado de palma	Arslan-Tontul; Erbas (2017)
Extrato de casca de canela	Óleo hidrogenado / interesterificado de semente de algodão, soja e palma	Tulini et al. (2017)
Vitamina D ₃	Gordura vegetal e cera de abelha	Paucar et al. (2016)
Ácido ascórbico	Ácido esteárico e gordura vegetal	Alvim et al. (2016)
Ácido gálico	Óleo de soja totalmente hidrogenado e óleo de soja	Consoli et al. (2016)
Ácido ascórbico	Ácido láurico e oleico	Sartori et al. (2015)
Fitosteróis	Ácido esteárico e gordura vegetal	Alvim et al. (2013)

As principais características desejadas para esses materiais serem usados nos processos de microencapsulação são (SHAHIDI; HAN, 1993; FAVARO-TRINDADE; OKURO; MATOS-JR, 2015):

Material de parede/carreador deve ser estável nas condições de operação do equipamento.

Viscosidade que facilite a atomização para não ocorrer o entupimento do bico atomizador.

Fornecer a máxima proteção para o ativo contra condições ambientais externas (calor, luz, umidade).

2.1.3.2. *Lipídios*

Lipídios são considerados compostos insolúveis em água, mas solúveis numa variedade de solventes orgânicos, por exemplo, éter, hexano, clorofórmio. Os lipídios

apresentam-se como diversos tipos de moléculas, tais como ácidos graxos livres, fosfolipídios, triacilgliceróis, esteróis, esfingolipídios, ceras, terpenos e outros (MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

Óleos e gorduras apresentam predominância de triacilgliceróis, que são oriundos da combinação de três moléculas de ácidos graxos com o glicerol. Essas moléculas formam tri-éster, resultando em estruturas químicas do tipo apolar. Outras bases lipídicas que podem ser encontrados em óleos e gorduras em menores proporções incluem lipídios polares tais como diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, fosfolipídios, glicolipídios e esteróis (MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

Misturas de diferentes composições lipídicas não têm ponto de fusão definido, pois cada estrutura química apresenta uma característica na fusão, por exemplo, gorduras que apresentam ponto de fusão duplo é devido a composição química ser variada, primeiro ocorre a fusão da estrutura química que tem menor ponto de fusão seguida da estrutura com maior ponto de fusão, esse tipo de comportamento é típico da gordura de palma. Os lipídios puros têm pontos de fusão nítidos e reprodutíveis. O ponto de fusão de ácidos graxos saturados aumenta com a ampliação do comprimento da cadeia de carbonos. Uma molécula de ácido graxo com uma dupla ligação e com a configuração do tipo *cis* fará com que o ácido graxo se organize em uma configuração curvada, o que dificulta a interação molecular com outras moléculas, diminuindo consideravelmente o ponto de fusão quando comparada ao isômero na configuração *trans*. A posição da dupla ligação também afeta o ponto de fusão, diminuindo à medida que a ligação dupla se move em direção ao centro da cadeia de carbonos. Este efeito é maior para ligações duplas na configuração *cis* do que na configuração *trans*. Os ácidos graxos *trans* têm pontos de fusão muito próximos dos saturados correspondentes (NICHOLS; SANDERSON, 2003; MCCLEMENTS; DECKER, 2010; RIBEIRO et al., 2015).

Os principais lipídios utilizados como carreadores (ácidos graxos livres, óleos, gorduras e ceras) e aplicados na técnica de *spray chilling* apresentam características físicas e químicas específicas, que irão influenciar nas propriedades da micropartícula formada. Normalmente o ponto de fusão dos lipídios tem grande influência na formação das partículas, além de influenciar na liberação do ativo. O material lipídico deve prover partículas dispersas e com boa estabilidade física após atomização e apresentar polimorfismo na forma mais estável para garantir que não ocorrerá expulsão do ativo durante a armazenagem (FAVARO-TRINDADE; OKURO; MATOS-JR, 2015).

Gamboa (2011) realizou testes com diferentes misturas de óleo de algodão interesterificado, óleo de palma totalmente hidrogenado e óleo de soja totalmente hidrogenado, sem a adição do ativo. Os autores selecionaram a mistura que apresentou ponto de fusão acima de 60°C para produção de micropartículas, pois foi a mistura que proporcionou partículas dispersas, além de boas características físicas quanto à textura, resultando em resistência mecânica de parede para as micropartículas.

A microencapsulação por *spray chilling* de fitosteróis com os carreadores ácido esteárico e gordura vegetal mostrou partículas mais dispersas, menos aglomeradas e com melhor rendimento de pó, sendo obtidas a partir de composições lipídicas com maior ponto de fusão (ALVIM et al., 2013).

2.1.3.2.1. Ácidos Graxos

Segundo a FAO (Food and Agriculture Organization), os ácidos graxos livres são produzidos a partir da reação por hidrólise de gorduras e óleos vegetais ou animais, que se encontram na base lipídica de triacilglicerol (FAO, 1994). A Figura 2.5 esquematiza a quebra da molécula de triacilglicerol e obtenção dos ácidos graxos livres a partir da hidrólise. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com uma cauda alifática. Comercialmente, são obtidos a partir de fontes vegetais e animais ricas em triacilgliceróis. Os ácidos graxos podem ser agrupados de acordo com características estruturais (SCRIMGEOUR; HARWOOD, 2007; TOUBLAN, 2014):

- ✓ Número de carbonos: (C4 a C24)
- ✓ Comprimento da cadeia: curto (C4 e C6), médio (C8 a C12), longo (C14 a C24)
- ✓ Ligações duplas: saturado, mono- ou poli-insaturado
- ✓ Configuração geométrica: *cis* ou *trans*.

A maioria dos ácidos graxos tem comprimentos de cadeia entre C4 e C24, sendo C18 o mais comum. São conhecidos mais de 500 ácidos graxos com diferentes comprimentos de cadeia, configurações e tipos de insaturação. No entanto, poucos ácidos graxos são encontrados na natureza, destes, ácidos graxos láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e linolênico (C18:3) constituem aproximadamente 80% em óleos e gorduras (NICHOLS; SANDERSON, 2003; SCRIMGEOUR; HARWOOD, 2007). Ácidos graxos de cadeia curta, particularmente ácido graxo butírico (C4:0), são encontrados principalmente na gordura do leite. Os ácidos graxos de cadeia média (C8:0, C10:0, C12:0) são encontrados em óleos de coco e de palmiste

(extraído da amêndoa da palma) que são commodities tropicais. Em ambos óleos há predominância do ácido láurico (C12:0) (45 a 55%), cujo ponto de fusão é 43°C (SCRIMGEOUR; HARWOOD, 2007).

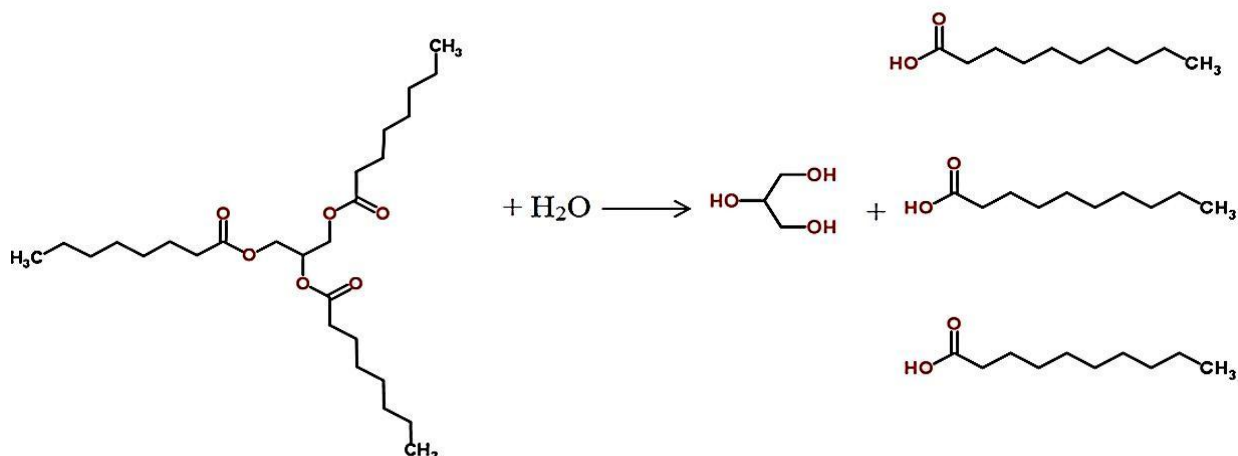


Figura 2.5. Esquema da obtenção de ácidos graxos livres a partir da hidrólise (Moléculas obtidas pelo site: <http://www.chemspider.com/>).

O ácido palmítico (C16:0) é o ácido graxo saturado natural mais abundante com ponto de fusão de 62,9 °C, presente em plantas, animais e microrganismos. Concentrações entre 20 a 30% são comuns em gorduras animais e 10 a 40% em óleos de sementes vegetais. O óleo de palma contém mais de 40% de ácido palmítico. Nutricionalmente, o consumo de alimentos ricos em ácido palmítico pode apresentar elevação do colesterol LDL (SCRIMGEOUR; HARWOOD, 2007; O'BRIEN, 2008).

O ácido esteárico (C18:0) está presente em concentrações abundantes na manteiga de cacau (~ 34%) e algumas gorduras animais, por exemplo, gordura de porco (5 a 24%) e sebo bovino (6 a 40%) e apresenta ponto de fusão de 69,6 °C. Nos óleos vegetais, alto nível de ácido graxo esteárico é resultado da hidrogenação de óleos ricos em insaturação no carbono 18. É um ácido graxo saturado que apresenta efeito neutro ou de redução dos níveis de colesterol em comparação com outros lipídios saturados, sendo que o possível mecanismo que o diferencia é a rápida conversão em ácido oleico (SCRIMGEOUR; HARWOOD, 2007; O'BRIEN, 2008).

Os ácidos graxos insaturados encontrados naturalmente em vegetais e animais estão quase que exclusivamente na forma *cis*, embora ácidos graxos *trans* sejam encontrados em gorduras de leite de ruminantes. As propriedades nutricionais indesejáveis dos ácidos graxos *trans* levaram a indústria alimentícia a procurar métodos alternativos de produzir gorduras, tais como a interesterificação e hidrogenação total (NICHOLS; SANDERSON, 2003; ZAMORA; HIDALGO, 2004).

O ácido oleico (C18:1) é encontrado na maioria dos lipídios vegetais e animais, é o principal ácido graxo do azeite (70 a 75%) e de vários óleos de amêndoas como macadâmia, pistache, noz-pecã e avelã, com mais de 70%. Os óleos com alto teor de ácido oleico normalmente têm aspectos benéficos para a saúde devido aos seus baixos níveis de ácidos graxos saturados e possível diminuição dos valores de triglicérides, colesterol LDL e colesterol total e uma alta estabilidade oxidativa (SCRIMGEOUR; HARWOOD, 2007; O'BRIEN, 2008).

O ácido esteárico, ácido palmítico e o ácido oleico podem ser utilizados em produtos alimentares devido à sua natureza não tóxica e são listados pelo FDA (2016) como “aditivos alimentares permitidos para adição direta em alimentos para consumo humano”. Isso garante a utilização desses lipídios para formação de partículas lipídicas para fins alimentícios.

2.1.3.2.2. Gordura de Palma

O fruto da palmeira *Elaeis guineensis* é fonte de dois tipos distintos de óleos vegetais. O óleo de palmiste é obtido a partir das sementes da palma e o óleo de palma/dendê é resultado da extração a partir do mesocarpo do fruto. O teor de monoacilglicerol no óleo de palma é muito baixo (< 0,5%), enquanto os diacilgliceróis variam entre 5% e 8%. Os óleos de palma com alta acidez mostram concentração elevada de diacilgliceróis. Na etapa de refinamento do óleo de palma os ácidos graxos livres são subprodutos do processo. Para ampliar a gama de sua utilização, o óleo de palma processado pode ser fracionado em oleína de palma, que é muito utilizada como óleo de cozinha, e na fração de estearina de palma, com uso para a produção de margarinas, biscoitos recheados, gordura vegetal (WING-KEONG; GIBON, 2010).

A estearina de palma corresponde a fração de elevado ponto de fusão do óleo de palma e consiste em ácido mirístico (~ 1%), ácido palmítico (~ 60%), ácido esteárico (~ 5%), ácido oleico (~ 25%) e ácido linoleico (~ 5%), com ponto de fusão variando entre 40-46°C, sendo um grande substituto da gordura *trans*. Em virtude de sua composição peculiar, naturalmente rica em ácidos graxos palmítico e oleico, apresenta consistência semissólida, permitindo flexibilidade para produzir uma grande variedade de produtos alimentícios. A composição em triacilgliceróis é heterogênea e está concentrada em POP (palmítico-oleico-palmítico) com 24 a 36% e POO (palmítico-oleico-oleico) com 23 a 30%. A gordura de palma quando cristalizada tende a se apresentar na forma β' (EDEM, 2002; WADA, 2007; WING-KEONG; GIBON, 2010).

2.1.3.3. Cristalização e Polimorfismo de Lipídios

O processo de preparação de micropartículas lipídicas inicia-se com a fusão do lipídio (carreador), formação das partículas (dependendo do processo pode ser por aspersão, atomização ou agitação), seguida de resfriamento para fixação da forma das micropartículas. A transição de líquido para sólido (cristalização) é exotérmica, pois com o agrupamento das moléculas ocorre a liberação de energia e as interações moleculares são mais intensas. A cristalização dos lipídios pode ser dividida em nucleação e crescimento de cristais (MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

O crescimento de cristais ocorre somente após a formação de núcleos estáveis no líquido, que começa com o super resfriamento da solução lipídica. O núcleo se inicia quando agrupamentos de moléculas colidem (*clusters*), tornando-se associadas umas às outras através das interações moleculares. O núcleo do cristal se torna estável a partir de certo tamanho, em escala nanométrica, e a etapa subsequente é o crescimento do cristal pela incorporação de moléculas na interface (ENSIKAT, et al., 2006; MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

A Figura 2.6 esquematiza o crescimento de cristais lipídicos.

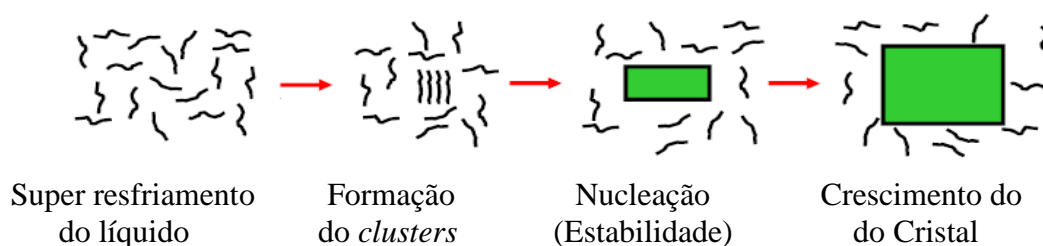


Figura 2.6. Esquemática da formação dos cristais de lipídios. (Fonte: SATO, 2013).

As propriedades da cristalização, tais como a taxa de cristalização, tamanhos dos cristais e morfologia são diretamente influenciados pela própria estrutura molecular e por vários fatores externos tais como: temperatura, pressão, solvente, impurezas, etc (SATO, 2001).

Polimorfismo é definido como a habilidade de um composto químico de se rearranjar em diferentes formas de estruturas cristalinas. Essas estruturas cristalinas são decorrentes do empacotamento de moléculas mantidas unidas por interação intermoleculares, em um padrão geométrico com espaçamentos definidos (ENSIKAT et al., 2006; SATO; UENO, 2011). O espaçamento interplanar entre os empacotamentos das moléculas pode ser obtido pela análise de difração de raios-X, para ângulos de difração $> 15^\circ$ denominado como *short-spacing*, sendo que o espaçamento pode indicar o tipo de estrutura cristalina formada. A

Figura 2.7 esquematiza o espaçamento interplanar em uma lamela, sendo que o conjunto de lamelas formam os cristais.

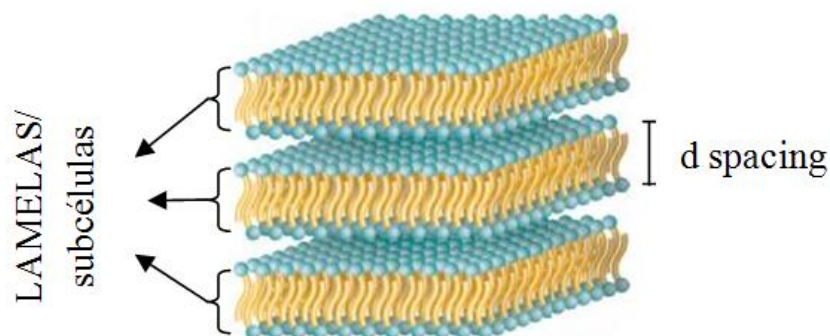


Figura 2.7. Esquema para representação do espaçamento interplanar, d spacing.

Para os triacilgliceróis as formas polimórficas e estruturas geométricas comumente encontradas são: a forma polimórfica α , com empacotamento de estrutura cristalina do tipo hexagonal, sendo que o espaçamento característico apresenta-se em $d=4,15 \text{ \AA}$, é a menos estável e com menor ponto de fusão, seguida pela forma polimórfica β' , sendo o empacotamento das cadeias classificadas como estruturas ortorrômbricas, que apresentam dois intervalos de espaçamento entre as moléculas: $4,2$ e $3,8 \text{ \AA}$. A forma β (estrutura tricíclica) é a mais estável e com maior ponto de fusão, apresenta três espaçamentos típicos entre moléculas: $d = 3,7; 3,8$ e $4,6 \text{ \AA}$, sendo o último espaçamento que define a forma polimórfica β . A estabilidade termodinâmica e o ponto de fusão das três formas diminuem na ordem: $\beta > \beta' > \alpha$ (MCCLEMENTS; DECKER, 2010; TIMMS, 1985). Na Figura 2.8 é possível observar os diferentes tipos de cristais típicos de lipídios do tipo triacilgliceróis.

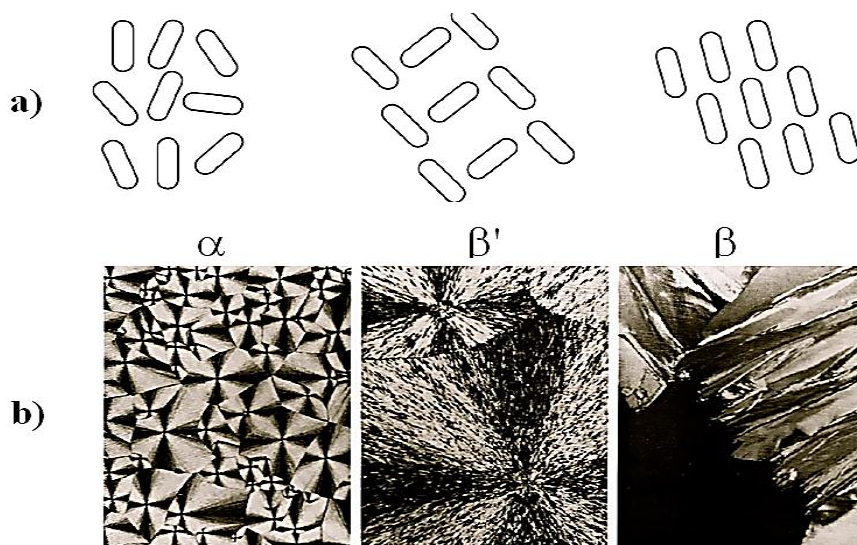


Figura 2.8. a) Tipos comuns de organização molecular das formas cristalinhas do tipo α , β' e β . b) Fotomicrografia de cristais de gordura em luz polarizada do tipo α , β' e β . (Fonte: STAUFFER, 1996)

O polimorfismo de ácidos carboxílicos é diferente dos apresentados pelos triacilgliceróis. O polimorfismo dos ácidos graxos tem sido discutido desde os anos cinquenta, mas é ainda uma questão de confusão devido ao elevado número de formas cristalinas que existe e também a semelhança das suas estruturas que os torna complexo para o estudo do comportamento polimórfico. A classificação polimórfica dos ácidos graxos com número de carbonos pares é dividida em: A; B; C e E; já os ácidos graxos com número de carbonos ímpares recebem a denominação de A'; B'; C' e E'. Essa nomenclatura para os diferentes polimorfismos dos ácidos graxos está relacionada com os diferentes ângulos de inclinação das moléculas, sendo determinado pela técnica de difração de raios-X ou por infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) (HERNQVIST, 1988; MORENO et al., 2007; SALA et al., 2010). Na Figura 2.9 são apresentados os diferentes tipos de arranjo moleculares dos ácidos graxos.

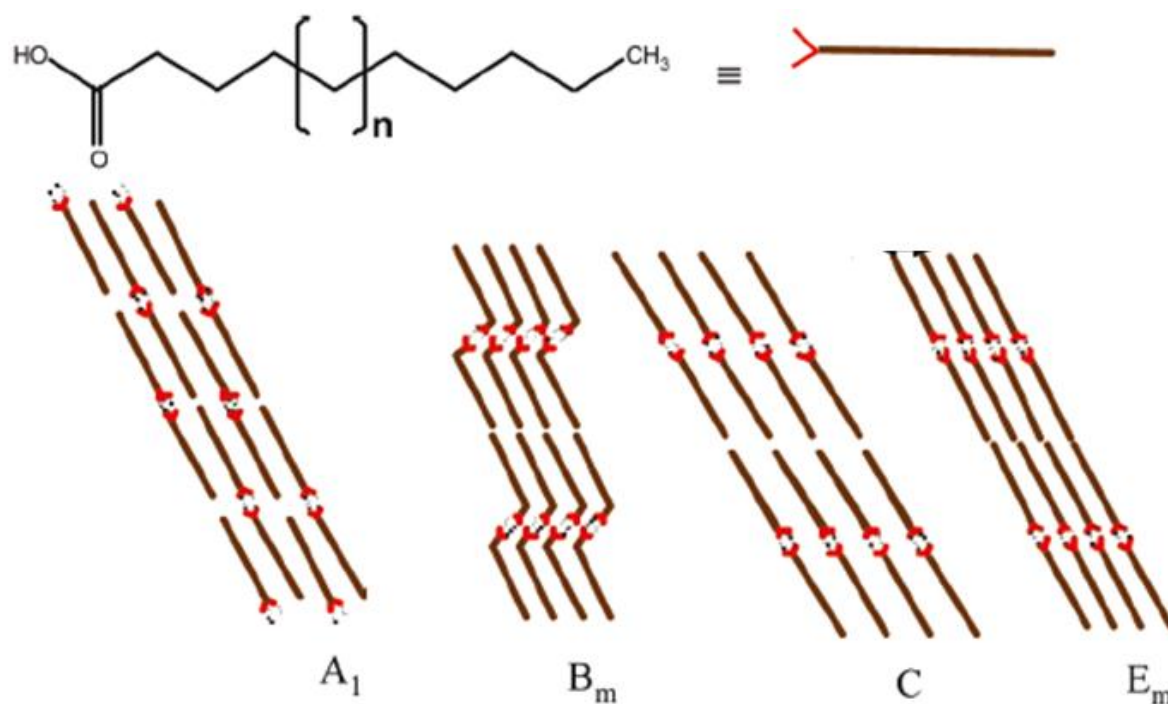


Figura 2.9. Esquema dos arranjos moleculares apresentando diferentes estados polimórficos para ácidos graxos, A; B; C e E (Adaptado de: SALA et al., 2010)

Somente a forma polimórfica C, para ácidos graxos, é obtida da fusão seguida da cristalização. Os outros estados polimórficos são encontrados quando se utiliza solventes como clorofórmio, hexano e outros. A forma polimórfica C apresenta as cadeias dos hidrocarbonetos empacotadas com espaçamento típico de estruturas ortorrômicas, forma polimórfica caracterizada como um cristal estável (ZAMORA; HIDALGO, 2004).

A forma polimórfica pode assegurar a estabilidade do ativo na matriz. Em lipídios com estruturas similares, podem ocorrer a expulsão de ativos durante a reorganização dos cristais para uma forma polimórfica mais estável, devido ao empacotamento mais organizado, Figura 2.10a (MÜELLER; RADTKE; WISSING, 2002). A criação de uma matriz lipídica sólida menos ordenada pode favorecer a permanência do ativo na matriz lipídica. Assim, a utilização de lipídios com moléculas diversas apresentam partículas com estrutura lipídicas com imperfeições, que se acomodam de maneira distintas, favorecendo a permanência do ativo dentro da partícula, ou dependendo da conformação das moléculas de lipídios o ativo pode se incorporar entre as cadeias, a Figura 2.10b apresenta esses tipos de partículas (MUELLER; RADTKE; WISSING, 2002).

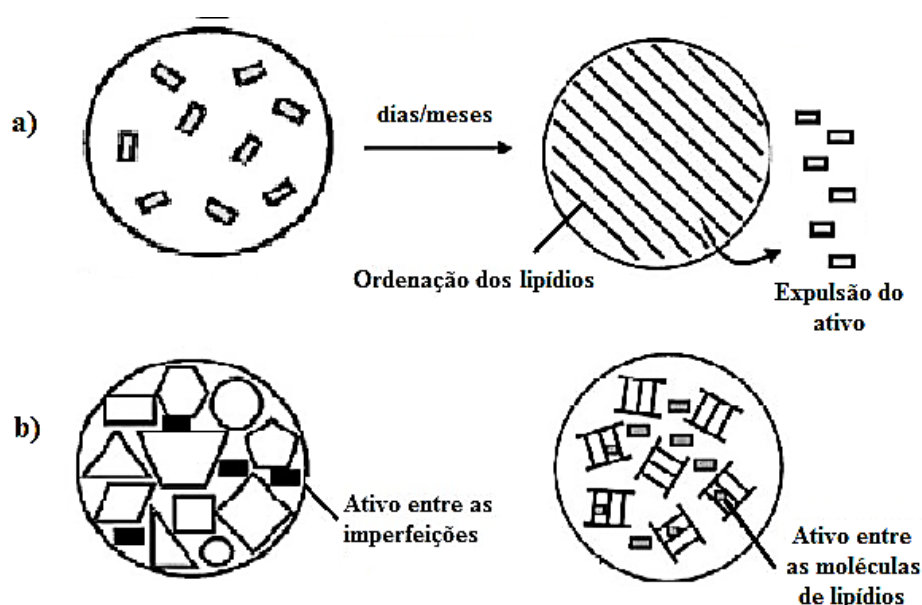


Figura 2.10. a) Expulsão do ativo durante a armazenagem da partícula. b) Estrutura com imperfeições – molécula espacialmente muito diferente; ativo entre as cadeias da molécula lipídica (Fonte: MUELLER; RADTKE; WISSING, 2002).

2.1.4. Caracterização de Micropartículas Lipídicas obtidas por *Spray Chilling*

Para a caracterização de micropartículas lipídicas produzidas por *spray chilling* algumas técnicas de análises podem ser utilizadas para obtenção de informações relevantes em relação a partícula e o ativo e possíveis interações entre eles, podendo impactar no perfil de liberação. Devido à utilização de lipídios e o processo de obtenção das partículas ser decorrente de um rápido resfriamento, alterações físicas podem ocorrer, assim técnicas como

difração de raios-X, calorimetria diferencial de varredura, avaliação da retenção do ativo e a morfologia podem apresentar características específicas das partículas. Essas análises, além da caracterização das partículas, também podem indicar qual o melhor destino para aplicação (FAVARO-TRINDADE; OKURO; MATOS-JR, 2015).

2.1.4.1. *Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)*

As alterações estruturais dos materiais lipídicos podem ser acompanhadas por trocas de calor, por exemplo, captação de calor durante a fusão ou emissão de calor durante a cristalização. A técnica de DSC é projetada para medir essas trocas de calor através de programas de temperatura controlada, permitindo conclusões sobre as propriedades físicas de uma amostra. As curvas resultantes - que mostram as transições de fase na faixa de temperatura monitorada, como cristalização, fusão ou transições polimórficas - podem ser avaliadas em relação às temperaturas de transição de fase e entalpia de transição. O DSC também é utilizado para monitorizar alterações físicas: por exemplo, aquelas causadas por polimorfismo ou aumento da cristalinidade durante o armazenamento. O DSC é uma técnica que não revela diretamente a causa de um evento térmico. A natureza exata das transições térmicas pode ser determinada com métodos complementares tais como observações microscópicas e difração de raios-X (BUNJES, 2005; BUNJES; UNHUL, 2007).

2.1.4.2. *Difração de Raios-X*

A interação de um feixe de raios-X monocromático com as redes de cristais em partículas lipídicas origina um conjunto de reflexões que podem ser detectadas. A Figura 2.11 apresenta uma imagem do equipamento de raios-X. O difratograma resultante, que mostra a intensidade das reflexões, é específico para a estrutura cristalina e pode ser utilizado para identificar substâncias ou as suas diferentes formas cristalinas. Na caracterização de partículas lipídicas sólidas, os principais pontos de interesse são geralmente a confirmação do estado sólido cristalino das partículas e a identificação da forma polimórfica da matriz lipídica. Os difratogramas de raios-X da matriz lipídica normalmente apresentam poucas reflexões, que são característicos do empacotamento das cadeias lipídicas. Para esta análise, considerando que as partículas lipídicas serão armazenadas durante um período em condições controladas, os difratogramas poderão indicar alguma alteração na cristalização ao longo do

armazenamento. Esta alteração pode levar à expulsão do ativo (BUNJES, 2005; FAVARO-TRINDADE; OKURO, MATOS-JR, 2015).

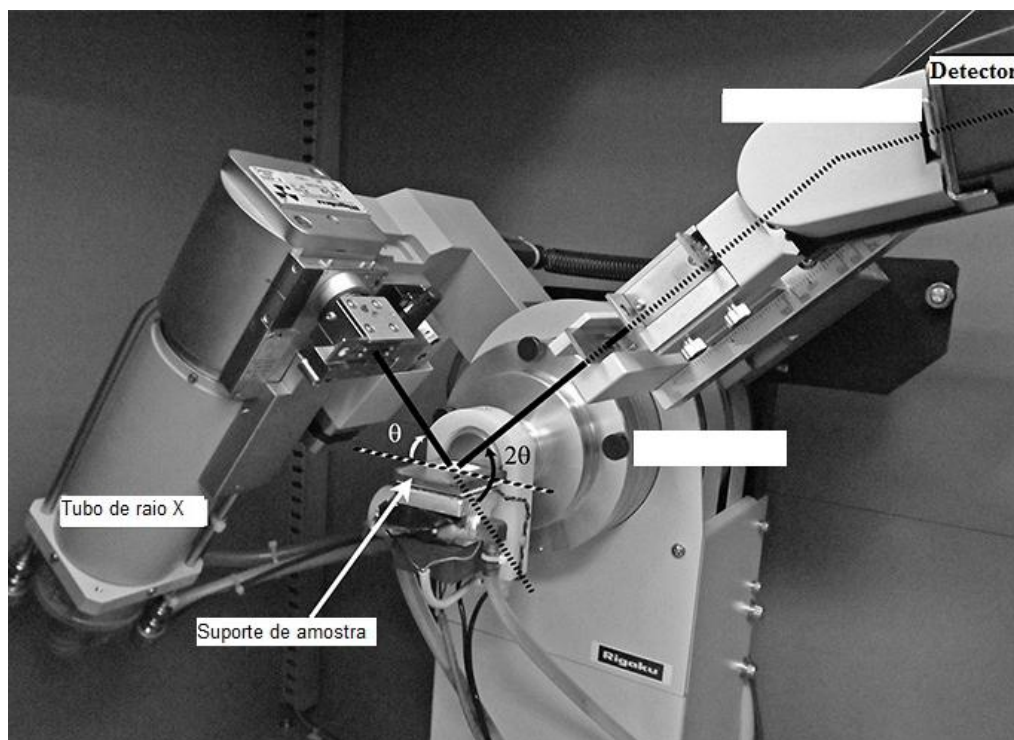


Figura 2.11. Imagem de um difrattômetro em raios-X de pó. Disponível em: <http://lipidlibrary.aocs.org/Biochemistry>

2.1.4.3. *Microscopia*

A microscopia tem sido utilizada para fornecer informações importantes em relação a tamanho, morfologia de superfície, espessura da parede da micropartícula.

2.1.4.3.1. **Microscopia Confocal de Varredura a Laser**

Essa técnica pode ser usada para produzir imagens de uma amostra fluorescente, sendo possível delimitar a região no qual o ativo está presente na partícula, além de verificar a morfologia da partícula com a fluorescência do ativo ou material carreador. A amostra fluorescente é iluminada por uma fonte de laser pontual com comprimentos de ondas específicos. As imagens de um objeto podem ser obtidas ponto por ponto e a sua estrutura tridimensional pode ser reconstruída através de software (ZHANG; LAW; LIAN, 2010).

2.1.4.3.2. **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Apresenta característica de simplicidade na preparação da amostra e facilidade de operação. Para a análise, as micropartículas são secas e a sua superfície tem de ser revestida com uma camada condutora, sendo pulverizada com ouro, ocorrendo a varredura ponto por

ponto através de feixe de elétrons, assim a superfície da partícula emite irradiação, obtendo imagens tridimensionais das estruturas da superfície. Tem uma grande vantagem devido à sua capacidade de analisar amostras com tamanhos variando de nano a centímetro, sendo utilizada para caracterização da superfície de micropartículas lipídicas. No entanto, o MEV não distingue as cores como a microscopia ótica (BUNJES, 2005; ZHANG; LAW; LIAN, 2010).

2.1.4.4. Liberação do Ativo

A liberação do ativo a partir de partículas em geral é um desafio, sendo que para alimentos a liberação retardada de aromas e *flavors* durante o processamento é útil para minimizar as perdas dos compostos. As micropartículas lipídicas obtidas por *spray chilling* são insolúveis em alimentos à base de água, mas escolhendo uma matriz lipídica com o ponto de fusão adequado, é possível controlar a liberação para aplicação de *flavors* encapsulados por *spray chilling* em produtos de padaria, misturas de sopas secas e alimentos que contêm gorduras (GOUIN, 2004).

O perfil de liberação pode ser influenciado pelas modificações nas matrizes lipídicas e o meio no qual a partícula será aplicada, assim os mecanismos de liberação em alimentos podem ser por difusão, dissolução ou erosão, fragmentação e intumescimento (Figura 2.12), sendo que algumas condições podem influenciar a liberação do ativo para o meio, tais como temperatura, agitação, pH, solvente (POTHAKAMURY; BARBOSA-CÁNOVAS, 1995; MCCLEMENTS, 2014a).

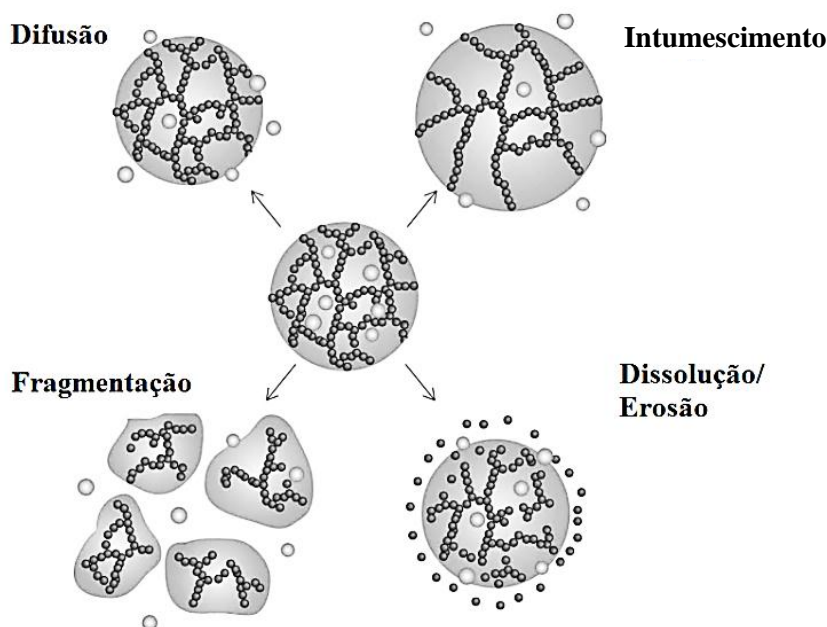


Figura 2.12. Alguns mecanismos comuns responsáveis pela liberação dos ativos: difusão, intumescimento, fragmentação e dissolução/erosão (Fonte: MCCLEMENTS, 2014a).

Um ingrediente ativo pode ser liberado de uma partícula através da difusão molecular. A difusão é o transporte espontâneo do ativo de uma região de maior concentração para regiões de menor concentração, mantendo a partícula intacta. Em geral, a difusão pode ser influenciada pela temperatura, pressão, tamanho do soluto e viscosidade. E a velocidade de difusão é dependente da massa molecular do ativo (SIEPMANN; SIEPMANN, 2008; MCCLEMENTS, 2014b).

Segundo Wissing, Kayser e Mueller (2004) os perfis de liberação considerando o mecanismo de difusão apresentam três possíveis situações:

- ✓ Para o ativo no interior da matriz, a liberação pode ser muito lenta;
- ✓ Para o ativo por toda a extensão da matriz, a liberação é lenta e progressiva;
- ✓ Para o ativo na superfície externa da matriz, a liberação é rápida, efeito tipo *burst*, ou mesmo para pequena distância entre o ativo e a matriz de interesse, a liberação pode ser rápida;

A Figura 2.13 esquematiza os possíveis modelos estruturais de partículas contendo o ativo, esse esquema foi proposto por Mühlen, Schwarz e Mehnert (1998) e adaptado por Wissing, Kayser e Mueller (2004).



Figura 2.13. Esquema dos possíveis modelos estruturais das partículas contendo o ativo. (Fonte: WISSING; KAYSER; MUELLER (2004) adaptado de MÜHLEN; SCHWARZ; MEHNERT (1998)).

No mecanismo de fragmentação, o ativo é liberado para o meio devido à ruptura física da partícula, que é fragmentada ou fraturada, devido à aplicação de forças de cisalhamento ou de compressão. O ativo ainda difundirá para fora das partículas, mas a taxa de liberação será rápida devido à área de superfície aumentada e ao caminho de difusão diminuído. Para o mecanismo de intumescimento, a liberação do ativo pode ser induzida pela absorção de solvente pelas partículas através de poros presentes na superfície, uma vez que a partícula absorve moléculas de solvente, o ativo pode então difundir mais facilmente para fora.

Outro mecanismo de liberação é a dissolução, que pode ser definida como uma mistura de duas fases com a formação de uma nova fase homogênea. Um ativo pode estar contido na partícula e inserido em um meio, porém o ativo somente é liberado em uma condição específica (pH, temperatura, solução, agitação) na qual a partícula se dissolve ou é fundida e libera o ativo para o meio, resultando em uma solução com o ativo disperso ou dissolvido. A liberação por dissolução simples pode ser obtida através da utilização de uma matriz solúvel. No caso de uma partícula sólida, que se dissolve num fluido, uma das fases é a partícula, e a outra fase é um líquido. A Figura 2.14 ilustra o processo de dissolução de partículas (SIEPMANN; SIEPMANN, 2013; MCCLEMENTS, 2014b; OXLEY, 2012).

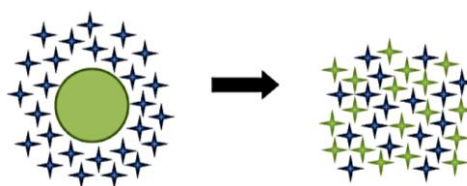


Figura 2.14. Ilustração do processo de dissolução da partícula. (FONTE: SIEPMANN; SIEPMANN, 2013 adaptado).

Os mecanismos de liberação estão associados a alguns fatores que influenciam a liberação do ativo nas partículas obtidas por *spray chilling*, como liberação mecânica, biodegradação e térmica. A liberação mecânica é obtida através da utilização de matriz lipídica mais macia em combinação com o ativo. Na biodegradação, lipídios são quebrados por lipases durante a digestão. A liberação térmica é o inverso do processo de *spray chilling*, onde o material é fundido para a liberação do ativo (OXLEY, 2012; FAVARO-TRINDADE; OKURO; MATOS-JR, 2015).

Referências Bibliográficas

ALI, B.H.; BLUNDEN, G.; TANIRA, M.O.; NEMMAR, A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p.409–420, 2008.

ALVIM, I. D.; SOUZA, F.S.; KOURY1, I. P.; JURT, T.; DANTAS, F.B.H. Use of the *spray chilling* method to deliver hydrophobic components: physical characterization of microparticles. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2013.

ALVIM, I.D.; STEIN, M.A.; KOURY, I.P.; DANTAS, F.B.H.; CRUZ, C.L.d.C.V. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application, **LWT – Food Science and Technology**, v. 65, p.689-694, 2016.

ARSHADY, R.; BOH, B. Microcapsule Patents and products: The art and science of microcapsules, patents and patent databases. In: ARSHADY, R.; BOH, B. (Editores). **Microcapsule patents and products**. Citus Books, 2003. Capítulo 1, p. 1- 46.

ARSLAN-TONTUL, S.; ERBAS, M. Single and double layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 160-169, 2017.

BALAKRISHNAN, K. V. Postharvest and Industrial Processing of Ginger. IN: Babu, K. N., Ravindran, P.N. (Editores). **Ginger The Genus Zingiber**. Capítulo 11, p.1-43, 2005.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; ORTEGA-RIVAS, E.; JULIANO, P.;YAN, H. Encapsulation Process. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; ORTEGA-RIVAS, E.; JULIANO, P.,YAN, H. (Editores). **Food Powders: Physical Properties, Processing, and Functionality**. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. Capítulo 8, p. 199-220.

BAVU, S. India's spice oleoresin industry: way forward initiatives. **IFEAT - International Conference in Singapore**, 4 - 8 November 2012 'Essential Asia', 2012, p.39-49.

BUNJES, H. Characterization of Solid Lipid Nano and Microparticles. In: NASTRUZZI, C. (Editor). **Lipospheres in Drug Targets and Delivery**. CRC Press LLC, 2005. Capítulo, 3, p. 41-66.

BUNJES, H.; UNRUH, T. Characterization of lipid nanoparticles by differential scanning calorimetry, X-ray and neutron scattering. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 6, p. 379-402, 2007.

COMUNIAN, T.A., THOMAZINI, M., ALVES, A.J.G., DE MATOS JUNIOR, F.E., DE CARVALHO BALIEIRO, J.C., FAVARO-TRINDADE, C.S. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. **Food Research International**, v.52, n.1, p. 373-379, 2013.

CONSOLI, L.; GRIMALDI, R.; SARTORI, T.; MENEGALLI, F. C.; & HUBINGER, M. D. Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: production and characterization. **LWT – Food Science and Technology**, v. 65, p. 79-87, 2016.

CORDEIRO, P.; TEMTEM, M.; WINTERS, C. Spray congealing: Applications in the Pharmaceutical Industry. **Chimica Oggi-Chemistry Today**, v. 31, n.5, p. 69–73, 2015.

DATTA, S.; GUHA, S.; SHARANGI, A.B. Value addition in spice crops. In: SHARANGI, A. B.; DATTA, S. (Editores). **Value Addition of Horticultural Crops: Recent Trends and Future Directions**, Springer, p. 59-82, 2015.

DELFIYA, D. S. A.; THANGAVEL, K.; NATARAJAN, N.; KASTHURI. R.; KAILAPPAN, R. Microencapsulation of turmeric oleoresin by spray drying in vitro release studies of microcapsules. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, p.37-48, 2015.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients, **Drying Technology**, v.23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DIAS, M. I.; FERREIRA, I.C. F. R.; BARREIRO, M. F. Microencapsulation of bioactives for food applications. **Food and Function**, v. 6, p. 1035-1052, 2015.

DUBEY, R., SHAMI, T.C., RAO, K. U. B. Microencapsulation Technology and Applications. **Defence Science Journal**, v. 59, n.1, p. 82-95, 2009.

EDEM, D. O. Palm oil: Biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects: A review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.57, n.3-4, p. 319-341, 2002.

ENSIKAT, H. J.; BOESE, M.; MADER, W.; BARTHLOTT, W., KOCH, K. Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 144, n.1, p. 45-59, 2006.

FAO - Food and Agriculture Organization. **Definition and classification of commodities**. 1994. Disponível em: <<http://www.fao.org/es/faodef/fdef14e.html>> Acesso em: 09 jun. 2015.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; OKURO, P. K.; MATOS JR, F.E. Encapsulation via spray chilling/cooling/congealing. In: Mishra, M. (Editor). **Handbook of encapsulation and controlled release**. CCR Press, 2015, Capítulo 5, p. 71-87.

FDA – Food and Drug Administration. **Subchapter B--Food For Human Consumption**. 2016. Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1090>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GAMBOA, O. W. D. **Microencapsulação de tocoferóis em matrizes lipídicas advindas de gorduras *low trans* interesterificadas quimicamente**. 2011. 188p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

GHARSALLAOUI, A., ROUDAUT, G., CHAMBIN, O., VOILLEY, A., SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GHOSH, S.K. Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective. In: GHOSH, S.K. (Editor). **Functional Coatings**. WILEY-VCH, 2006. Capítulo 1, p. 1-28.

GIBBS, B. F., KERMASHA, S., ALLI, I., MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, n.1, p. 213-224, 1999.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 7-8, p. 330–347, 2004.

HERNQVIST, L. Crystal structures of fats and fatty acids. In: GARTI, N.; SATO, K. (Editores). **Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids**. Marcel Dekker, Inc, 1988. Capítulo 3, p. 97-138.

HUANG, T.-C.; CHUNG, C.-C.; WANG, H.-Y.; LAW, C.-L.; CHEN, H.-H. Formation of 6-shogaol of ginger oil under different drying conditions. **Drying Technology**, v. 29, n.16, p. 1884-1889, 2011.

KRISHNAKUMAR, P. K.; BUREAU, E. T. India dominates global market for spice oleoresin as demand for natural agents swells. Disponível em: <<http://articles.economictimes.indiatimes.com/>> Acesso em: 29 out. 2013.

KUANG, S. S.; OLIVEIRA, J.C.; CREAN, A.M. Microencapsulation as a Tool for Incorporating Bioactive Ingredients into Food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 10, p. 951-968, 2010.

KUBRA, I. R.; RAO, L. J. M. An impression on current developments in the technology, chemistry, and biological activities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.52, n.8, p. 651-688, 2012.

LEONEL, A.; CHAMBI, N.; BARRERA-ARELLANO, D.; PASTORE, H.; GROSSO, C. Production and characterization of lipid microparticles produced by spray cooling encapsulating a low molar mass hydrophilic compound. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.1, p. 1-6, 2010.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, n. 1, p. 1-21, 2006.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipídios. In: DAMODARAN, S., PARKIN, K. L., FENNEMA, O. R. (Editores). **Química de Alimentos de Fennema**. ARTMED, 4ªed: 2010, Capítulo 4, p. 131-178.

MCCLEMENTS, D. J. Key Physicochemical Concepts. In: MCCLEMENTS, D. J. (Editor). **Nanoparticle- and Microparticle-based Delivery Systems: Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds**. CRC Press. 2014b, Capítulo 10, p.453-522.

MCCLEMENTS, D. J. Background and Context. In: MCCLEMENTS, D. J. (Editor). **Nanoparticle- and Microparticle-based Delivery Systems: Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds**. CRC Press. 2014, Capítulo 1, p. 1-36.

MORENO, E.; CORDOBILLA, R.; CALVET, T.; (...); MONDIEIG, D.; OONK, H. A. J. Polymorphism of even saturated carboxylic acids from n-decanoic to n-eicosanoic acid. **New Journal of Chemistry**, v.31, n. 6, p. 947-957, 2007.

MÜELLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S.A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 1, p. 131-155, 2002.

MÜHLEN, A.; SCHWARZ, C.; MEHNERT, W. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - Drug release and release mechanism. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 45, n.2, p. 149-155, 1998.

NAZZARO, F.; ORLANDO, P.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 182-186, 2012.

NICHOLS, D.S.; SANDERSON, K. Chemical and functional properties of food lipids. In: SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A. (Editores). **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**, CRC Press, New York, 2003, p.1-31.

O'BRIEN, R.D. Fats and Oils Formulation. In: __ (Editores). **Fats and Oils - Formulating and Processing for Applications**. CRC PressTaylor, 3ª ed. 2008. Capítulo 4, p. 263-345.

OH, C.M.; GUO, Q.; HENG, P.W.S.; CHAN, L. W. Spray-congealed microparticles for drug delivery – an overview of factors influencing their production and characteristics. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v.11, n.7, p.1047-1060, 2014.

OKURO, P. K.; MATOS-JR, F.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. **Food Technology and Biotechnology**, v. 51, n.2, p. 171-182, 2013.

OKURO, P. K.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; LIBERAL, R. D. C. O.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. **Food Research International**, v. 53, n.1, 96-103, 2013.

OXLEY, J. D. Spray cooling and spray chilling for food ingredient and nutraceutical encapsulation. In: GARTI, N.; MCCLEMENTS, J. (Editores). **Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals**. WP, Woodhead Publishing, 2012, Capítulo 5, 110-130.

PANDA, H. Value added spice products. In: PANDA, H. (Editor). **Handbook on Spices and Condiments (Cultivation, Processing and Extraction)**. Asia Pacific Business Press Inc. 2010, Capítulo 2, p. 12-18.

PAUCAR, O.C.; TULINI, F.L.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J.C.C.; PALLONE, E.M.J.A.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Production by spray chilling and characterization of solid lipid microparticles loaded with vitamin D₃. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 344-350, 2016.

PEGG, R.B.; SHAHIDI, F. Encapsulation, Stabilization, and Controlled Release of Food Ingredients and Bioactives. IN: Rahman, M.S. (Editor). **Handbook of Food Preservation**. CRC Press, 2007. Capítulo 22, p.509 – 568.

POTHAKAMURY, U.R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Fundamental aspects of controlled release in foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, n.12, p. 397-406, 1995.

PREMAVALLI, K. S. Ginger as a Spice and Flavorant. In: BABU, K. N.; RAVINDRAN, P.N. (Editores). **Ginger The Genus Zingiber**. Capítulo 15, p.1-17, 2004.

RAYBAUDI-MASSILIA, R.M.; MOSQUEDA-MELGAR, J. Polysaccharides as Carriers and Protectors of Additives and Bioactive Compounds in Foods. In: KARUNARATNE, D. N. (Editor) **The Complex World of Polysaccharides**. InTech, 2012. Capítulo 16, p. 429-454.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, n.6, p. 1195-1236, 1998.

RIBEIRO, A.P.B.; MASUCHI, M.H.; MIYASAKI, E.K.; DOMINGUES, M. A. F.; STROPPA, V. L. Z.; OLIVEIRA, G. M.; KIECKBUSCH, T.G. Crystallization modifiers in lipid systems. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 7, p. 3925–3946, 2015.

SALA, S.; ELIZONDO, E.; MORENO, E.; (...); VENTOSA, N.; VECIANA, J. Kinetically driven crystallization of a pure polymorphic phase of stearic acid from CO₂-expanded solutions. **Crystal Growth and Design**, v. 10, n.3, p. 1226-1232, 2010.

SALEA, R., VERIANSYAH, B., TJANDRAWINATA, R.R. Optimization and scale-up process for supercritical fluids extraction of ginger oil from *Zingiber officinale* var. Amaram. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 120, p. 285-294, 2017.

SARTORI, T.; CONSOLI, L.; HUBINGER, M. D.; MENEGALLI, F. C. Ascorbic acid microencapsulation by spray chilling: Production and characterization. **LWT- Food Science and Technology**, v. 63, n.1, p. 353-360, 2015.

SATO, K. Crystallization behavior of fats and lipids: a review. **Chemical Engineering Science**. v.56, n.7, p.2255-2265, 2001.

SATO, K. **Teaching Lipid Crystallization - from Molecules to End Products** -. Palestra proferida em III Workshop Avanços tecnológicos na qualidade e estabilidade de chocolates e de outros sistemas lipídicos. Campinas-SP, em 03 e 04 de setembro de 2013.

SATO, K.; UENO, S. Crystallization, transformation and microstructures of polymorphic fats in colloidal dispersion states. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 16, p. 384-390, 2011.

SCRIMGEOUR, C. M.; HARWOOD, J. L. Fatty Acid and Lipid Structure. In: HARWOOD, J.L.; GUNSTONE, F.D.; DIJKSTRA, A. J. (Editores). **The Lipid Handbook**, 3th, CRC Press, p1 -36, 2007.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 33, n.6, p. 501-547, 1993.

SHAIKH, J.; BHOSALE, R.; SINGHAL, R. Microencapsulation of black pepper oleoresin. **Food Chemistry**, v. 94, n. 1, p. 105–110, 2006.

SHUKLA, Y.; SINGH, M. Cancer preventive properties of ginger: A brief review. **Food Chemistry Toxicology**, v.45,p.683–690, 2007.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN F. Mathematical modeling of drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v.364, p. 328–343, 2008.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN F. Mathematical modeling of drug dissolution. **International Journal of Pharmaceutics**, v.453, p.12-24, 2013.

STAUFFER, C.E. *Fats & Oils*. MN: Eagan Press. 1996. p. 149.

TIMMS, R.E. Physical properties of oils and mixtures of oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 62, n.2, p. 241-249, 1985.

TOUBLAN, F. J-J. *Fats and Waxes in Microencapsulation of Food Ingredients*. . In: GAONKAR, A.G.; VASISHT, N.; KHARE, A.; SOBEL, R. (Editores). **Microencapsulation in the Food Industry - A Practical Implementation Guide**. Academic Press of Elsevier. 2014. Capítulo 22, p.173-180.

TULINI, F.L.; SOUZA, V.B.; THOMAZINI, M.; SILVA, M. P.; MASSARIOLI, A. P.; ALENCAR, S. M.; PALLONE, E. M. J. A.; GENOVESE, M.I.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Evaluation of the release profile, stability and antioxidant activity of a proanthocyanidin-rich cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) extract co-encapsulated with α -tocopherol by spray chilling. **Food Research International**, v. 95, p. 117-124, 2017.

VASISHT, N. Selection of Materials for Microencapsulation. In: GAONKAR, A.G.; VASISHT, N.; KHARE, A.; SOBEL, R. (Editores). **Microencapsulation in the Food Industry - A Practical Implementation Guide**. Academic Press of Elsevier. 2014. Capítulo 2, p.173-180.

VERNIN, G.; PARKANYL, C. Chemistry of ginger. In: RAVINDRAN, P. N.; NIRMAL BABU, K. (Editores). **Ginger – The Genus Zingiber**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005, p. 87–180.

WADA, J. K.A. **Produção de gorduras alimentícias zero trans utilizando óleo de palma, estearina de palma e óleo de soja totalmente hidrogenado**. 2007. 181 p. Dissertação (mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

WEGMÜLLER, R.; ZIMMERMANN, M. B.; BÜHR, V. G.; WINDHAB, E. J.; HURRELL, R. F. Development, Stability, and Sensory Testing of Microcapsules Containing Iron, Iodine, and Vitamin A for Use in Food Fortification. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 2, p.181-187, 2006.

WING-KEONG, N.; GIBON, V. Palm oil and saturated fatty acid-rich vegetable oils. In: Turchini, G. M.; Wing-Keong, N.; Toche, D. R. (Editores). **Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds**. 2010, p. 99-132.

WISSING, S.A.; KAYSER, O.; MÜLLER, R.H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n.9, p. 1257-1272, 2004.

ZACHARIAH, T. J. Ginger. In: PARTHASARATHY, V. A.; CHEMPAKAM, B.; ZACHARIAH, T. J. (Editores). **Chemistry of Spices**. CAB International, 2008. Capítulo 5, p. 70-98.

ZAMORA, R; HIDALGO, F. J. Fatty acids. In: NOLLET, L. M. L. (Editores). **Handbook of food analysis**. Marcel Deck, 2004. Capítulo 9, p. 221-274.

ZHANG, Z.; LAW, D.; LIAN, G. Characterization Methods of Encapsulates. In: ZUIDAM, N.J.; NEDOVIC, V. (Editores). **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. Springer, New York, 2010. Capítulo 4, p. 101-125.

ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: ZUIDAM, N .J.; NEDOVIĆ, V. A. (Editores). **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. LLC:Ration. 2010. Capítulo 2, p. 3-29.

- CAPÍTULO III -

Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention

Vivian Boesso Oriani^a, Izabela Dutra Alvim^b, Larissa Consoli^a, Gustavo Molina^{c,d}, Glauca Maria Pastore^d, Míriam Dupas Hubinger^a

^aLaboratory of Process Engineering, Department of Food Engineering, School of Food Engineering, University of Campinas, CEP 13083-862, Campinas, SP, Brazil

^bCereal and Chocolate Technology Center – CEREAL CHOCOTEC, Food Technology Institute – ITAL, CEP 13070-178, Campinas, SP, Brazil

^cInstitute of Science and Technology, Food Engineering, UFVJM, Diamantina, Minas Gerais, Brazil

^dLaboratory of Bioflavors, Department of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, CEP 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil

Published in Food Research International, v. 80, 41-49, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.12.015>

ABSTRACT

Ginger oleoresin (GO) is frequently used as a flavor ingredient in various foods. Besides flavoring, its bioactive compounds are known for antimicrobial and antioxidant properties. In this study, we investigated the formation and characterization of solid lipid microparticles (SLM) loaded with GO by the spray chilling technique. Mixtures composed of palmitic acid with oleic acid or palm fat were used as carriers. DSC and X-ray diffraction showed that the particles crystalline structure were decreased by oleic acid. Retention of pungent and volatile compounds was higher than 96% and 75%, respectively, in the best samples. FTIR spectroscopy revealed no chemical interaction between GO and carriers. The particles presented a spherical shape and rough surface, and GO was dispersed over the entire particles, as shown by confocal microscopy. High volatile and pungent compounds retention have shown that spray chilling can be a very promising technique for the production of SLM loaded with GO.

Keywords: flavor ingredients; pungent compounds; gingerol; volatile retention; lipid microparticles; X-ray diffraction.

Highlights

- Lipids were used to produce ginger oleoresin microparticles by spray chilling.
- Particles showed high retention of pungent and volatile compounds.
- Ginger oleoresin was spread all over the microparticles.
- Higher concentrations of unsaturated lipid decreased microparticle crystallinity.

3.1. INTRODUCTION

Ginger oleoresin (GO) is obtained from dried ginger rhizome by solvent extraction. The final product is a dark golden brown viscous oil that contains gingerols and shogaols, which are the compounds responsible for the typical ginger pungency, and have significant contribution in pharmacological products. Drying and heating convert gingerols molecules into shogaols, which are more pungent than gingerols and, because of that, shogaols at concentrations higher than gingerols indicate low quality for ginger products. Gingerols and shogaols consist of a series of similar molecules, but the most abundant are (6)-gingerol and (6)-shogaol. The native ginger oleoresin does not contain volatile compounds. Thus, ginger essential oil is usually added to the non-volatile resinous fraction to make commercial ginger oleoresin have a flavor profile close to the respective fresh spice (Balakrishnan, 2004). The predominant volatile compounds added in GO are classified as sesquiterpene hydrocarbons. Commercial GO is more attractive to the industry than fresh ginger because it is microbiologically safe and can be standardized for acceptable flavor levels (Balakrishnan, 2004; Singh et al., 2008; Huang, Chung, Wang, Law, & Chen, 2011; Kubra & Rao, 2012; Murthy, Gautam, & Naik, 2015).

In the liquid form, commercial GO may present difficulties in handling during products formulation, due to its high viscosity and volatility. Also, some of its compounds may be degraded or volatilized if exposed to heat and light during processing or storage. Encapsulation techniques have been used to overcome these problems, employing food grade materials to coat and carry oleoresin (Reineccius, 1989; Vaidya, Bhosale, & Singhal, 2006; Wang, Yuan, & Yue, 2015). The use of powdered GO is convenient for the food industry for many reasons, such as maintaining stability and protecting the compounds against the external environment such as light, heat and humidity. Furthermore, powders can have improved handling and flow properties in relation to the liquid form (Ré, 1998; Jafari, Assadpoor, He, & Bhandari, 2008).

There are several ways to convert oleoresins into powder. One of them is the spray chilling technique that employs fatty acids, triacylglycerols, waxes or blends among these materials as carriers. The active material is first dispersed, emulsified or solubilized in the molten lipid matrix which is then fed into a heated nozzle and atomized into a chamber with temperature kept below the lipid melting point, where droplets solidify in contact with cooled air to form SLM. Spray chilling has many advantages when compared to spray drying or other encapsulation techniques, such as not needing solvent evaporation, increased

productivity, reducing cost and facilitating scale up (Desai & Park, 2005; Okuro, Matos, & Favaro-Trindade, 2013).

The use of lipids as encapsulating materials extend particle application possibilities, by exploring temperature or mechanical-triggered release (Madene, Jacquot, Scher, & Desobry, 2006).

Palm oil and its by-products are lipids of interest in the study of the formation of lipid particles. The palm fat is considered one of the cheapest vegetable oils to produce and refine (Gunstone, 2013). It is the only vegetable oil with almost 50–50 composition of saturated and unsaturated fatty acids, that present a semi-solid physical state (Mba, Dumont, & Ngadi, 2015). The refining of crude palm fat results in by-products such as palm fatty acid, comprising mainly free fatty acid with palmitic acid and oleic acid as the major components (Pyng, & Yousof, 2009). For production of solid lipid microparticles, blending high and low melting point lipids to act as carriers can result in a disorganized crystal structure that improves the active retention due to a modulation of lipid crystalline lattice (Jenning & Gohla, 2000; Müeller, Radtke, & Wissing, 2002; Hu, Jiang, Du, Yuan, Ye, & Zeng, 2005; Ribeiro, Arellano, & Grosso, 2012; Sartori, Consoli, Hubinger, & Menegalli, 2015).

In this context, our aim in this work was to enable the production and characterization of SLM loaded with a commercial GO by the spray chilling technique. A solid lipid (palmitic acid), responsible for ensuring the formation of solid particles at room temperature, and lipid modulators, with the function of modifying the crystal structure of the solid lipid matrix (liquid lipid (oleic acid) and semi-solid fat (palm fat)), were used as carrier agents. The microparticles were characterized in relation to volatile and pungent compounds retention, crystalline structure, surface morphology and distribution of GO over SLM by the confocal technique. The behavior of lipid microparticles loaded with GO and the effect of the addition of lipid modulator in a solid lipid has not yet been studied.

3.2. MATERIALS AND METHODS

3.2.1. *Materials*

A commercial ginger oleoresin with 30% ginger essential oil addition was kindly donated by NATUREX (São Paulo, Brazil), and will be further referred as GO for simplification. As carrier agents we used: Palmitic acid (PA; VETEC, Rio de Janeiro, Brazil; melting point 63 °C; 98.8% palmitic acid determined by AOCS method; Ce 2-66,

2004), oleic acid (OA; VETEC, Rio de Janeiro, Brazil; melting point 8.2 ± 0.1 °C; 77.8% oleic acid and 11.6% linoleic acid determined by AOCS method; Ce 2-66, 2004) and palm fat (PF; Triângulo Alimentos, Itápolis, Brazil; melting point 44.9 ± 0.2 °C; 39.9% palmitic acid, 37.6% oleic acid, 10.2% linoleic acid and 8.2% stearic acid determined by AOCS method; Ce 2-66, 2004). All other reagents used were of analytical grade.

3.2.2. Methods

3.2.2.1. Selection of lipid carriers

Preliminary tests were conducted to define the lipid carriers. The miscibility of lipid mixtures in GO were used as criteria for selection. The GO concentration was kept at 10% (w/w) in all mixtures analyzed.

3.2.2.2. Production of SLM by spray chilling

Each lipid component and GO were weighed according to their respective proportion, as shown in Table 3.1. First, the lipids were heated to 85 °C by a temperature controlled water bath (Tecnal, TE-184, Piracicaba, Brazil) to assure complete melting. They were then added to GO and the mixture (0.050 kg) maintained under magnetic stirring. SLM were obtained using a Büchi-B290 spray dryer set to the spray chiller mode (Büchi, Flawil, Switzerland). The mixture was fed into a heated double fluid atomizer with a nozzle diameter of 2.0 mm using a peristaltic pump, at a mass flow rate of 0.7 kg/h. SLM were formed within a cooled chamber where the inlet air temperature was 7 °C. Atomizing air and cooling air flow rates were 1,052 L/h and 35,000 L/h, respectively. At the end of the process, samples were collected and stored in closed containers and kept at 5 °C. Each experiment was performed in duplicate.

Table 3.1. Formulations and compositions of SLM loaded with ginger oleoresin.

Components	Role	Formulations				
		P1	P2	P3	P4	P5
		Composition, w/w				
Ginger Oleoresin (GO)	Flavor	10	10	10	10	10
Palmitic Acid (PA)	Carrier	90	85	75	85	75
Oleic Acid (OA)	Carrier	-	5	15	-	-
Palm Fat (PF)	Carrier	-	-	-	5	15

3.2.2.3. Characterization of SLM

3.2.2.3.1. Thermal analysis

Thermal analysis was performed by Differential Scanning Calorimetry, using a DSC 2920 Modulated thermal analyzer (TA Instruments, New Castle, Delaware, USA.). Samples were weighed (~5 mg) in hermetically sealed aluminum pans. Operation conditions were: heating to 80 °C and maintained for 5 min, cooled to -40 °C (10 °C/min) for 30 min, and then heated to 80 °C at 5 °C/min.

The crystallinity index (CI) was calculated using Eq. (1) by Freitas and Müller (1999), with some modifications.

$$CI(\%) = \left(\frac{\Delta H_{M,part}}{\Delta H_{M,PA} \times [PA]} \right) \times 100 \quad (1)$$

Where $\Delta H_{M,part}$ and $\Delta H_{M,PA}$ are the melting enthalpy (J/g) of SLM with GO and with bulk PA, respectively; [PA] is the concentration of PA (g/100g) in the matrix.

3.2.2.3.2. Crystalline structure

Samples were analyzed using the X-ray powder diffraction technique. A Philips X-ray diffractometer (Analytical, X Ray X'Pert-MPD, Almelo, Netherlands) was used to study the crystal structure. X-rays of $\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$ were generated by a Cu K α source. The diffraction was measured in the 2θ range from 5 to 30° of 0.02°/s.

3.2.2.3.3. Particle size

The size distribution and mean volumetric diameter of the SLM were determined by the light scattering technique using laser diffraction in a Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK). Samples were dispersed in an aqueous solution containing 1.5% (w/w) Tween[®] 80, and then added into the dispersion unit of the equipment, which was filled with distilled water. The analysis was conducted at room temperature. The mean diameter was determined based on the average diameter of a sphere of the same volume (De Brouckere diameter – $D_{[4,3]}$). Size distribution was characterized by $D_{0.1}$, $D_{0.5}$ and $D_{0.9}$, which represent the diameter of accumulated distribution of 10%, 50% and 90% of total particles.

3.2.2.3.4. Fourier transform infrared spectroscopy-FTIR

Samples were ground with KBr and compressed by a hydraulic press, forming pellets that were used in a FTIR spectrometer (JASCO, 6100, Tokyo, Japan). Samples were analysed in the 4000 to 400 cm^{-1} region, with a resolution of 4 cm^{-1} for 100 scans.

3.2.2.3.5. Morphology and GO distribution over SLM

The SLM morphology was investigated from images obtained in a scanning electron microscope (SEM) (LEO Electron Microscopy Leo 440i, Oxford - Cambridge, England). Microparticles were covered with a gold layer by a Polaron Sputter Coater (VG Microtech, model SC7620, Uckfield, England) before analysis, which was performed with accelerating voltage of 10 kV and a 50 pA beam current. Micrographs were obtained with amplitude of 500× and 5000×.

The confocal microscopy was performed with SLM without any previous preparation, based on the fluorescent properties of gingerols, to verify GO distribution over SLM. Samples were examined at the National Institute of Science and Technology in Photonics Applied to Cell Biology (INFABIC), using a Zeiss LSM 780-NLO confocal on an Axio Observer Z.1 microscope (Carl Zeiss AG, Germany), with a 20× objective. Images were collected at a laser wavelength of 405 nm for excitation of gingerols molecules.

3.2.2.4. Retention of GO in SLM

3.2.2.4.1. Pungent compounds retention

Retention of the main GO pungent compounds in the lipid microparticles (6-gingerol and 6-shogaol) was measured by HPLC analysis, using the ISO 13685:1997 (International Organization for Standardization, 1997), with some modifications. Analysis was carried out using an DIONEX HPLC, UltiMate 3000 Standard LC model (California, USA), controlled by Chromeleon 6.8 Software. An analytical column with reverse phase (Poroshell 120 EC - C18 2.6 μm, 250 mm x 4.6 mm) was used to separate samples. For extracting pungent compounds, 50 mg of lipid microparticle were placed in a tube containing 10 mL of methanol and stirred in a vortex for 1 minute, in order to breakdown the particles and release GO. Pungent compounds quantification was determined from peak areas using a standard calibration curve ($R^2=0.99$). Retention of the pungent compounds was calculated based on the ratios of (6)-gingerol or (6)-shogaol in the microparticles and 6-gingerol or 6-shogaol in the bulk GO.

3.2.2.4.2. Volatiles retention

For sample preparation, lipid microparticles (0.1 g) were added to 10 mL of ethanol and vortexed for 1 minute to breakdown the particles and release GO. A 100 μL aliquot of this oleoresin in ethanol solution was transferred to a 20 mL head space vial, where 4.90 mL of distilled water was added. The solid-phase microextraction method (SPME) was

used to collect GO volatiles from this solution, for 30 minutes at 40 °C. Then, the fiber (PDMS-DVB, Supelco, USA) was exposed in the Gas Chromatography - Flame Ionization Detector (GC-FID) (HP7990, Agilent Technologies, USA) for the thermal desorption of analytes. The volatiles were analyzed with an HP-5 MS capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.25 m - J&W Scientific, USA), with Helium carrier gas at a flow rate of 1 mL/min. The oven temperature was programmed initially at 50 °C with a rate of 20 °C/min until 130 °C, followed by heating to 170 °C (2 °C/min) and then up to 250 °C (20 °C/min) (Huang, Wang, & Qin, 2012; Ding, An, Zhao, Guo, & Wang, 2012 – adapted). The same conditions were utilized in the Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS) (HP 7890/5975MS, Agilent Technologies, USA) to identify GO compounds, using the mass spectra database (NIST08). Retention of volatile compounds were calculated based on the ratios of the sums of the peak areas of GO compounds in the microparticles and the peak areas of bulk GO compounds, obtained in GC-FID.

3.2.2.5. *Statistical analysis*

Results were subjected to analysis of variance (ANOVA) and a Tukey test with a significance level of 5%. The Minitab software trial edition (Minitab 16.1.0, Minitab Inc., State College, PA, USA) was used to compare the differences between the mean values.

3.3. RESULTS AND DISCUSSION

3.3.1. *Selection of lipid carriers*

The choice of encapsulating matrix is an important step for the production of particles since its composition can contribute to achieving higher active compound retentions. Thus, preliminary tests were done to select lipid carriers to produce the ginger oleoresin loaded microparticles. The miscibility of GO in lipids was used as criteria for selection.

The addition of GO in palm fat, a lipid matrix composed mainly of triacylglycerols, did not promote a homogeneous mixture (the mixture was checked visually), as shown in Fig. 3.1A, thus indicating that these materials are not compatible and therefore bulk palm fat could not be used as the only GO carrier. This incompatibility can be explained by complex chemical composition of the resinous fraction of GO, which did not interact with nonpolar molecules of the palm fat triacylglycerols. On the other hand, the addition of GO in free fatty acid matrices (palmitic acid or oleic acid) resulted in the complete miscibility of the

materials (Fig. 3.1B), showing that these lipids can be used to carry GO. This positive result occurred due to the presence of polar groups in fatty acids (Hinrichsen & Steinhart, 2006), which favours the interactions between these lipids and GO.

Based on these previous mixtures, the use of palmitic acid showed to be suitable for carrying GO, ensuring the formation of lipid microparticles which remain solid at room temperature. However, according to the literature (Jenning & Gohla, 2000; Müller, Radtke, & Wissing, 2002; Hu, Jiang, Du, Yuan, Ye, & Zeng, 2005; Ribeiro, Arellano, & Grosso, 2012; Sartori, Consoli, Hubinger, & Menegalli, 2015), higher active retention could be achieved if a low melting point lipid was incorporated in the solid lipid matrix. Therefore, the miscibility of ginger oleoresin in mixtures formed with palmitic acid and low melting point lipids was evaluated. It was found that, for the same concentration of GO (10% w/w), adding up to 15% (w / w) of palm fat or oleic acid (semi-solid lipid or liquid lipid) in the structuring matrix (palmitic acid) resulted in the obtention of solid homogeneous mixtures at room temperature. The palmitic acid favored the palm fat miscibility in GO via interaction of the polar fraction of the fatty acid with ginger oleoresin, and chain hydrocarbons (nonpolar fraction) with triacylglycerols.

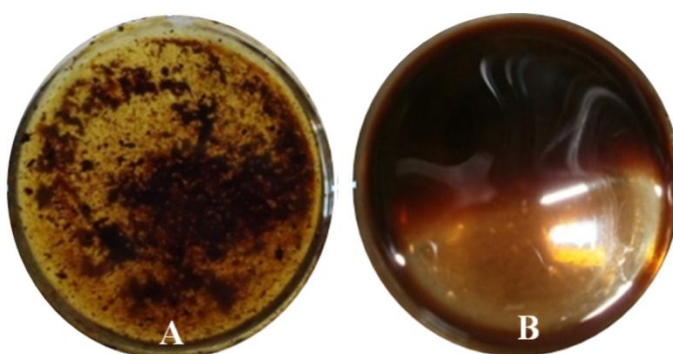


Fig. 3. 1. Visual observation of ginger oleoresin miscibility in a lipid matrix. (A) Ginger oleoresin and palm fat. (B) Ginger oleoresin and palmitic acid.

3.3.2. *Characterization of SLM*

3.3.2.1. *Thermal analysis*

The thermal properties of the lipid microparticles loaded with GO are presented in Table 3.2 and Fig. 3.2. Palmitic acid showed a sharp melting peak, with an ending temperature near 63 °C. This behavior is caused by the high purity level (~98.8% - Section 2.1) of this material, which is a saturated fatty acid and as such, is then expected to melt at high temperatures. Oleic acid, which has 11.6% linoleic acid in its composition (Section 3.2.1), also presented a well-defined melting peak around 10 °C, that is characteristic of the predominance of unsaturated fatty acids in the composition. The melting curve of bulk PF,

however, presented multiple irregular peaks. This behavior is due to its broad triacylglycerol distribution (Zhang et al., 2013).

The addition of GO in PA (Formulation P1) produced microparticles with lower melting enthalpy, and lower melting peak, in comparison to bulk PA.

The incorporation of OA or PF (Formulations P2, P3 or P4, P5, respectively) produced microparticles with lower melting temperatures than the P1 formulation. PF has approximately 50% high melting point fatty acids (palmitic acid and stearic acid) – Section 3.2.1), that contributed to lower variation in the melting point of P4 and P5 particles. Conversely, the addition of OA, that has high concentration of unsaturated fatty acids (Section 3.2.1), resulted in the highest decrease in the melting peak of the particles (Formulations P2 and P3).

All formulations showed melting peaks higher than 56 °C (Fig. 3.2). This characteristic can guarantee the solid structure of particles at room temperature (~25 °C) (Alvim, Souza, Koury, Jurt, & Dantas, 2013).

An attempt to evaluate the crystalline state of the particles was performed using the crystallinity index (CI) (Eq 1). P3 and P5 particles showed the lowest CI with 89.8% and 92.0%, respectively. The addition of 15% (w/w) of OA or PF decreased crystallization of PA structures, requiring less energy for phase transition compared to P1 particle. Particles P1, P2 and P4 did not present statistical differences in the CI value. Thus, the addition of PF or OA, at a lower concentration (5% w/w), was not enough to disturb the PA crystallinity structure.

The reduction in the SLM crystalline structure, caused by the addition of oily ingredients, is in accordance with works presented by Carvalho et al. (2013) and Wang et al. (2014).

Table 3.2. Thermal properties, pungent and volatile compounds retention of SLM loaded with GO.

		Bulk PA	P1	P2	P3	P4	P5
Thermal properties	ΔH_M (J/g)	212.6±1.3 ^a	186.2±3.6 ^b	169.8±2.9 ^c	143.4±2.9 ^d	173.1±1.9 ^c	146.4±2.7 ^d
	CI (%)	100	97.3±1.6 ^a	93.9±1.6 ^{a,b}	89.8±1.8 ^c	95.9±1.1 ^a	92.0±1.7 ^{b,c}
	ΔT_{Cryst} (°C)*	16.1±1.8 ^d	18.9±1.1 ^d	22.3±1.2 ^{b,c}	29.4±0.6 ^a	21.7±1.7 ^{c,d}	25.2±0.9 ^b
Pungent and volatile compounds retention	(6)-gingerol retention (%)	-	97.9±2.5 ^a	98.4±0.2 ^a	98.4±2.3 ^a	98.7±1.5 ^a	96.6±2.2 ^a
	(6)-shogaol retention (%)	-	99.5±3.2 ^a	99.3±1.2 ^a	98.6±2.2 ^a	99.2±0.8 ^a	99.7±2.6 ^a
	Volatiles retention (%)	-	83.3±1.9 ^a	66.7±2.2 ^c	37.5±3.0 ^d	75.2±1.1 ^b	78.7±2.2 ^b

Different lowercase letters in each row represent statistically significant difference ($p \leq 0.05$) by Tukey test.

ΔH_M : melting enthalpy

* Obtained by DSC, T_{on} and T_{endset} of crystallization curve.

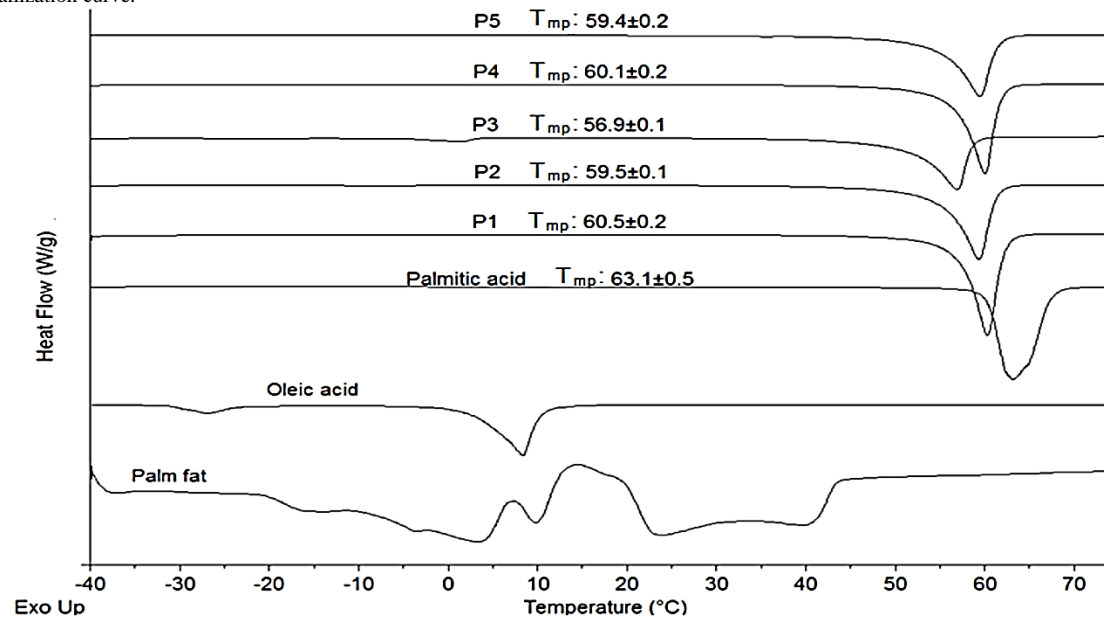


Fig. 3. 2. DSC thermograms and melting temperature peaks (T_{mp}) of solid lipid microparticles carrying GO. All formulations contain 10% (w/w) GO. P1: 90% PA. P2: 85% PA 5% OA. P3: 75% PA 15% OA. P4: 85% PA 5% PF. P5: 75% PA 15% PF.

3.3.2.2. Crystalline structure

X-ray diffraction (XRD) was used to obtain additional information about the SLM crystal structure.

In the diffractogram presented in Fig. 3.3, bulk PA and particles from all formulations showed the presence of peaks in diffraction angle, where $2\theta = 21.6^\circ$ and 24.2° , (d spacing: 4.1 Å and 3.7 Å, respectively). These peaks correspond to an orthorhombic crystal structure (Ensikat, Boese, Mader, Barthlott, & Koch, 2006; Bunjes & Unruh, 2007). Peaks with a diffraction angle $<15^\circ$ are characteristic of each fatty acid, and their position is defined by the respective polymorphic form of the crystals (Sala et al., 2010; Teixeira, Garcia, Ilharco, Gonçalves da Silva, & Fernandes, 2010). The incorporation of OA (P2 and P3) affected the PA crystal structure, which can be observed by the peak in d spacing of 3.7 Å, that showed a shift to the left with an increase in the peak width (when compared to P1). This result is related to the formation of a less crystallized particle, caused by the addition of a liquid lipid with predominance of unsaturated molecules. Comparing the treatments P4 and P5 to P1, it can be noticed that the intensity of peaks with diffraction angle $>15^\circ$ remained almost constant (in d spacing of 3.7 Å), but the position of peaks presented a small shift to the left, which could indicate some crystalline perturbation in these particles.

The difference in the crystalline behavior of the formulations containing OA or PF can be explained by the higher concentration of unsaturated molecules in OA than in PF (Section 3.2.1), which influenced the more pronounced perturbation in the crystalline structure of P2 and P3 particles. Unsaturated molecules show arched conformation due to double bonds in cis arrangement, and this structure impairs the organization of saturated molecules during particles crystallization, creating a disorderly structure (Müeller, Radtke, & Wissing, 2002, McClements & Decker, 2007). The crystallization, verified by XRD, presented a similar trend as the crystallinity index (Section 3.3.2.1).

The crystal structure of lipid particles was also studied by Silva and Pinho (2013), who reported that the incorporation of 10% cupuassu butter in stearic acid decreased the intensity of stearic acid polymorphic peaks, indicating that the original structure of the lipid had been modified by the presence of the butter in the lipid matrix.

Liu and Hu (2010) investigated the incorporation of corn oil in glycerol palmitostearate and lutein to produce nanoparticles, and concluded that the oil was able to decrease the intensity of crystal peaks without altering the polymorphic structure, but indicating that the particle crystallinity degree had diminished.

Fatty acids present complex polymorphic behavior and show four different structures: A, B, C and E, which are different from triacylglycerols (Hernqvist, 1988; Bunjes & Unruh, 2007; Sala et al., 2010). The polymorphic behavior of the SLM produced in this work was confirmed by FTIR analysis (Section 3.3.2.4).

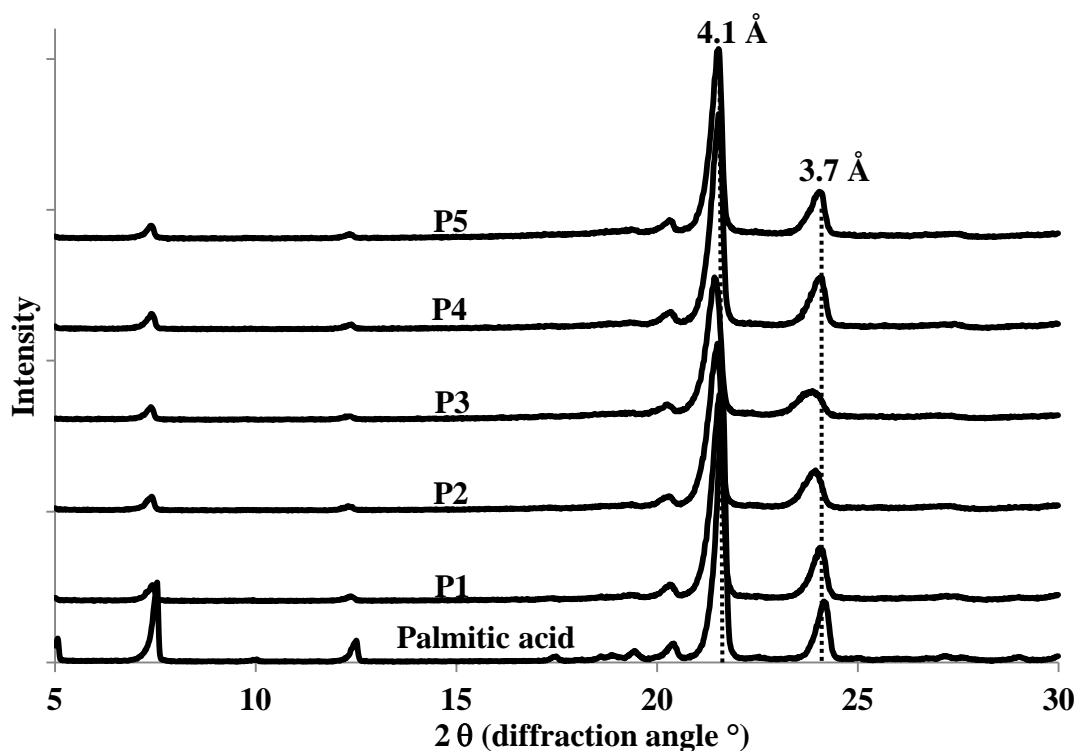


Fig. 3. 3. X-ray diffraction of bulk palmitic acid and lipid microparticles loaded with GO. Spacing in 4.1Å and 3.7Å are characteristic of the orthorhombic crystal structure. All formulations contain 10% (w/w) GO. **P1:** 90% PA. **P2:** 85% PA 5% OA. **P3:** 75% PA 15% OA. **P4:** 85% PA 5% PF. **P5:** 75% PA 15% PF.

3.3.2.3. Particle size

Particles volumetric mean diameter and size distribution parameters are presented Table 3.3. The obtention of mean diameter ($D_{[4,3]}$) in a relatively narrow range ($\sim 40 \mu\text{m}$) is probably related to the use of the same process operation conditions (Section 3.2.2.2.) to perform all assays. According to Rodriguez et al. (1999), operating parameters can have more influence on particle size than the lipid matrix composition. Even so, in our work, small variation in the particle size was observed for formulations depending on the addition of oleic acid or palm fat to the palmitic acid. Formulation P3, with 15% (w/w) oleic acid, produced particles with mean diameter significantly larger than those from formulations P4 and P5, in which mixtures of palm fat with palmitic acid were used as carriers. Crystallization of liquid lipids results in a volume contraction of the lipid molecules, whereas melting of the solid

lipids leads to volume expansion (Tan & Che Man, 2002). During particle crystallization, higher concentration of saturated lipid is associated with more compact crystal structure. Therefore, larger mean diameters in P3 particles can be explained by their decreased crystallinity, as verified by thermal and XRD analyses (Sections 3.3.2.1 and 3.3.2.2).

PF is mainly composed of triacylglycerol molecules that contain approximately 50% saturated and 50% unsaturated fatty acids (Section 3.2.1). Thus, the predominance of saturated lipids in the P4 and P5 matrix resulted in a more organized crystal structure and consequently in smaller particle size compared to P3. A higher concentration of saturated lipids has shown to be related to the occurrence of smaller mean diameters in SLM produced by spray chilling in other works (Sartori, Consoli, Hubinger, & Menegalli, 2015; Consoli, Grimaldi, Sartori, Menegalli, & Hubinger 2016; Alvim, Souza, Koury, Jurt, & Dantas, 2013; Ribeiro, Arellano, & Grosso, 2012). $D_{(0.1)}$, $D_{(0.5)}$ and $D_{(0.9)}$ parameters, which represent the diameter of accumulated distribution of 10%, 50% and 90% of the total particles showed a typical behavior of a mono modal size distribution for all formulations. The influence of formulation composition was more pronounced in P1 particles (90% palmitic acid), which showed the lowest values for the three parameters.

Table 3. 3. Mean diameter ($D_{[4,3]}$) and size distribution of lipid microparticles.

	$D_{[4,3]} (\mu\text{m})$	$D_{0.1} (\mu\text{m})$	$D_{0.5} (\mu\text{m})$	$D_{0.9} (\mu\text{m})$
P1	40.8±0.9 ^{a,b}	10.6±0.9 ^c	31.0±1.5 ^c	68.2±3.4 ^c
P2	40.4±3.8 ^{a,b}	15.8±0.5 ^a	38.2±1.2 ^{a, b}	76.3±7.0 ^{a, b}
P3	43.2±1.7 ^a	16.0±0.2 ^a	41.2±3.0 ^a	80.7±5.2 ^a
P4	39.9±1.5 ^b	14.9±0.3 ^b	36.8±0.9 ^b	70.7±3.2 ^{b, c}
P5	39.8±3.9 ^b	15.9±0.3 ^a	37.8±0.6 ^{a, b}	85.3±3.2 ^a

Different lowercase letters in each column represent statistically significant difference ($p \leq 0.05$) by Tukey test.

3.3.2.4. FTIR analysis

Fourier transformed infrared analysis was performed to detected possible chemical interactions between GO and the carriers and also the polymorphism of lipid microparticles. Fig. 3.4 shows the spectra of carriers and lipid microparticles loaded with GO.

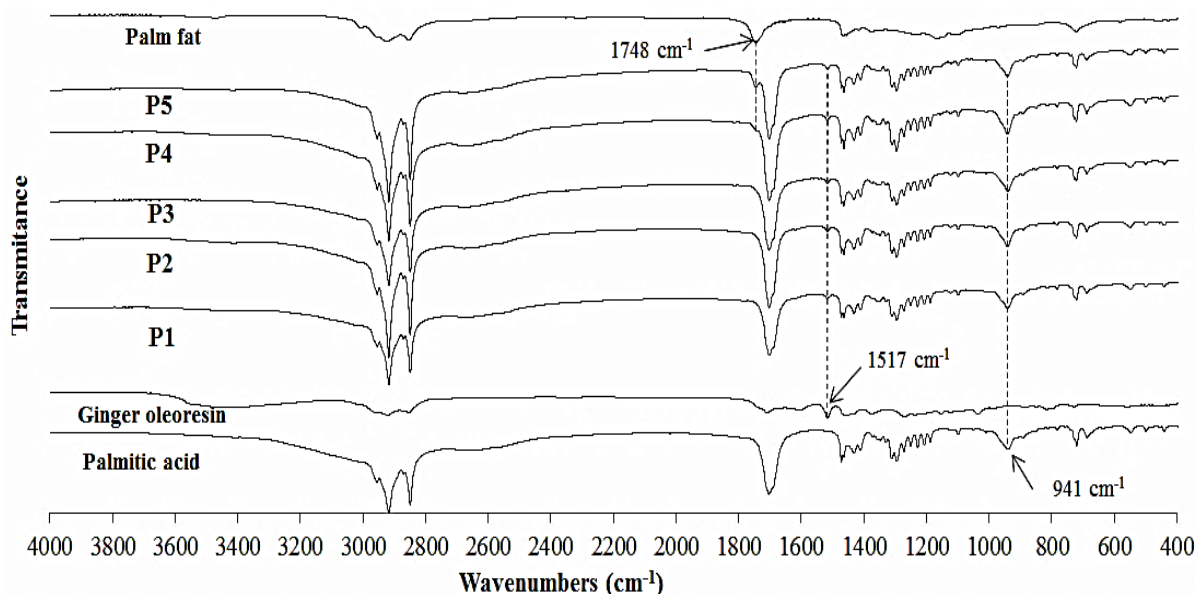


Fig. 3.4. FTIR spectra of carriers and lipid microparticles loaded with GO. All formulations contain 10% (w/w) GO. **P1:** 90% PA. **P2:** 85% PA 5% OA. **P3:** 75% PA 15% OA. **P4:** 85% PA 5% PF. **P5:** 75% PA 15% PF.

The infrared spectrum of bulk PA showed a peak at 941 cm^{-1} , which corresponds to the OH bending vibration band of the carboxyl group. This vibration band is a characteristic of the C polymorphic form (Kobayashi, 1988; Moreno et al., 2007; Sala et al., 2010). The same band was identified in all formulations (P1; P2; P3; P4 and P5). The addition of GO, OA or PF did not change the PA polymorphism. The C form is the most stable polymorphism among the fatty acids (Hernqvist, 1988; Moniruzzaman & Sundararajan, 2004).

The presence of a peak at 1517 cm^{-1} , which is characteristic of GO, can be observed in all microparticle spectra (P1; P2; P3; P4 and P5). This band represents a type of carbon – carbon (C=C) stretching vibration in the aromatic ring (Purnomo, Jaya, & Widjanarko, 2010), that is present in volatile compounds.

The spectra of bulk PF, P4 and P5 microparticles showed a peak at 1748 cm^{-1} , that represents the C=O vibration of the ester carbonyl functional group present in the triacylglycerol molecules, which are predominant in PF (Rohman & Che Man, 2010).

The spectrum of bulk oleic acid (not shown) presented bands similar to those of bulk palmitic acid. Particles containing OA (P2 and P3) did not show different bands compared to P1.

The bands present in the SLM spectra (P1; P2; P3; P4 and P5) presented no band shift when compared to bulk materials. FTIR analysis revealed no new significant chemical

interaction between GO and the carriers, which means that the lipid microparticles loaded with GO are just a physical mixture.

3.3.2.5. Morphology and GO distribution over the SLM

The particles showed a spherical shape (Fig. 3.5), which is typical of solid lipid microparticles (Chambi, Alvim, Barrera-Arellano, & Grosso, 2008; Alvim et al., 2016). All particles exhibited a rough surface. The addition of PF (P4 and P5) did not cause a difference in the surface morphology compared to P1 particles (palmitic acid with ginger oleoresin). P3 particles presented the roughest surfaces of all, and also more agglomeration than particles of the other formulations. This agglomeration is shown with more details in Fig. 5 at 500×, where smaller particles are adhered in the surface of the larger. The lower melting point of P3 particles may have affected the morphological aspect during particle solidification. Similar morphological behavior of SLM was found by Albertini, Passerini, Pattarino, & Rodriguez (2008).

Due to the fluorescent properties of gingerols (Chakraborty et al., 2012), it was possible to observe the distribution of GO over the microparticles by the confocal microscopy technique. The fluorescence intensity profile along the diameter of a selected particle is shown in Fig. 3.5. The oleoresin was dispersed over the microparticles, but the differences in fluorescence intensity could indicate that oleoresin was more concentrated in some regions and less in others. These images proved affinity between lipids and GO, due to the dispersibility of GO over the particle.

3.3.3. Retention of GO in SLM

3.3.3.1. Pungent and volatile compounds retention

The importance of monitoring the pungent and volatile compounds in the lipid microparticles is due to the use of a high temperature (85 °C) in the spray chilling process. High temperatures can cause the conversion of (6)-gingerol into (6)-shogaol and also cause a loss of ginger volatiles by evaporation. HPLC analysis of bulk GO showed the pungent compound (6)-gingerol in higher concentration than (6)-shogaol, 107.9 mg 6-gingerol/g oleoresin and 30.4 mg 6-shogaol/g oleoresin, thus demonstrating the good quality of GO used for the production of lipid microparticles in this work.

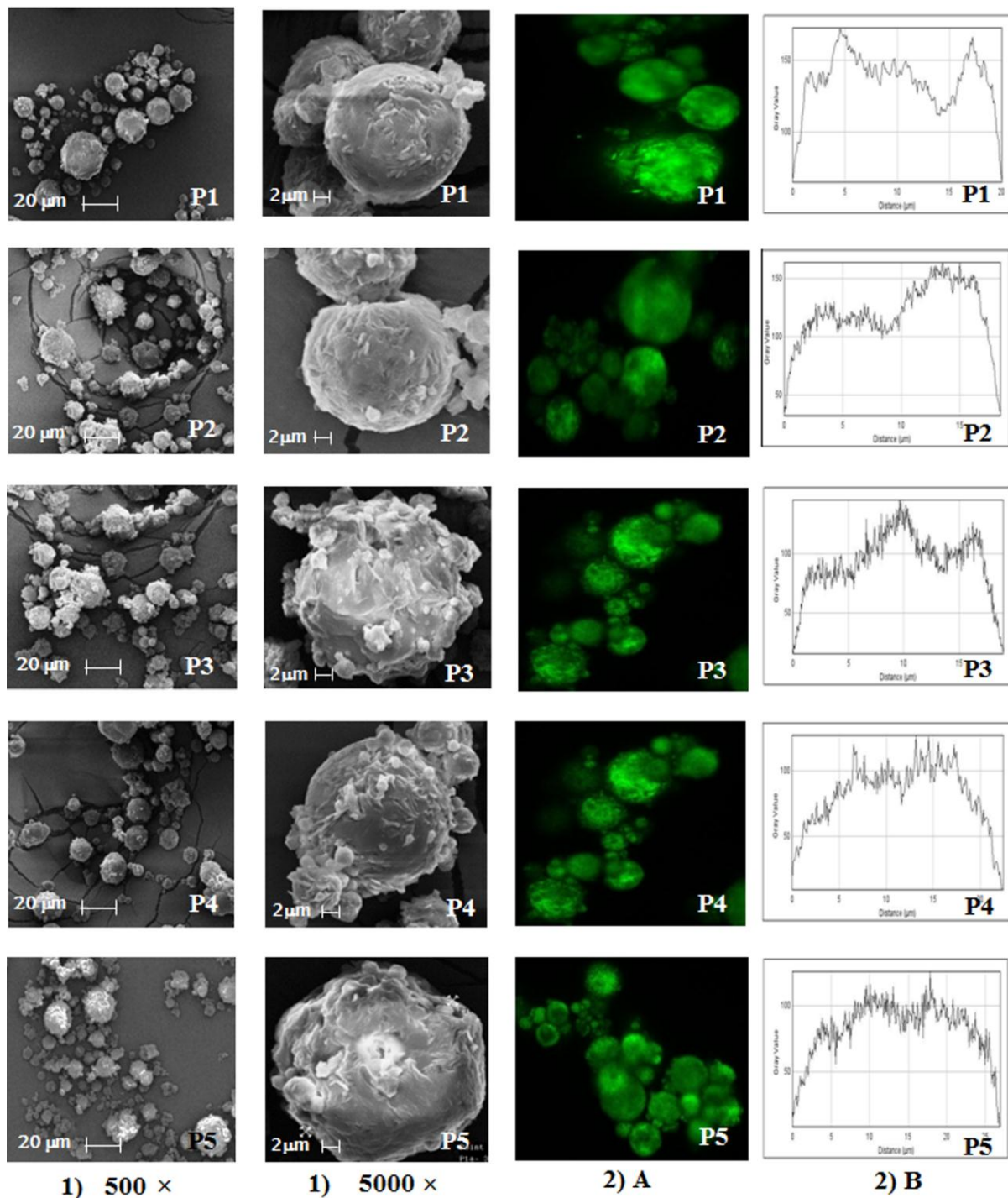


Fig. 3. 5. 1) Morphology of lipid microparticle loaded with GO obtained by SEM with 500× and 5000×. 2) Confocal scanning laser microscopy of lipid microparticle loaded with GO *A*) Fluorescence of particle with GO. *B*) Fluorescence intensity profile along the diameter of a particle selected. All formulations contain 10% (w/w) GO. **P1:** 90% PA. **P2:** 85% PA 5% OA. **P3:** 75% PA 15% OA. **P4:** 85% PA 5% PF. **P5:** 75% PA 15% PF.

Regarding the SLM, the analysis has shown retentions of (6)-gingerol and (6)-shogaol above 96.6% and 98.6%, respectively (Table 3.2). We noted that (6)-gingerol showed slightly lower retention than (6)-shogaol, that could mean the degradation of this pungent compound. However, if the conversion of (6)-gingerol into (6)-shogaol had expressively happened, (6)-shogaol retention would be higher than 100%, since the concentration of this compound would have increased in relation to bulk GO. This occurrence demonstrates that the use of the spray chilling technique for the production of lipid microparticles did not induce a ginger oleoresin quality loss. The affinity of the pungent compounds with lipid carriers may have favored the high pungent retention reached in all treatments. The addition of lipid modulators (OA or PF) did not influence pungent compound retention. These compounds are non-volatiles which could have contributed to higher retention. Cortés-Rojas, Souza, and Oliveira (2014) state that factors such as the proportion of solid lipid and the percentage of lipid phase provided strong effect on the retention of compounds derived from clove extract. Gamboa, Gonçalves, and Grosso (2011), using different ratios of lipid carriers from cotton, palm, and soybean oils, obtained particles by spray chilling with over 90% retention of tocopherol, and concluded that the lipid matrix may favor the high retention.

GO volatiles retention in lipid microparticles has been also analysed. The major volatile compounds presented in GO, identified by CG-MS, were: zingiberene, β -sesquiphelandrene, ar-curcumene, α -farnesene and β -bisabolene. The highest volatiles retention value was 83.3% for P1 (palmitic acid with GO), and the lowest value was 37.5% for P3, the formulation with the highest OA concentration.

The volatiles retention was influenced by the particle crystallization behavior. During particle solidification, the lipid crystallization increases progressively. In Table 3.2, the range of temperature in the crystallization curve (initial and final crystallization curve temperature by DSC), showed a smaller variation for P1 particles, indicating that the crystallization occurs faster, resulting in the immobilization of volatile compounds. For P3 particles, the crystallization temperature range was wider than the other formulations. This indicates a slower particle crystallization, which could contribute to a greater loss of volatiles. XRD (Section 3.3.2.2) showed that the presence of unsaturated molecules in a lipid matrix induced the formation of a more disorganized crystal structure than in particles with predominantly saturated molecules, which favors the formation of empty spaces that facilitate volatile diffusion. Saturated molecules form an ordered structure, resulting in a labyrinth effect, thus hampering volatile diffusion (McClements & Decker, 2007, Mellema, Van

Benthum, Boer, Von Harras, & Visser, 2006). The presence of unsaturated molecules resulted in less volatile retention in P2 and P3 compared to P4 and P5. Bulk OA has more unsaturated molecules than bulk PF (Section 3.2.1) consequently the particles with OA (P2 and P3) favored more volatile diffusion than PF particles (P4 and P5). In this work, the addition of unsaturated lipids did not lead to higher volatile retention as we had initially seen in other studies that used lipid particles for carrying active compounds (Jenning & Gohla, 2000; Müller, Radtke, & Wissing, 2002; Hu, Jiang, Du, Yuan, Ye, & Zeng, 2005; Ribeiro, Arellano, & Grosso, 2012; Sartori, Consoli, Hubinger, & Menegalli, 2015). This indicates that the affirmation that the addition of lipid modulators in solid lipid matrices increases the active retention can not be generalized; each system must be studied individually.

Badan Ribeiro et al. (2009) verified that increasing the soybean oil ratio in a mixture with fully hydrogenated soybean oil decreased the crystallization temperature. Consequently the crystallization velocity of the blend was lower due to the dilution of solid fat in liquid oil. Sillick and Gregson (2012) studied the formation of crystalline particles with erythritol for the encapsulation of different flavors. Adding methyl salicylate, cinnamic aldehyde and nicotine to the particles resulted in less retention of the active components due to slower crystallization, which is in accordance with the results obtained in the present work.

3.4. CONCLUSIONS

The use of spray chilling showed to be a promising technique for the production of SLM loaded with GO, given the high retention of pungent and volatile compounds achieved in this work. Lipid carriers with higher concentration of saturated fatty acids (palmitic acid and palmitic acid with palm fat) showed to be more affective for the retention of GO due to the formation of a more organized crystalline structure, that hinders the diffusion of the volatile compounds through the lipid matrix. Future studies are still necessary to analyze the application, in a food matrix, of the SLM produced here in order to evaluate the release profile and to verify the particle stability.

Acknowledgements

We thank the Laboratory of Process Engineering co-funded by Fapesp (#50411-4/2012; #54137-1/2009; #50593-2/2009; 54520-4/2007) and CNPq (#449506/2014-2). Vivian Boesso Oriani and Larissa Consoli thank CNPq (#140281/2013-4 and 140273/2014-0) for the Ph.D. assistantship. NATUREX for the donation of GO. We are also grateful for the access to equipment and assistance provided by the National Institute of Science and Technology on

Photonics Applied to Cell Biology (INFABIC - UNICAMP), which is co-funded by FAPESP (#08/57906-3) and CNPq (#573913/2008-0).

References

- Albertini, B., Passerini, N., Pattarino, F., & Rodriguez, L. (2008). New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. *European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics*, 69(1), 348-357.
- Alvim, I. D., Souza, F.S., Koury, I. P., Jurt, T., & Dantas, F.B.H. (2013). Use of the spray chilling method to deliver hydrophobic components: physical characterization of microparticles. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 33(1), 34-39.
- Alvim, I. D., Stein, M.A., Koury, I. P., Balardin, F., Dantas, H., & Cruz, C.L.C.V. (2016). Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. *LWT – Food Science and Technology*, 65, 689-694.
- AOCS. (2004). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, 2004. *AOCS method Ce 2-66*, AOCS.
- Badan Ribeiro, A. P., Grimaldi, R., Gioielli, L. A., Santos, A. O., Cardoso, L. P., Gonçalves, L. A. G. (2009). Thermal behavior, microstructure, polymorphism, and crystallization properties of zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil. *Food Biophysics*, 4, 106-118.
- Balakrishnan, K. V. (2004). Postharvest and Industrial Processing of Ginger. In K. N. Babu, & P.N. Ravindran (Eds.), *Ginger The Genus Zingiber* (pp. 1-43). Boca Raton, London: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Bunjes, H., & Unruh, T. Characterization of lipid nanoparticles by differential scanning calorimetry, X-ray and neutron scattering. (2007). *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 379-402.
- Consoli, L., Grimaldi, R., Sartori, T., Menegalli, F. C., & Hubinger, M. D. (2016). Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: production and characterization. *LWT – Food Science and Technology*, 65, 79-87.
- Carvalho, S.M., Noronha, C.M., Floriani, C.L., Lino, R. C., Rocha, G., Bellettini, I. C., Ogliari, P.J., & Barreto, P.L.M. (2013). Optimization of α -tocopherol loaded solid lipid nanoparticles by central composite design. *Industrial Crops and Products*, 49, 278-285.
- Cortés-Rojas, D.F., Souza, C.R.F., & Oliveira, W.P. (2014). Encapsulation of eugenol rich clove extract in solid lipid carriers. *Journal of Food Engineering*, 127, 34-42.
- Chakraborty, D., Bishayee, K., Ghosh, S., Biswas, R., Kumar Mandal, S., & Rahman Khuda-Bukhsh, A. (2012). [6]-Gingerol induces caspase 3 dependent apoptosis and autophagy in cancer cells: Drug-DNA interaction and expression of certain signal genes in HeLa cells. *European Journal of Pharmacology*, 694, (1-3), 20-29.
- Chambi, H. N. M., Alvim, I. D., Barrera-Arellano, D., & Grosso, C. R. F. (2008). Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterisation and release profiles. *Food Research International*, 41(3), 229-236.
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7), 1361-1394.
- Ding, S. H., An, K. J., Zhao, C. P., Li, Y., Guo, Y. H., & Wang, Z. F. (2012). Effect of drying methods on volatiles of Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Food and Bioproducts Processing*, 90(3), 515-524.

- Ensikat, H. J., Boese, M., Mader, W., Barthlott, W., & Koch, K. (2006). Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies. *Chemistry and Physics of Lipids*, 144(1), 45-59.
- Freitas, C. & Müller, R.H. (1999). Correlation between long-term stability of solid lipid nanoparticles (SLN) and crystallinity of the lipid phase. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 47(2), 125-132.
- Gamboa, O. W. D., Golçalves, L. G., & Grosso, C. F. (2011). Microencapsulation of tocopherols in lipid matrix by spray chilling method. *Procedia Food Science*, 1, 1732-1739.
- Gunstone, F.D. (2013). Oils and fats in the market place – Commodity oils and fats: Palm oil. The AOCS Lipid Library Redrieved Dec 06, 2015, from <http://http://lipidlibrary.aocs.org/OilsFats/>
- Hernqvist, L. (1988). Crystal structures of fats and fatty acids. In Garti, N., & Sato, K. (Eds.). *Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids*. pp. 97-138. Marcel Dekker.
- Hinrichsen, N. & Steinhart, H. (2006). Techniques and Applications in Lipid Analysis. In: Kramer, J. K. G.; Mcdonald, R.E.; Brenna, J. T.; Mossoba, M. M. (Eds.). *Lipid Analysis and Lipidomics*. (pp. 3-26). AOCS Publishing.
- Huang, B., Wang, G., Chu, Zhiyoung, & Qin, L. (2012). Effect of oven drying, microwave drying, and silica gel drying methods on the volatile components of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by HS-SPME-CG-MS. *Drying Technology*, 30(3), 248-255.
- Huang, T.-C., Chung, C.-C., Wang, H.-Y., Law, C.-L., & Chen, H.-H. (2011). Formation of 6-shogaol of ginger oil under different drying conditions. *Drying Technology*, 29(16), 1884-1889.
- Hu, F.-Q.; Jiang, S.-P.; Du, Y.-Z.; Yuan, H.; Ye, Y.-Q.; Zeng, S. (2005). Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45(3-4), 167-173.
- International Organization for Standardization (1997). Ginger and its oleoresins – Determination of main pungent components (gingerols and shogaols) – Method using high-performance liquid chromatography: ISO 13685:1997(E) (1st ed.). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835.
- Jenning, V., & Gohla, S. (2000). Comparison of wax and glyceride solid lipid nanoparticles (SLN[®]). *International Journal of Pharmaceutics*, 196(2), 219-222.
- Kobayashi, M. (1988). Vibrational spectroscopic aspects of polymorphism and phase transition of fats and fatty acids. In Garti, N., & Sato, K. (Eds.). *Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids*. (pp. 139-188). Marcel Dekker.
- Kubra, I. R., & Rao, L. J. M. (2012). An impression on current developments in the technology, chemistry, and biological activities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(8), 651-688.
- Liu, C.-H., & Wu, C.-T. (2010). Optimization of nanostructured lipid carriers for lutein delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 353 (2-3), 149-156.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1-21.
- Mba, O. I., Dumont, M.-J., & Ngadi, M. (2015). Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. *Food Bioscience*, 10, 26-41.

- McClements, D. J., & Decker, E. A. Lipids. (2007). In Damodaran, S., Parkin, K. L., & Fennema, O. R. (Eds.). *Fennema's Food Chemistry*. (pp.155-216). Boca Raton, London: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Mellema, M., Van Benthum, W. A. J., Boer, B., Von Harras, J., & Visser, A. (2006). Wax encapsulation of water-soluble compounds for application in foods. *Journal of Microencapsulation*, 23(7), 729–740.
- Moniruzzaman, M., & Sundararajan, P.R. (2004). Morphology of blends of self-assembling long-chain carbamate and stearic acid. *Pure and Applied Chemistry*, 76(7-8), 1353-1363.
- Moreno, E., Cordobilla, R., Calvet, T., Cuervas-Diarte, M.A., Gbabode, G., Negrier, P., Mondieig, D., & Oonk, H. A. J. (2007). Polymorphism of even saturated carboxylic acids from n-decanoic to n-eicosanoic acid. *New Journal of Chemistry*, 31(6), 947-957.
- Müller, R.H., Radtke, M., Wissing, S.A. (2002). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews* 54 Suppl.1, S131-S155.
- Murthy, P.S., Gautam, R., & Naik, J. P. (2015). Ginger oleoresin chemical composition, bioactivity and application as bio-preservatives. *Journal of Food Processing and Preservation*, (Article in Press).
- Okuro, P. K., Eustáquio De Matos, F., & Favaro-Trindade, C.S. (2013). Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. *Food Technology and Biotechnology*, 51(2), 171-182.
- Ping, B. T. Y., & Yousof, M. (2009). Characteristics and properties of fatty acid distillates from palm oil. *Oil Palm Bulletin*, 59, 5-11.
- Purnomo, H., Jaya, F., & Widjanarko, S.B. (2010). The effects of type and time of thermal processing on ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) rhizome antioxidant compounds and its quality. *International Food Research Journal*, 17(2), 335-347.
- Ré, M.I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*, 16(6), 1195-1236.
- Reineccius, G. A. (1989). Flavor encapsulation. *Food Reviews International*, 5(2), 147-176.
- Ribeiro, M.D.M., Arellano, D., & Grosso, C.F. (2012). The effect of adding oleic acid in the production of stearic acid lipid microparticles with a hydrophilic core by a spray-cooling process. *Food Research International*, 47(1), 38-44.
- Rodriguez, L., Passerini, N., Cavallari, C., Cini, M., Sancin, P., Fini, A. (1999). Description and preliminary evaluation of a new ultrasonic atomizer for spray-congealing processes. *International Journal of Pharmaceutics*, 183(2), 133-143.
- Rohman, A., & Che Man, Y.B. (2010). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. *Food Research International*, 43(3), 886-892.
- Sala, S., Elizondo, E., Moreno, E., Calvet, T., Curvas-Diarte, M. A., Ventosa, N., & Veciana, J. (2010). Kinetically driven crystallization of a pure polymorphic phase of stearic acid from CO₂-expanded solutions. *Crystal Growth and Design*, 10(3), 1226-1232.
- Sartori, T., Consoli, L., Hubinger, M.D., & Menegalli, F.C. (2015). Ascorbic acid microencapsulation by spray chilling: Production and characterization. *LWT- Food Science and Technology*, 63(1), 353-360.
- Sillick, M., & Gregson, C. M. (2012). Spray chill encapsulation of flavors within anhydrous erythritol crystals. *LWT-Food Science and Technology*, 48(1), 107-113.
- Silva, J. C., & Pinho, S. C. (2013). Viability of the microencapsulation of a casein hydrolysate in lipid microparticles of cupuacu butter and stearic acid. *International Journal of Food Studies*, 2, 48-59.
- Singh, G., Kapoor, I.P.S., Singh, P., Heluani, C.S., De Lampasona, M.P., & Catalan, C.A.N. (2008). Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology*, 46(10), 3295-3302.

- Tan, C.P., & Che Man, Y.B. (2002). Differential scanning calorimetric analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: effects of scanning rate variation. *Food Chemistry*, 76 (1), 89-102.
- Teixeira, A.C.T., Garcia, A.R., Ilharco, L.M., Gonçalves Da Silva, A.M.P.S., & Fernandes, A.C. (2010). Phase behaviour of oleanolic acid, pure and mixed with stearic acid: Interactions and crystallinity. *Chemistry and Physics of Lipids*, 163(7), 655-666.
- Wang, J-L., Dong, X-Y., Wei, F., Zhong, J., Liu, B., Yao, M-H., Yang, M., Zheng, C., Quek, S-Y, & Chen, H. (2014). Preparation and characterization of novel lipid carriers containing microalgae oil for food applications. *Journal of Food Science*, 79(2), 169-177.
- Wang, X., Yuan, Y., & Yue, T. (2015). The application of starch-based ingredients in flavor encapsulation. *Starch/Staerke*, 67(3-4), 225-236.
- Vaidya, S., Bhosale, R., & Singhal, R. S. (2006). Microencapsulation of cinnamon oleoresin by spray drying using different wall materials. *Drying Technology*, 24(8), 983-992.
- Zhang, X., LI, L., Liang, z., Su, J., Liu, G. & Li, B. (2013). Comparative analysis of thermal behavior, isothermal crystallization kinetics and polymorphism of palm oil fractions. *Molecules* 18, 1036-1052.

- CAPÍTULO IV -

Release behavior of ginger oleoresin lipid microparticles: Addition in model emulsion

Vivian Boesso Oriani^a, Izabela Dutra Alvim^b, Bruno Nicolau Paulino^c, Fernanda Ramalho Procópio^a, Gláucia Maria Pastore^c, Míriam Dupas Hubinger^a

^aLaboratory of Process Engineering, Department of Food Engineering, School of Food Engineering, University of Campinas, CEP 13083-862, Campinas, SP, Brazil

^bCereal and Chocolate Technology Center – CEREAL CHOCOTEC, Food Technology Institute – ITAL, CEP 13070-178, Campinas, SP, Brazil

^cLaboratory of Bioflavors, Department of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, CEP 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil

Submitted to LWT – Food Science and Technology

ABSTRACT

The solid lipid microparticles (SLMs) can represent efficient structures to protect ginger oleoresin and decrease its volatility during addition in food products. The aim of this work was to characterize the behavior of ginger oleoresin lipid microparticles added in emulsion (o/w) and the storage at different temperatures during 28 days. The composition of the lipid matrix was stearic acid with or without oleic acid. The characterization of the SLMs showed a melting point ranging from 59.2 to 66.1°C and volatile retention between 53.2±3.4% and 88.5±2.9%. Emulsions containing SLMs, emulsion with free ginger oleoresin and control emulsion without ginger oleoresin were analyzed during storage in relation to antioxidant capacity and peroxide value. Pungent and volatile releases were verified after particles addition in emulsions and at the end of storage. Storage under 10°C or 25°C showed the same antioxidant property behavior for emulsions containing SLMs. At 40°C all emulsions exhibited peroxide compounds; however emulsions containing ginger oleoresin were effective to reduce oxidation reactions. SLMs can promote the delivery of ginger oleoresin after the process of incorporation in the emulsion, with the advantage of decreased oxidation reactions in a food product.

Keywords: volatile release; 6-gingerol; spray chilling; storage; dissolution.

Highlights

- Solid lipid microparticles showed high volatile and pungent compounds retention.
- After dispersion of microparticles into emulsion, ginger compounds were release.
- Ginger oleoresin presented protection from emulsion oxidation.
- Volatile and pungent compounds were released after 28 days of storage.

4.1. INTRODUCTION

The incorporation of specific ingredients into food products has particular purposes: addition of antioxidants to protect lipids contained in the food against oxidative degradation; addition of flavoring and coloring agents for improving sensory characteristics of the food and others. Ginger oleoresin can be used in the food industry as a flavoring agent due to its similar taste to fresh ginger, but more concentrated, resulting in a high amount of components such as shogaol, gingerol and volatile compounds. Ginger oleoresin compounds present antioxidant and antimicrobial activity that enables its addition in food products as a functional ingredient. However, ginger oleoresin compounds are sensitive to environmental influences and are easily oxidized or volatilized. Encapsulation technologies have been used in the application of sensitive ingredients to decrease losses during food addition, mask unpleasant flavors, maintain the stability of the ingredients and its function (technological or nutritional), encapsulation for targeted delivery and conversion of viscous liquid into powder to facilitate application (Jayanudin, Rochmadi, Fahrurrozi, & Wirawan, 2016; Zhu, 2017).

There are several encapsulation strategies and arrangements. The spray chilling technique is an important strategy which is helpful to encapsulate and carry active compounds. This technology is used for microencapsulation of pharmaceuticals, nutritional ingredients and flavors and can be an alternative to produce solid dispersions. The particles are generally dense, spherical and smooth-surfaced, resulting in high encapsulation efficiency. Another advantage is that microparticles can be prepared without water or organic solvents which also eliminates the drying step, resulting in an environmentally friendly process (Okuro, Matos-Jr, & Favaro-Trindade, 2013; Oh, Guo, Heng, & Chan, 2014).

Using hydrophobic matrices, e.g. lipids with high melting point, spray chilling is an ideal technique to release the active compounds into a specific site. In a food matrix, the solid lipid microparticles (SLMs) can guarantee the targeted delivery only when temperatures are higher than the lipid melting point and in an environment where the particle has affinity, resulting in the dissolution of the hydrophobic matrix. Stearic acid can be used in the spray chilling process to act as a solid matrix, due to its high melting point, to guarantee the formation of solid particles. Nutritionally speaking, consuming it has a minimal effect on LDL cholesterol and no effect on HDL cholesterol since it can be converted more quickly to oleic acid than other saturated fat acids (O'Brien, 2009; Oh et al., 2014).

Many food products are partially or totally composed by emulsions, e.g., ice cream, soups, butter, mayonnaise, cheese, and the oil-in-water emulsion (o/w) is the most common (McClements, 2005). Thus, in order to verify the release behavior of the ginger oleoresin microparticles when inserted into a food product, an o/w emulsion was used as food model system. In addition, emulsions present oils in their composition which can cause oxidation reactions. Thus, as ginger has antioxidant potential (Ganji & Sayyed-Alangi, 2017), it was proposed to verify the behavior of the particle as antioxidant in emulsions when stored at different temperatures.

4.2. MATERIAL AND METHODS

4.2.1. Material

Core: A commercial ginger oleoresin with 30% ginger essential oil was kindly donated by NATUREX (São Paulo, Brazil). Wall material: Stearic acid (Sigma-Aldrich) was used as the solid lipid, and oleic acid (VETEC, Rio de Janeiro, Brazil) as liquid lipid. Food model system (emulsion): Instantgum BA[®] gum arabic was supplied by Nexira Brasil Comercial Ltd. (São Paulo, SP, Brazil). Xanthan gum was provided by Sigma Chemical Co, USA and sunflower oil (Bunge Alimentos S.A., Gaspar, Brazil) was purchased in the local market. The other reagents were of analytical grade.

4.2.2. Methods

4.2.2.1. Production of solid lipid microparticles

Each lipid component and ginger oleoresin (GO) were weighed according to their respective proportion, as shown in Table 4.1. The production of SLMs is described in Oriani et al. (2016).

Table 4.1. Solid lipid microparticles composition

Treatment	Ginger oleoresin	Stearic acid	Oleic acid
	(GO) (%, w/w)	(SA) (%, w/w)	(OA) (%, w/w)
I	10	90	-
II	10	75	15
III	20	80	-
IV	20	65	15

4.2.2.2. *Thermal characterization, surface morphology and crystalline structure of solid lipid microparticles*

4.2.2.2.1. **Thermal analysis**

Thermal analysis was performed by Differential Scanning Calorimetry, using a Modulated DSC 2920 thermal analyzer (TA Instruments, New Castle, Delaware, USA). Samples were weighed (~5 mg) in hermetically sealed aluminum pans. Operational conditions were: heating up to 80°C, remaining for 5 min, followed by cooling to -40°C (10°C/min) for 30 min, and then heating again to 80°C at a 5°C/min rate.

4.2.2.2.1.1. **Hot stage microscopy**

Physical changes in the solid lipid microparticles containing ginger oleoresin during melting were monitored by Hot Stage Microscopy. A hot plate (THMS 600, Linkam Scientific Instruments Ltd., United Kingdom) was connected to a temperature controller (FP 5 Mettler, Grefensee, Switzerland). A small amount of the microparticles was heated in the temperature range of 10–80 °C at 5°C/min. Changes in the samples were observed via an optical microscope (Nikon AZ100, Tokyo, Japan) (magnification 320×).

4.2.2.2.2. **Surface morphology**

Microparticles morphology was investigated using a scanning electron microscope with Energy Dispersive X-ray (LEO Electron Microscopy Leo 440i, Oxford, Cambridge, England), operating at 10 kV and electron beam current of 50 pA. Before analysis, microparticles were covered with a gold layer by a Sputter Coater Emitech k450 model (Kent, United Kingdom). Micrographs were obtained with magnification of 5000×.

4.2.2.2.3. **Crystalline structure**

X-ray powder diffraction technique was used to verify the crystalline structure of SLMs. A Philips X-ray diffractometer (Analytical, X Ray X'Pert-MPD, Almelo, Netherlands) was used to study the crystal structure and the diffraction was measured in the 2θ range from 5 to 30° of 0.02°/s. X-rays of $\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$ were generated by a Cu K α source.

4.2.2.2.4. **Active retention**

Retention of the pungent compounds of SLMs was calculated based on the ratios of (6)-gingerol and (6)-shogaol in the microparticles and 6-gingerol or 6-shogaol in the bulk GO. Retention of the main GO pungent compounds (6-gingerol and 6-shogaol) was measured

by HPLC (HPLC DIONEX, UltiMate 3000 model, U.S.A.), using the ISO 13685:1997 method (International Organization for Standardization, 1997).

Volatile compound retentions were calculated based on the ratios of the sums of the peak areas of GO compounds in the microparticles and the peak areas of bulk GO compounds, obtained in a GC-FID (HP7990, Agilent Technologies, USA). The volatiles were analyzed with an HP-5 MS capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.25 m - J&W Scientific, USA), with Helium carrier gas at a flow rate of 1 mL/min, as described in Oriani et al. (2016).

4.2.2.3. Model emulsion preparation with addition of ginger oleoresin microparticles and storage conditions

4.2.2.3.1. Model emulsion preparation

An oil-in-water (o/w) emulsion was used as a model system to addition of free or microencapsulated ginger. The emulsion formulation (Karaiskou, Blekas, & Paraskevopoulou, 2008; Castro, Rojas, Campos, & Gerschenson, 2009) was: sunflower oil (20%, g /100g emulsion), Tween[®]80 (1%, g /100g emulsion), gum Arabic (1%, g /100g emulsion), xanthan gum (0.3%, g /100g emulsion) and distilled water. The O/W emulsions were prepared by first slowly mixing sunflower oil into the solution containing others ingredients. The mixed solution was emulsified using a high shear (T18 Ultra-Turrax, IKA, Staufen, Germany) at a speed of 24,000 rpm for 3 min. The formulation containing free GO was prepared as the same condition, but GO was incorporated in the emulsion during high shear.

4.2.2.3.1.1. Addition of ginger oleoresin lipid microparticles on model emulsion

The incorporation of microparticles in the emulsion was the equivalent to 3,000 ppm of ginger oleoresin (Jorge, Veronezi, & Ré, 2015). After the emulsion preparation, the particles containing GO were added directly into the emulsion through a magnetic stirrer with agitation of 750 rpm until complete dispersion.

4.2.2.3.2. Storage conditions

The emulsion containing SLMs (E-SLMs), emulsion with free ginger oleoresin (E-GO) and control emulsion without ginger oleoresin were stored at three different temperatures:

10±1°C: Simulating storage condition under refrigerator temperature.

25±1°C: Storage at room temperature.

40±2°C: Extreme storage condition.

4.2.2.3.3. Evaluation of ginger oleoresin release to the model emulsion

The release study was performed during 28 days to verify the release behavior of the ginger oleoresin as well as the benefit of antioxidant action in the model emulsion system. A vacuum filtration system was used to separate the particles from the emulsion to verify the release of the oleoresin microparticles into emulsion during storage.

4.2.2.3.3.1. Release of pungent and volatile compounds into emulsion

0.5 mL of filtered emulsion was added into 1.5mL of methanol and extract of GO compounds was inserted into a vial for analysis via liquid chromatography (HPLC-UV). The methodology used was described in section 4.2.2.2.4. Pungent compounds contained in SLMs after spray chilling process was used as a control to compare the efficiency of pungent compounds released from SLMs into the emulsion after dispersion (day 0) and at the end of storage (day 28).

The release of volatiles from the SLMs into the emulsion was checked in the filtered emulsion after dispersion (day 0) and at the end of storage (day 28). The methodology used is described in section 4.2.2.2.4. The volatile retention in the emulsion (VR-E) was calculated by Eq. (1).

$$\% VR - E = \frac{\Sigma \text{peak areas of volatile release from SLMs into emulsion; day (0;28)}}{\Sigma \text{peak areas of SLMs before emulsion addition}} \quad \text{Eq. (1)}$$

4.2.2.3.3.2. Antioxidant analysis of ginger oleoresin release on emulsion

The antioxidant property was determined by Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) (Rufino et al., 2010). Trolox (10; 25; 50; 75; 100; 150; 200 mg) was used as the standard to generate the calibration curve (R^2 : 0.9991), and expressed as mg Trolox equivalent/L emulsion. Days of analysis: 0; 1; 3; 7; 14; 21; 28.

4.2.2.3.3.3. Peroxide value

The filtered emulsion that contained GO compounds, emulsion with free ginger oleoresin and control emulsion without ginger oleoresin, were analyzed. The peroxide value of sunflower oil contained in the emulsions was investigated. Extraction of sunflower oil was performed according to Partanen et al. (2008) with modifications. The determination of the peroxide value was performed by spectrophotometer using the standard method IDF 74A: 1991 (Shantha & Decker, 1994).

4.2.2.4. Statistical analysis

Results were subjected to analysis of variance (ANOVA) and a Tukey test with a significance level of 5%. The Minitab software trial edition (Minitab 16.1.0, Minitab Inc., State College, PA, USA) was used to compare the differences between the mean values.

4.3. RESULTS AND DISCUSSION

4.3.1. Thermal characterization, surface morphology and crystalline structure of solid lipid microparticles

Hot stage microscopy was carried out to optically examine the melting process of solid lipid microparticles. A sequence of microscope images was captured during heating of the microparticles (Figure 4.1). The image captured at melting onset (T_{ON} – obtained by DSC) showed agglomerated particles because was not possible observed unit particle. During melting point in the hot plate microscope, it was observed that the agglomerated particles resulted in transition of solid-liquid state, thus the melting point is the start to release the ginger oleoresin into the environment. At the end of melting (T_{END}), the solid lipid microparticles resulted in ginger oleoresin dissolved in a lipid matrix, without precipitation or agglomeration.

Melting properties of SLMs are of great importance since they will command the release of the actives. To guarantee the thermal stability of solid lipid microparticles until the application on a food product it is necessary that the solid lipid matrix formulation avoids melting the particles at room temperature, but ensures that in a special environment (temperature or chemical affinity) the lipid matrix results in a targeted delivery of the actives (Ciftci & Temelli, 2016; Yang & Ciftci, 2016).

The melting temperatures of the ginger oleoresin microparticles are listed in Figure 4.1. The onset of melting (T_{ON}) showed a value between 38-59°C, which were influenced by the matrix type. The samples with 20% oleoresin (III and IV) resulted in lower T_{ON} compared to the same sample composition with 10% oleoresin (I and II). The range of T_{ON} between the particles I – III and II – IV was around 5°C. This can be due matrix composition, because samples III and IV are composed with less stearic acid addition and this lipid is responsible to guarantee solid state of particles due to high melting point, so matrix composition reduce melting onset value, as can be seen in Figure 4.1. The melting points of SLMs were influenced by incorporation of liquid lipid, the matrix with 15% oleic acid resulted in values of 60.5 and 59.2°C for samples II and IV, respectively. On the other hand,

the particles with only stearic acid addition resulted in higher value, 66.1 and 64.8°C, for samples I and III, respectively. The composition of the physical mixture can influence the melting point of the matrix in a colligative manner, consequently the melting point is proportional to the increase or decrease of some specific component (Wong, Heng, & Chan, 2015). The melting profile of solid lipid microparticles is a critical point because it is one of the variables that can ensure a free-flowing dry powder, when corresponding to a melting point above 40°C. Free-flowing powder is desirable for easy handling, storage, and consumption (Alvim, Souza, Koury, Jurt, & Dantas, 2013; Yang & Ciftci, 2017). All samples resulted in a melting point above 59°C, which can guarantee a free flowing powder to be added in food formulations and safe thermal stability conduct for SLMs during storage.

The samples obtained by scanning electron microscope (SEM) presented particles with spherical surface, dense, and aggregated with smaller particles (Figure 4.1). Particles with stearic acid (I and III) showed a smooth surface, however this characteristic was lost when incorporating oleic acid, resulting in an irregular surface. Solid lipid microparticles with spherical shape can result in homogeneous mixing during product formulation, and controlled release of the active ingredient (Yang & Ciftci, 2016).

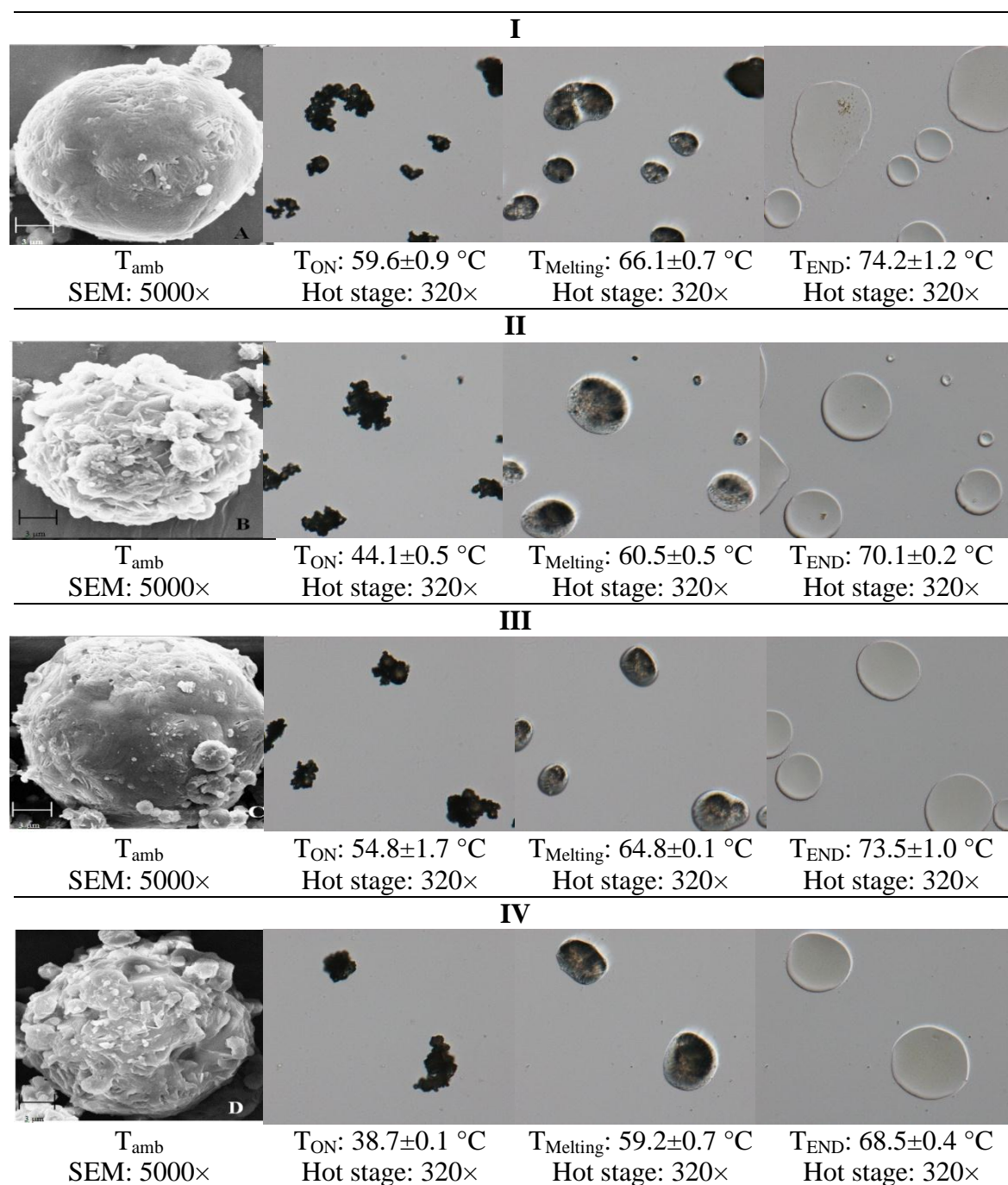


Figure 4.1. Morphology of lipid microparticles loaded with GO, obtained by SEM with 5000×. Particles behavior during melting obtained by hot stage microscopy (320×), and the respective thermal properties properties (T_{ON} ; $T_{Melting}$; T_{END}) during DSC analysis. (I) 90%SA; 10%GO. (II) 75%SA; 10%GO; 15%OA. (III) 80%SA; 20%GO. (IV) 65%SA; 20%GO; 15%OA. GO: ginger oleoresin. SA: stearic acid. OA: oleic acid.

The main crystalline structures present in lipids are hexagonal, orthorhombic and tricyclic; these structures have specific spacing among the crystals that are detected by X-rays diffraction. Crystalline structures are responsible for maintaining or expelling the actives in the solid lipid microparticles (Müller, Radtke, & Wissing, 2002; McClements & Decker, 2010). All particles herein resulted in an orthorhombic crystalline structure, with spacing of 4.1Å and 3.7Å, as shown in Figure 4.2; however, samples II, III and IV presented lower peak intensity than stearic acid and sample I, which can indicate crystalline perturbation to those particles. Alteration in the peak intensities is associated to the presence of liquid lipid or amorphous compounds that resulted in less crystalline particles (Liu, & Wu, 2010; Oriani et al., 2016).

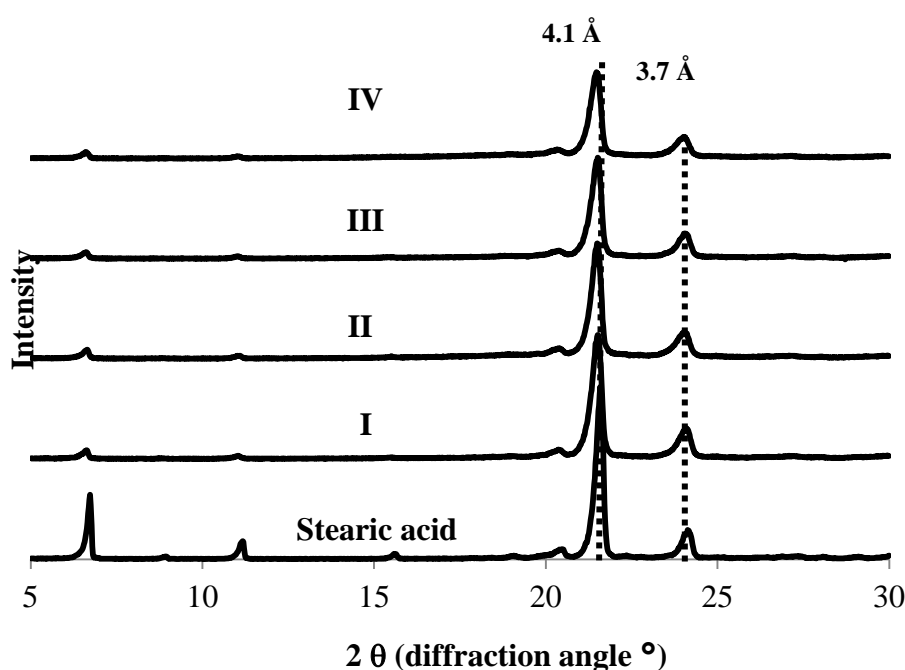


Figure 4.2. X-ray diffraction of stearic acid and solid lipid microparticles containing ginger oleoresin. (I) 90%SA; 10%GO. (II) 75%SA; 10%GO; 15%OA. (III) 80%SA; 20%GO. (IV) 65%SA; 20%GO; 15%OA. GO: ginger oleoresin. SA: stearic acid. OA: oleic acid.

4.3.2. Compounds retention in solid lipid microparticles after spray chilling process

Commercial ginger oleoresin presents volatile and pungent compounds that are responsible for a flavor profile similar to fresh ginger (Balakrishnan, 2005). Pungent compounds are non-volatile, then the solid lipid microparticle formation process did not influence on the retention of the majority of pungent compounds of ginger oleoresin (Table 4.2). 6-gingerols represent the highest concentration in ginger oleoresin, and all particles displayed more than 98% retention. 6-shogaol is the second majority pungent compound, and resulted in high retention, 98%. Volatile compounds showed different profile retention according to the solid lipid microparticle composition. Samples I and III showed the highest

retention of volatiles, due to higher stearic acid concentration and the incorporation of oleic acid resulted in lower retention, samples II and IV. More crystalline particles result in higher retention of volatiles, due to faster crystallization of stearic acid during the spray chilling process. The oleic acid induces the formation of disorganized crystalline structures that facilitate diffusion of volatiles during solid lipid microparticles formation (Oriani et al., 2016).

Table 4.2. Ginger oleoresin compounds retention in solid lipid microparticles after spray chilling process.

Treatment	SLMs characterization		
	Volatile Retention (%)	6-gingerol (%)	6-shogaol (%)
I - 10%GO; 90%SA	88.5 ± 2.9 ^a	99.5 ± 0.8 ^a	98.3 ± 1.4 ^a
II - 10%GO; 75%SA; 15%OA	54.3 ± 1.6 ^b	98.9 ± 1.7 ^a	98.6 ± 1.9 ^a
III - 20%GO; 80%SA	82.5 ± 1.6 ^a	99.8 ± 2.2 ^a	99.1 ± 0.6 ^a
IV - 20%GO; 65%SA; 15%OA	53.2 ± 3.4 ^b	99.8 ± 1.9 ^a	99.9 ± 1.4 ^a

^{a,b} Different lowercase letters in each column represent statistically significant difference ($p \leq 0.05$) by the Tukey test. GO: ginger oleoresin. SA: stearic acid. OA: oleic acid.

4.3.3. Evaluation of ginger oleoresin release into the model emulsion

The use of SLMs incorporated in the emulsion sought to delay or slow down the contact of the oleoresin within the emulsion during the food processing. Consequently, we studied the release behavior of oleoresin contained in the SLMs and the antioxidant capacity of the oleoresin during release as a benefit to maintain the quality of the emulsion oil.

4.3.3.1. Release of pungent and volatile compounds into emulsion

After SLMs dispersion into emulsion, release of volatile and pungent compounds was analyzed, according to Table 4.3. More than 60% of volatiles and 75% of the pungent compounds were released into the emulsion, resulting in higher release during SLMs dispersion. According to the literature, the use of lipids as a matrix for SLMs formation can favor the release in the environment with a temperature increase or solution-matrix affinity, particle melting or dissolution occurring, respectively (Favaro-Trindade, Okuro, & Matos-Jr, 2015). For GO release during dispersion, two hypotheses arose for the SLMs compounds release: mechanical stirring can provide energy to the emulsion; this consequently increases the emulsion temperature (Karcher, Perrechil, & Bannwart, 2015) that can induce the melting of SLM. However, we cannot affirm that the increase of emulsion temperature was responsible for the SLMs melting, resulting in GO compounds release, because the emulsion

temperature was not measured during SLMs addition. The last hypothesis and the one more in accordance with the literature (Samtlebe, Yucel, Weiss, & Coupland, 2012; Zafeiri, Smith, Norton, & Spyropoulos, 2017) is the affinity of the oil emulsion and matrix composition of SLMs: agitation favored the dissolution effect due to the affinity of the oil emulsion and SLMs and consequently, resulted in SLMs dissolution during dispersion (Siepmann & Siepmann, 2013). Volatile compounds showed higher release in samples II and IV (formulation with oleic acid) than in I and III. Lipid molecules from the sunflower oil emulsion diffuse through the SLMs, consequently acting as a solvent for the crystalline lipid (Samtlebe et al., 2012), thus formulations with less stearic acid can diffuse more quickly than the stearic acid matrix. Matrix composition affects only the release of volatile compounds during dispersion in the emulsion, but not for pungent compounds (Table 4.3). The use of a matrix with high lipid solids content can be other way to delay or slow down the contact of the oleoresin within the emulsion during SLMs dispersion.

After dispersion, the emulsions containing SLMs were stored under different temperatures, and GO compounds released into the emulsion were measured after vacuum filtration on 28th day, according to Table 4.3. However, volatile release value may be influenced by air suction to vacuum formation that can result in partial volatile suction; consequently the real value of volatile release on emulsion was not possible to measure. Thus, the discussion about volatile was affected due to this problem just verified after finish the storage study: Comparing the same formulation at 10°C and 25°C, the volatile compounds did not present a difference after 28 days of storage. At 40°C samples I, II and III were influenced by storage temperature, resulting in less volatile retention in the emulsion. The environment shows influences on flavor retention in food products, for example, temperature, film formed, oil type and concentration (Chen, Guo, Wang, Yin, & Yang, 2016; Mao, Roos, Biliaderis, & Miao, 2017). The pungent compounds release did not show significant difference at the distinct storage temperatures; probably the non-volatile characteristic of these compounds contributed to maintaining their stability in the emulsion, and the high release after dispersion (day 0) contributed to no statistical difference of pungent compounds at the end of storage at different temperatures.

Table 4.3. SLMs-GO compounds release into emulsion after dispersion (day 0) and SLMs-GO release into emulsion on day 28, storage at different temperatures.

SLMs release into emulsion after dispersion (day 0)			SLMs release into emulsion on day 28									
Volatiles Release (%)	Pungent compounds release		Volatiles release (%)			Pungent compounds release (%)						
	6-G (%)	6-S (%)	10 °C	25 °C	40 °C	6-G	6-S	6-G	6-S	6-G	6-S	
						10 °C	25 °C	25 °C	40 °C	40 °C	40 °C	
I	62.3±2.5 b	78.7±3.0 a	80.4±4.0 a	72.6±3.7 bA	69.2±1.8 bA,B	65.3±0.9 bB	84.5±3.4 aA	86.1±1.2 aA	87.4±3.3 aA	88.1±1.5 aA	94.2±5.7 aA	85.1±6.3 aA
II	75.7±1.0 a	91.7±8.5 a	87.8±7.6 a	88.9±8.4 aA	81.2±6.5 a,bA,B	71.8±1.3 bB	90.1±5.9 aA	93.6±0.5 aA	91.1±1.6 aA	88.7±1.8 aA	99.7±5.8 aA	95.0±4.0 aA
III	67.0±2.6 a,b	81.0±6.3 a	83.3±2.7 a	82.2±4.3 a,bA	78.3±2.4 a,bA	68.4±1.8 bB	87.3±1.8 aA	88.8±5.8 aA	87.5±2.5 aB	87.9±5.4 aA	99.2±3.1 aA	94.3±4.9 aA
IV	74.7±3.0 a	92.2±4.3 a	89.6±2.9 a	78.1±3.2 a,bA	89.2±8.8 aA	82.0±7.2 aA	90.3±4.3 aA	91.0±2.0 aA	91.3±1.8 aA	88.6±5.1 aA	98.9±1.7 aA	91.1±5.3 aA

(I) 90%SA; 10%GO. **(II)** 75%SA; 10%GO; 15%OA. **(III)** 80%SA; 20%GO. **(IV)** 65%SA; 20%GO; 15%OA.

GO: ginger oleoresin. **SA:** stearic acid. **OA:** oleic acid. **6-G:** 6-gingerol. **6-S:** 6-shogaol

^{a,b} Different lowercase letters in each column represent statistically significant difference ($p \leq 0.05$) by the Tukey test.

^{A,B} Different capital letters of the same sample, stored at different temperatures, represent statistically significant difference ($p \leq 0.05$) by the Tukey test.

4.3.3.2. *Antioxidant capacity of ginger oleoresin release into model emulsion*

The antioxidant capacity of ginger oleoresin during a storage period of 28 days under different temperatures is presented in Figure 4.3. Ginger has high antioxidant activity, similar to synthetic antioxidants (Yeh et al., 2014; Si, Chen, Zhang, Chen, & Chung, 2018). Ginger oleoresin presents phenolic compounds that are responsible for antioxidant properties that might be attributed to their hydroxyl groups, being the predominant compounds are 6-gingerol, 6-shogaol and others (Huang, Chung, Wang, Law, & Chen, 2011; Si et al., 2018). The addition of free GO (3,000 ppm) in the emulsion showed the equivalent of 748 mg Trolox/L emulsion after dispersion and the SLMs addition in the emulsion presented between 570 – 661 mg Trolox equivalent/L in emulsion. The difference in antioxidant capacity between the free GO emulsions and encapsulated GO was evident due to a non-total release of SLMs after dispersion.

During storage at all temperatures, it was observed that the release of ginger-antioxidant compounds from SLMs occurred up to the 7th day. The others days in each storage temperature showed a specific behavior for antioxidant properties. At 10°C and 25°C, after day 7 there in the release reached the equilibrium, resulting in constant antioxidant properties up to the end of storage period. At 10°C and 25°C storage temperature, the SLMs were not completely dissolved until the end of storage, as presented in the example in the filter paper shown in Figure 4.3, where the emulsion was filtered to retain the particles not dissolved. However, SLMs containing in emulsion and storage at 40°C presented complete dissolution on the 28th day, probably caused by the association of storage temperature and solution-matrix affinity favoring the dissolution of SLMs and consequent total release of GO compounds. However, it was observed that all samples showed a sharp drop in Trolox values after the 7th day at 40°C. This behavior is associated to pro-oxidant activities of the oil emulsion, due to the presence of oleic and linoleic fatty acid in sunflower oil, which are responsible for free radicals formation (Chatterjee & Bhattacharjee, 2013; Kishk & Elsheshetawy, 2013), thus affecting the antioxidant property results. After the 28th day, emulsion containing SLMs and free GO presented higher antioxidant values, for storage at 10 and 25°C. Therefore, we can use either un-encapsulated or encapsulated ginger oleoresin as natural antioxidants since both resulted in similar behavior under refrigerated and ambient temperature.

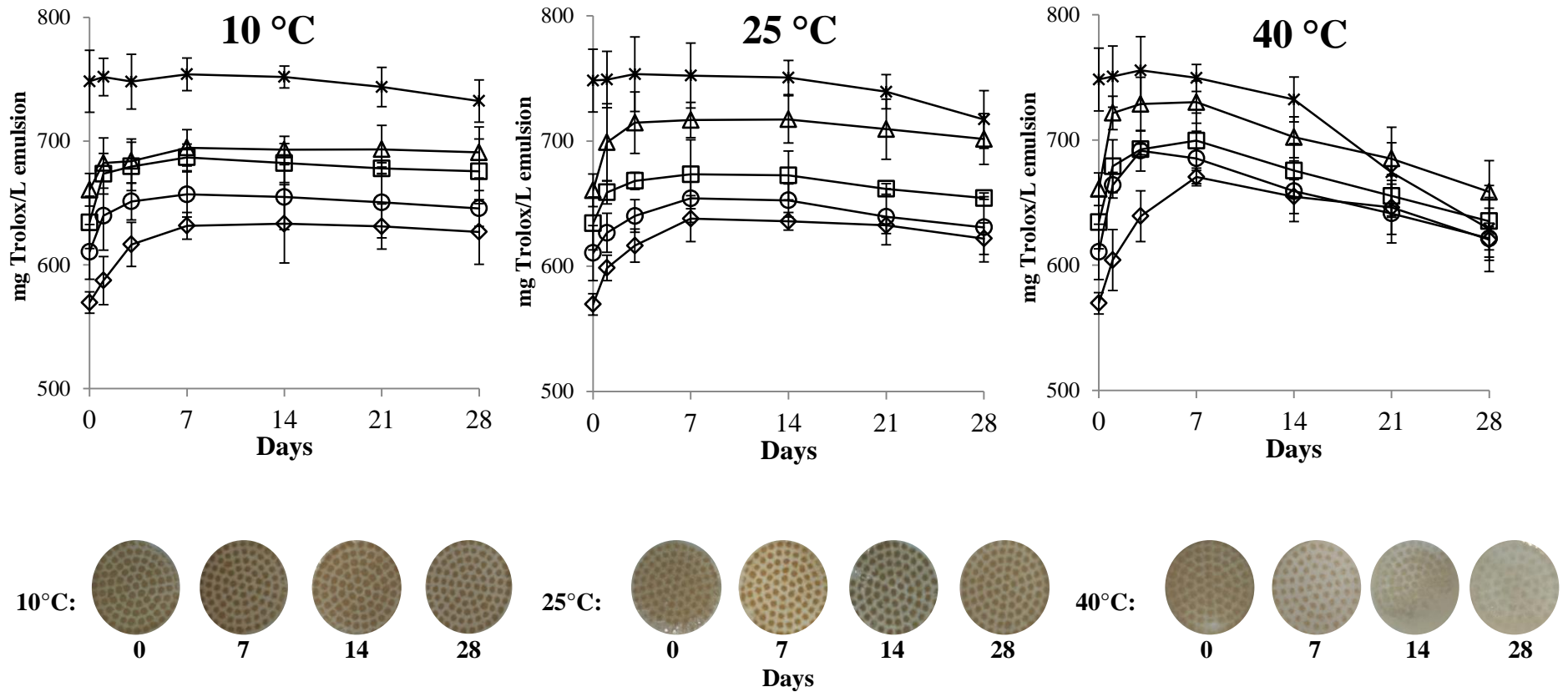


Figure 4.3. Antioxidant properties of ginger oleoresin release into the model emulsion during storage at different temperature and the retention of ginger lipid microparticles on filter paper during emulsion filtration. ○: 90%SA; 10%GO. ◻: 75%SA; 10%GO; 15%OA. ◊: 80%SA; 20%GO. ▲: 65%SA; 20%GO; 15%OA. ✕: free ginger oleoresin.

4.3.3.3. Peroxide value of the oil contained in the emulsion

Peroxide value is the most common method of assessing oxidative stability of vegetable oils. Hydroperoxide is the primary product of unsaturated lipid autoxidation. Peroxide value measures the concentration of hydroperoxides formed in the initial stages of lipid oxidation (Sun, Wang, Chen, & Li, 2011).

The SLMs were partially dissolved on the 14th day when stored at 40 °C and from this day, a decrease in antioxidant capacity was verified (Figure 4.3). As a consequence, in order to check parallel degradation, peroxide values began to be monitored. Control emulsion without ginger oleoresin and emulsion with free ginger oleoresin (E-GO) were used to compare the results with emulsions with SLMs addition. Table 4.4 shows temperature effect on the oil emulsion oxidation. The control emulsion showed an increase of peroxide value with temperature increase, for the same days of storage.

Table 4.4. Peroxide value of control emulsion, emulsion with free ginger oleoresin and model emulsion with ginger oleoresin microparticles (I; II; III; IV) addition.

Days	Peroxide value 10 °C (m _{eq.} O ₂ /kg oil)*		Peroxide value 25 °C (m _{eq.} O ₂ /kg oil)*		Peroxide value 40 °C (m _{eq.} O ₂ /kg oil)*	
	14	28	14	28	14	28
	Control ¹	0.77±0.06 ^{aC}	0.95±0.20 ^{aC}	2.13±0.06 ^{aB}	2.74±0.14 ^{aB}	6.64±0.29 ^{aA}
Free ²	0.73±0.04 ^{aC}	0.69±0.14 ^{a,bB}	0.98±0.11 ^{bB}	1.45±0.14 ^{bB}	2.44±0.07 ^{bA}	4.03±0.79 ^{bA}
I	0.23±0.08 ^{dA}	0.56±0.16 ^{bB}	0.34±0.05 ^{cA}	0.78±0.11 ^{cA,B}	0.61±0.09 ^{cA}	1.11±0.02 ^{cA}
II	0.30±0.06 ^{c,dB}	0.51±0.06 ^{bB}	0.46±0.10 ^{cA,B}	0.56±0.07 ^{cB}	0.69±0.07 ^{cA}	1.06±0.11 ^{cA}
III	0.51±0.02 ^{bA,B}	0.63±0.04 ^{a,bB}	0.46±0.02 ^{cB}	0.83±0.02 ^{cA,B}	0.57±0.01 ^{cA}	1.04±0.11 ^{cA}
IV	0.46±0.01 ^{b,cA}	0.47±0.05 ^{bB}	0.52±0.09 ^{cA}	0.54±0.05 ^{cB}	0.50±0.14 ^{cA}	1.06±0.21 ^{cA}

¹ Control emulsion without ginger oleoresin

² Emulsion with free ginger oleoresin

* Milliequivalents of peroxide oxygen per 1 kilogram of sunflower oil.

(I) 90%SA; 10%GO. (II) 75%SA; 10%GO; 15%OA. (III) 80%SA; 20%GO. (IV) 65%SA; 20%GO; 15%OA.

^{a,b,c,d} Different lowercase letters in each column represent statistically significant difference ($p \leq 0.05$) by the Tukey test.

^{A,B,C} Different capital letters of the same sample stored at different temperatures represent statistically significant difference ($p \leq 0.05$) by the Tukey test.

Emulsion with free GO showed higher peroxide value during storage at 25°C and 40°C when compared to emulsions containing SLMs, at same temperatures. The free oleoresin was totally exposed to the emulsion environment since the beginning, unlike the oleoresin contained in the SLMs, which was gradually exposed to emulsion until day 7 (Figure 4.3). Chatterjee & Bhattacharjee (2013) commented that the controlled release of

antioxidants from encapsulated clove extract could have possibly prevented the synergistic effect of pro- and anti- oxidant activities of soybean frying oil compared to free clove extract. During storage it was found that the emulsion with free GO and emulsion containing SLMs were able to preserve the sunflower oil from oxidation when stored at temperatures of 10 °C, 25 °C and 40 °C, when compared to the control emulsion, this being an indication of the benefit of oleoresin incorporation with the purpose of providing an antioxidant effect on food products.

4.4. CONCLUSIONS

The spray chilling technique present favorable conditions for the formation of a powder. As a result, these particles can facilitate ginger oleoresin dispersion into a food product. The addition of SLMs containing ginger oleoresin in an oil-in-water emulsion can be an alternative to delay or slow down the contact of the flavor with the foodstuff, since flavors, when directly incorporated into a food can degrade or volatilize. Thus the SLMs lipid matrix will behave as a barrier and temperature or matrix dissolution will be able to release the oleoresin into the emulsion. The antioxidant properties revealed that SLMs can have a promising potential as a natural antioxidant to be incorporated into an emulsion.

References

- Alvim, I. D., Souza, F.S., Koury, I. P., Jurt, T., & Dantas, F.B.H. (2013). Use of the spray chilling method to deliver hydrophobic components: physical characterization of microparticles. *Food Science and Technology*, 33, 34-39.
- Balakrishnan, K. V. (2005). Postharvest and Industrial Processing of Ginger. In Ravindran P.N. & Nirmal Babu K (Eds), *Ginger The Genus Zingiber* (pp 391–434). CRC Press, Massachusetts.
- Castro, M.P., Rojas, A.M., Campos, C.A., & Gerschenson, L.N. (2009). Effect of preservatives, tween 20, oil content and emulsion structure on the survival of *Lactobacillus fructivorans* in model salad dressings. *LWT – Food Science and Technology*, 42, 1428-1434.
- Chen, X-W., Guo, J., Wang, J-M., Yin, S-W., & Yang, X-Q. (2016). Controlled volatile release of structured emulsions based on phytosterols crystallization. *Food Hydrocolloids*, 56, 170-179.
- Ciftci, O.N., & Temelli, F. Formation of solid lipid microparticles from fully hydrogenated canola oil using supercritical carbon dioxide. (2016). *Journal of Food Engineering*, 178, 137-144.
- Favaro-Trindade, C. S., Okuro, P. K., & Matos Jr, F.E. (2015). Encapsulation via spray chilling/cooling/congealing. In M. Mishra (Ed), *Handbook of encapsulation and controlled release* (pp 71-87). Boca Raton, London: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Ganji, S., & Sayyed-Alangi, S.Z. (2017). Encapsulation of ginger ethanolic extract in nanoliposome and evaluation of its antioxidant activity on sunflower oil. *Chemical Papers*, 71(9), 1781-1789.

- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 330–347.
- Chatterjee, D., & Bhattacharjee, P. (2013). Comparative evaluation of the antioxidant efficacy of encapsulated and un-encapsulated eugenol-rich clove extracts in soybean oil: Shelf-life and frying stability of soybean oil. *Journal of Food Engineering*, 117, 545–550.
- Huang, T.-C., Chung, C.-C., Wang, H.-Y., Law, C.-L., & Chen, H.-H. (2011). Formation of 6-shogaol of ginger oil under different drying conditions. *Drying Technology*, 29, 1884–1889.
- Jayanudin, Rochmadi, Fahrurrozi, M., & Wirawan, S.K. (2016). Microencapsulation technology of ginger oleoresin with chitosan as wall material: A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6, 209-223.
- Jorge, N., Veronezi, C.M., & Ré, P.V.D. (2015). Antioxidant effect of thyme (*Thymus Vulgaris* L.) and oregano (*Origanum Vulgare* L.) extracts in soybean oil under thermoxidation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 1399–1406.
- Karaiskou, S., Blekas, G. & Paraskevopoulou, A. (2008). Aroma release from gum arabic or egg yolk/xanthan-stabilized oil-in-water emulsions. *Food Research International*, 41, 637-645.
- Karcher, V., Perrechil, F.A., & Bannwart, A.C. (2015). Interfacial energy during the emulsification of water-in-heavy crude oil emulsions. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 32, 127 - 137.
- Kishk, Y.F.M., & Elsheshetawy, H.E. (2013). Effect of ginger powder on the mayonnaise oxidative stability, rheological measurements, and sensory characteristics. *Annals of Agricultural Sciences*, 58, 213-220.
- Liu, C.-H., & Wu, C.-T. (2010). Optimization of nanostructured lipid carriers for lutein delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 353, 149-156.
- Mao, L., Roos, Y. H., Biliaderis, C. G., & Miao, S. (2017). Food emulsions as delivery systems for flavor compounds: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 3173-3187.
- Müller, R.H., Radtke, M., & Wissing, S.A. (2002). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, S131-S155.
- McClements, D.J., & Decker, E.A. (2008). Lipids. In S. Damodaran, K.L. Parkin, & O.R. Fennema (Eds). *Food Chemistry* (pp 155-216). Boca Raton: CRC Press.
- O'Brien, R.D. (2009). Fats and Oils Formulation. In __ (Eds). *Fats and Oils - Formulating and Processing for Applications* (pp 263-345). Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Oh, C.M., Guo, Q., Heng, P.W.S., & Chan, L.W. (2014). Spray-congealed microparticles for drug delivery – an overview of factors influencing their production and characteristics. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 11, 1047-1060.
- Okuro, P. K., Matos-Jr, F., & Favaro-Trindade, C.S. (2013). Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. *Food Technology and Biotechnology*, 51, 171-182.
- Oriani, V.B., Consoli, L., Molina, G., Pastore, G.M., Alvim, I.D., & Hubinger, M.D. (2016). Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention. *Food Research International*, 80, 41-49.
- Partanen, R., Raula, J., Seppänen, R., Buchert, J., Kauppinen, E., & Forssell, P. (2008). Effect of relative humidity on oxidation of flaxseed oil in spray dried whey protein emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5717-5722.

- Rufino, M., Alves, R.E., Brito, E.S., Perez-Jimenez, J., Saura-Calixto, F.D., & Mancini Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of eighteen nontraditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121, 996-1002.
- Samtlebe, M., Yucel, U., Weiss, J., & Coupland, J.N. (2012). Stability of solid lipid nanoparticles in the presence of liquid oil emulsions. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, 609-617.
- Shantha, N.C., & Decker, E.A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide value of food lipid. *Journal of AOAC International*, 77, 421-424.
- Si, W., Chen, Y.P., Zhang, J., Chen, Z.-Y., & Chung, H.Y. (2018). Antioxidant activities of ginger extract and its constituents toward lipids. *Food Chemistry*, 239, 1117-1125.
- Siepmann, J., & Siepmann, F. (2013). Mathematical modeling of drug dissolution. *International Journal of Pharmaceutics*, 453, 12-24.
- Sun, Y.-E., Wang, W.-D., Chen, H.-W., & Li, C. (2011) Autoxidation of Unsaturated Lipids in Food Emulsion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 453-466.
- Wong, P.C.H., Heng, P.W., & Chan, L.W. (2015). Determination of Solid State Characteristics of Spray-Congeaed Ibuprofen Solid Lipid Microparticles and Their Impact on Sustaining Drug Release. *Molecular Pharmaceutics*, 12, 1592-1604.
- Yang, J., & Ciftci, O.N. (2016). Formation of hollow solid lipid micro- and nanoparticles using supercritical carbon dioxide. *Food and Bioproducts Processing*, 98, 151-160.
- Yang, J., & Ciftci, O.N. (2017). Encapsulation of fish oil into hollow solid lipid micro- and nanoparticles using carbon dioxide. *Food Chemistry*, 231, 105-113.
- Yeh, H-U, Chuang, C-H., Chen, H-C., Wan, C-J., Chen, T-L., & Lin, L-Y. (2014). Bioactive components analysis of two various gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 55, 329-334.
- Zafeiri, I., Smith, P., Norton, I.T. & Spyropoulos, F. (2017). Fabrication, characterisation and stability of oil-in-water emulsions stabilised by solid lipid particles: the role of particle characteristics and emulsion microstructure upon Pickering functionality. *Food and Function*, 8, 2583-2591.
- Zhu, F. (2017). Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems. *Food Chemistry*, 229, 542-552.

- CAPÍTULO V -

Evaluation of storage temperature on stability of lipid microparticles containing ginger oleoresin

Vivian Boesso Oriani^a, Izabela Dutra Alvim^b, Bruno Nicolau Paulino^c, Fernanda Ramalho Procópio^a, Glauca Maria Pastore^c, Míriam Dupas Hubinger^a

^aLaboratory of Process Engineering, Department of Food Engineering, School of Food Engineering, University of Campinas, CEP 13083-862, Campinas, SP, Brazil

^bCereal and Chocolate Technology Center – CEREAL CHOCOTEC, Food Technology Institute – ITAL, CEP 13070-178, Campinas, SP, Brazil

^cLaboratory of Bioflavors, Department of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, CEP 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil

Submitted to Food Research International

ABSTRACT

Ginger oleoresin (GO) can be encapsulated within a protective lipid matrix in order to facilitate handling, provide protection against the external environment or promote the stability of GO compounds. The aim of this study was to verify the ability of solid lipid microparticles (SLMs) containing GO (10-20%w/w) to maintain or improve the stability of ginger compounds, by the monitoring of SLMs characteristics during storage at different temperatures (25-40°C). The crystalline structure of the particles after 84-days of storage did not present polymorphic alteration and presented spherical form by scanning electron microscopy. SLMs containing oleic acid (15%w/w) showed the degradation of 6-gingerol when stored at 40°C. Major volatile compounds showed better stability for particles containing oleic acid and kinetics of volatiles release resulted in a diffusion mechanism. SLMs showed better stability of GO compounds during storage at 25°C than un-encapsulated GO and could improve the distribution of GO in foods due to conversion to powder.

Keywords: spray chilling; conversion to ar-curcumene; instability of 6-gingerol; lipid compatibility; Avrami's equation.

Highlights

- Oleic acid favored the compatibility with stearic acid and ginger oleoresin blend.
- Unsaturated lipid favored volatile retention but resulted in pungent degradation.
- SLMs stored at ambient temperature promotes stability of volatiles and pungent.
- Storage temperature affects volatile release.

5.1. INTRODUCTION

Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) is a rhizome and one of the most commonly used species of the family Zingiberaceae. It is grown in some tropical regions, such as India, China, Nigeria, Australia and Jamaica and is used throughout the world as a spice, conferring specific flavor and odor, besides having several potential pharmacological activities, including cardiovascular protection, antioxidant potential, anti-inflammatory activity and glucose reducer, among others. The pungency compounds (gingerols and shogaols) and volatile constituents (sesquiterpenes and monoterpenes) contribute to health improvement perspectives (Butt & Sultan, 2011; Said, Arya, Pradhan, Singh, & Rai, 2015, Srinivasan, 2017).

The use of spice oleoresins has increased significantly in the food industry, especially for facilitating the flavor standardization through the monitoring of compounds, in addition to the absence of microbiological contamination, compared to the fresh spice. They are considered a GRAS (Generally Recognized As Safe) food and due to this ingredient present in concentrated form, storage space is reduced and small amount can be used (Balakrishnan, 2005; Bailey-Shaw et al., 2008; Murthy, Gautam, & Naik, 2015).

Ginger oleoresin is a viscous product containing volatile and non-volatile compounds. Pungent compounds, volatile oil and lipids are the majority and other non-volatile compounds are in lower concentrations. Volatiles are present in the ginger essential oil, which can be added into the oleoresin to provide characteristics similar to the fresh product, in relation to odor and taste (Zachariah, 2008; Said et al., 2015). The ginger pungency is mainly due to the non-volatile compounds. The major pungent compounds of ginger oleoresin are gingerols and shogaols, which are responsible for the ginger taste. 6-gingerol is the most abundant in ginger oleoresin, and upon applying heat or storage, can be converted into a dehydrated compound 6-shogaol or via a condensation mechanism, to zingerone. The increase of these compounds can lead to a loss of ginger oleoresin quality (Bailey-Shaw et al., 2008; Huang, Chung, Wang, Law, & Chen, 2011; Gopi, Varma, & Jude, 2016). The predominant volatile compounds in ginger oleoresin are the sesquiterpenes α -zingiberene, β -sesquiphellandrene and ar-curcumene. These compounds, under inadequate storage, such as excessive light and heat, convert to ar-curcumene, indicating quality loss of the volatile oil (Vernin, & Parkanyl, 2005; Zachariah, 2008).

Flavor encapsulation is a common way to improve the performance and stability of compounds. In general, encapsulation provides protection for a flavor by reducing losses and increases the quality through prevention of degradation or retardation of its volatilization. Additionally, encapsulation provides a means for controlled release, as well as conversion of a liquid or viscous flavor into a solid powder (Koupantsis & Paraskevopoulou, 2017). The use of spray chilling techniques for the formation of solid lipid microparticles (SLMs) has been studied in recent years in the pharmaceutical and veterinary areas (Meunier et al., 2007; Passerini et al., 2010; Martins, Siqueira, & Freitas, 2012), but there are few studies for SLMs for application in food compared to the spray drying technique. The formation of particles by the spray chilling technique consists in the use of lipid carriers, such as fatty acids, triacylglycerols and waxes, or their mixture, which must be solid at room temperature to result in a rigid consistency to ensure particles with good physical resistance, dispersibility, ease of handling and storage (Zuidam; Shimoni, 2010; Okuro; Matos-Jr; Favaro-Trindade, 2013; Oh et al., 2014).

Thus, the aim of this work was to produce different SLM compositions containing ginger oleoresin, by the spray chilling technique and to evaluate the stability of ginger volatile and pungent compounds at different storage temperatures (25 and 40°C). SLM characterizations, such as crystalline structure, mean diameter and morphology, were evaluated during stability in order to verify particle compartment.

5.2. MATERIAL AND METHODS

5.2.1. *Material*

Commercial ginger oleoresin (30% of ginger essential oil) was kindly donated by NATUREX (São Paulo, Brazil). The solid lipid sample stearic acid (Sigma-Aldrich) was used as solid lipid matrix, and oleic acid (VETEC, Rio de Janeiro, Brazil) as liquid lipid. All other reagents used were of analytical grade.

5.2.2. *Methods*

5.2.2.1. *Compatibility of lipids and ginger oleoresin blend*

The compatibility was determined using nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometry (Bruker Minispec PC120) and a high precision dry bath (0-70°C) (TCON 2000 - Duratech, USA), according to the AOCS method Cd 16b-93. The compatibility or miscibility

of the lipids and oleoresin blend was determined by the analysis of the isothermal solid diagrams. This analysis was carried out in Laboratory of Oils and Fats located at School of Food Engineering, UNICAMP.

5.2.2.2. *Production of SLMs*

Each lipid component and ginger oleoresin (GO) were weighed according to their respective proportion, as shown in Table 5.1. The lipids were heated up to 85°C by a temperature controlled water bath (Tecnal, TE-184, Piracicaba, Brazil). Then they were added to GO and the mixture (0.050 kg) was kept under magnetic stirring. SLMs were obtained using a Büchi-B290 spray dryer set to the spray chiller mode (Büchi, Flawil, Switzerland). The mixture was fed into a heated double fluid atomizer with nozzle diameter of 2.0 mm using a peristaltic pump, at a mass flow rate of 0.7 kg/h. SLMs were formed within a cooled chamber where inlet air temperature was at 7°C.

Table 5.1. SLMs formulations

Components	Samples (% w/w)			
	I	II	III	IV
Ginger oleoresin (GO)	10	10	20	20
Stearic acid (SA)	90	75	80	65
Oleic acid (OA)	-	15	-	15

5.2.2.3. *Storage Conditions for the Stability Study*

After microparticles production, the powders and un-encapsulated ginger oleoresin were stored in sealed airtight plastic containers, and were placed under two different temperatures: 25 °C (ambient temperature) and 40 °C (extreme condition) for 84 days. For each day of analysis, a container of each formulation was used, not returning the container to the storage.

5.2.2.4. *Characterization of microparticles during storage*

5.2.2.4.1. **Crystalline structure**

The crystalline structure of SLMs was determined by X-ray powder diffraction technique. A Philips X-ray diffractometer (Analytical, X Ray X'Pert-MPD, Almelo,

Netherlands) using X-rays of $\lambda=1.54056 \text{ \AA}$ were generated by a Cu K α source. The diffraction was measured in the 2θ range from 5 to 30° of $0.02^\circ/\text{s}$. Days of analysis: 0 and 84.

5.2.2.4.2. Surface morphology

The SLM surface was observed in a scanning electron microscope (SEM) (LEO Electron Microscopy 440i, Oxford-Cambridge, England), which was performed with accelerating voltage of 10 kV and a 50 pA beam current. Microparticles were covered with thin layer of gold in a Sputter Coater Emitech (model k450, Kent, United Kingdom). Micrographs were obtained with magnification of $500\times$ and $5000\times$. Days of analysis: 0 and 84.

5.2.2.4.3. Mean volumetric diameter

The mean volumetric diameter (D_{43}), Equation 1, of the SLMs were determined by the laser diffraction technique using in a Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK). Days of analysis: 0 and 84.

$$D_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (1)$$

5.2.2.4.4. Stability of pungent compounds

The pungent compounds retention (%) during the storage stability was calculated in relation to the proportions of 6-gingerol, 6-shogaol and zingerone present on day 0 in the microparticles and in the un-encapsulated GO. The analysis was carried out on days 0,14,28,56 and 84.

Retention of the main GO pungent compounds (6-gingerol, 6-shogaol and zingerone) was measured by HPLC (HPLC DIONEX, model LC UltiMate 3000, USA), using the ISO 13685:1997 method (International Organization for Standardization, 1997).

5.2.2.4.5. Retention and stability of volatile compounds

During stability of SLMs, the volatile compounds retention were calculated based on the ratios of the sums of the peak areas of ginger oleoresin compounds in the microparticles and the peak areas of un-encapsulated GO compounds, obtained in GC-FID (HP7990, Agilent Technologies, USA). The volatiles were analyzed with an HP-5 MS capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.25 m - J&W Scientific, USA), with helium carrier gas at a flow rate of 1 mL/min, as described in Oriani et al. (2016).

The degradation of α -zingiberene and β -sesquiphellandrene to ar-curcumene was verified using the peak area values of each compound.

To measure the ginger oleoresin quality, the following consideration was taken: sum of peak areas of volatiles, α -zingiberene and β -sesquiphellandrene, in relation to sum of peak area of ar-curcumene. Low ratio value indicates higher oleoresin quality loss.

5.2.2.4.5.1. Kinetics models for the volatile release during storage

Zero Order and First-Order (Vazquez-Landaverde, Qian & Torres, 2007), Higuchi (Wang, Ding, Tao & Chen, 2007), Hixson-Crowell (Partheniadis, Karakasidou, Vergkizi & Nikolakakis, 2017) and Weibull/Avrami's equation (Soottitantawat et al., 2004) release kinetics models (Equations 2-6) were used to determine the suitable model ($R^2 \approx 1$) that represent the volatile release during storage at different temperatures.

Zero Order equation:

$$Q = kt \quad (2)$$

First Order equation:

$$Q = 1 - \exp(-kt) \quad (3)$$

Higuchi equation:

$$Q = k\sqrt{t} \quad (4)$$

Hixson-Crowell equation:

$$\sqrt[3]{Q} = 1 - kt \quad (5)$$

Weibull equation/Avrami's equation:

$$Q = 1 - \exp(-kt^b) \quad (6)$$

where Q is the amount (%) of volatile released at the time t, k is the release rate constant and b is the release mechanism.

5.2.2.5. *Statistical analysis*

Results were subjected to analysis of variance (ANOVA) and a Tukey test with a significance level of 5%. The Minitab software trial edition (Minitab 16.1.0, Minitab Inc., State College, PA, USA) was used to compare the differences between the mean values.

5.3. RESULTS AND DISCUSSION

5.3.1. *Compatibility of lipids and ginger oleoresin blend*

The combination of lipids with different chemical compositions can result in different phase behaviors. Thus, to verify the compatibility among different lipids it is necessary to study the phase behavior through phase diagrams, e.g., isothermal solid diagrams. These diagrams define the solid fat content (SFC) at different temperatures vs. blend compositions, and when the blends are compatible, isothermal solid diagrams are linear (for ideal behavior) (Meng et al., 2011). However, as shown in Figure 5.1, the graphs showed curvatures in both system (stearic acid and ginger oleoresin; stearic acid+oleic acid and ginger oleoresin) and these mixtures can be qualified as non-ideal. The difference between curvature graphs and linearity may be attributed to dissolution of some solid fat of one ingredient by liquid fat from another ingredient (Braipson-Danthine & Deroanne, 2006).

Braipson-Danthine & Deroanne (2006) proposed to use second-order polynomial-type relations of the graphs SFC vs. blend compositions due to curvature of the graphs, where the equation $SFC = a(x)^2 + b(x) + c$ is represented as: (x) is the concentration of fatty acid in the system; a, b, and c are dependent on the fatty acid, on the temperature, on the thermal history and also on the type of interaction existing between lipids and oleoresin. A high **a/b** ratio value is observed for a strong incompatibility between the fats. The **a** value for an ideal behavior is zero (Braipson-Danthine & Deroanne, 2006). Thus, for this present work, we can observe in Figure 5.1 that resolving the **a/b** ratio in the polynomial equation (data not show), at all temperatures, resulted in a lower value, practically zero. For the **a** parameter, all assays showed a value near zero, thus it can be considered that the blend are come near to the compatibility.

Comparing stearic acid+GO blend and stearic acid+oleic acid+GO blend, it is possible to see that the **a** parameter showed a lower value for the blend containing oleic acid, which can be an indication that the samples containing oleic acid are more compatible than samples with stearic acid only and GO. This study showed that the mixture of fatty acid and ginger oleoresin can be considered a compatible mixture, next to ideal behavior.

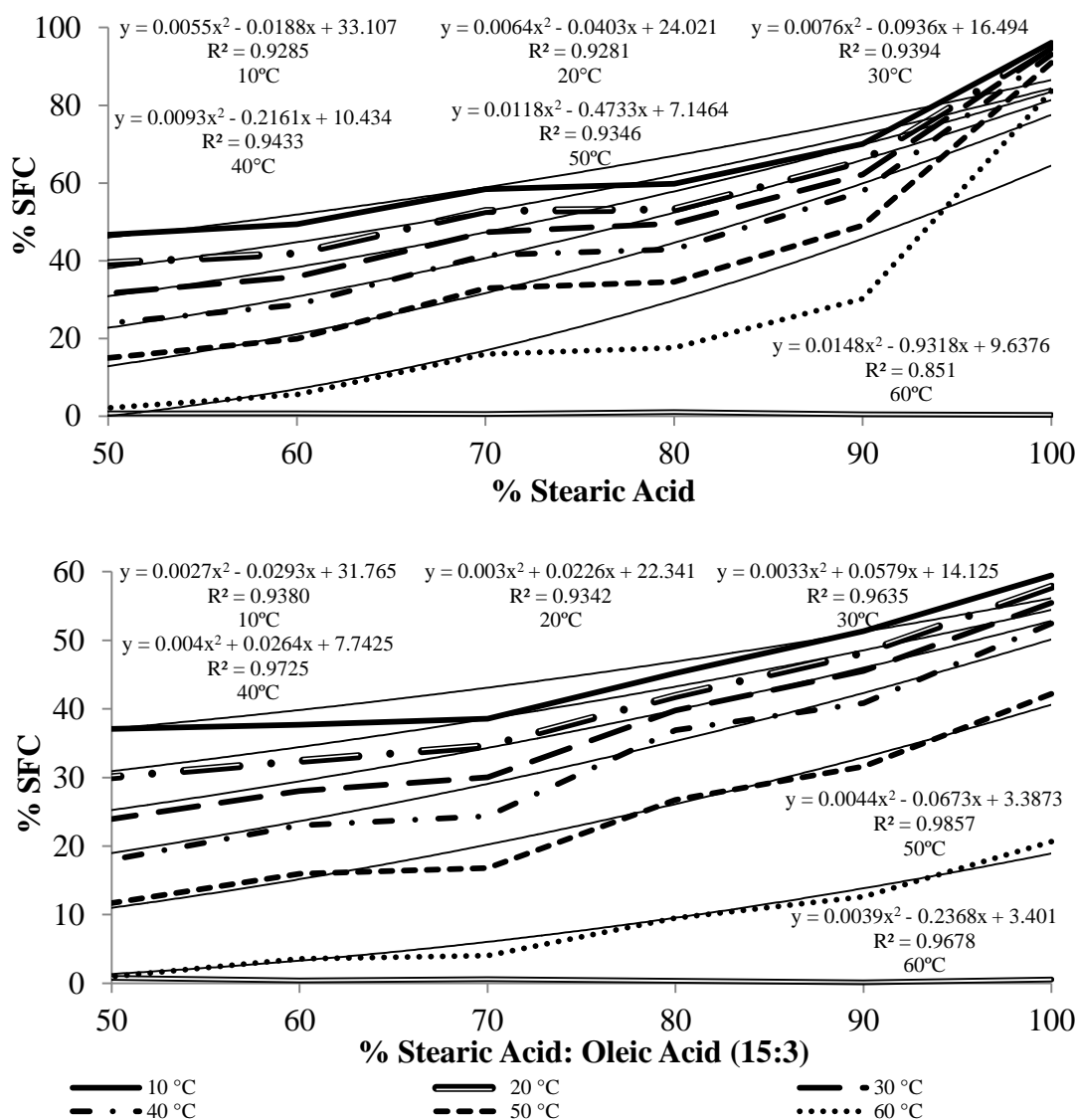


Figure 5.1. Isothermal solid diagrams to verify compatibility of lipids and ginger oleoresin blend. —: polynomial fit for each temperature. **SFC**: solid fat content

5.3.2. Characterization of SLMs during stability at different temperatures

5.3.2.1. Crystalline structure, surface morphology and mean volumetric diameter

X-ray diffraction is used for the study of crystalline structure to identify crystal polymorphs. Polymorphism is defined as the ability of a chemical compound to rearrange itself through intermolecular interaction, inducing formation of specific crystalline structures (Ensikat, Boese, Mader, Barthlott, & Koch, 2006; O'Brien, 2009; Sato & Ueno, 2011). The possible difference in polymorphic forms during storage is an important characteristic to be considered in SLMs. Stable polymorphic form can guarantee stability of the active compound in the lipid matrix and the opposite behavior can cause the expulsion of the active during

crystal reorganization (Müeller; Radtke; Wissing, 2002; Lopes et al., 2015). Diffractograms presented in Figure 5.2 show the crystals peaks of SLMs during stability. The major peaks in the diffraction angle for all samples on day zero were $2\theta = 21.5^\circ$ and 24.1° , that are associated with d-spacing of 4.1\AA and 3.7\AA , respectively, that represent an orthorhombic crystalline structure (Ensikat, Boese, Mader, Barthlott, & Koch, 2006; O'Brien, 2009). After 84 days of storage under both temperatures, the variation of diffraction angle was insignificant for samples with oleic acid, and no variation in d-spacing was observed. However, storage at 40°C for the sample containing 90%(w/w) stearic acid presented in d-spacing, of 3.7\AA , a small shift of the peak to the left, which could indicate some crystalline perturbation in these particles. The orthorhombic form corresponds to a geometric structure that is associated to facility in the incorporation of the active, due to numerous lattice defects (Jenning & Gohla, 2001; Zheng, Falkeborg, Zheng, Yang, & Xu, 2013).

Visually, all samples were a powder with a yellow color and fine aspect; however samples with 20% ginger oleoresin showed a more intense yellow color. The morphology of SLMs during stability maintained the characteristic of the spray chilling technique, resulting in a spherical surface, dense with variable diameters and aggregated with smaller particles but with no cracks, which ensures lower gas permeability and consequently bigger active compound protection, Figure 5.3. The left side of Figure 5.3 presents representative particles scanned at a magnification of $500\times$; on the right, a closer look at individual particles at $5000\times$. Formulations with oleic acid and 20% (w/w) ginger oleoresin resulted in smaller particles adhered to the surface of those with larger sizes, on day zero. Agglomeration may occur due to the microparticles not being completely solidified when they reach the cooling chamber (Consoli, Grimaldi, Sartori, Menegalli, & Hubinger, 2016). The SLMs images after 84 days at different storage temperatures showed irregular surfaces and the formulations with oleic acid resulted in wavy surfaces, different from the same particles on day zero that showed few crystals located on the microparticles surface. Formulation with 90%(w/w) stearic acid exposed less smooth surfaces. The temperature and storage time can influence the crystallinity of the lipids. As was observed via X-ray diffraction, formulations with only stearic acid presented small shift of the peak to the left at 40°C , that is associated to the crystalline structure perturbation. The production of particles with spherical shape facilitates the flow of the powder and its application. Particle agglomeration may also contribute to powder application due to the reduction of dust formation (Pelissari et al, 2016).

The mean volumetric diameters (D_{43}) of SLMs on day zero ranged from 24 μm to 38 μm (Figure 5.3). The addition of oleic acid and higher oleoresin concentration in the formulations contributed to an increase of the mean volumetric diameters. High concentration of unsaturated lipids has shown to be related to the occurrence of higher mean volumetric diameters due to smaller compact crystal structure (Ribeiro, Arellano, & Grosso, 2012; Alvim et al., 2013; Oriani et al., 2016). During storage, the volumetric diameters showed increases at different temperatures compared to day zero, probably a result of agglomeration or crystalline structures melting.

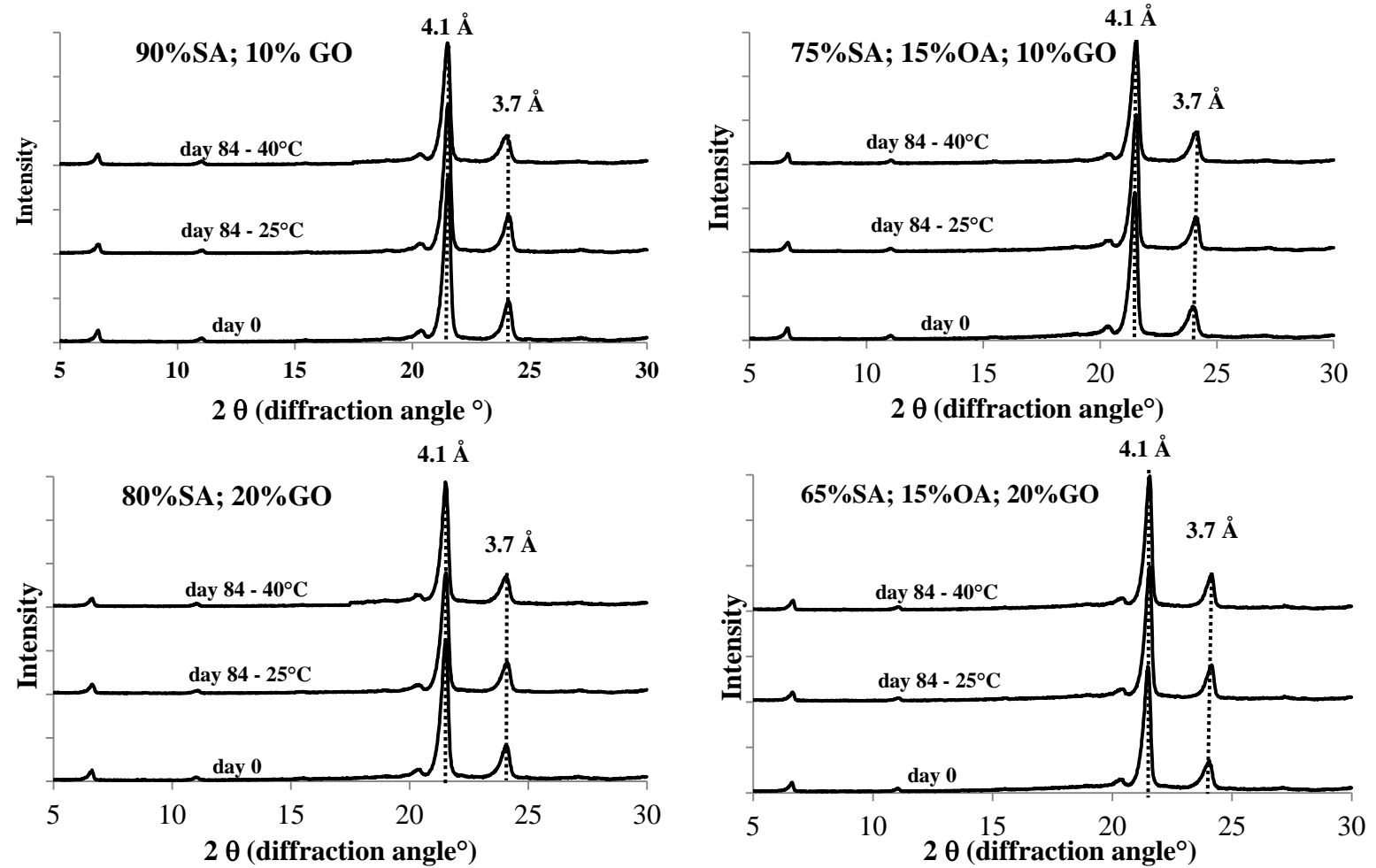


Figure 5. 2. X-ray diffraction of SLMs on days 0 and 84, storage at 25°C and 40°C. Trace indicates the crystal spacing corresponding to crystalline structure on day 0.

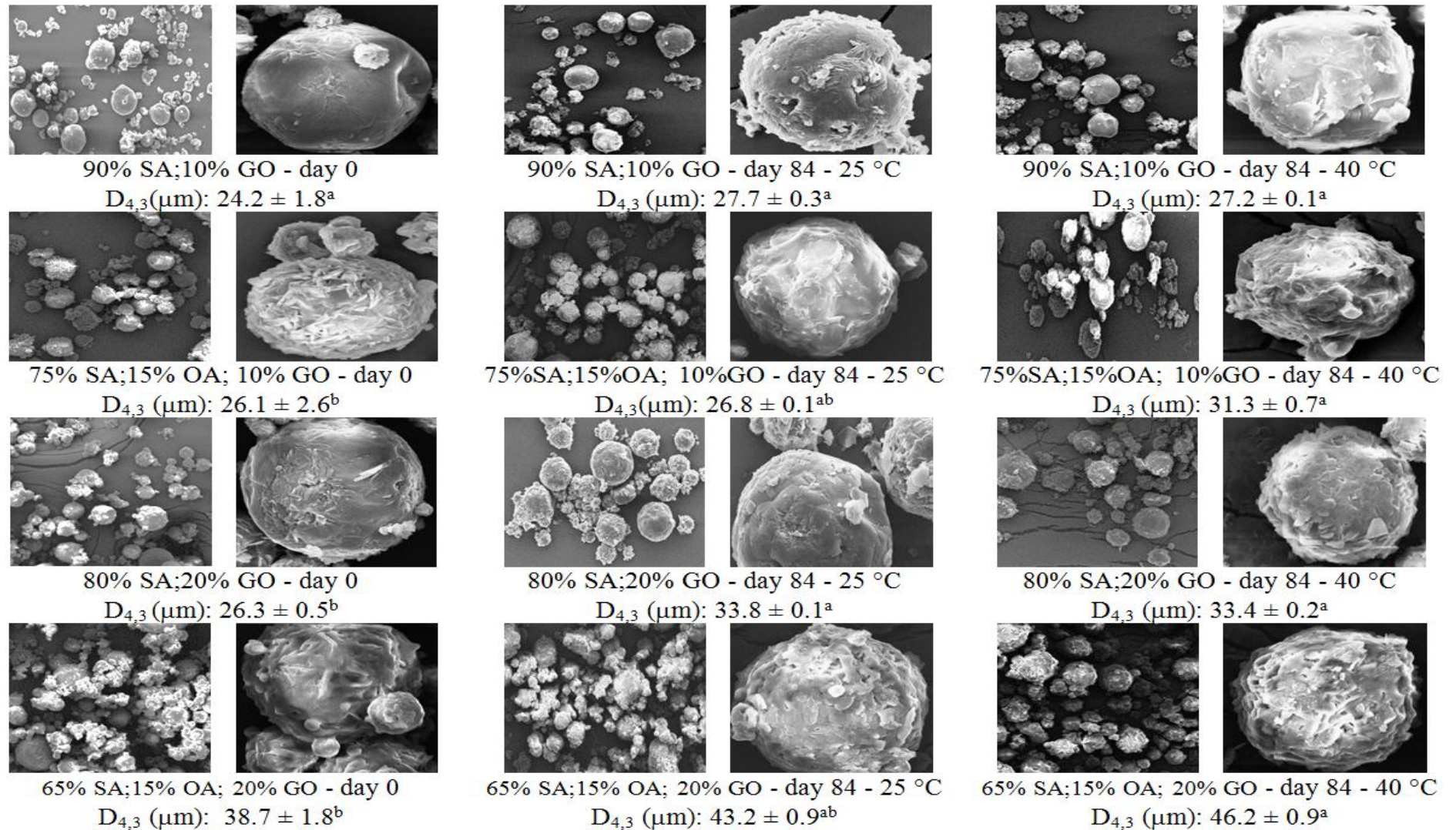


Figure 5.3. Scanning electron microscopy at magnifications 500× and 5000×. Mean volumetric diameter ($D_{4,3}$) obtained during storage at different temperatures. SA: stearic acid. OA: oleic acid. GO: ginger oleoresin.^{a,b} Different lowercase letters in each line represent statistically significant difference ($p \leq 0.05$) by Tukey test.

5.3.3. *Stability of 6-gingerol, 6-shogaol and zingerone*

All samples and ginger oleoresin (un-encapsulated), on day zero, presented pungent compounds as, approximately, 115 mg of 6-gingerol, 35 mg of 6-shogaol and 25 mg of zingerone, in relation to one gram of oleoresin, according to Figure 5.4. In fresh ginger the shogaols and zingerone content is insignificant. Both are formed when ginger is heated up to high temperatures, which results in degradation of gingerol compounds (Bailey-Shaw et al., 2008; An, Zhao, Wang, Wu, Xu, & Xiao, 2016). The results obtained in this work are typical of ginger oleoresin, which presented higher 6-gingerol content than the other compounds. Thus, for the initial study of SLMs stability it was ensured that the spray chilling process did not induce ginger oleoresin quality loss (Oriani, et. al, 2016; Varakumar, Umesh, & Singhal, 2017).

During storage at 25°C, the SLMs or ginger oleoresin (un-encapsulated) did not show alteration in pungent compounds, as displayed in Figure 5.4. Un-encapsulated ginger oleoresin maintained stable during storage at 40°C, however, storage higher temperature resulted in modification of pungent compounds for SLMs. Particles containing oleic acid (samples II and IV) showed a lower 6-gingerol concentration after the 56th-day of storage and an increase of 6-shogaol concentration, in the same period. Samples I and III showed a slight variation in 6-gingerol and 6-shogaol. Bhattarai, Tran, & Duke (2001 and 2007) showed that the degradation of gingerol to form shogaol was dependent on temperature and acidic catalyzed dehydration environment. Thus, the oxidation products of lipids containing to formation of SLMs could lead to formation of compounds that resulted in an acidic environment and in association with temperature lead to gingerol degradation reaction, principally for formulations containing unsaturated lipids. Unsaturated fatty acids are susceptible to oxidation at higher temperatures. This produces rancidity in oil, with the accompanying off flavors and smells (O'Brien, 2009).

The zingerone compound showed no difference during storage at all temperature, which is a good result for SLMs and un-encapsulated GO, because zingerone is a product of gingerol degradation, by condensation, that can cause GO off-flavor.

Storage at 25°C did not present any difference for pungent compounds after 84-days of storage, and the same consideration is applied to samples I, III and un-encapsulated oleoresin storage at 40°C.

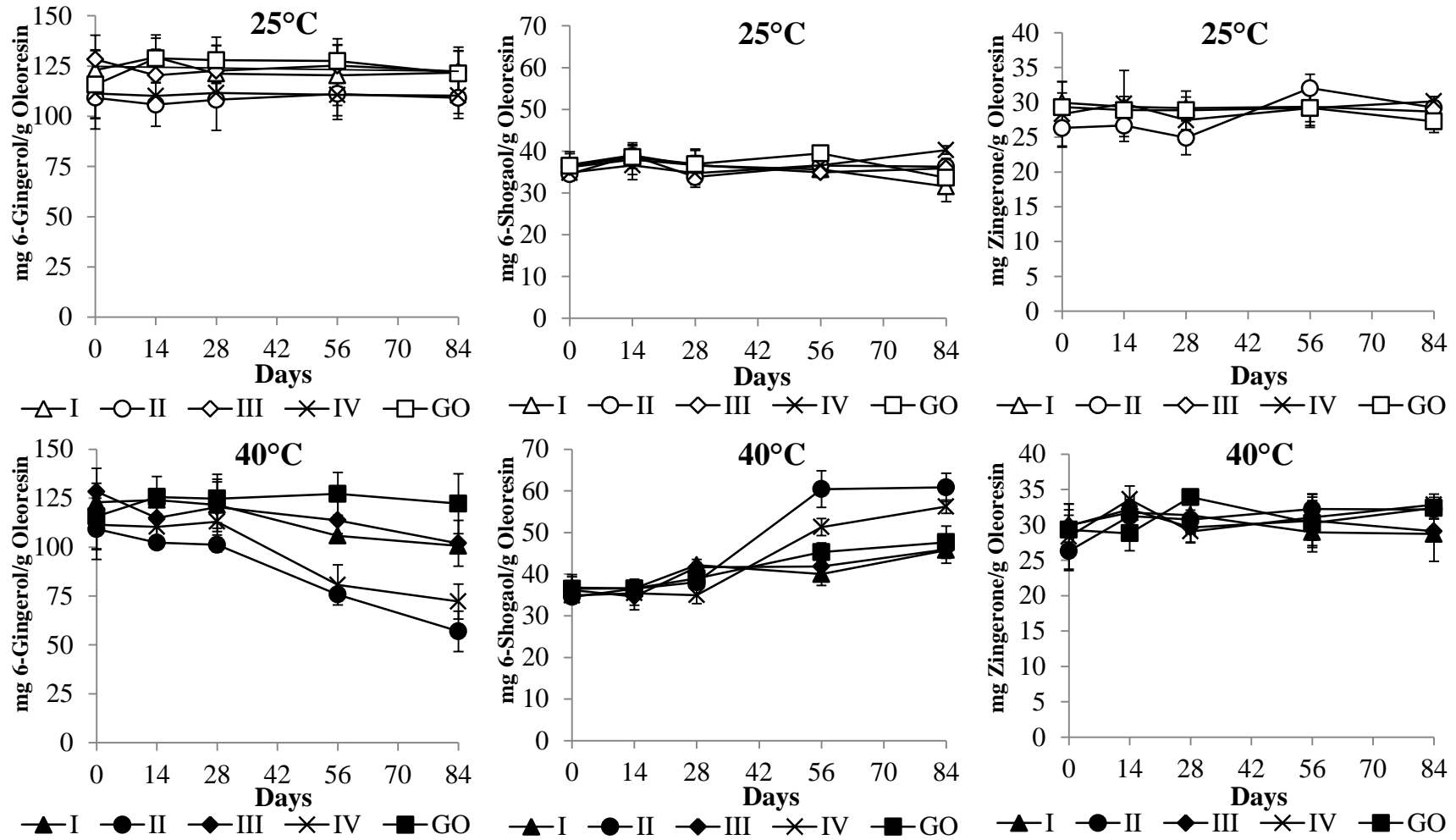


Figure 5.4. Pungent compounds stability. (GO) Un-encapsulated ginger oleoresin. Solid lipid microparticles: (I) 90%SA; 10%GO (II)75%SA; 15%OA; 10%GO (III)80%SA; 20%GO (IV)65%SA; 15%AO; 20%GO. SA:stearic acid. OA:oleic acid.

5.3.4. Volatile retention during storage

The retention profile of the volatile compounds in SLMs and un-encapsulated ginger oleoresin was monitored at 25 and 40°C during 84 days. The retention behaviors are shown in Figure 5.5. In all cases, the volatile retention was defined as the ratio of the residual amount of volatiles in each day in relation to the initial amount.

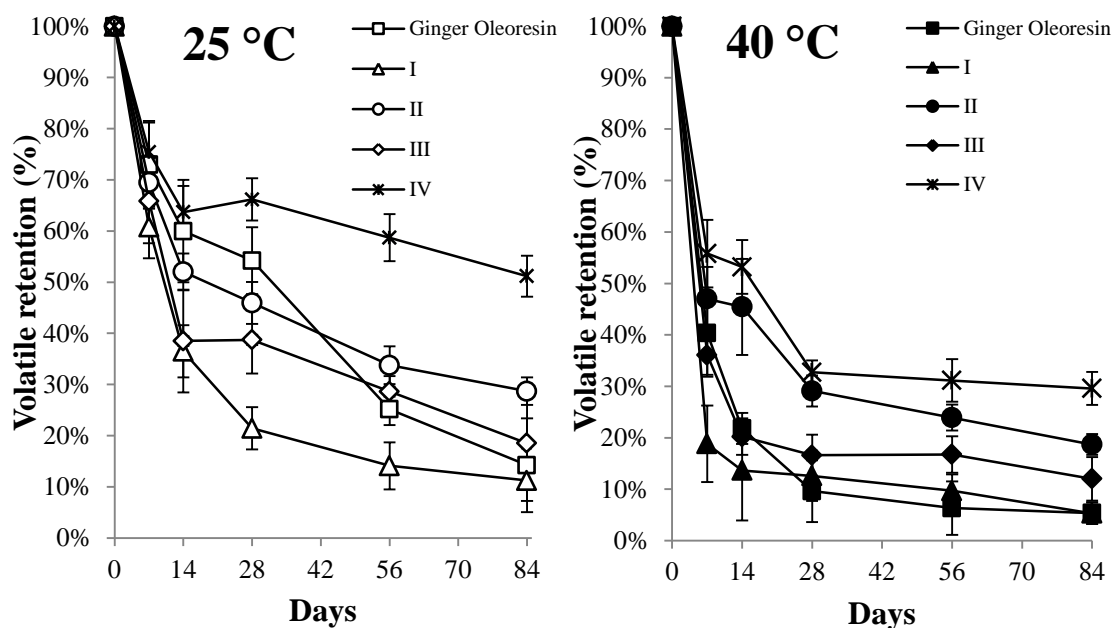


Figure 5.5. Volatile retention during storage at 25 and 40°C. (Ginger Oleoresin) Un-encapsulated ginger oleoresin. Solid lipid microparticles: (I) 90%SA; 10%GO (II)75%SA; 15%OA; 10%GO (III)80%SA; 20%GO (IV)65%SA; 15%AO; 20%GO. SA:stearic acid. OA:oleic acid.

Specifically, the ability of samples IV to retain the aroma compound was greater than samples I, II, III and un-encapsulated GO. Over 84 days at 25°C, the volatile retention was approximately 30% and 51%, for II and IV respectively, and for I and III it was 11% and 19%, respectively. At 40°C, retention decreased to 19 and 30%, for II and IV respectively. The storage temperature had a pronounced effect on the volatile retention. Storage at 40°C promotes rapid volatilization of un-encapsulated GO and after the 28th day, resulted in lower retention.

Samples containing oleic acid presented the best volatile retention. The efficiency of oleic acid to stabilize volatile compounds at all temperatures could possibly be due to better compatibility of ginger oleoresin-oleic acid, as shown in Figure 5.1. According to Paravisini

& Guichard (2016) the retention or release behavior of volatile compounds mostly depends on their solubility in the lipid matrix, and the presence of unsaturated fatty acids leads to higher solubility of volatile compounds; however the incorporation of a high amount of solid lipids reduces their solubility, thus increasing their release. As demonstrated in storage at 40°C on day 7, particles with only stearic acid (I and III) resulted in a release of about 65-80%. According to Wissing, Kayser & Mueller (2004) for the active compounds on the outer surface of the matrix, the release is fast, like a burst effect, or even at short distance between the active and the matrix surface the release may be quick.

5.3.4.1. *Kinetics models for the volatile release during stability*

Volatile release modeling studies were performed on SLMs and un-encapsulated GO as a means to verify release mechanisms of the volatiles. Table 5.2 shows the release-kinetics correlation coefficients (R^2) of samples in accordance to each mathematical model evaluated.

Controlled release is mainly described by zero order and first order kinetics to uniform particles, in relation to morphology, size and other characteristics. Variable morphology, shell materials, variable particle size, and release environment could differ from zero or first order (Shahidi & Han, 1993; Ho; Joyce & Bhandari, 2011). Un-encapsulated ginger oleoresin storage at 25°C presented First-Order as the best release model that associates the release rate dependence of the active concentration. Avrami's/Weibull equation was used to show the release mechanism, which is associated with b parameter (Table 5.3), in accordance to Soottitantawat et al. (2004): $b = 1$ represents the first order release mechanism; $b < 1$ means that the molecular diffusion became rate limiting; and $b > 1$, show a quickly release with an induction period.

Avrami's equation was the best fit for GO-volatile release from SLMs at different temperatures condition and showed $b < 1$ for all assay, and corresponded to the diffusion limited system (Ho; Joyce & Bhandari, 2011). For each sample the increase of storage temperature showed increase in the release rate constant (k – Table 5.3), thus SLMs at higher temperature resulted in quickly release, comparing the same sample at 25°C. Samples containing oleic acid (II and IV) resulted in lower k -value at 40°C, this can be a consequence of volatile solubility in oleic acid that favored the slowly released. The k -value can be a significant index to indicate that the GO volatiles release in SLMs is dependent of matrix composition and storage temperature.

Table 5.2. Best-fitting models for volatile release. Release-kinetics correlation coefficients (R^2) for derived models

	Zero Order (R^2)	First Order (R^2)	Higuchi (R^2)	Hixson- Crowell (R^2)	Weibull* (R^2)
GO (25 °C)	0.889	0.986	0.9830	0.9703	0.959
GO (40 °C)	0.554	0.795	0.8431	0.7443	0.967
I (25°C)	0.629	0.849	0.8732	0.7796	0.939
I (40 °C)	0.331	0.633	0.6023	0.5013	0.908
II (25 °C)	0.705	0.835	0.8521	0.8079	0.961
II (40 °C)	0.567	0.788	0.8248	0.7155	0.940
III (25 °C)	0.650	0.840	0.8704	0.7803	0.872
III (40 °C)	0.398	0.605	0.6822	0.5272	0.878
IV (25 °C)	0.655	0.745	0.8612	0.7157	0.890
IV (40 °C)	0.524	0.652	0.7890	0.6101	0.817

(GO) Un-encapsulated ginger oleoresin. Solid lipid microparticles: (I) 90%SA; 10%GO (II) 75%SA; 15%OA; 10%GO (III) 80%SA; 20%GO (IV) 65%SA; 15%AO; 20%GO. SA:stearic acid. OA:oleic acid. *Avrami's equation.

Table 5.3. Weibull shape b parameter values indicating release mechanism and release rate constant (k value) of Weibull/Avrami's equation.

	b values	k (1/day)
OG (25 °C)	0.96	0.03
OG (40 °C)	0.31	0.41
I (25°C)	0.58	0.19
I (40 °C)	0.19	1.13
II (25 °C)	0.47	0.16
II (40 °C)	0.34	0.37
III (25 °C)	0.48	0.19
III (40 °C)	0.26	0.69
IV (25 °C)	0.30	0.16
IV (40 °C)	0.28	0.36

5.3.5. *Stability of the main volatile compounds*

The ginger oleoresin extraction process does not result in ginger volatile compounds, thus the essential oil is obtained separately and is added to the oleoresin to maintain the product similar to fresh ginger. The ginger essential oil, which is a mixture of monoterpene and sesquiterpene compounds, contains the volatiles responsible for the characteristic ginger flavor and α -zingiberene is its major component, with 35%, followed by β -sesquiphellandrene (15%) and ar-curcumene (14%) (Huang, Wang, Chu, & Qin, 2012; Bellik et. al, 2013). The increases of ar-curcumene and decreases of α -zingiberene and β -sesquiphellandrene are responsible for the GO quality loss. The storage at high temperatures can result in α -zingiberene degradation and ar-curcumene formation (Balakrishnan, 2005). Thus, Table 5.4 presents the behavior of the main ginger volatile compounds during storage and the consideration of the ratio in GO compounds to evaluate the ginger quality.

On day zero, all volatile compounds were present in the ideal proportion of ginger volatiles, thus they were shown as 100%, as can be seen in Table 5.4. Each sample, on day 7 or day 14, at 25°C, showed similar percentage for all volatile compounds, indicating that no degradation occurred, but volatile release happened, because the proportion for each compound diminish comparing day 7 with day 14. For samples I, III and un-encapsulated GO, on 28th day at 25°C, the high percentage of ar-curcumene and low for α -zingiberene indicated that α -zingiberene converted to ar-curcumene, probably the matrix composition, that present just stearic acid, was not able to maintain or protect volatile compounds, thus resulted in degradation of volatiles similar as GO un-encapsulated. At 40°C, from the 7th, the high proportion of ar-curcumene, comparing two others compounds, was observed for GO and samples III and IV, indicating α -zingiberene degradation.

The sample II (at 25°C), containing 10% GO and oleic acid, displayed the best results for the stability of ginger volatile compounds, because for each day until the end of storage all compounds maintained the same proportion, that is, not present statistical differences, resulting in no degradation of α -zingiberene. Addition of oleic acid in the particles containing until 10% GO guaranteed affinity between matrix and volatile compounds to support storage condition and not occur ginger compound degradation, however the lipid matrix assured 30% of volatile retention (as shown in section 5.3.4).

The ratio of main volatile compounds is just to verify the behavior of compounds during storage. Sample that presented little variation in ratio on days 0 and 84, it was possible

affirm that show good ginger volatile quality, because all compounds maintained in the same proportion. The relation showed that high temperatures for GO and SLMs storage was not adequate to maintaining volatile quality, because the ratio of compounds presented a low value (< 2) in all samples at the end of storage, comparing initial value, this result is consequence of *ar*-curcumene increases. Sample II presented lower variation of the ratio at 25°C, from 3.7 to 3.0 (Table 5.4), this is an indication that SLMs containing unsaturated lipids can be able to guarantee quality for ginger volatiles better than un-encapsulated ginger oleoresin, that showed variation of the ratio from 4.5, at day zero, and 1.1, at end of storage.

Table 5.4. Retention of majority compounds (ar-curcumene, α -zingiberene and β -sesquiphellandrene) in SLMs and the ratio of major compounds as an indication of GO quality during storage.

Days	25°C				40°C			
	ar-curcumene (%)	α -Zingiberene (%)	β -sesquiphellandrene (%)	Ratio ($\alpha + \beta$)/ar	ar-curcumene (%)	α -Zingiberene (%)	β -sesquiphellandrene (%)	Ratio ($\alpha + \beta$)/ar
Ginger Oleoresin								
0	100	100	100	4.5	100	100	100	4.5
7	78±5 ^a	71±2 ^a	73±3 ^a	4.2	46±3 ^a	36±2 ^b	45±2 ^a	3.8
14	64±4 ^a	58±4 ^a	62±6 ^a	4.2	34±3 ^a	15±1 ^c	27±3 ^b	2.5
28	59±3 ^a	50±3 ^b	60±4 ^a	4.1	27±2 ^a	3±1 ^c	11±3 ^b	1.0
56	49±2 ^a	15±1 ^c	30±3 ^b	1.8	20±1 ^a	2±1 ^c	7±1 ^b	0.7
84	37±4 ^a	6±1 ^c	17±2 ^b	1.1	17±1 ^a	1±1 ^c	6±2 ^b	0.8
I - 90% SA; 10% GO								
0	100	100	100	4.5	100	100	100	4.5
7	63±2 ^a	58±4 ^a	66±3 ^a	4.3	22±3 ^a	17±3 ^a	21±4 ^a	3.6
14	39±4 ^a	34±5 ^a	41±6 ^a	4.1	20±2 ^a	11±2 ^b	14±1 ^b	2.6
28	42±3 ^a	16±2 ^b	20±3 ^b	2.5	21±1 ^a	9±1 ^c	15±3 ^b	2.3
56	22±4 ^a	11±2 ^b	16±3 ^{ab}	1.8	21±4 ^a	6±2 ^c	11±4 ^b	1.5
84	27±4 ^a	7±2 ^c	12±2 ^b	1.3	13±1 ^a	3±1 ^c	6±1 ^b	1.2
II - 75% SA; 15% OA; 10% GO								
0	100	100	100	3.6	100	100	100	3.6
7	68±3 ^a	69±2 ^a	72±4 ^a	3.7	50±2 ^a	45±3 ^a	50±3 ^a	3.3
14	52±6 ^a	51±4 ^a	54±5 ^a	3.5	49±5 ^a	43±3 ^a	49±4 ^a	3.2
28	47±4 ^a	45±4 ^a	47±4 ^a	3.4	47±5 ^a	20±3 ^c	32±4 ^b	1.8
56	38±3 ^a	32±4 ^a	34±2 ^a	3.1	44±5 ^a	15±4 ^c	27±3 ^b	1.5
84	32±6 ^a	27±4 ^a	30±4 ^a	3.0	41±5 ^a	9±3 ^c	21±4 ^b	1.1
III - 80% SA; 20% GO								
0	100	100	100	4.4	100	100	100	4.4
7	80±7 ^a	59±9 ^b	70±6 ^{ab}	3.5	44±3 ^a	32±3 ^b	39±4 ^{ab}	3.4
14	39±1 ^a	38±2 ^a	40±2 ^a	4.3	33±3 ^a	12±1 ^c	29±4 ^b	2.3
28	44±5 ^a	35±1 ^b	42±3 ^a	3.7	38±5 ^a	8±1 ^c	19±3 ^b	1.3
56	45±5 ^a	22±3 ^c	31±2 ^b	2.4	36±3 ^a	9±2 ^c	19±3 ^b	1.5
84	46±7 ^a	9±2 ^c	20±3 ^b	1.2	35±3 ^a	10±1 ^c	19±2 ^b	1.6
IV - 65% SA; 15% OA; 20% GO								
0	100	100	100	3.7	100	100	100	3.7
7	83±7 ^a	71±4 ^a	78±5 ^a	3.3	65±4 ^a	51±5 ^b	58±7 ^{ab}	3.0
14	68±5 ^a	63±6 ^a	61±3 ^a	3.5	65±3 ^a	46±3 ^b	59±4 ^{ab}	2.8
28	71±3 ^a	64±4 ^b	68±4 ^{ab}	3.4	54±6 ^a	23±3 ^c	35±4 ^b	1.9
56	69±5 ^a	54±4 ^b	61±6 ^b	3.0	61±4 ^a	18±3 ^c	34±5 ^b	1.4
84	67±7 ^a	44±5 ^b	53±7 ^{ab}	2.6	68±2 ^a	13±4 ^c	32±3 ^b	1.1

GO: ginger oleoresin. SA: stearic acid. OA: oleic acid.

5.4. CONCLUSION

Storage of SLMs at 40°C showed that the presence of oleic acid can interfere with the degradation of 6-gingerol, however at ambient temperature the SLMs guarantee great ginger oleoresin performance. Samples with oleic acid ensured a better stability of the volatile α -zingiberene and β -sesquiphellandene compounds. In general, this work presented good results for SLMs because they can be a substitute for un-encapsulated ginger oleoresin in food applications, guaranteeing better distribution within foods due to their conversion to powder, and reliability in maintaining the quality of ginger pungent and volatile compounds at ambient storage temperature.

REFERENCES

- Alvim, I.D., Souza, F.S., Koury, I.P., Jurt, T., & Dantas, F.B.H. (2013). Use of the spray chilling method to deliver hydrophobic components: physical characterization of microparticles. *Food Science and Technology*, 33(1), 34-39.
- An, K., Zhao, D., Wang, Z., Wu, J., Xu, Y., & Xiao, G. (2016). Comparison of different drying methods on Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): Changes in volatiles, chemical profile, antioxidant properties, and microstructure. *Food Chemistry*, 197, 1292-1300.
- Bailey-Shaw, Y.A., Williams, L.A.D., Junor, G.A.O., Green, C.E., Hibbert, S.L., Salmon, C. N. A., & Smith, A. M. (2008). Changes in the contents of oleoresin and pungent bioactive principles of Jamaican ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5564-5571.
- Balakrishnan, K.V. (2005). Postharvest and Industrial Processing of Ginger. In Ravindran P.N. & Nirmal Babu K (Eds), *Ginger The Genus Zingiber* (pp 391–434). CRC Press, Massachusetts.
- Bellik, Y., Benabdesselam, F., Ayad, A., Dahmani, Z., Boukraa, L., Nemmar, A., & Iguer-Ouada, M. (2013). Antioxidant activity of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe as affected by chemical environment. *International Journal of Food Properties*, 16(6), 1304-1313.
- Bhattarai, S., Tran, V.H., & Duke, C.C. (2001). The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90(10), 1658-1664.
- Bhattarai, S., Tran, V.H., & Duke, C.C. (2007). Stability of [6]-gingerol and [6]-shogaol in simulated gastric and intestinal fluids. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(4), 648-653.
- Braipson-Danthine, S., Deroanne, C. (2006). Determination of solid fat content (SFC) of binary fat blends and use of these data to predict SFC of selected ternary fat blends containing low-erucic rapeseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83.7: 571-581.
- Butt, M.S., & Sultan, M.T. (2011). Ginger and its health claims: molecular aspects. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 51(5), 383-393.
- Consoli, L., Grimaldi, R., Sartori, T., Menegalli, F.C., & Hubinger, M.D. (2016). Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: production and characterization. *LWT – Food Science and Technology*, 65, 79-87.

- Ensikat, H.J., Boese, M., Mader, W., Barthlott, W., & Koch, K. (2006). Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies. *Chemistry and Physics of Lipids*, 144(1), 45-59.
- Gopi, S., Varma, K., & Jude, S. (2016). Study on temperature dependent conversion of active components of ginger. *International Journal of Pharma Sciences*, 6(1) 1344-1347.
- Ho, B.T., Joyce, D.C., & Bhandari, B.R. (2011). Release kinetics of ethylene gas from ethylene- α -cyclodextrin inclusion complexes. *Food Chemistry*, 129(2), 259-266.
- Huang, T.-C., Chung, C.-C., Wang, H.-Y., Law, C.-L., & Chen, H.-H. (2011). Formation of 6-shogaol of ginger oil under different drying conditions. *Drying Technology*, 29(16) 1884-1889.
- Huang, B., Wang, G., Chu, Z., & Qin, L. (2012). Effect of oven drying, microwave drying, and silica gel drying methods on the volatile components of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by HS-SPME-CG-MS. *Drying Technology*, 30(3), 248-255.
- Jenning, V., Gohla, S.H. (2001) Encapsulation of retinoids in solid lipid nanoparticles (SLN), *Journal of Microencapsulation*, 18:2, 149-158.
- Koupantsis, T., & Paraskevopoulou, A. (2017). Flavour retention in sodium caseinate e Carboxymethylcellulose complex coavervates as a function of storage conditions. *Food Hydrocolloids*, 69, 459-465.
- Martins, R.M., Siqueira, S., & Freitas, L.A.P. (2012). Spray Congealing of Pharmaceuticals: Study on Production of Solid Dispersions Using Box-Behnken Design. *Drying Technology*, 30(9), 935-945.
- Meng, Z., Liu, Y., Shan, L., Jin, Q., Wang, F., & Wang, X. (2011). Specialty fats from beef tallow and canola oil: establishment of reaction conditions, characterization of products, and evaluation of crystal stability. *Food Biophysics*, 6(1), 115-126.
- Meunier, J.P., Cardot, J.M., Manzanilla, E.G., Wysshaar, M., & Alric, M. (2007). Use of spray-cooling technology for development of microencapsulated capsicum oleoresin for the growing pig as an alternative to in-feed antibiotics: A study of release using in vitro models. *Journal of Animal Science*, 85, 2699-2710.
- Müller, R.H., Radtke, M., Wissing, S.A. (2002). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews 54 Suppl.1*, S131-S155.
- Murthy, P.S., Gautam, R., & Naik, J.P. (2015). Ginger oleoresin chemical composition, bioactivity and application as bio-preservatives. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1905-1912.
- O'Brien, R.D. (2009). *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*. CRC Press, New York.
- Oh, C.M., Guo, Q., Heng, P.W.S., & Chan, L.W. (2014). Spray-congealed microparticles for drug delivery – an overview of factors influencing their production and characteristics. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 11, 1047-1060.
- Okuro, P.K., Matos-Jr, F.E., & Favaro-Trindade, C.S. (2013). Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. *Food Technology and Biotechnology*, 51(2), 171-182.
- Oriani, V.B., Consoli, L., Molina, G., Pastore, G.M., Alvim, I.D., & Hubinger, M.D. (2016). Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention. *Food Research International*, 80, 41-49.
- Paravisini, L. & Guichard, E. (2016) Interactions between aroma compounds and food matrix. In Guichard, E., Salles, C., Morzel, M., & Le Bon, A.-M. (Eds), *Flavour: From Food to Perception*, (pp.208-234) John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.

- Partheniadis, I., Karakasidou, P., Vergkizi, S. & Nikolakakis, I. (2017). Spectroscopic examination and release of microencapsulated oregano essential oil. *ADMET & DMPK*, 5(4), 224-233.
- Passerini, N., Sheng, Q., Albertini, B., Grassi, M., Rodriguez, L., Craig, D.Q.M. (2010). Solid lipid microparticles produced by spray congealing: Influence of the atomizer on microparticle characteristics and mathematical modeling of the drug release. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(2), 916-931.
- Pelissari, J.R., Souza, V.B., Pigoso, A.A., Tulini, F.L., Thomazini, M., Rodrigues, C.E.C., Urbano, A., Favaro-Trindade, C.S. (2016). Production of solid lipid microparticles loaded with lycopene by spray chilling: Structural characteristics of particles and lycopene stability. *Food and Bioproducts Processing*, 98, 86-94.
- Said, P.P., Arya, O.P., Pradhan, R.C., Singh, R.S., & Rai, B.N. (2015). Separation of Oleoresin from Ginger Rhizome Powder Using Green Processing Technologies. *Journal of Food Process Engineering*, 38(2), 107-114.
- Shahidi, F. & Han, X.Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501-547.
- Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., Forssell, P., Partanen, R., ... & Linko, P. (2004). Effect of water activity on the release characteristics and oxidative stability of D-limonene encapsulated by spray drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1269-1276.
- Srinivasan, K. (2017). Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. *Pharma Nutrition*, 5, 18-28.
- Varakumar, S., Umesh, K.V., Singhal, R.S. (2017). Enhanced extraction of oleoresin from ginger (*Zingiber officinale*) rhizome powder using enzyme-assisted three phase partitioning. *Food Chemistry*, 216, 27-36.
- Vazquez-Landaverde, P.A., Qian, M.C. & Torres, J.A. (2007). Kinetic analysis of volatile formation in milk subjected to pressure-assisted thermal treatments. *Journal of Food Science*, 72(7), E389–E398.
- Vernin, G., & Parkanyl, C. (2005). Chemistry of ginger. In Ravindran, P. N.; Nirmal Babu, K. (Eds). *Ginger – The Genus Zingiber*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 87–180.
- Wang, J., Ding, H., Tao, X. & Chen, J. (2007). Storage and sustained release of volatile substances from a hollow silica matrix. *Nanotechnology*, 18, 1-6.
- Wissing, S.A., Kayser, O., & Müller, R.H. (2004). Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(9) 1257-1272.
- Zachariah, T.J. Ginger. (2008). In Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., Zachariah, T. J. (Eds). *Chemistry of Spices*. CAB International, pp. 70-98.
- Zheng, M., Falkeborg, M. Zheng, Y., Yang, T., Xu, X. (2013). Formulation and characterization of nanostructured lipid carriers containing a mixed lipids core. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 430, 76-84.

- CAPÍTULO VI -
Discussão Geral

6.1. DISCUSSÃO GERAL

O uso de oleoresina tem aumentado significativamente na indústria de alimentos, por facilidade no processamento (mistura e sabor padronizado) e por apresentar maior segurança biológica (sem contaminação microbiana). A oleoresina de gengibre apresenta sensibilidade quando exposta a condições adversas de armazenagem, resultando em uma vida de prateleira curta. Além disso, o aquecimento no preparo do alimento pode conduzir à perda de compostos voláteis e de pungência, causando a redução da qualidade do sabor global. A utilização de técnicas para microencapsulação de oleoresina de gengibre tem como finalidade diminuir a velocidade de degradação dos compostos de pungência e voláteis ou diminuir a transferência dos compostos encapsulados para o meio durante o armazenamento, facilitar a manipulação, promover liberação controlada e a diluição homogênea do material na forma de pó para as formulações alimentícias. A microencapsulação por *spray chilling* tem sido bastante estudada nos últimos anos nas áreas farmacêutica e veterinária, mas há poucos estudos para aplicações em alimentos. Assim, o presente trabalho tornou-se uma escolha interessante para conhecer o comportamento da partícula sólida lipídica contendo oleoresina desde a caracterização, liberação e estabilidade da micropartícula.

No início deste trabalho, o principal foco foi a escolha da matriz lipídica para garantir a formação das micropartículas lipídicas sólidas, a qual foi descrita no **Apêndice A**. Devido à complexa composição da oleoresina de gengibre, lipídios com características apolares não apresentaram homogeneização na oleoresina, conseqüentemente o uso de lipídios comercialmente disponíveis, como o óleo de soja e palma totalmente hidrogenado e cera de carnaúba, foram descartados. Assim, ácidos graxos livres, como ácido palmítico, esteárico foram os lipídios selecionados para o estudo inicial da caracterização das micropartículas sólidas lipídicas devido à homogeneização na oleoresina de gengibre. Conforme descrito no **Capítulo III**, os estudos foram iniciados com a formação e caracterização das micropartículas lipídicas. Alguns estudos envolvendo a técnica de *spray chilling* para a formação de micropartículas sólidas utilizaram na matriz lipídica a adição de lipídios insaturados para uma possível melhora na retenção do ativo. Portanto, a fim de verificar o comportamento da oleoresina de gengibre, foram incorporados na matriz sólida contendo ácido palmítico os lipídios com moléculas insaturadas: ácido oleico ou gordura de palma. As micropartículas sólidas foram detalhadamente caracterizadas, utilizando a técnica de calorimetria diferencial de varredura, que mostrou a influência da adição lipídios insaturados na redução do ponto de fusão da micropartículas, além de constatar que o

comportamento da cristalização das micropartículas sólidas influenciou na retenção de voláteis. Portanto, partículas nas quais houve predominância de lipídios saturados resultaram em rápida cristalização e conseqüentemente maior retenção dos compostos voláteis da oleoresina de gengibre. Através da técnica confocal de varredura a laser, foi verificado que a oleoresina apresentou-se dispersa por toda a micropartícula, sendo que a fluorescência observada por essa técnica foi devido à presença dos compostos de pungência que apresentam propriedades fluorescentes, sendo que esses mesmos compostos exibiram alta retenção nas micropartículas. Esse estudo inicial mostrou que *spray chilling* pode ser uma técnica promissora para a produção de micropartículas lipídicas contendo oleoresina de gengibre.

Para a continuação dos estudos, optou-se por substituir o ácido palmítico pelo ácido esteárico, visto que ambos são lipídios sólidos à temperatura ambiente, porém nutricionalmente o ácido esteárico apresenta mínimo efeito sobre o colesterol, visto que no organismo se converte rapidamente para ácido oleico. Assim, no **Capítulo IV** foi proposto caracterizar as partículas contendo ácido esteárico e adicionar essas partículas em uma emulsão modelo para verificar a liberação da oleoresina de gengibre em diferentes temperaturas de estocagem. Micropartículas lipídicas, independente da concentração de oleoresina adicionada, logo após a homogeneização liberaram para a emulsão quantidade significativa dos compostos voláteis e pungentes, devido à afinidade da matriz lipídica e a porção lipofílica da emulsão, favorecendo a dissolução das partículas, conseqüentemente liberando a oleoresina para o meio. No final dos 28 dias de estocagem da emulsão, foi verificado que as partículas remanescentes apresentaram (visualmente) mínima dissolução. A liberação verificada através da análise de antioxidante nas temperaturas de 10 e 25°C não apresentaram diferença significativa. Porém, a estocagem à 40°C resultou na total liberação dos compostos de pungência, associada à temperatura e à homogeneização inicial como responsáveis pela dissolução da partícula. Os gráficos apresentando a liberação da oleoresina em função da atuação como antioxidante mostraram que a estocagem influenciou no comportamento antioxidante da oleoresina, visto que a 40°C no 14º dia houve decréscimo, o que nos levou a investigar a oxidação da emulsão. Posteriormente foi constatado que a temperatura de 40°C foi propícia à oxidação do óleo da emulsão, porém a emulsão contendo oleoresina sofreu menos efeito da oxidação do que a emulsão modelo. Nesse Capítulo foram verificados dois aspectos importantes das micropartículas lipídicas sólidas contendo oleoresina de gengibre: a incorporação em alimentos das micropartículas contendo oleoresina

de gengibre pode favorecer a liberação retardada dos compostos voláteis e de pungência, além de promover a atuação como antioxidante natural em emulsões.

No **Capítulo V**, durante o estudo da estabilidade das micropartículas lipídicas estocadas em diferentes temperaturas, verificou-se que as partículas contendo ácido oleico apresentaram a degradação do 6-gingerol quando estocadas a 40 °C, devido à possível oxidação do lipídio insaturado, que resultou na formação de compostos que conduziram a reação de degradação para 6-shogaol. No início e final do armazenamento, a estrutura cristalina das partículas foi mantida, não apresentando nenhuma alteração polimórfica, porém a partícula com 90% (m/m) de ácido esteárico mostrou um leve deslocamento em um dos picos relacionados às estruturas cristalinas. A mesma formulação resultou em rápida perda dos voláteis nessa temperatura de estocagem, podendo ser um indicativo de uma possível organização polimórfica que permitiu uma rápida expulsão do ativo ou mesmo devido à menor compatibilidade do ácido esteárico com os voláteis, já que a amostra com 80% (m/m) do mesmo lipídio também mostrou maior perda de voláteis. A microscopia eletrônica de varredura a laser apresentou as partículas como o mesmo formato ao final do armazenamento, sendo assim garante que as mesmas podem ser utilizadas para a aplicação em alimentos, garantindo melhor distribuição da oleoresina na forma de produto em pó. Os compostos voláteis majoritários α -zingibereno e β -sesquifelandreno apresentaram melhor estabilidade na presença do ácido oleico, para a amostra com 10% (m/m) de oleoresina de gengibre.

- CAPÍTULO VII -
Conclusão Geral

7.1. CONCLUSÃO GERAL

- No **Capítulo III**, a caracterização das partículas mostrou que a adição de ácido oleico ou gordura de palma na matriz sólida, ácido palmítico, interferiu na cristalização da partícula e influenciou a retenção dos voláteis da oleoresina de gengibre, sendo que quanto maior a concentração de lipídios insaturados na partícula, menor a retenção. Porém não afetou a retenção dos compostos de pungência.

- As micropartículas lipídicas caracterizadas no **Capítulo III** e **Capítulo IV**, contendo ácido palmítico e ácido esteárico, respectivamente, como matriz sólida predominante, apresentaram comportamento semelhante: conforme houve a adição de lipídio insaturado, a partícula reteve menos voláteis.

- A adição de partículas contendo oleoresina na emulsão modelo, **Capítulo IV**, apresentou-se como alternativa para retardar o contato do *flavor* no alimento, visto que somente a temperatura ou afinidade da matriz alimentícia com a partícula foi capaz de liberar o ativo para o alimento.

- Tanto as partículas contendo oleoresina como a oleoresina livre apresentaram capacidade antioxidante para o óleo da emulsão, sendo efetiva para retardar a oxidação, quando comparado a emulsão sem oleoresina, **Capítulo IV**.

- No **Capítulo V**, verificou-se que as partículas com ácido oleico apresentaram maior retenção dos voláteis da oleoresina de gengibre durante a estocagem devido a maior solubilidade e afinidade que há entre lipídios líquidos e voláteis. As partículas somente com ácido esteárico resultaram em menor retenção devido a matriz sólida formada por esse lipídio ter menor afinidade com os voláteis e no decorrer dos dias ocorreu a expulsão das moléculas.

- A alta temperatura de estocagem ocasionou a degradação do composto volátil α -zingibereno para ar-curcumeno, **Capítulo V**, porém as partículas com ácido oleico na composição e estocadas a temperatura ambiente foram eficientes para manter a qualidade da oleoresina de gengibre comparado a oleoresina livre.

- Todos os resultados obtidos nesta tese apresentaram as micropartículas lipídicas sólidas contendo oleoresina de gengibre como potencial ingrediente a ser incorporado pela indústria alimentícia ou farmacêutica, visto que as características de facilitar o manuseio devido a conversão para pó, além de possibilitar melhor desempenho na estocagem quando analisados os compostos voláteis e de pungência contribuem como benefícios comparando a oleoresina de gengibre na forma livre.

- CAPÍTULO VIII -

*Sugestões para Trabalhos Futuros
Produção Científica e Atividades Acadêmicas*

8.1. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Aperfeiçoar as micropartículas lipídicas contendo oleoresina de gengibre utilizando lipídios com menor custo de aquisição para disponibilizar partículas economicamente viáveis para as indústrias alimentícia ou farmacêutica:

✓ Estudar a incorporação de óleo de soja totalmente hidrogenado e óleo de soja na formação de partículas sólidas contendo oleoresina de gengibre pela técnica de *spray chilling*.

✓ Utilização de emulsificantes com características lipofílicas para formação de emulsão do tipo água em óleo (a/o), para verificar a homogeneização dos lipídios apolares com a oleoresina. As sugestões de emulsificantes comerciais são os derivados de monoglicerídeos destilados (Datem[®] e Dimodan[®]).

✓ Analisar a compatibilidade das emulsões que apresentarem estabilidade durante a homogeneização.

✓ Verificado que há a formação de emulsão compatível e que é possível formação de micropartículas lipídicas sólidas pela técnica *spray chilling*, é interessante analisar o comportamento dos voláteis e compostos de pungência durante a estocagem em diferentes temperaturas e assim comparar com o presente estudo.

Comparar micropartículas contendo oleoresina de gengibre a partir de diferentes processos: *spray drying* e *spray chilling*

✓ Estudo detalhado sobre micropartículas de *spray drying* contendo oleoresina de gengibre não foi encontrado na literatura, podendo ser avaliado a fim de comparação com as micropartículas obtidas por *spray chilling*, como por exemplo, a estabilidade e comportamento na aplicação em alimentos.

Estudar a influência de alguns materiais presentes na formação de uma emulsão (o/a) para a liberação dos voláteis e compostos de pungência da micropartícula lipídica

✓ Influência da composição e concentração do óleo da emulsão para liberação dos voláteis na micropartícula lipídica (diferentes tipos de óleos variando a composição de ácidos graxos e estado físico).

✓ Composição dos agentes espessantes para auxiliar a retenção dos voláteis na emulsão.

✓ Diferentes tipos de emulsificante (sólidos e líquidos).

✓ Estudo de vida de prateleira acima de 120 dias.

8.2. PRODUÇÃO CIENTÍFICA E ATIVIDADES ACADÊMICAS

Artigos publicados em periódicos indexados:

ORIANI, V.B.; CONSOLI, L.; MOLINA, G.; PASTORE, G.M.; ALVIM, I.D.; HUBINGER, M.D. Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention, **Food Research International**, v. 80, p.41-49, 2016.

Trabalhos publicados em anais de eventos:

CARVALHO, J.D.S.; **ORIANI, V.B.**; OLIVEIRA, G.M.; HUBINGER, M.D. Microencapsulação de ácido ascórbico utilizando spray chilling: Produção e caracterização. In: 12 SLACA – Latin American Symposium of Food Science - "Food Science and its impact on a changing world", 2017, Campinas.

PAREDES, C. M.; **ORIANI, V.B.**; HUBINGER, M. D. Microencapsulação de oleoresina de gengibre utilizando lipídios como material de parede. In: XXIV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp, 2016.

ORIANI, V. B.; MACHADO, M. T. C.; HUBINGER, M. D. Caracterização de Filmes Comestíveis de Fécula de Mandioca Adicionados de Óleo Essencial de Casca de Canela ou Erva Doce. In: XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2016, Fortaleza - CE. XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2016.

ORIANI, V. B.; ALVIM, I. D.; CONSOLI, L.; CARVALHO, A.G.S. ; HUBINGER, M. D. The Use of Stearic Acid and Palm Fat for the Production of Lipid Microparticles Containing Ginger Oleoresin. In: IFT - Annual Meeting and Food Expo, 2016, Chicago. Scientific & Applied Sessions, 2016.

CARVALHO, A.G.S.; MACHADO, M.T.C.; SILVA, V.M.; **ORIANI, V.B.**; HUBINGER, M.D. Influence of Carrier Agents on the Physical Properties and Morphology of Spray Dried Microparticles of Jussara (*Euterpe Edulis Martius*) Extract. In: IFT Annual Meeting and Food Expo, 2016, Chicago. Scientific & Applied Sessions, 2016.

ORIANI, V.B.; ALVIM, I.D.; HUBINGER, M.D. Influence of oleic acid addition in palmitic acid carrier to produce ginger oleoresin lipid microparticles. In: DOF 2015 – 6th International Symposium on Delivery of Functionality in Complex Food System –*Inspired Approaches from the Nanoscale to the Microscale*, 2015, Paris. 6th International Symposium on Delivery of Functionality in Complex Food System, p. 245-246, 2015.

ORIANI, V.B.; CARVALHO, A.G.S.; CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M.D. Propriedades físicas de cobertura comestível com óleo essencial para aplicação em fatias de maçãs. In: III Congresso Brasileiro de Reologia, 2015, Campinas. Anais do III Congresso Brasileiro de Reologia, 2015.

ORIANI, V.B.; ALVIM, I.D.; PAREDES, C.M.; HUBINGER, M.D. Lipids carriers to produce ginger oleoresin particles by spray chilling process. In: 2nd Latin America Symposium on Encapsulation, 2014, João Pessoa. 2nd Latin America Symposium on Encapsulation, 2014. p. 114-115.

ORIANI, V.B.; ALVIM, I.D.; PAREDES, C.M.; HUBINGER, M.D. Mixture of lipids and ginger oleoresin - Selection to use in encapsulation process. In: 2nd Latin America Symposium on Encapsulation, 2014, João Pessoa. 2nd Latin America Symposium on Encapsulation, 2014. p. 118-119.

Estágio de capacitação docente:

Participação no Programa de Estágio Docente (PED) (Grupo C) – Projeto Industrial. (1º semestre de 2013).

Participação no Programa de Estágio Docente (PED) (Grupo B) – Projeto Industrial. (2º semestre de 2013).

Coorientação:

Coorientação de trabalho de iniciação científica de Caroline Mendes Paredes, aluna de graduação do curso de Engenharia de Alimentos da Unicamp, com bolsa PIBIC (2014-2015).
Título do projeto: Microencapsulação de oleoresina de gengibre utilizando lipídios como material de parede.

Disciplinas cursadas:

TP291 – Tópicos Especiais em Análise de Alimentos

TP106 – Análise Sensorial e Instrumental

Outras Atividades:

- Avaliadora de trabalhos científicos inscritos na área de Tecnológicas na XXIV edição do Congresso Interno de Iniciação Científica da UNICAMP. (2016).
- Participação do IFT - Annual Meeting and Food Expo, 2016, Chicago - USA.
- Realização do relatório de prestação de contas referente ao período de Janeiro/2014 a Dezembro/2014 do projeto ‘Microencapsulação e aglomeração de hidrolisado proteico de carne de mexilhão para uso como aromatizante’ FAPESP 50411-4/2012.
- Elaboração do projeto ‘Microencapsulação por Spray Drying, Spray Chilling e Gelificação Iônica de compostos bioativos presentes em matrizes vegetais’ para auxílio financeiro na Chamada Universal MCTI/CNPQ n° 14/2014, com aprovação de n° 449506/2014-2.

- Avaliadora de trabalhos científicos inscritos na área de Tecnológicas na XXIII edição do Congresso Interno de Iniciação Científica da UNICAMP. (2015).
 - Participação do III Congresso Brasileiro de Reologia. (2015).
 - Participação da Escola de Encapsulação: Encapsulação de Compostos Bioativos. Universidade Federal da Paraíba. 2nd Latin America Symposium on Encapsulation. (2014).
 - Avaliadora de trabalhos científicos inscritos na área de Tecnológicas na XXII edição do Congresso Interno de Iniciação Científica da UNICAMP. (2014).
 - Participação de Seminários voltados para a Microencapsulação Aplicada a Alimentos. Organização: CEREAL CHOCOTEC - ITAL. (2013).
 - Participação do Workshop ‘Avanços tecnológicos na qualidade e estabilidade de chocolate e de outros sistemas lipídicos’. FAPESP nº 2009/53006-0. (2013).
- Participação do 3º Workshop Teórico-Prático – Explorando a Microscopia Confocal e a Óptica não Linear na Análise de Materiais Biológicos, promovido pelo INFABIC e realizado na Universidade Estadual de Campinas. (2013).

- REFERÊNCIAS -
Referências Bibliográficas Gerais

- ALBERTINI, B.; PASSERINI, N.; PATTARINO, F.; RODRIGUEZ, L. New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. **European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics**, v.69, n.1, p.348-357, 2008.
- ALI, B.H.; BLUNDEN, G.; TANIRA, M.O.; NEMMAR, A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p.409–420, 2008.
- ALVIM, I. D.; SOUZA, F.S.; KOURY, I. P.; JURT, T.; DANTAS, F.B.H. Use of the spray chilling method to deliver hydrophobic components: physical characterization of microparticles. **Food Science and Technology**, v.33, p.34-39, 2013.
- ALVIM, I.D.; STEIN, M.A.; KOURY, I.P.; DANTAS, F.B.H.; CRUZ, C.L.d.C.V. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application, **LWT – Food Science and Technology**, v. 65, p.689-694, 2016.
- AN, K.; ZHAO, D.; WANG, Z.; WU, J.; XU, Y.; XIAO, G. (2016). Comparison of different drying methods on Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): Changes in volatiles, chemical profile, antioxidant properties, and microstructure. **Food Chemistry**, v.197, p.1292-1300.
- AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, 2004. **AOCS method Ce 2-66**, AOCS.
- ARSHADY, R.; BOH, B. Microcapsule Patents and products: The art and science of microcapsules, patents and patent databases. In: ARSHADY, R.; BOH, B. (Editores). **Microcapsule patents and products**. Citus Books, 2003. Capítulo 1, p. 1- 46.
- ARSLAN-TONTUL, S.; ERBAS, M. Single and double-layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 160-169, 2017.
- BADAN RIBEIRO, A. P.; GRIMALDI, R.; GIOIELLI, L. A.; SANTOS, A. O.; CARDOSO, L. P.; GONÇALVES, L. A. G. Thermal behavior, microstructure, polymorphism, and crystallization properties of zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil. **Food Biophysics**, v.4, p.106-118, 2009.
- BAILEY-SHAW, Y. A.; WILLIAMS, L. A. D.; JUNOR, G. A. O.; (...); SALMON, C. N. A.; SMITH, A. M. Changes in the contents of oleoresin and pungent bioactive principles of Jamaican ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) during maturation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5564-5571, 2008.
- BALAKRISHNAN, K. V. Postharvest and Industrial Processing of Ginger. IN: Babu, K. N., Ravindran, P.N. (Editores). **Ginger The Genus Zingiber**. Capítulo 11, p. 391-434, 2005.
- BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; ORTEGA-RIVAS, E.; JULIANO, P.; YAN, H. Encapsulation Process. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; ORTEGA-RIVAS, E.; JULIANO, P., YAN, H.

(Editores). **Food Powders: Physical Properties, Processing, and Functionality**. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. Capítulo 8, p. 199-220.

BAVU, S. India's spice oleoresin industry: way forward initiatives. **IFEAT - International Conference in Singapore**, 4 - 8 November 2012 'Essential Asia', 2012, p.39-49.

BELLIK, Y.; BENABDESSELAM, F.; AYAD, A.; DAHMANI, Z.; BOUKRAA, L.; NEMMAR, A.; IGUER-OUADA, M. Antioxidant activity of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe as affected by chemical environment. **International Journal of Food Properties**, v.16, n.6, p.1304-1313, 2013.

BHATTARAI, S.; TRAN, V.H.; DUKE, C.C. Stability of [6]-gingerol and [6]-shogaol in simulated gastric and intestinal fluids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.45, n.4, 648-653, 2007

BHATTARAI, S.; TRAN, V.H.; DUKE, C.C. The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.90, n.10, p.1658-1664, 2001.

BRAIPSON-DANTHINE, S.; DEROANNE, C. Determination of solid fat content (SFC) of binary fat blends and use of these data to predict SFC of selected ternary fat blends containing low-erucic rapeseed oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.83, n.7, p. 571-581, 2006.

BUNJES, H. Characterization of Solid Lipid Nano and Microparticles. In: NASTRUZZI, C. (Editor). **Lipospheres in Drug Targets and Delivery**. CRC Press LLC, 2005. Capítulo, 3, p. 41-66.

BUNJES, H.; UNRUH, T. Characterization of lipid nanoparticles by differential scanning calorimetry, X-ray and neutron scattering. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 6, p. 379-402, 2007.

BUTT, M.S.; SULTAN, M.T. Ginger and its health claims: molecular aspects. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 51, n.5, p. 383-393, 2011.

CARVALHO, S.M.; NORONHA, C.M.; FLORIANI, C.L.; LINO, R. C., ROCHA, G.; BELLETTINI, I. C.; OGLIARI, P.J.; BARRETO, P.L.M. Optimization of α -tocopherol loaded solid lipid nanoparticles by central composite design. **Industrial Crops and Products**, v.49, p.278-285, 2013.

CASTRO, M.P.; ROJAS, A.M.; CAMPOS, C.A.; GERSCHENSON, L.N. Effect of preservatives, tween 20, oil content and emulsion structure on the survival of *Lactobacillus fructivorans* in model salad dressings. **LWT – Food Science and Technology**, v.42, p.1428-1434, 2009

CEDEÑO, F.O.; PRIETO, M.M.; ESPINA, A.; GARCÍA, J. R. Measurements of temperature and melting heat of some pure fatty acids and their binary and ternary mixtures by differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, v. 369, p.39-50, 2001.

CHAKRABORTY, D.; BISHAYEE, K.; GHOSH, S.; BISWAS, R.; KUMAR MANDAL, S.; RAHMAN KHUDA-BUKSH, A. [6]-Gingerol induces caspase 3 dependent apoptosis and

autophagy in cancer cells: Drug-DNA interaction and expression of certain signal genes in HeLa cells. **European Journal of Pharmacology**, v.694, n.1-3, p.20-29, 2012.

CHAMBI, H.N.M.; ALVIM, I.D.; BARRERA-ARELLANO, D.; GROSSO, C.R.F. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterisation and release profiles. **Food Research International**, v.41, n.3, p.229-236, 2008.

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

CHEN, X-W.; GUO, J.; WANG, J-M.; YIN, S-W.; YANG, X-Q. Controlled volatile release of structured emulsions based on phytosterols crystallization. **Food Hydrocolloids**, v.56, p.170-179, 2016.

CIFTCI, O.N.; TEMELLI, F. Formation of solid lipid microparticles from fully hydrogenated canola oil using supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v.178, p.137-144, p.2016.

COMUNIAN, T.A.; THOMAZINI, M.; ALVES, A.J.G.; DE MATOS JUNIOR, F.E.; DE CARVALHO BALIEIRO, J.C.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. **Food Research International**, v.52, n.1, p. 373-379, 2013.

CONSOLI, L.; GRIMALDI, R.; SARTORI, T.; MENEGALLI, F. C.; & HUBINGER, M. D. Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: production and characterization. **LWT – Food Science and Technology**, v. 65, p. 79-87, 2016.

CORDEIRO, P.; TEMTEM, M.; WINTERS, C. Spray congealing: Applications in the Pharmaceutical Industry. **Chimica Oggi-Chemistry Today**, v. 31, n.5, p. 69-73, 2015.

CORTÉS-ROJAS, D.F., SOUZA, C.R.F., & OLIVEIRA, W.P. Encapsulation of eugenol rich clove extract in solid lipid carriers. **Journal of Food Engineering**, v.127, p.34-42, 2014.

DATTA, S.; GUHA, S.; SHARANGI, A.B. Value addition in spice crops. In: SHARANGI, A. B.; DATTA, S. (Editores). **Value Addition of Horticultural Crops: Recent Trends and Future Directions**, Springer, p. 59-82, 2015.

DELFIYA, D. S. A.; THANGAVEL, K.; NATARAJAN, N.; KASTHURI. R.; KAILAPPAN, R. Microencapsulation of turmeric oleoresin by spray drying in vitro release studies of microcapsules. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, p.37-48, 2015.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients, **Drying Technology**, v.23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DIAS, M. I.; FERREIRA, I.C. F. R.; BARREIRO, M. F. Microencapsulation of bioactives for food applications. **Food and Function**, v. 6, p. 1035-1052, 2015.

- DING, S.H.; AN, K.J.; ZHAO, C.P.; LI, Y.; GUO, Y.H.; WANG, Z. F. Effect of drying methods on volatiles of Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Food and Bioproducts Processing**, v.90, n.3, p.515-524, 2012.
- DUBEY, R.; SHAMI, T.C.; RAO, K.U.B. Microencapsulation Technology and Applications. **Defence Science Journal**, v. 59, n.1, p. 82-95, 2009.
- ECKERT, K. A.; DASGUPTA, S.; SELGE, B.; AY, P. Solid liquid phase diagrams of binary fatty acid mixtures—Palmitic/stearic with oleic/linoleic/linolenic acid mixture. **Thermochimica Acta**, v. 630, p. 50–63, 2016.
- EDEM, D. O. Palm oil: Biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects: A review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.57, n.3-4, p. 319-341, 2002.
- ENSIKAT, H. J.; BOESE, M.; MADER, W.; BARTHLOTT, W., KOCH, K. Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 144, n.1, p. 45-59, 2006.
- FAO - Food and Agriculture Organization. **Definition and classification of commodities**. 1994. Disponível em: <<http://www.fao.org/es/faodef/fdef14e.html>> Acesso em: 09 jun. 2015.
- FAVARO-TRINDADE, C. S.; OKURO, P. K.; MATOS JR, F.E. Encapsulation via spray chilling/cooling/congealing. In: Mishra, M. (Editor). **Handbook of encapsulation and controlled release**. CCR Press, 2015, Capítulo 5, p. 71-87.
- FDA – Food and Drug Administration. **Subchapter B--Food For Human Consumption**. 2016. Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=184.1090>>. Acesso em: 25 jan. 2017.
- FREITAS, C.; MÜLLER, R.H. Correlation between long-term stability of solid lipid nanoparticles (SLN) and crystallinity of the lipid phase. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.47, n.2, p.125–132, 1999.
- GAMBOA, O. W. D. **Microencapsulação de tocoferóis em matrizes lipídicas advindas de gorduras *low trans* interesterificadas quimicamente**. 2011. 188p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
- GAMBOA, O.W.D.; GOLÇALVES, L.G.; GROSSO, C.F. Microencapsulation of tocopherols in lipid matrix by spray chilling method. **Procedia Food Science**, v.1, p.1732-1739, 2011.
- GANJI, S.; SAYYED-ALANGI, S.Z. Encapsulation of ginger ethanolic extract in nanoliposome and evaluation of its antioxidant activity on sunflower oil. **Chemical Papers**, v.71, n.9, p.1781-1789, 2017.
- GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

- GHOSH, S.K. Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective. In: GHOSH, S.K. (Editor). **Functional Coatings**. WILEY-VCH, 2006. Capítulo 1, p. 1-28.
- GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C.N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, n.1, p. 213-224, 1999.
- GOPI, S.; VARMA, K.; JUDE, S. Study on temperature dependent conversion of active components of ginger. **International Journal of Pharma Sciences**, v.6, n.1, p.1344-1347, 2016.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 7-8, p. 330–347, 2004.
- GUNSTONE, F.D. Oils and fats in the market place – Commodity oils and fats: Palm oil. **The AOCS Lipid Library Retrieved**, 2013.
- HERNQVIST, L. Crystal structures of fats and fatty acids. In: GARTI, N.; SATO, K. (Editores). **Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids**. Marcel Dekker, Inc, 1988. Capítulo 3, p. 97-138.
- HINRICHSEN, N. & STEINHART, H. Techniques and Applications in Lipid Analysis. In: KRAMER, J. K. G.; MCDONALD, R.E.; BRENNAN, J. T.; MOSSOBA, M. M. (Editores). **Lipid Analysis and Lipidomics**. AOCS Publishing. 2006, p. 3-26).
- HO, B.T.; JOYCE, D.C.; BHANDARI, B.R. Release kinetics of ethylene gas from ethylene- α -cyclodextrin inclusion complexes. **Food Chemistry**, v.129, n.2, p.259-266, 2011.
- HOLLAND, R.F.; NIELSEN, J.R. Infrared spectra of single crystals. Part II. Four forms of octadecanoic acid. **Journal of Molecular Spectroscopy**, v. 9, n.C, p. 436-460, 1962.
- HU, F.-Q.; JIANG, S.-P.; DU, Y.-Z.; YUAN, H.; YE, Y.-Q.; ZENG, S. Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.5, n.3–4, p.167-173, 2005.
- HUANG, B.; WANG, G.; CHU, Z.; QIN, L. Effect of oven drying, microwave drying, and silica gel drying methods on the volatile components of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by HS-SPME-CG-MS. **Drying Technology**, v.30, n.3, p.248-255, 2012.
- HUANG, T.-C.; CHUNG, C.-C.; WANG, H.-Y.; LAW, C.-L.; CHEN, H.-H. Formation of 6-shogaol of ginger oil under different drying conditions. **Drying Technology**, v. 29, n.16, p. 1884-1889, 2011.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. International Organization for Standardization Ginger and its oleoresins –Determination of main pungent components (gingerols and shogaols) – Method using high-performance liquid chromatography: ISO 13685:1997(E) (1^a ed.). Geneva, Switzerland, 1997.
- JAFARI, S.M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying, **Drying Technology**, v.26, n.7, p.816-835, 2008.

- JAYANUDIN; ROCHMADI; FAHRURROZI, M.; WIRAWAN, S.K. Microencapsulation technology of ginger oleoresin with chitosan as wall material: A review. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.6, p.209-223, 2016.
- JENNING, V.; GOHLA, S. Comparison of wax and glyceride solid lipid nanoparticles (SLN[®]). **International Journal of Pharmaceutics**, v.196, n.2, p.219-222, 2000.
- JENNING, V.; GOHLA, S.H. Encapsulation of retinoids in solid lipid nanoparticles (SLN), **Journal of Microencapsulation**, v.18, n.2, p.149-158, 2001.
- JORGE, N.; VERONEZI, C.M.; RÉ, P.V.D. Antioxidant effect of thyme (*Thymus Vulgaris* L.) and oregano (*Origanum Vulgare* L.) extracts in soybean oil under thermoxidation. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.39, p.1399–1406, 2015.
- KARAIKOU, S.; BLEKAS, G.; PARASKEVOPOULOU, A. Aroma release from gum arabic or egg yolk/xanthan-stabilized oil-in-water emulsions. **Food Research International**, v.41, p.637-645, 2008.
- KARCHER, V., PERRECHIL, F.A., & BANNWART, A.C. Interfacial energy during the emulsification of water-in-heavy crude oil emulsions. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.32, p.127 – 137, 2015.
- KISHK, Y.F.M., & ELSHESHETAWY, H.E. Effect of ginger powder on the mayonnaise oxidative stability, rheological measurements, and sensory characteristics. **Annals of Agricultural Sciences**, v.58, p.213-220, 2013.
- KOBAYASHI, M. Vibrational spectroscopic aspects of polymorphism and phase transition of fats and fatty acids. In: GARTI, N.; SATO, K. (Editores.). **Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids**. Marcel Dekker. 1988, p. 139-188.
- KOUPANTISIS, T.; PARASKEVOPOULOU, A. Flavour retention in sodium caseinate e Carboxymethylcellulose complex coacervates as a function of storage conditions. **Food Hydrocolloids**, v.69, p.459-465, 2017.
- KRISHNAKUMAR, P. K.; BUREAU, E. T. India dominates global market for spice oleoresin as demand for natural agents swells. Disponível em: <<http://articles.economictimes.indiatimes.com/>> Acesso em: 29 out. 2013.
- KUANG, S. S.; OLIVEIRA, J.C.; CREAN, A.M. Microencapsulation as a Tool for Incorporating Bioactive Ingredients into Food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 10, p. 951–968, 2010.
- KUBRA, I. R.; RAO, L. J. M. An impression on current developments in the technology, chemistry, and biological activities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.52, n.8, p. 651-688, 2012.
- LEONEL, A.; CHAMBI, N.; BARRERA-ARELLANO, D.; PASTORE, H.; GROSSO, C. Production and characterization of lipid microparticles produced by spray cooling encapsulating a low molar mass hydrophilic compound. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.1, p. 1-6, 2010.

- LIU, C.-H.; WU, C.-T. Optimization of nanostructured lipid carriers for lutein delivery. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.353, n.2-3, p.149-156, 2010.
- MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, n. 1, p. 1–21, 2006.
- MAO, L.; ROOS, Y. H.; BILIADERIS, C. G.; MIAO, S. Food emulsions as delivery systems for flavor compounds: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.57, p.3173-3187, 2017.
- MARTINS, R. M.; SIQUEIRA, S.; FREITAS, L. A. P. Spray Congealing of Pharmaceuticals: Study on Production of Solid Dispersions Using Box-Behnken Design. **Drying Technology**, v.30, n.9, p. 935-945, 2012.
- MBA, O. I.; DUMONT, M.-J.; NGADI, M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. **Food Bioscience**, v.10, p.26-41, 2015.
- MCCLEMENTS, D. J. Key Physicochemical Concepts. In: MCCLEMENTS, D. J. (Editor). **Nanoparticle- and Microparticle-based Delivery Systems: Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds**. CRC Press. 2014b, Capítulo 10, p.453-522.
- MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipídios. In: DAMODARAN, S., PARKIN, K. L., FENNEMA, O. R. (Editores). **Química de Alimentos de Fennema**. ARTMED, 4ªed: 2010, Capítulo 4, p. 131-178.
- MCCLEMENTS, D. J. Background and Context. In: MCCLEMENTS, D. J. (Editor). **Nanoparticle- and Microparticle-based Delivery Systems: Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds**. CRC Press. 2014, Capítulo 1, p. 1-36.
- MCCLEMENTS, D.J.; DECKER, E.A. Lipids. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. (Editores). **Food Chemistry**. Boca Raton: CRC Press, 2008. P. 155-216.
- MELLEMA, M.; VAN BENTHUM, W. A. J.; BOER, B.; VON HARRAS, J.; VISSER, A. Wax encapsulation of water-soluble compounds for application in foods. **Journal of Microencapsulation**, v.23, n.7, p.729–740, 2006.
- MENG, Z.; LIU, Y.; SHAN, L.; JIN, Q.; WANG, F.; WANG, X. Specialty fats from beef tallow and canola oil: establishment of reaction conditions, characterization of products, and evaluation of crystal stability. **Food Biophysics**, v.6, n.1, 115-126, 2011.
- MEUNIER, J.P.; CARDOT, J.M.; MANZANILLA, E. G.; WYSSHAAR, M.; ALRIC, M. Use of spray-cooling technology for development of microencapsulated capsicum oleoresin for the growing pig as an alternative to in-feed antibiotics: A study of release using in vitro models. **Journal of Animal Science**, v.85, p. 2699–2710, 2007.
- MONIRUZZAMAN, M.; SUNDARARAJAN, P.R. Morphology of blends of self-assembling long-chain carbamate and stearic acid. **Pure and Applied Chemistry**, v.76, n.7-8, p.1353-1363, 2004.

- MORENO, E.; CORDOBILLA, R.; CALVET, T.; (...); MONDIEIG, D.; OONK, H. A. J. Polymorphism of even saturated carboxylic acids from n-decanoic to n-icosanoic acid. **New Journal of Chemistry**, v.31, n. 6, p. 947-957, 2007.
- MÜELLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S.A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 1, p. 131-155, 2002.
- MÜHLEN, A.; SCHWARZ, C.; MEHNERT, W. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - Drug release and release mechanism. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 45, n.2, p. 149-155, 1998.
- MURTHY, P.S.; GAUTAM, R.; NAIK, J, P. Ginger oleoresin chemical composition, bioactivity and application as bio-preservatives. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n.6, p. 1905-1912, 2015.
- NAZZARO, F.; ORLANDO, P.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p.182-186, 2012.
- NICHOLS, D.S.; SANDERSON, K. Chemical and functional properties of food lipids. In: SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A. (Editores). **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**, CRC Press, New York, 2003, p.1-31.
- O'BRIEN, R.D. Fats and Oils Formulation. In: __ (Editores). **Fats and Oils - Formulating and Processing for Applications**. CRC PressTaylor, 3ª ed. 2009.
- OH, C.M.; GUO, Q.; HENG, P.W.S.; CHAN, L. W. Spray-congealed microparticles for drug delivery – an overview of factors influencing their production and characteristics. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v.11, n.7, p.1047-1060, 2014.
- OKURO, P. K.; MATOS-JR, F.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. **Food Technology and Biotechnology**, v. 51, n.2, p.171-182, 2013.
- OKURO, P. K.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; LIBERAL, R. D. C. O.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. **Food Research International**, v. 53, n.1, p.96-103, 2013.
- ORIANI, V.B.; CONSOLI, L.; MOLINA, G.; PASTORE, G.M.; ALVIM, I.D.; HUBINGER, M.D. Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention. **Food Research International**, v.80, p.41-49, 2016.
- OXLEY, J. D. Spray cooling and spray chilling for food ingredient and nutraceutical encapsulation. In: GARTI, N.; MCCLEMENTS, J. (Editores). **Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals**. WP, Woodhead Publishing, 2012, Capítulo 5, 110-130.

- PANDA, H. Value added spice products. In: PANDA, H. (Editor). **Handbook on Spices and Condiments (Cultivation, Processing and Extraction)**. Asia Pacific Business Press Inc. 2010, Capítulo 2, p. 12-18.
- PARAVISINI, L.; GUICHARD, E. Interactions between aroma compounds and food matrix. In: GUICHARD, E.; SALLES, C.; MORZEL, M.; LE BON, A.-M. (Editores). **Flavour: From Food to Perception**, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2016, p. 208-234.
- PARTANEN, R.; RAULA, J.; SEPPÄNEN, R.; BUCHERT, J.; KAUPPINEN, E.; FORSELL, P. Effect of relative humidity on oxidation of flaxseed oil in spray dried whey protein emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 5717-5722, 2008.
- PARTHENIADIS, I.; KARAKASIDOU, P.; VERGKIZI, S.; NIKOLAKAKIS, I. Spectroscopic examination and release of microencapsulated oregano essential oil. *ADMET & DMPK*, v.5, n.4, p.224-233, 2017.
- PASSERINI, N.; SHENG, Q.; ALBERTINI, B.; GRASSI, M.; RODRIGUEZ, L.; CRAIG, D.Q.M. Solid lipid microparticles produced by spray congealing: Influence of the atomizer on microparticle characteristics and mathematical modeling of the drug release. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.99, n.2, p.916-931, 2010.
- PAUCAR, O.C.; TULINI, F.L.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J.C.C.; PALLONE, E.M.J.A.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Production by spray chilling and characterization of solid lipid microparticles loaded with vitamin D₃. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 344-350, 2016.
- PEGG, R.B.; SHAHIDI, F. Encapsulation, Stabilization, and Controlled Release of Food Ingredients and Bioactives. IN: Rahman, M.S. (Editor). **Handbook of Food Preservation**. CRC Press, 2007. Capítulo 22, p.509 – 568.
- PELISSARI, J.R.; SOUZA, V.B.; PIGOSO, A.A.; TULINI, F.L.; THOMAZINI, M.; RODRIGUES, C.E.C.; URBANO, A.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Production of solid lipid microparticles loaded with lycopene by spray chilling: Structural characteristics of particles and lycopene stability. **Food and Bioproducts Processing**, v.98, p.86-94, 2016.
- PING, B. T. Y.,; YOUSOF, M. Characteristics and properties of fatty acid distillates from palm oil. **Oil Palm Bulletin**, v.59, n.5-11, 2009.
- POTHAKAMURY, U.R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Fundamental aspects of controlled release in foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, n.12, p. 397-406, 1995.
- PREMAVALLI, K. S. Ginger as a Spice and Flavorant. In: BABU, K. N., RAVINDRAN, P.N. (Editores). **Ginger The Genus Zingiber**. Capítulo 15, p.1-17, 2004.
- PURNOMO, H.; JAYA, F.; WIDJANARKO, S.B. The effects of type and time of thermal processing on ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) rhizome antioxidant compounds and its quality. **International Food Research Journal**, v.17, n.2, p.335-347, 2010.
- RAYBAUDI-MASSILIA, R.M.; MOSQUEDA-MELGAR, J. Polysaccharides as Carriers and Protectors of Additives and Bioactive Compounds in Foods. In: KARUNARATNE, D. N. (Editor) **The Complex World of Polysaccharides**. InTech, 2012. Capítulo 16, p. 429-454.

- RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, n.6, p. 1195-1236, 1998.
- REINECCIUS, G. A. Flavor encapsulation. **Food Reviews International**, v.5, n.2, p.147-176, 1989.
- RIBEIRO, A.P.B.; MASUCHI, M.H.; MIYASAKI, E.K.; DOMINGUES, M. A. F.; STROPPA, V. L. Z.; OLIVEIRA, G. M.; KIECKBUSCH, T.G. Crystallization modifiers in lipid systems. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 7, p.3925–3946, 2015.
- RIBEIRO, M.D.M.; ARELLANO, D.; GROSSO, C.F. The effect of adding oleic acid in the production of stearic acid lipid microparticles with a hydrophilic core by a spray-cooling process. **Food Research International**, v.47, n.1, p.38-44, 2012.
- RODRIGUEZ, L.; PASSERINI, N.; CAVALLARI, C.; CINI, M.; SANCIN, P.; FINI, A. Description and preliminary evaluation of a new ultrasonic atomizer for spray-congealing processes. **International Journal of Pharmaceutics**, v.183, n. 2, p.133-143, 1999.
- ROHMAN, A.; CHE MAN, Y.B. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. **Food Research International**, v.43, n.3, p.886-892, 2010.
- RUFINO, M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D.; MANCINI FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of eighteen nontraditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996-1002, 2010.
- SAID, P.P.; ARYA, O.P.; PRADHAN, R.C.; SINGH, R.S.; RAI, B.N. Separation of Oleoresin from Ginger Rhizome Powder Using Green Processing Technologies. **Journal of Food Process Engineering**, v.38, n.2, p. 107-114, 2015.
- SALA, S.; ELIZONDO, E.; MORENO, E.; (...); VENTOSA, N.; VECIANA, J. Kinetically driven crystallization of a pure polymorphic phase of stearic acid from CO₂-expanded solutions. **Crystal Growth and Design**, v. 10, n.3, p. 1226-1232, 2010.
- SALEA, R.; VERIANSYAH, B.; TJANDRAWINATA, R.R. Optimization and scale-up process for supercritical fluids extraction of ginger oil from *Zingiber officinale* var. Amarum. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 120, p. 285-294, 2017.
- SAMTLEBE, M.; YUCEL, U.; WEISS, J.; COUPLAND, J.N. Stability of solid lipid nanoparticles in the presence of liquid oil emulsions. **JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.89, p.609-617, 2012.
- SARTORI, T.; CONSOLI, L.; HUBINGER, M. D.; MENEGALLI, F. C. Ascorbic acid microencapsulation by spray chilling: Production and characterization. **LWT- Food Science and Technology**, v. 63, n.1, p. 353-360, 2015.
- SATO, K. Crystallization behavior of fats and lipids: a review. **Chemical Engineering Science**. v.56, n.7, p.2255-2265, 2001.

SATO, K. **Teaching Lipid Crystallization - from Molecules to End Products** -. Palestra proferida em III Workshop Avanços tecnológicos na qualidade e estabilidade de chocolates e de outros sistemas lipídicos. Campinas-SP, em 03 e 04 de setembro de 2013.

SATO, K.; UENO, S. Crystallization, transformation and microstructures of polymorphic fats in colloidal dispersion states. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 16, p. 384-390, 2011.

SCRIMGEOUR, C. M.; HARWOOD, J. L. Fatty Acid and Lipid Structure. In: HARWOOD, J.L.; GUNSTONE, F.D.; DIJKSTRA, A. J. (Editores). **The Lipid Handbook**, 3th, CRC Press, p.1 -36, 2007.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 33, n.6, p. 501-547, 1993.

SHAIKH, J.; BHOSALE, R.; SINGHAL, R. Microencapsulation of black pepper oleoresin. **Food Chemistry**, v. 94, n. 1, p. 105–110, 2006.

SHANTHA, N.C.; DECKER, E.A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide value of food lipid. **Journal of AOAC International**, v.77, 421-424, 1994.

SHUKLA, Y.; SINGH, M. Cancer preventive properties of ginger: A brief review. **Food Chemistry Toxicology**, v.45,p. 683–690, 2007.

SI, W., CHEN, Y.P., ZHANG, J., CHEN, Z.-Y.; CHUNG, H.Y. Antioxidant activities of ginger extract and its constituents toward lipids. **Food Chemistry**, v.239, p.1117-1125., 2018.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Mathematical modeling of drug dissolution. **International Journal of Pharmaceutics**, v.453, 12-24, 2013.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN F. Mathematical modeling of drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v.364, p. 328–343, 2008.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN F. Mathematical modeling of drug dissolution. **International Journal of Pharmaceutics**, v.453, p.12-24, 2013.

SILLICK, M.; GREGSON, C. M. Spray chill encapsulation of flavors within anhydrous erythritol crystals. **LWT-Food Science and Technology**, v.48, n.1, p.107-113, 2012.

SILVA, J. C.; PINHO, S. C. Viability of the microencapsulation of a casein hydrolysate in lipid microparticles of cupuacu butter and stearic acid. **International Journal of Food Studies**, v.2, 48-59, 2013.

SINGH, G.; KAPOOR, I.P.S.; SINGH, P.; HELUANI, C.S.; DE LAMPASONA, M.P.; CATALAN, C.A.N. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.10, p.3295-3302, 2008.

- SOBEL, R.; VERSIC, R.; GAONKAR, A.G. Introduction to Microencapsulation and Controlled Delivery in Foods. In: GAONKAR, A. G.; VASISHT, N.; KHARE, A. R.; SOBEL, R. (Editores). **Microencapsulation in the Food Industry - A Practical Implementation Guide**. Academic Press of Elsevier. 2014. Capítulo 1, p.3-12.
- SOOTTITANTAWAT, A.; YOSHII, H., FURUTA, T.; OHGAWARA, M.; FORSSELL, P.; PARTANEN, R.; ... LINKO, P. Effect of water activity on the release characteristics and oxidative stability of D-limonene encapsulated by spray drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.5, p.1269-1276, 2004.
- SRINIVASAN, K. Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. **Pharma Nutrition**, v.5, p. 18-28, 2017.
- STAUFFER, C.E. Fats & Oils. MN: Eagan Press. 1996. p. 149.
- SUN, Y.-E.; WANG, W.-D.; CHEN, H.-W.; LI, C. Autoxidation of Unsaturated Lipids in Food Emulsion. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.51, 453-466, 2011.
- TAN, C.P.; CHE MAN, Y.B. Differential scanning calorimetric analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: effects of scanning rate variation. **Food Chemistry**, v.76, n.1, 89-102, 2002.
- TEIXEIRA, A.C.T.; GARCIA, A.R.; ILHARCO, L.M.; GONÇALVES DA SILVA, A.M.P.S.; FERNANDES, A.C. Phase behaviour of oleanolic acid, pure and mixed with stearic acid: Interactions and crystallinity. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.163, n.7, 655-666, 2010.
- TIMMS, R.E. Physical properties of oils and mixtures of oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.62, n.2, p. 241-249, 1985.
- TOUBLAN, F. J-J. Fats and Waxes in Microencapsulation of Food Ingredients. . In: GAONKAR, A.G.; VASISHT, N.; KHARE, A.; SOBEL, R. (Editores). **Microencapsulation in the Food Industry - A Practical Implementation Guide**. Academic Press of Elsevier. 2014. Capítulo 22, p.173-180.
- TULINI, F.L.; SOUZA, V.B.; THOMAZINI, M.; SILVA, M. P.; MASSARIOLI, A. P.; ALENCAR, S. M.; PALLONE, E. M. J. A.; GENOVESE, M.I.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Evaluation of the release profile, stability and antioxidant activity of a proanthocyanidin-rich cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) extract co-encapsulated with α -tocopherol by spray chilling. **Food Research International**, v. 95, p. 117-124, 2017.
- VAIDYA, S.; BHOSALE, R.; SINGHAL, R. S. Microencapsulation of cinnamon oleoresin by spray drying using different wall materials. **Drying Technology**, v.24, v.8, 983-992, 2006.
- VARAKUMAR, S., UMESH, K.V., SINGHAL, R.S. Enhanced extraction of oleoresin from ginger (*Zingiber officinale*) rhizome powder using enzyme-assisted three phase partitioning. **Food Chemistry**, v.216, n.27-36, 2017.
- VASISHT, N. Selection of Materials for Microencapsulation. In: GAONKAR, A.G.; VASISHT, N.; KHARE, A.; SOBEL, R. (Editores). **Microencapsulation in the Food**

- Industry - A Practical Implementation Guide.** Academic Press of Elsevier. 2014. Capítulo 2, p.173-180.
- VAZQUEZ-LANDAVERDE, P.A.; QIAN, M.C.; TORRES, J.A. Kinetic analysis of volatile formation in milk subjected to pressure-assisted thermal treatments. **Journal of Food Science**, v.72, n.7, p.E389–E398, 2007.
- VERNIN, G.; PARKANYL, C. Chemistry of ginger. In: RAVINDRAN, P. N.; NIRMAL BABU, K. (Editores). **Ginger – The Genus Zingiber**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005, p.87–180.
- WADA, J. K.A. **Produção de gorduras alimentícias zero trans utilizando óleo de palma, estearina de palma e óleo de soja totalmente hidrogenado.** 2007. 181 p. Dissertação (mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- WANG, J-L.; DONG, X-Y.; WEI, F.; ZHONG, J.; LIU, B.; YAO, M-H.; YANG, M.; ZHENG, C.; QUEK, S-Y.; CHEN, H. Preparation and characterization of novel lipid carriers containing microalgae oil for food applications. **Journal of Food Science**, v.79, n.2, p.169-177, 2014.
- WANG, X.; YUAN, Y.; YUE, T. The application of starch-based ingredients in flavor encapsulation. **Starch/Staerke**, v.67, n.(3-4), p.225-236, 2015.
- WANG, J.; DING, H.; TAO, X.; CHEN, J. Storage and sustained release of volatile substances from a hollow silica matrix. **Nanotechnology**, v.18, p.1-6, 2007.
- WEGMÜLLER, R.; ZIMMERMANN, M. B.; BÜHR, V. G.; WINDHAB, E. J.; HURRELL, R. F. Development, Stability, and Sensory Testing of Microcapsules Containing Iron, Iodine, and Vitamin A for Use in Food Fortification. **Journal of Food Science**, v. 71, n.2, p.181-187, 2006.
- WING-KEONG, N.; GIBON, V. Palm oil and saturated fatty acid-rich vegetable oils. In: Turchini, G. M.; Wing-Keong, N.; Toche, D. R. (Editores). **Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds.** 2010, p. 99-132.
- WISSING, S.A.; KAYSER, O.; MÜLLER, R.H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n.9, p. 1257-1272, 2004.
- WONG, P.C.H.; HENG, P.W.; CHAN, L.W. Determination of Solid State Characteristics of Spray-Congeaed Ibuprofen Solid Lipid Microparticles and Their Impact on Sustaining Drug Release. **Molecular Pharmaceutics**, v.12, p.1592–1604, 2015.
- YANG, J.; CIFTCI, O.N. Formation of hollow solid lipid micro- and nanoparticles using supercritical carbon dioxide. **Food and Bioproducts Processing**, v.98, p.151–160, 2016.
- YANG, J.; CIFTCI, O.N. Encapsulation of fish oil into hollow solid lipid micro- and nanoparticles using carbon dioxide. **Food Chemistry**, v.231, p.105–113, 2017.

- YEH, H-U.; CHUANG, C-H.; CHEN, H-C.; WAN, C-J.; CHEN, T-L.; LIN, L-Y. Bioactive components analysis of two various gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. **LWT - Food Science and Technology**, v.55, p.329-334, 2014.
- ZACHARIAH, T. J. Ginger. In: PARTHASARATHY, V. A.; CHEMPAKAM, B.; ZACHARIAH, T. J. (Editores). **Chemistry of Spices**. CAB International, 2008. Capítulo 5, p. 70-98.
- ZAFEIRI, I.; SMITH, P.; NORTON, I.T.; SPYROPOULOS, F. Fabrication, characterisation and stability of oil-in-water emulsions stabilised by solid lipid particles: the role of particle characteristics and emulsion microstructure upon Pickering functionality. **Food and Function**, v.8, p.2583–2591, 2017.
- ZAMORA, R; HIDALGO, F. J. Fatty acids. In: NOLLET, L. M. L. (Editores). **Handbook of food analysis**. Marcel Deck, 2004. Capítulo 9, p. 221-274.
- ZHANG, X.; LI, L.; LIANG, Z.; SU, J.; LIU, G.; LI, B. Comparative analysis of thermal behavior, isothermal crystallization kinetics and polymorphism of palm oil fractions. **Molecules** v.18, p.1036-1052, 2013.
- ZHANG, Z.; LAW, D.; LIAN, G. Characterization Methods of Encapsulates. In: ZUIDAM, N.J.; NEDOVIC, V. (Editores). **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. Springer, New York, 2010. Capítulo 4, p. 101-125.
- ZHENG, M.; FALKEBORG, M.; ZHENG, Y.; YANG, T.; XU, X. Formulation and characterization of nanostructured lipid carriers containing a mixed lipids core. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.430, p.76-84, 2013.
- ZHU, F. Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems. **Food Chemistry**, v.229, p.542-552, 2017.
- ZUIDAM, N. J.; SHIMONI, E. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: ZUIDAM, N .J.; NEDOVIĆ, V. A. (Editores). **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. LLC:Ration. 2010. Capítulo 2, p. 3-29.

- APÊNDICES -

*Apêndice A – Caracterização das Matérias
Primas e Miscibilidade da Mistura Binária
Oleoresina - Lipídio*

*Apêndice B – Oleoresina de Gengibre imiscível
em Lipídios*

Apêndice C – Aspecto Físico dos Pós

APÊNDICE A: CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS E MISCIBILIDADE DA MISTURA BINÁRIA OLEORESINA - LIPÍDIO

Este apêndice apresenta a caracterização das matérias primas, envolvendo os lipídios carreadores e principalmente a oleoresina de gengibre. Um estudo inicial para definição dos lipídios carreadores para a formação das partículas foi necessário. Os ácidos graxos palmítico, esteárico e oleico proporcionaram miscibilidade com a oleoresina de gengibre, sendo também adicionada ao sistema de carreadores lipídicos a gordura de palma, porém a gordura deve ser associada junto com um ácido graxo, pois lipídios com características apolares não apresentaram afinidades com a oleoresina de gengibre.

ETAPA 1: CARACTERIZAÇÃO DE CARREADORES LIPÍDICOS E OLEORESINA DE GENGIBRE

Caracterização dos Carreadores Lipídicos

Caracterização Lipídica em Ácidos Graxos

A Tabela 1 apresenta a composição em ácidos graxos dos carreadores lipídicos que foram utilizados para a formação da micropartícula, essa análise foi realizada no Laboratório de Óleos e Gorduras pertencente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP.

Tabela 1. Composição em ácidos graxos dos carreadores lipídicos

Ácido Graxo	Ácido Palmítico	Ácido Esteárico	Ácido Oleico	Gordura de Palma
C12:0 (%)	-	-	-	1,19±0,01
C14:0 (%)	0,72±0,01	-	0,31±0,01	1,30±0,01
C16:0 (%)	98,94±0,04	1,32±0,23	5,91±0,02	39,94±0,01
C18:0 (%)	0,22±0,01	97,54±0,24	1,63±0,01	8,16±0,04
C18:1 (%)	-	-	77,76±0,02	37,62±0,01
C18:2 (%)	-	-	11,60±0,12	10,20±0,02
C18:3 (%)	-	-	-	0,22±0,01

A composição lipídica da gordura de palma utilizada é típica de óleos e gorduras, conforme é possível verificar na Tabela 2, com a predominância da classe lipídica dos triacilgliceróis (91%), sendo também verificada a presença de 8% de diacilgliceróis, essa classe lipídica pode influenciar no polimorfismo desse lipídio. Essa análise foi realizada no

Laboratório de Óleos e Gorduras pertencente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP, utilizando Cromatografia de Alta Eficiência por Exclusão Molecular (HPSEC).

Tabela 2. Composição lipídica e classificação triacilglicerólica da gordura de palma.

Composição lipídica	%
Monoacilgliceróis + ácidos graxos livres	0,7±0,1
diacilgliceróis	8,1±0,7
triacilgliceróis	91,2±1,0
Classes dos triacilgliceróis	%
SSS (31,5 – 73,5 °C)*	13,6
SUS (18,6 – 39,8 °C)*	38,4
SUU (-5,6 – 23,7 °C)*	40,7
UUU (-24,2 – 5,6 °C)*	6,9

S: lipídio saturado. U: lipídio insaturado

*Faixa de fusão obtida através das informações contida em Hidalgo e Zamora (2004) e O'Brien (2008).

A composição em triacilgliceróis da gordura de palma foi obtida através da plataforma LAMES instalada na Universidade Federal de Goiás (<http://projetos.extras.ufg.br/plames/>), sendo a classificação triacilglicerólica de acordo com a Tabela 2. A composição em triacilgliceróis dos tipos trissaturados (SSS), monoinsaturados (SUS), diinsaturados (SUU) e triinsaturados (UUU) apresentam diferentes regiões de ponto de fusão e para a gordura e devido a essa composição heterogênea, faz com que esse lipídio apresente diferentes picos de fusão.

O objetivo de utilizar o ácido oleico e a gordura de palma foi acrescentar lipídios insaturados, assim modificar a cristalização da mistura lipídica da matriz e conseqüentemente verificar como seria o comportamento da oleoresina diante da adição desses lipídios moduladores.

Comportamento Térmico

O comportamento térmico dos materiais lipídicos foi avaliado por análise calorimétrica de varredura (DSC).

A temperatura média de transição de fase na fusão e cristalização do ácido palmítico foi de $63,19 \pm 0,54$ °C (Pico 1) e $54,88 \pm 1,06$ °C (Pico 2), respectivamente, e para

o ácido esteárico a fusão foi em $69,76 \pm 0,52$ °C (Pico 1) e $60,41 \pm 0,69$ °C (Pico 2) na cristalização, conforme Figura 1 e Figura 2.

A energia necessária para que ocorra a transição de fase na fusão e cristalização do ácido palmítico é $-212,23 \pm 1,26$ J/g e $215,97 \pm 2,69$ J/g, respectivamente. No ácido esteárico a energia foi de $-214,15 \pm 1,67$ J/g para a fusão e $219,10 \pm 1,44$ J/g para a cristalização.

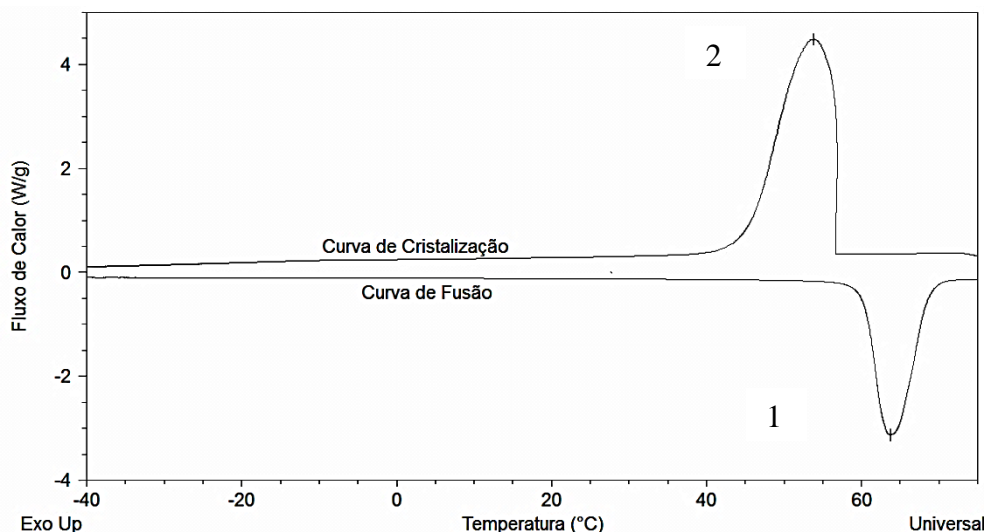


Figura 1. Curva de aquecimento e resfriamento do ácido palmítico obtida por DSC.

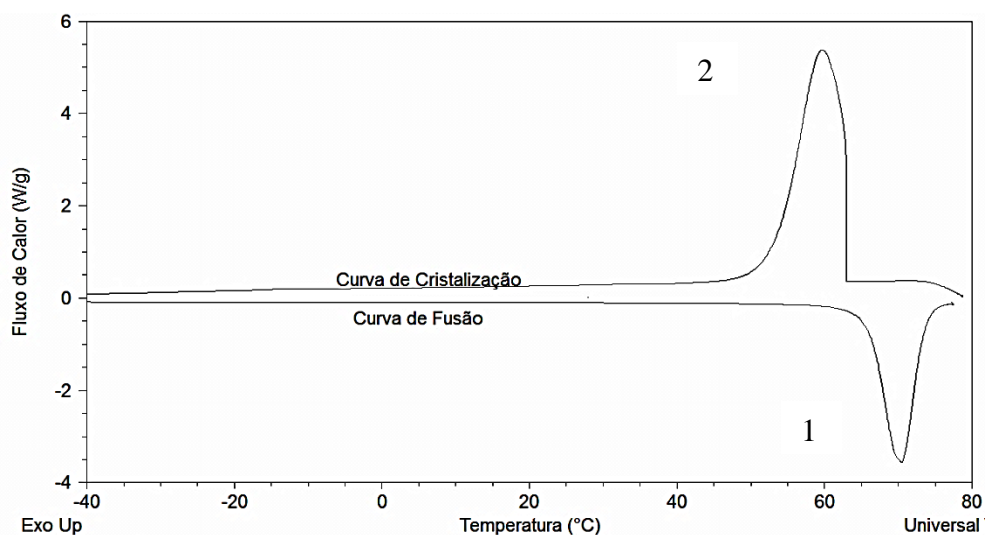


Figura 2. Curva de aquecimento e resfriamento do ácido esteárico obtida por DSC.

A curva de aquecimento e resfriamento do ácido oleico (Figura 3) apresenta dois picos de transição de fase em cada curva, diferentemente dos ácidos graxos palmítico e esteárico. A presença de um pico endotérmico (~ -25 °C – pico 1) é detectada na curva de aquecimento e uma das hipóteses é devido a composição desse lipídio, que não é 100% puro, conforme a Tabela 1. Na composição lipídica é encontrado 11,6% de ácido linoleico (C18:2), assim esse pico pode ser relacionado com a fusão desse lipídio. Como outra hipótese, a

literatura apresenta o pico de menor intensidade com uma transição polimórfica, na qual os cristais se reorganizam em uma nova fase cristalina mais estável (CEDENO et al., 2001; ECKERT et al., 2016).

A temperatura de transição de fase na fusão sólido-líquido do ácido oleico foi de $8,21 \pm 0,02$ °C (pico mais intenso - 2). O pico 3 está relacionado com a cristalização do ácido oleico (C18:1), onde passa da fase líquida para a sólida.

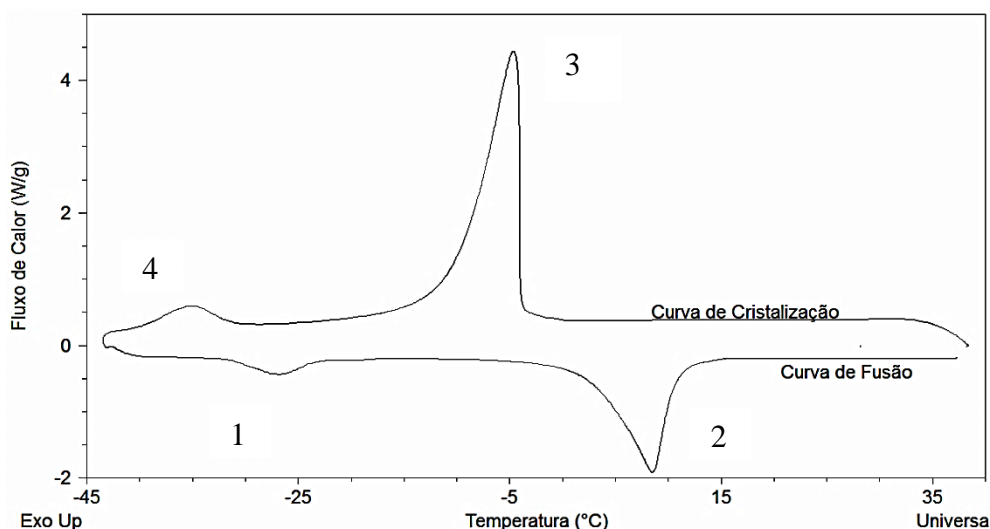


Figura 3. Curva de aquecimento e resfriamento do ácido oleico obtida por DSC.

A gordura de palma utilizada neste trabalho apresentou curva de fusão característica desse lipídio, Figura 4. Esse perfil de fusão é devido à diversificação na composição lipídica, resultante de uma fração de baixo ponto de fusão e outra de alto ponto de fusão conhecidas como a fração de oleína (pico 1) e estearina (pico 2) de palma, respectivamente.

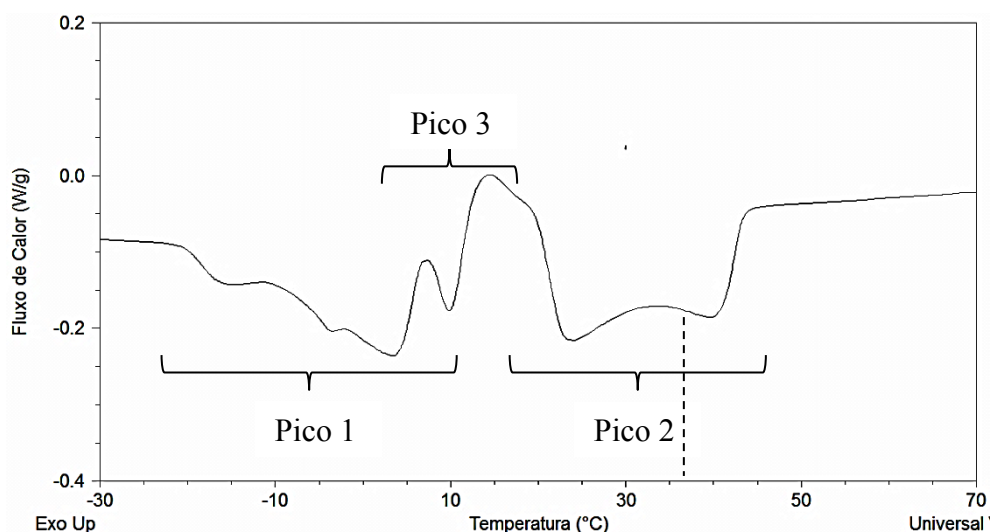


Figura 4. Curva de fusão da gordura de palma obtida por DSC. Linha pontilhada representa a temperatura de fusão da gordura de palma.

As curvas de DSC para a cristalização da gordura de palma são mostradas na Figura 5. A subdivisão da curva de cristalização da amostra de gordura de palma em diferentes picos exotérmicos corresponde as diferentes frações lipídicas de oleína (Pico 2) e estearina (Pico 1).

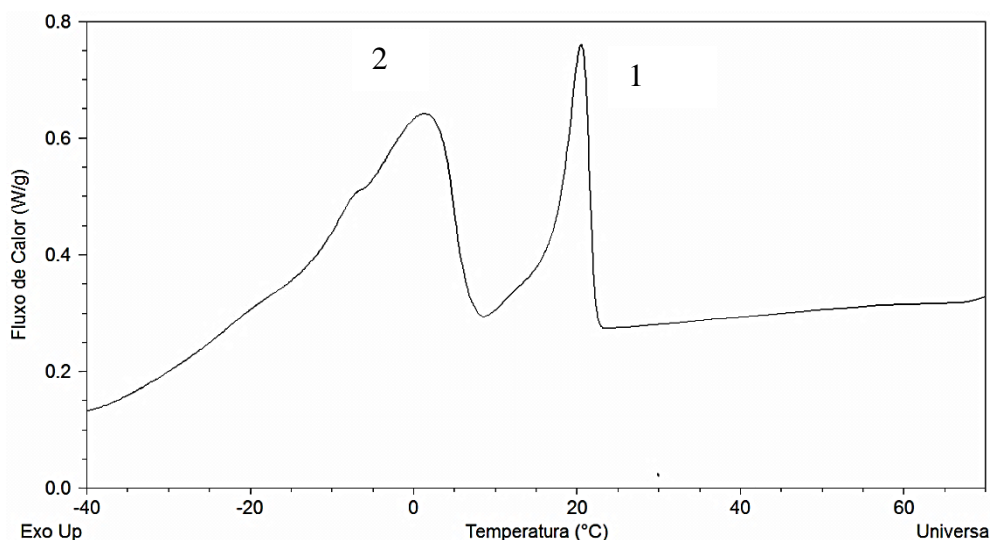


Figura 5. Curva de cristalização da gordura de palma obtida por DSC.

Polimorfismo de Cristais Lipídicos

Pela análise de Difração de Raios-X (DRX) foi possível verificar a estrutura cristalina presente nos ácidos graxos e na gordura de palma. Através da análise de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) foi verificado o polimorfismo para os ácidos graxos, sendo essa análise realizada no Laboratório Multiusuários do Instituto de Física IFGW – LAMULT – UNICAMP.

Os difratogramas dos ácidos graxos esteárico e palmítico obtidos pela análise de DRX estão apresentados na Figura 6. Os picos onde $2\theta > 15^\circ$, correspondentes ao espaçamento de 4,1 e 3,7 Å, estão de acordo com a estrutura cristalina ortorrômbica. Os picos na região onde $2\theta < 15^\circ$ são característicos de cada ácido graxo, sendo a forma polimórfica que definirá a posição desses picos.

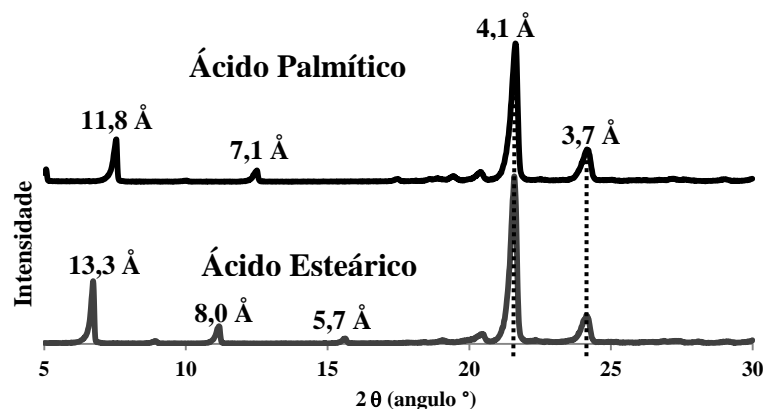


Figura 6. Difratograma dos ácidos graxos palmítico e esteárico obtido por DRX. As linhas tracejadas correspondem aos espaçamentos típicos de estrutura ortorrômbica.

O estado polimórfico dos ácidos graxos utilizados para a formação das partículas foi analisada por FTIR. Nos espectros apresentados na Figura 7, foi observada similaridade nas bandas de absorção para ambos os ácidos graxos. A literatura apresenta que a banda no comprimento de onda de 941 cm^{-1} corresponde à vibração do grupamento $-\text{OH}$ do grupo carboxila como características na forma polimórfica C (HOLLAND; NIELSEN, 1962; MORENO et al., 2007; SALA et al., 2010). Para ácidos graxos, essa forma polimórfica é a mais estável, não havendo transição para outra forma polimórfica com maior estabilidade (HERNQVIST, 1988; MONIRUZZAMAN; SUNDARARAJAN, 2004; ZAMORA; HIDALGO, 2004).

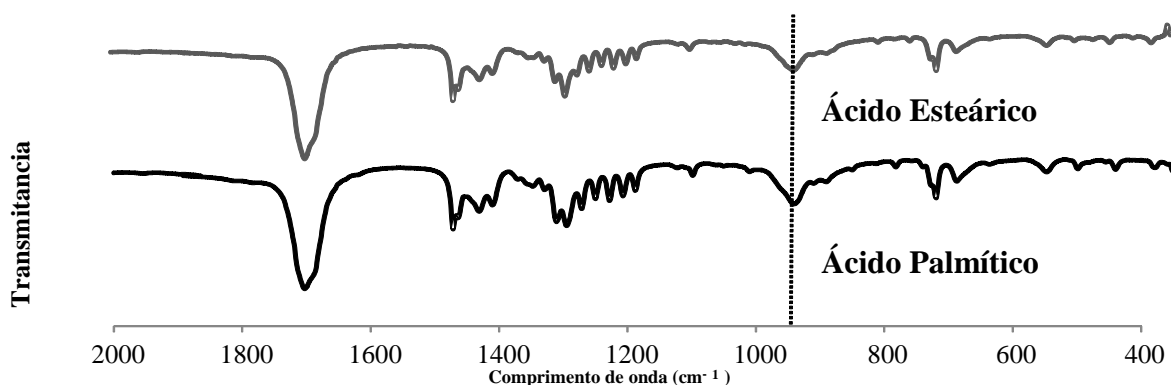


Figura 7. Espectrograma obtido por FTIR dos ácidos graxos palmítico e esteárico. O pontilhado observado na figura está relacionado à banda em 941 cm^{-1} .

Caracterização da Oleoresina de Gengibre

Caracterização Lipídica

Entre alguns métodos disponíveis para análise da composição lipídica, neste trabalho foram utilizadas as análises de composição em ácido graxo, HPSEC para verificar a presença de algumas classes lipídicas (essas análises foram realizadas no Laboratório de Óleos e Gorduras pertencente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP). A acidez titulável também foi mensurada.

Tabela 3. Composição em percentual de ácidos graxos.

	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
OG*	5,76±	3,64±	31,02±	9,02±	16,02±	29,16±	5,38±
	0,01	0,02	0,07	0,04	0,15	0,12	0,18

*Oleoresina de gengibre

Conforme verificado na análise de HPSEC – Tabela 4, os ácidos graxos livres juntamente com os monoacilgliceróis predominam na composição com 58%, seguidos de diacil (21,9%) e triacilgliceróis (19,9%). A composição lipídica da oleoresina de gengibre é complexa, pois não predomina somente lipídios derivados de esteres e gliceróis, a composição a base de outros lipídios como ceras e resinas ainda não é conhecida para a oleoresina de gengibre. A oleoresina deste trabalho apresentou teor de 2,5% de equivalente em ácido graxo palmítico livre, sendo que oleoresina não passou por nenhum processo de refinamento de óleos.

Tabela 4. Ácidos graxos livres e composição lipídica obtida pela análise de HPSEC, da oleoresina de gengibre.

	% ácido palmítico**	% ácido graxo livre + monoacilglicerol	% diacilglicerol	% triacilglicerol
OG*	2,5±0,6	58,1±1,3	21,9±0,6	19,9±0,6

*Oleoresina de Gengibre

** utilizado como referência para ácidos graxos obtidos pela análise de ácidos graxos livres

Composição dos Compostos Voláteis

A metodologia utilizada foi de acordo com Huang (2012) e Ding et al. (2012) com algumas modificações. De acordo com a Tabela 5 é possível verificar os voláteis majoritários presentes na oleoresina de gengibre.

Tabela 5. Composição qualitativa dos compostos voláteis presentes na oleoresina de gengibre

Nome do composto	% Área*
ar-curcumeno	13,579 ± 0,213
α-zingibereno	34,550 ± 0,275
α-farneseno	12,613 ± 0,091
β-bisaboleno	8,015 ± 0,061
β-sesquifelandreno	15,482 ± 0,132
Somatório das áreas:	84,239 ± 0,771

*Índice Volátil

Composição dos Compostos de Pungência

Foram identificados e quantificados somente os compostos de pungência com maior influência na oleoresina de gengibre, sendo o 6-gingerol e 6-shogaol. A metodologia foi desenvolvida pela International Organization for Standardization (ISO) sob o número 13685:1997 utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Neste trabalho, a quantificação dos compostos de pungência apresentaram para o 6-gingerol $107,92 \pm 7,41$ mg, em 1 g de oleoresina, representando aproximadamente 11% do total da oleoresina, e o 6-shogaol resultou em $30,36 \pm 2,62$ mg, em 1 g de oleoresina, correspondendo a 3% no total de oleoresina.

ETAPA 2: VERIFICAÇÃO DA HOMOGENEIDADE DAS MISTURAS BINÁRIAS LIPÍDIO – OLEORESINA PARA ESTUDOS DE FORMAÇÃO DE PARTÍCULAS LIPÍDICAS A PARTIR DA TÉCNICA DE *SPRAY CHILLING*

Verificação da Mistura de Oleoresina de Gengibre e Lipídio





A concentração do material ativo foi fixada em 10% (g/100 g mistura lipídica). Os lipídios foram testados individualmente com a oleoresina de gengibre. Na Tabela 6 é possível verificar o resultado visual da mistura.

A homogeneização da oleoresina de gengibre com a gordura de palma apresentou-se imiscível (Tabela 6 – Ensaio 1). A gordura de palma é um lipídio composto de moléculas de triacilgliceróis, provavelmente a polaridade interferiu na homogeneização com a oleoresina, conforme foi observado para outras bases lipídicas testadas que mostraram ser imiscíveis na oleoresina de gengibre, sendo apresentadas no APENDICE B. Segundo o fornecedor da oleoresina de gengibre, NATUREX, a extração da mesma foi feita por solventes polares (acetona e acetato de etila – Anexos), o que resulta na extração de compostos com características mais polares do que apolares. Esses compostos podem dificultar a mistura nos lipídios com predominância de moléculas apolares, como os triacilgliceróis.

A adição dos ácidos graxos (palmítico, esteárico e oleico) na oleoresina apresentou miscibilidade e, provavelmente, a afinidade foi devido à porção polar do lipídio que facilitou a interação com a oleoresina.

A Tabela 6 apresenta a classificação do estado físico da mistura a temperatura ambiente, sendo sólido, líquido ou semissólido. Os ácidos oleico, esteárico e palmítico foram miscíveis na oleoresina de gengibre e a mistura com os ensaios 2 e 3, Tabela 7, apresentaram estado físico sólido a temperatura ambiente, assim essas misturas poderiam garantir a produção micropartículas lipídicas sólidas pela técnica de *spray chilling*.

Tabela 6. Miscibilidade da oleoresina de gengibre com os lipídios, estado físico da mistura a temperatura ambiente e possibilidade de formação de partícula.

Ensaio	Proporção	Resultado visual da mistura	OG é miscível no lipídio?	Estado físico T _{amb} (~25 °C)	Possibilita a formação de micropartículas?
1	9: 1 GP:OG		Não	Semissólido	Não
2	9: 1 AP:OG		Sim	Sólido	Sim
3	9: 1 AE:OG		Sim	Sólido	Sim
4	9: 1 AO:OG		Sim	Líquido	Não

OG: oleoresina de gengibre. **GP:** gordura de palma. **AP:** ácido palmítico. **AE:** ácido esteárico. **AO:** ácido oleico.

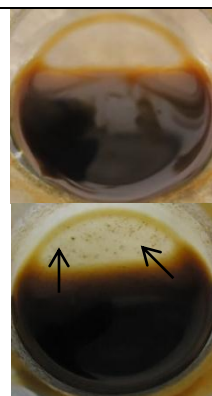
Utilização da Gordura de Palma como Carreador Modulador

A incorporação de lipídios não-sólidos para a produção de micropartículas foi de interesse para estudar o comportamento da partícula com a oleoresina.

Testes preliminares deram indicativo que a inclusão da gordura de palma em ácidos graxos favoreceu a miscibilidade com a oleoresina de gengibre. A mistura de gordura de palma com o agente estruturante (ácidos graxos) e a oleoresina de gengibre foi observado em relação à miscibilidade e estado físico a temperatura ambiente. Verificou-se que há uma concentração limite de gordura de palma na qual os carreadores estruturantes (palmítico/esteárico) favorecem a incorporação dessa gordura na oleoresina de gengibre. Foi constatado que a adição de até 15% (g/100 g mistura) em 75% (g/100 g mistura) de ácido graxo esteárico ou palmítico e 10% (g/100 g de mistura) de oleoresina de gengibre, resultou em uma mistura miscível, conforme observado na Tabela 7, e com característica sólida a temperatura ambiente, o que possibilitou a utilização da mistura para formação de micropartículas lipídicas sólidas pela técnica de *spray chilling*.

Tabela 7. Ensaio com adição de ácido graxo sólido palmítico ou esteárico (AP ou AE) na oleoresina de gengibre (OG), seguida da adição da gordura de palma (GP).

Ensaio	Proporção mássica		
	GP	: OG	: AP ou AE
1	1,5	: 1	: 7,5
2	2	: 1	: 7



Utilização do Ácido Oleico como Carreador Modulador

Após a definição da concentração máxima de gordura de palma (15g/100g mistura) possível de ser inserido no sistema com oleoresina de gengibre, o próximo teste foi verificar a mistura de carreador estruturante (ácido palmítico ou ácido esteárico) com a oleoresina de gengibre e adicionado de 15% ácido oleico (g/100 g mistura), para verificar o estado físico a temperatura ambiente, pois esse lipídio apresenta-se líquido e poderia interferir no estado físico da mistura, resultando negativamente na formação das partículas. Porém, a mistura apresentou-se sólida à temperatura ambiente (mistura ácido esteárico: 63°C; mistura ácido palmítico: 56°C), assim garantiu a utilização do ácido oleico em até 15% para ser incorporado nas misturas com o ácido graxo estruturante e oleoresina.

Miscibilidade da Oleoresina nos Carreadores

Para verificar visualmente a miscibilidade da oleoresina nos carreadores, foi utilizada microscopia sob luz polarizada, sendo possível observar que a oleoresina aparece como pequenos pontos quando miscível nos carreadores, Figura 8. A figura de número C mostra a oleoresina quando imiscível em lipídios com triacilgliceróis, no qual foi verificada total incompatibilidade.

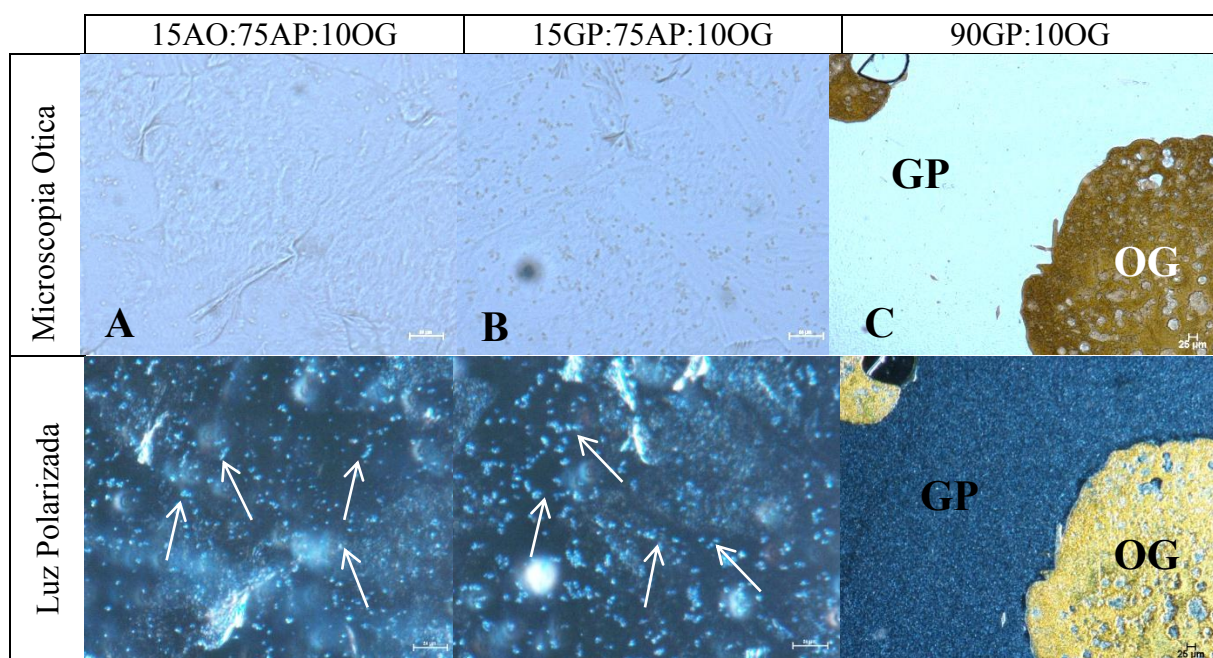


Figura 8. Miscibilidade da oleoresina em lipídios. **AO:** ácido oleico. **AP:** ácido palmítico. **GP:** gordura de palma. **OG:** oleoresina de gengibre. As setas brancas indicam alguns pontos de oleoresina de gengibre dispersa no carreador lipídico. As fotos A e B apresentam escala de 50 µm e a foto C escala de 25 µm.

DEFINIÇÃO DOS ENSAIOS PARA OS CAPÍTULOS III, IV e V.

Capítulo III: Para esta etapa do projeto, optou-se por fixar a concentração de oleoresina de gengibre em 10% (g/100g de mistura lipídica) e estudar a formação e caracterização das micropartículas com o lipídio estruturante ácido palmítico e verificar o comportamento da partícula com a adição dos lipídios moduladores (ácido oleico e gordura de palma).

A gordura de palma foi inserida no sistema para averiguar a influência da adição de um lipídio com característica naturalmente semissólida.

O ácido oleico teve como objetivo de estudo verificar a influência da adição de um lipídio líquido no sistema de formação de micropartículas lipídicas sólidas.

Capítulo IV: Neste capítulo foi adicionado para a caracterização das partículas ensaios com 20% (g/100g de mistura) de oleoresina de gengibre, porém com a substituição do ácido palmítico pelo ácido esteárico, visto que a utilização de ácido esteárico pode favorecer a aplicação da partícula quando verificada a questão nutricional, pois esse lipídio é convertido rapidamente em ácido oleico no organismo, conseqüentemente traz efeito mínimo sobre o colesterol. Nesse capítulo, foram prosseguidos os estudos de formação de partículas com ácido oleico na concentração de 15% (g/100g de mistura) para ambas as concentrações de oleoresina (10 e 20%). A aplicação das partículas em uma emulsão modelo foi realizada com o intuito de avaliar o comportamento da liberação da oleoresina diante o armazenamento em diferentes temperaturas.

Capítulo V: Para o estudo de estabilidade das micropartículas lipídicas foram mantidos os mesmos ensaio do capítulo anterior.

Referências Bibliográficas

CEDEÑO, F. O.; PRIETO, M. M.; ESPINA, A.; GARCÍA, J. R. Measurements of temperature and melting heat of some pure fatty acids and their binary and ternary mixtures by differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, v. 369, p.39-50, 2001.

ECKERT, K. A.; DASGUPTA, S.; SELGE, B.; AY, P. Solid liquid phase diagrams of binary fatty acid mixtures—Palmitic/stearic with oleic/linoleic/linolenic acid mixture. **Thermochimica Acta**, v. 630, p. 50–63, 2016.

HERNQVIST, L. Crystal structures of fats and fatty acids. In: GARTI, N.; SATO, K. (Editores). **Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids**. Marcel Dekker, Inc, 1988. Capítulo 3, p. 97-138.

HOLLAND, R.F.; NIELSEN, J.R. Infrared spectra of single crystals. Part II. Four forms of octadecanoic acid. **Journal of Molecular Spectroscopy**, v. 9, n.C, p. 436-460, 1962.

MORENO, E.; CORDOBILLA, R.; CALVET, T.; (...); MONDIEIG, D.; OONK, H. A. J. Polymorphism of even saturated carboxylic acids from n-decanoic to n-eicosanoic acid. **New Journal of Chemistry**, v.31, n. 6, p. 947-957, 2007.

MONIRUZZAMAN, M.; SUNDARARAJAN, P.R. Morphology of blends of self-assembling long-chain carbamate and stearic acid. **Pure and Applied Chemistry**, v. 76, n. 7-8, p. 1353-1363, 2004.

O'BRIEN, R.D. Fats and Oils Formulation. In: __ (Editores). **Fats and Oils - Formulating and Processing for Applications**. CRC PressTaylor, 3ª ed. 2008. Capítulo 4, p. 263-345.

SALA, S.; ELIZONDO, E.; MORENO, E.; (...); VENTOSA, N.; VECIANA, J. Kinetically driven crystallization of a pure polymorphic phase of stearic acid from CO₂-expanded solutions. **Crystal Growth and Design**, v. 10, n.3, p. 1226-1232, 2010.

ZAMORA, R; HIDALGO, F. J. Fatty acids. In: NOLLET, L. M. L. (Editores). **Handbook of food analysis**. Marcel Deck, 2004. Capítulo 9, p. 221-274.

APÊNDICE B: OLEORESINA DE GENGIBRE IMISCÍVEL EM LIPÍDIOS

A Oleoresina de gengibre apresentou imiscível no óleo de soja totalmente hidrogenado (OSTH). A apresentação visual da mistura está de acordo com a Figura 1.



Figura 1. Mistura 90% OSTH + 10% OG

Oleoresina de gengibre totalmente incompatível com óleo de soja (OS), conforme já observado, a oleoresina não apresenta compatibilidade para lipídios com predominância de triacilgliceróis.



Figura 2. Mistura 90% OS + 10% OG

A mistura cera de carnaúba (CC) e oleoresina de gengibre inicialmente apresentou miscível conforme houve a fusão da cera, porém no final da homogeneização foram verificadas pequenas porções da oleoresina imiscíveis, conforme observado na Figura 3.

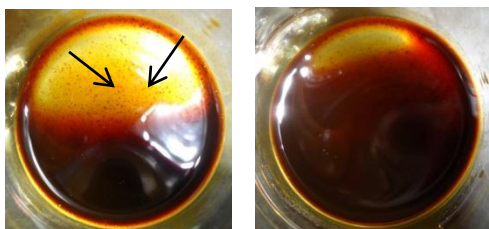


Figura 3. Mistura 90% CC + 10% OG. A seta indica oleoresina imiscível.

APENDICE C: PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

O processo de obtenção das micropartículas em todos os artigos seguiu o seguinte protocolo:

Para a produção das misturas lipídicas, foram pesados os agentes carreadores e a oleoresina de gengibre, de acordo com as suas respectivas proporções. O lipídio sólido foi aquecido até 85°C com banho térmico e, em seguida, misturado ao ácido oleico ou gordura de palma, quando presentes na formulação, seguido pela adição da oleoresina. A mistura lipídica (50 g) foi homogeneizada em um agitador magnético a 750 rpm e mantida sob agitação em um agitador mecânico até o final do processo. A mistura lipídica foi mantida à 85°C; em seguida, a alimentação da mistura até o bico atomizador (modelo duplo-fluido com 2,0 mm de diâmetro) foi feita através de uma bomba peristáltica com vazão de 0,7 kg/h, o bico foi mantido aquecido a 85°C para que não ocorresse a solidificação da mistura. Foi utilizado o equipamento *spray chilling* (mini *Spray Dryer* Büchi-290, Flawil, Suíça) com a atomização da amostra pelo bico duplo-fluido, efetuada dentro da câmara resfriada (com 16,5×60 cm, D×H). A vazão do ar de atomização e ar de resfriamento foi de 1.052 L/h e 35.000 L/h, respectivamente, e a temperatura da câmara foi de 7°C (Figura 1). No final do processo, as amostras produzidas foram recolhidas, armazenadas em recipientes fechados e mantidas a 5°C até a realização das análises.



Figura 1. Esquema do equipamento de *spray chilling* para produção das micropartículas lipídicas contendo oleoresina de gengibre.

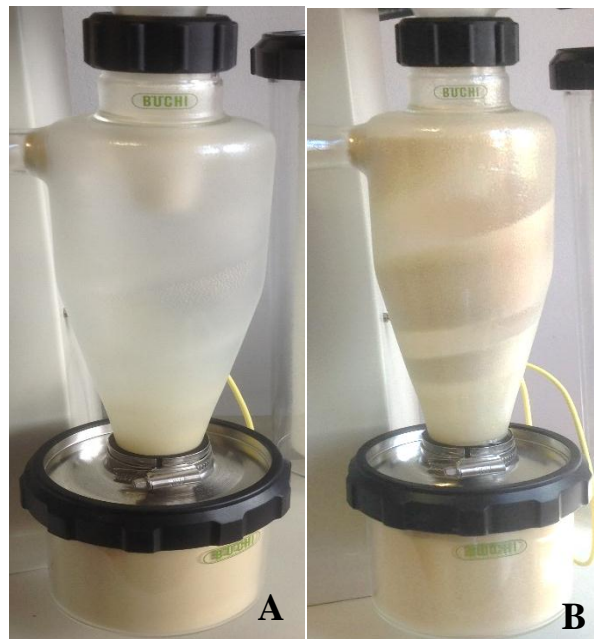


Figura 2. Partículas retidas no ciclone após a atomização. (A) Partículas contendo somente lipídio saturado. (B) Partículas contendo lipídios saturados com adição de ácido oleico na formulação.

APENDICE D: ASPECTO FÍSICO DOS PÓS PRODUZIDOS**Figura 1.** Aspectos dos pós - **Capítulo III.**

P1: 10% Oleoresina ; 90% Ácido Palmítico

P2: 10% Oleoresina ; 85% Ácido Palmítico ; 5% Ácido Oleico

P3: 10% Oleoresina ; 75% Ácido Palmítico ; 15% Ácido Oleico

P4: 10% Oleoresina ; 85% Ácido Palmítico ; 5% Gordura de Palma

P5: 10% Oleoresina ; 75% Ácido Palmítico ; 15% Gordura de Palma

**Figura 2.** Aspectos dos pós - **Capítulo IV.**

E1: 10% Oleoresina ; 90% Ácido Esteárico

E2: 10% Oleoresina ; 85% Ácido Esteárico ; 15% Ácido Oleico

E3: 20% Oleoresina ; 80% Ácido Esteárico

E4: 20% Oleoresina ; 65% Ácido Esteárico ; 15% Ácido Oleico

- ANEXOS -



RightsLink®



Title: Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention

Author: Vivian Boesso Oriani, Izabela Dutra Alvim, Larissa Consoli, Gustavo Molina, Glaucia Maria Pastore, Míriam Dupas Hubinger

Publication: Food Research International

Publisher: Elsevier

Date: February 2016

Copyright © 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Logged in as:

Vivian Oriani

Account #:

3001237260

LOGOUT

Please note that, as the author of this Elsevier article, you retain the right to include it in a thesis or dissertation, provided it is not published commercially. Permission is not required, but please ensure that you reference the journal as the original source. For more information on this and on your other retained rights, please visit: <https://www.elsevier.com/about/our-business/policies/copyright#Author-rights>

BACK

CLOSE WINDOW

Copyright © 2018 [Copyright Clearance Center, Inc.](#) All Rights Reserved. [Privacy statement](#). [Terms and Conditions](#). Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customercare@copyright.com