

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



**MICROENCAPSULAÇÃO E LIBERAÇÃO CONTROLADA  
DO CORANTE NATURAL DE URUCUM UTILIZANDO  
MATRIZ POLIMÉRICA DE QUITOSANA**



03739476

**ALEXANDRE LUIS PARIZE**

**ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. TEREZA CRISTINA ROZONE DE SOUZA**

**Co-ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. INÊS M. C. BRINGHENTE**

**FLORIANÓPOLIS, FEVEREIRO DE 2003**

## AGRADECIMENTO

201492

A Deus

Aos meus pais, Rudi e Regina, pelo apoio em todos os momentos em que me ausentei, sendo sempre um ponto de referência na minha trajetória de vida.

Aos meus irmãos, Giseli e Felipe, por serem meus melhores amigos.

A todos os meus familiares, sem restrições, pelo apoio e incentivo em toda a trajetória acadêmica.

À Profª Drª Tereza Cristina Rozone de Souza e a Profª Drª Inês M. C. Brigette, pelo apoio, amizade e colaboração em todas as etapas de desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Dr. Valfredo T. de Fávère e Dr. Mauro Laranjeiras, pela oportunidade de poder desenvolver o trabalho junto ao grupo Quitech – Grupo de Pesquisas e Aplicações Tecnológicas da Quitina e Quitosana.

Ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

A todos os colegas do grupo Quitech, pelo apoio e colaboração em algumas etapas do trabalho, em especial, a Tatiane e Karin.

Aos colegas do curso de Química da UFSC, pela amizade e pelo apoio, em especial à Adriana, Juliana, Deise, Priscila de Bem e Valmes, por fazerem parte da minha trajetória universitária.

# SUMÁRIO

## RESUMO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 QUITINA E QUITOSANA.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2 CORANTE NATURAL DE URUCUM.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3 LIBERAÇÃO CONTROLADA EM ALIMENTOS .....</b>	<b>7</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1. OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>9</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 MATERIAIS E REAGENTES.....</b>	<b>10</b>
3.1.1 EQUIPAMENTOS .....	10
3.1.2 REAGENTES.....	10
3.1.3 SOLUÇÕES.....	11
<b>3.2 MÉTODOS.....</b>	<b>11</b>
3.2.1 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA.....	12
3.2.2 PREPARAÇÃO DAS MICROESFERAS DE QUITOSANA.....	12
3.2.3 MICROENCAPSULAÇÃO DO CORANTE DE URUCUM COM QUITOSANA.....	12
3.2.3.1 ADSORÇÃO DO CORANTE NAS MICROESFERAS DE QUITOSANA.....	12
3.2.3.2 MICROENCAPSULAÇÃO DO CORANTE PELO MÉTODO DE COACERVAÇÃO.....	12
3.2.3.3 RETICULAÇÃO DO CORANTE NAS MICROESFERA DE QUITOSANA.....	13
3.2.4 MORFOLOGIA DAS MICROESFERAS .....	13
3.2.5 ANÁLISES TÉRMICAS.....	13
3.2.6 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA.....	13
3.2.7 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO (GI).....	13
3.2.8 DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE CORANTE MICROENCAPSULADO .....	14
3.2.9 ESTUDOS DE LIBERAÇÃO .....	14
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1 CARACTERIZAÇÃO DA QUITOSANA.....</b>	<b>15</b>
4.1.1 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA (% GD) .....	15
4.1.2 ANÁLISE DO ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV) DA QUITOSANA .....	16
<b>4.2 PREPARAÇÃO DAS MICROESFERAS DE QUITOSANA .....</b>	<b>17</b>
<b>4.3 ESPECTRO DE UV – VISÍVEL PARA O CORANTE URUCUM.....</b>	<b>18</b>
<b>4.4 MICROENCAPSULAÇÃO DO CORANTE NATURAL DE URUCUM COM MATRIZ POLIMÉRICA DE QUITOSANA.....</b>	<b>18</b>
<b>4.5 CARACTERIZAÇÃO DE INFRAVERMELHO PARA AS AMOSTRAS CONTENDO CORANTE .....</b>	<b>19</b>

<b>4.6 ANÁLISE DA MORFOLOGIA DAS MICROESFERAS UTILIZANDO MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....</b>	<b>21</b>
<b>4.7 ANÁLISE TÉRMICA PARA AS AMOSTRAS DE QUITOSANA.....</b>	<b>23</b>
<b>4.8 ANÁLISES DE CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC) .....</b>	<b>25</b>
<b>4.9 DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE CORANTE MICROENCAPSULADO .....</b>	<b>26</b>
<b>4.10 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO .....</b>	<b>27</b>
<b>4.11 ESTUDOS DE LIBERAÇÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>31</b>
<b>6. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>32</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1– ESTRUTURA QUÍMICA DA QUITINA.....	3
FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DA QUITOSANA .....	4
FIGURA 3– ESTRUTURAS QUÍMICAS DA BIXINA E NORBIXINA .....	6
FIGURA 4 – MECANISMO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE INGREDIENTES MICROENCAPSULADOS..	8
FIGURA 5 - CURVA DE TITULAÇÃO CONDUTIMÉTRICA DA QUITOSANA. ....	15
FIGURA 6 – ESPECTRO DE INFRAVERMELHO PARA A QUITOSANA EM PASTILHA DE KBr.....	17
FIGURA 7 – ESPECTRO ELETRÔNICO UV-VIS PARA O CORANTE URUCUM OBTIDO EM SOLUÇÃO AQUOSA.....	18
FIGURA 8 - FOTOGRAFIAS DE MICROESFERAS DE QUITOSANA MICROENCAPSULADAS COM URUCUM. ....	19
FIGURA 9 – ESPECTRO DE INFRAVERMELHO PARA MICROESFERA ADSORVIDA. ....	20
FIGURA 10 – ESPECTRO DE INFRAVERMELHO PARA MICROESFERA COACERVADA .....	20
FIGURA 11 – ESPECTRO DE INFRAVERMELHO PARA MICROESFERA RETICULADA .....	21
FIGURA 12 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS AMOSTRAS.....	22
FIGURA 13 – ANÁLISE TÉRMICA PARA A AMOSTRA DE MICROESFERA ADSORVIDA .....	23
FIGURA 14– ANÁLISE TÉRMICA PARA AMOSTRA DE MICROESFERA RETICULADA.....	24
FIGURA 15 – ANÁLISE TÉRMICA PARA A AMOSTRA DE MICROESFERA COACERVADA.....	24
FIGURA 16 – ANÁLISE TÉRMICA PARA AMOSTRA DE QUITOSANA NÃO – IMPREGNADA. ....	25
FIGURA 17 – COMPARATIVO DE ANÁLISE DE DSC PARA TODAS AS AMOSTRAS .....	26
FIGURA 18 – PERFIL DA CURVA DE LIBERAÇÃO DO CORANTE PARA AS MICROESFERAS ADSORVIDAS. ....	28
FIGURA 19 – PERFIL DA CURVA DE LIBERAÇÃO DO CORANTE PARA AS MICROESFERAS COACERVADAS .....	29

## RESUMO

O crescente interesse pelo emprego de corantes naturais, principalmente na indústria alimentícia, aliada a instabilidade destes compostos frente a fatores como pH, oxigênio e luz, torna necessário o desenvolvimento de técnicas para reduzir a instabilidade e prolongar o tempo de vida útil dos compostos. De encontro a essas necessidades, a técnica de microencapsulação passou a ser uma alternativa relevante.

Neste trabalho foi investigada a eficiência do biopolímero quitosana no processo de microencapsulação do corante natural de urucum. A partir da quitosana purificada foram preparadas microesferas do polímero pelo método de separação de fases via coacervação simples.

O corante foi impregnado nas microesferas de quitosana a partir de três métodos diferentes: adsorção, coacervação e reticulação. A quantidade de corante impregnado foi determinada por espectrometria de UV. As diferentes amostras de microesferas foram caracterizadas por IV, TGA, DSC e MEV. A microscopia eletrônica de varredura comprova a impregnação do corante.

As microesferas apresentaram-se sem poros e sem fissuras. O grau de intumescimento também foi analisado e foi verificado que as microesferas coacervadas possuem menor grau de intumescimento.

Os dados experimentais obtidos no estudo de DSC, sugerem a existência de uma interação física entre polímero – corante para as microesferas adsorvidas e coacervadas e de uma interação química para as amostras reticuladas.

Os estudos cinéticos de liberação do corante a partir de matriz de quitosana indicam uma velocidade mais rápida de liberação do corante microencapsulado pelo método de coacervação comparado com o método de adsorção. Nas microesferas reticuladas não se observa liberação em nenhum dos pH utilizados no estudo.

## 1. INTRODUÇÃO

Microencapsulação é um processo pelo qual minúsculas partículas de ingredientes ativos de gases, líquidos ou sólidos, são empacotados dentro de um segundo material (RISH, 1995).

O material a ser encapsulado é designado por uma série de nomes, dentre os quais: núcleo, material ativo e fase interna. O material que forma o revestimento é referido como material de parede, carregador, membrana, casca ou revestimento (DE SOUZA, 2002).

A técnica de microencapsulação é diferenciada das outras técnicas de encapsulação, de acordo com o tamanho da cápsula obtida. Pode-se classificar o processo como: macro ( $>5.000 \mu\text{m}$ ), micro ( $0,2 - 5.000 \mu\text{m}$ ) e nano ( $<0,2 \mu\text{m}$ ). Quanto a forma, as cápsulas são idealmente esféricas, embora seu formato possa ser influenciado pela estrutura original do ingrediente encapsulado (BAKAN, 1973; KING, 1995).

A finalidade básica da encapsulação na indústria de alimentos é proteger os ingredientes encapsulados. Em algumas técnicas, a cápsula pode ser também, projetada para liberar lentamente o produto, com o passar do tempo ou até que determinada condição físico-química seja alcançada. Devido à exposição à luz, ao oxigênio, ao meio ou a evaporação, a encapsulação pode ser utilizada para prevenir a degradação de ingredientes (RISH, 1995).

Teoricamente, qualquer material que necessita ser protegido, isolado ou lentamente liberado pode ser encapsulado. Em alguns sistemas alimentícios incluem-se os ácidos, os lipídeos, as enzimas, os microorganismos, os flavorizantes, as vitaminas, os minerais, a água, os agentes de crescimento, os sais e os corantes, Tabela 1. (RISH, 1995)

Atualmente, existem diversos métodos para preparação ou obtenção de microcápsulas, os quais podem ser classificados em: a) métodos físicos: spray dryer, spray chilling, spray cooling, leite fluidizado, extrusão centrífuga de multiorifícios, co-cristalização e liofilização, b) métodos químicos: inclusão molecular e polimerização interfacial, c) métodos físico-químicos: coacervação, separação de fase orgânica e formação de lipossomas (KING, 1995; BENITA, 1996).

**Tabela 1** – Exemplos de aplicação de microcápsulas e seus respectivos processos de produção (DE SOUZA, 2002).

APLICAÇÃO INDUSTRIAL	PROCESSO DE ENCAPSULAÇÃO	MATERIAL DE MEMBRANA
Aromas alimentícios	Spray drying e dessolvatação	Maltodextrinas
	Spray drying	Goma arábica
Vitaminas	Spray drying	Gelatina
Papel de cópias sem carbono	Coacervação complexa	Gelatina-goma arábica
	Polimerização interfacial	Poliuréia ou poliamida
Fármacos de uso oral	Incompatibilidade polímero-polímero	Éter de celulose
Agroquímicos	Polimerização interfacial	Poliuréia ou poliamida

O primeiro passo no processo de encapsulação de um ingrediente consiste na escolha adequada do encapsulante. A escolha do encapsulante dependerá das propriedades químicas e físicas do material ativo, do processo utilizado para formar a microcápsula e das propriedades desejadas. Este material pode ser selecionado a partir de uma grande variedade de polímeros naturais ou filmes sintéticos. O encapsulante representa em geral, de 1 a 70% do peso da microcápsula, podendo apresentar uma espessura de até 200  $\mu\text{m}$ ; essa espessura é manipulada de modo a promover alteração na permeabilidade da microcápsula (SPARKS, 1985; DZIEZAK, 1988).

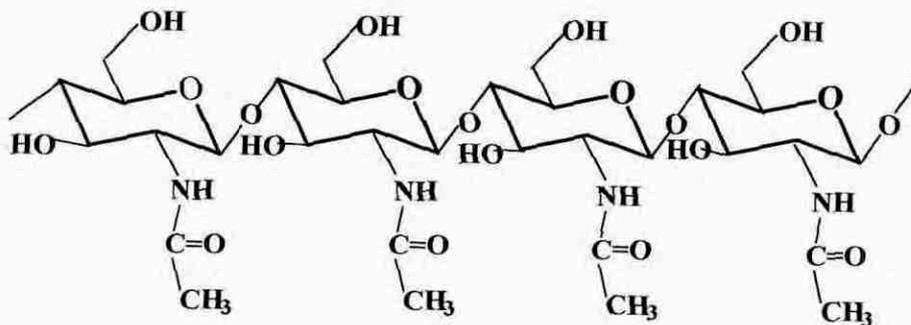
Os encapsulantes mais comuns são hidrocolóides de gomas vegetais, gelatina, amido modificado, dextrinas, lipídeos, emulsificantes e algumas fontes alternativas como a quitosana, obtida a partir da quitina, extraída da casca de crustáceos, Tabela 2. (SHAHIDI & HAN, 1995)

**Tabela 2 – Tipos de agentes encapsulantes (RISH, 1995)**

<b>Classe do agente encapsulante</b>	<b>Tipo específico</b>
Gomas	Goma-arábica, ágar, carragena, alginato de sódio
Carboidratos	Amido, maltodextrina, açúcar, amido modificado, ciclodextrina, xarope de milho
Celuloses	Caboximetil celulose, etil celulose, metil celulose, acetilcelulose, nitrocelulose,
Lipídeos	Cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, óleos, gorduras monoglicerídeos, diglicerídeos e óleos hidrogenados
Proteínas	Glúten, caseína, gelatina, albumina, hemoglobina, peptídeos

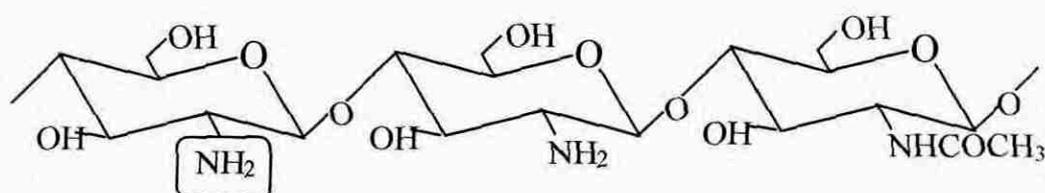
## 1.1 QUITINA e QUITOSANA

A quitina é um polímero natural, sendo muito semelhante à celulose encontrada em muitas espécies de animais marinhos e plantas inferiores. Está localizada em toda a parede celular de leveduras e exoesqueleto de invertebrados como: camarão, siri, caranguejos e insetos; é obtido comercialmente a partir de cascas de crustáceos. Sua unidade básica é o monômero N-acetilglicosamina, sendo portanto chamada de:  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose, sendo o grau de N-acetilação variável, estando na faixa de 90% (FURLAN, 1997). A Figura 1, mostra a estrutura química da quitina:



**Figura 1– Estrutura química da quitina**

O derivado mais importante da quitina é a quitosana, obtida por reação de hidrólise alcalina da quitina, resultando assim no biopolímero constituído predominantemente das unidades de  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose, apresentando em sua cadeia aproximadamente 70 – 90% de grau de desacetilação (FURLAN, 1997). A Figura 2, mostra a estrutura química da quitosana.



**Figura 2 - Estrutura química da quitosana**

A transformação da quitina em quitosana modifica suas propriedades, de modo que a quitosana é insolúvel em água e solúvel na maior parte dos ácidos orgânicos, como por exemplo o ácido acético e fórmico e também em ácidos inorgânicos como o ácido clorídrico (MATHUR & NARANG, 1990).

Os grupos amino do polímero estão completamente protonados em  $\text{pH} \sim 3,0$  e a cadeia polimérica está carregada positivamente, ocasionando a sua dissolução. O valor do  $\text{pKa}$  situa-se entre 5,0 e 6,7 e depende da dimensão da cadeia polimérica (MUZZARELLI, 1973).

Devido à presença de grupos amino livres na quitosana e também a sua solubilidade frente a soluções aquosas de certos ácidos minerais e ácido acético, este polímero é caracterizado por ser mais versátil quimicamente quando comparado com o seu análogo quitina. A quitosana forma soluções viscosas com características similares as glicosaminas, não tóxicas e biodegradáveis. Em função destas características, a matriz de quitosana apresenta grande possibilidade de formar filmes, fibras e membranas de microcápsulas (MUZZARELLI, 1973).

Devido à rara solubilidade da quitosana, propriedades de solução, caráter de polieletrólito, atributos físicos, atividade química e biológica, tornam a quitosana um biopolímero atrativo para muitas aplicações comerciais. A quitosana pode ser empregada como: suporte de drogas para uso oral, aplicações na agricultura (tratamento de

sementes, inseticidas), processamento de alimentos e biotecnologia, produção de papel, têxtil, produtos fotográficos, agentes quelante de metais pesados (Cd, Hg, Pb, Cr, Ni) e como adsorvente de corantes (SANFORD & HUTCHINGS, 1987; CHEN, TSAIH & LIN, 1996).

## 1.2 Corante Natural de Urucum

O urucum, extrato amarelo-alaranjado obtido do pericarpo da semente da planta *Bixa orellana* L. (urucum) foi muito usado pelos índios brasileiros para colorir suas peles (ARAÚJO, 1999). Hoje continua ainda sendo usado para a produção de produtos de maquiagem, tintura de tecidos e alimentos. É o corante natural mais comercializado no mundo, sendo utilizado na indústria de alimentos como corantes em margarinas, queijos, bebidas, molhos e outros alimentos (SIMÃO, 1985; KUSUHARA, 1998).

Na semente do urucum, o pigmento presente em maior concentração é a bixina, que consiste no éster monometílico de um ácido dicarboxílico denominado norbixina. A conversão da bixina em norbixina é facilmente obtida pela solubilização da bixina em meio alcalino (CARVALHO et al, 1993). A bixina alcança mais de 80% dos carotenóides presentes na semente e sua concentração se altera com a variedade da cultura, clima, solo e tratos culturais (MCKEOWN & MARK, 1962). As fórmulas estruturais da bixina e da norbixina são mostradas na Figura 3.

A utilização de carotenóides, classe a qual pertence a bixina, como corantes para alimentos esbarra na sensibilidade que estes produtos apresentam a fatores como oxigênio, luz, estabilizadores metálicos, insolubilidade em água e altos custos. Mesmo assim, sua característica de corante natural, aliada às funções fisiológicas que eles apresentam, os coloca como os corantes naturais mais utilizados em alimentos (CARVALHO, 1991).

CARVALHO et al. (1994), relatam que uma das maiores dificuldades encontradas no comércio de corantes naturais é a baixa estabilidade dos pigmentos envolvidos, que sofrem rápida degradação durante o transporte e o armazenamento.

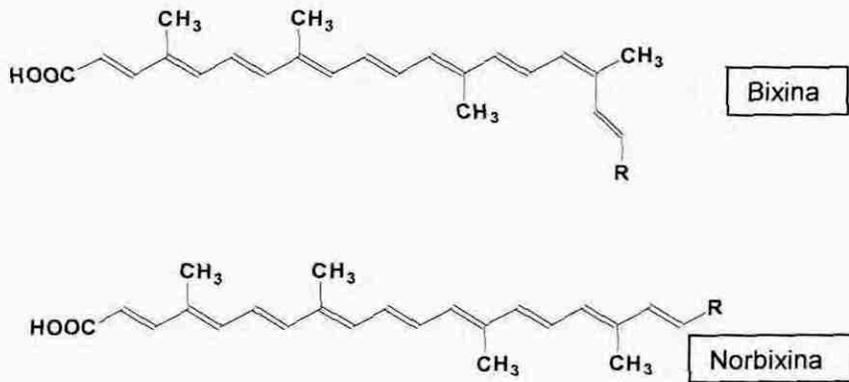


Figura 3– Estruturas químicas da Bixina (R = COOCH<sub>3</sub>) e norbixina ( R= COOH).

De acordo com ENGELHARDT et al. (1988), o urucum é relativamente estável à luz, se comparado com outros corantes naturais, e sua perecibilidade pode ser diminuída consideravelmente em baixas concentrações de oxigênio ou pela presença de antioxidantes nos produtos alimentícios.

A interação da energia radiante incidente com os elétrons das ligações  $\pi$ , é a responsável, a princípio, pela cor dos compostos. Porém, as ligações  $\pi$ , são um ponto fraco na estrutura da molécula. Por isso, os corantes naturais são tão instáveis. Após a excitação da molécula por qualquer forma (luz, calor, etc.) as ligações  $\pi$  absorvem esta energia, que se atingir um valor crítico, rompe a ligação. Com o rompimento, formam-se compostos de degradação, que podem ou não ser coloridos. Assim, há um atenuamento da cor ou até o seu completo desaparecimento (ENGELHARDT et al., 1998)

Os corantes naturais reagem de forma diferente aos diferentes meios de excitação. Por exemplo, a bixina é moderadamente estável à luz e relativamente instável à temperatura. (CARVALHO, 1991)

A bixina, segundo as análises toxicológicas realizadas não oferece riscos à saúde do consumidor, pelo contrário, estudos científicos indicam sua ação como redutor dos níveis de colesterol sanguíneo (STRINGHETA et al., 1999).

Nos extratos em condições normais predominam a cis-bixina e a cis-norbixina, formas mais instáveis do corante. A cis-bixina e a cis-norbixina em solução sob aquecimento são parcialmente transformadas para a configuração trans, mais estável, conhecida como isobixina e isonorbixina. A bixina pode ser utilizada em alimentos

juntamente com antioxidantes para aumentar a sua estabilidade, sendo que a mesma supera algumas desvantagens dos corantes sintéticos do tipo azo, que têm elevada reatividade em relação aos agentes oxidantes (cloro, hipoclorito) e redutores (dióxido de enxofre, ácido ascórbico e cítrico e alguns flavorizantes) (CARVALHO, 1991).

### **1.3 Liberação Controlada em Alimentos**

Existem vários mecanismos para a liberação do ingrediente, entre eles destacam-se: fratura, difusão, dissolução ou “melting” e biodegradação (SHAHIDI & HAN, 1993). Em geral, a liberação da substância “ativa” depende do tipo de geometria da partícula e do material utilizado para formar a microcápsula. As liberações por solvente e por difusão são os mecanismos de liberação mais relevantes (WHORTON, 1995).

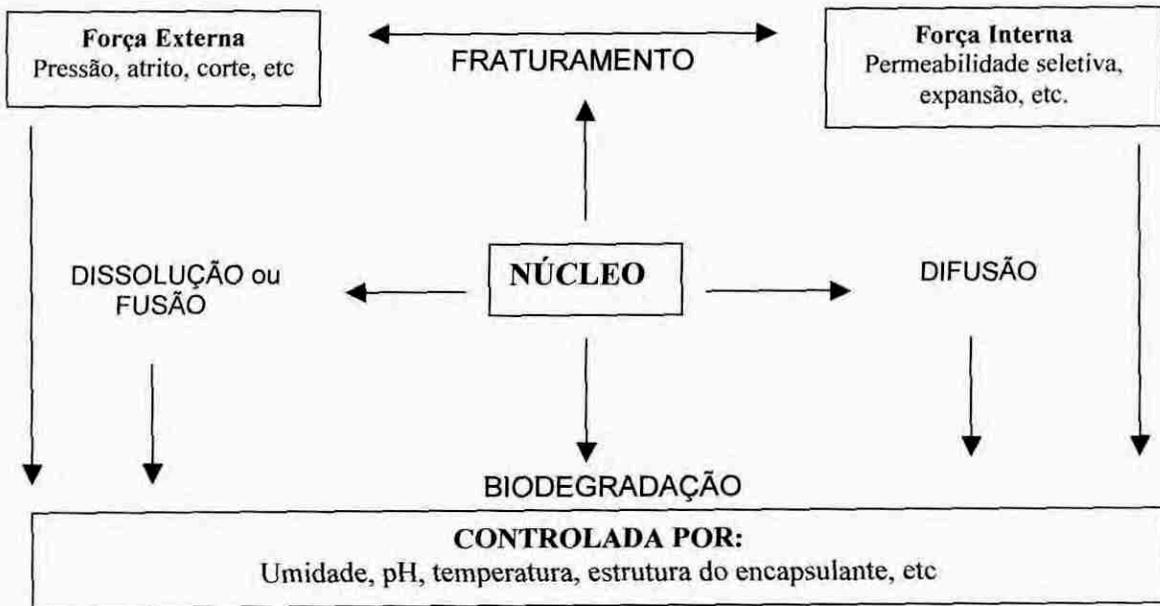
Liberação controlada é uma nova tecnologia que pode ser usada para aumentar a eficiência de muitos ingredientes. Foi inicialmente utilizada pela indústria farmacêutica, com posterior expansão em outras áreas tais como: agroquímicos, fertilizantes, fármacos de uso veterinário e comidas industrializadas (POTHAKAMURY, 1995).

A liberação controlada pode ser definida como um método pelo qual um ou mais agentes ou ingredientes ativos são disponibilizados em períodos de tempos específicos. Nos alimentos a liberação controlada atua mediante alguns estímulos do meio tais como, aquecimento, temperatura e controle de pH. A introdução de aditivos nos alimentos a partir deste método é feita através de sistemas denominados microcápsulas (POTHAKAMURY, 1995).

As vantagens da liberação controlada são: o ingrediente ativo é liberado durante períodos de tempo prolongados e controlados; perda de ingredientes como vitaminas e minerais, durante o processo de cozimento pode ser contornado ou reduzido e componentes reativos e incompatíveis podem ser separados (DZIEZAK, 1988).

A liberação controlada do núcleo, efetuada de forma adequada, é uma das mais importantes propriedades da microencapsulação. A matriz encapsulante protege o material ativo da luz, oxigênio, umidade e outros agentes externos e controla a liberação deste material. Uma variedade de mecanismos de liberação tem sido proposta para microcápsulas, conforme a Figura 4 (SHAHIDI & HAN, 1995).

Um dos mecanismos mais importantes no processo de liberação controlada é a difusão. A maioria das microcápsulas tem paredes finas que funcionam como uma membrana semipermeável. Além disso, apresentam uma grande área superficial. Dessa forma, na ausência de fraturas e falhas na parede, a liberação do componente ativo se dá principalmente pelo processo de difusão dirigido por gradientes de concentração e forças atrativas. A difusão pela parede depende além do gradiente de concentração, do tamanho, forma e polaridade do material ativo, assim como a interação entre este e a membrana (SHAHIDI & HAN, 1995).



**Figura 4 – Mecanismo de liberação controlada de ingredientes microencapsulados (SHAHIDI & HAN, 1995).**

Além do processo de difusão, o material ativo pode ser liberado pelo rompimento da parede encapsulante devido a forças externas como pressão mecânica ou ondas tipo ultra-som. Além disso, a integridade da parede encapsulante pode ser destruída pela dissolução da microcápsula em um solvente apropriado ou por aquecimento e posterior fusão da parede (DZIEZAK, 1988).

## 2.OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é avaliar a microencapsulação do corante natural urucum com quitosana e o estudo do comportamento de liberação em função do tempo, a fim de determinar o efeito do pH na estabilidade do corante.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i) preparar microesferas de quitosana, pelo método da separação de fases ou coacervação.
- ii) caracterizar as microesferas em relação ao tamanho e morfologia por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- iii) microencapsular o corante urucum com quitosana por diferentes métodos de encapsulação: adsorção, coacervação ou separação de fases e reticulação.
- iv) estudar a morfologia do material formado entre o encapsulante e o material ativo, através de microscopia eletrônica de varredura.
- v) analisar as cinéticas de liberação do corante microencapsulado em diferentes pH.
- vi) estudar as interações que ocorrem entre polímero-corante, através de técnicas espectroscópicas: UV e IV.
- vii) caracterizar as amostras de quitosana através da porcentagem de grupos amino (% GD), espectroscopia de infravermelho (IV), análises térmicas (TGA e DSC) e grau de intumescimento (GI).

### **3.MATERIAIS e MÉTODOS**

#### **3.1 Materiais e Reagentes**

##### **3.1.1 Equipamentos**

As pesagens foram realizadas em uma balança analítica marca Shangping Eletronic Balance, modelo FAI 6045. As medidas de pH foram feitas com pH-metro marca Corning, modelo pH / ion analyser 350.

As determinações espectrofotométricas foram realizadas com um espectrofotômetro modelo U-3000, marca Hitachi.

As microesferas foram produzidas utilizando-se uma bomba peristáltica Ismatec Reglo modelo 78016-30. Para os estudos de liberação utilizou-se o banho termostatizado Shaker Bath da marca Lab Line.

A titulação condutimétrica foi realizada utilizando-se um titulador automático da marca Schott Gerate, modelo T80 / 20 e um condutivímetro da marca Mettler Toledo, modelo MC 226.

A morfologia interna e externa das microesferas, foi realizada utilizando-se um Microscópio Eletrônico de Varredura, marca Philips, modelo XL 30, do Laboratório de Materiais (LabMat) do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC.

As análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas utilizando-se um Analisador Termogravimétrico Shimadzu TGA 50, sob atmosfera de nitrogênio. As análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram realizadas utilizando-se um Analisador Shimadzu DSC 50.

As análises de Infravermelho, foram realizadas em pastilhas de KBr, utilizando-se um aparelho de Infravermelho Perkin Elmer FTIR.

##### **3.1.2 REAGENTES**

O biopolímero quitosana foi fornecido pela KITO – Química Fina Ltda. O corante natural de urucum (AM-200-WS-P) foi fornecido pela Christen – Hansen Ind. & Com. Ltda,

com poder hidrossolúvel contendo 1% de Norbixina. Todos os outros reagentes utilizados são grau analítico.

### 3.1.3 SOLUÇÕES

#### *Solução de Quitosana*

Para a preparação da solução foram dissolvidos 5 g de quitosana em 100 mL de ácido acético 5% (v/v), mantendo-se sob agitação até a completa homogeneização da solução, resultando em uma solução viscosa com aproximadamente 5% (m/v) de quitosana.

#### *Soluções de Liberação*

Solução Tampão de Ácido Clorídrico, pH=2,0.

Solução Tampão de Ácido Fórmico, pH=3,0.

Solução Tampão de Ácido Acético, pH=4,0 e pH=5,0.

#### *Solução de Impregnação*

Solução tampão de fosfato de sódio monobásico pH=8,0

#### *Soluções para Análise de Intumescimento*

Soluções tampão utilizadas para a liberação.

### 3.2 MÉTODOS

**3.2.1 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE DESACETILAÇÃO DA QUITOSANA:** Para se determinar o teor de grupos amino presentes na quitosana, foi realizada titulação condutimétrica, utilizando-se o método de Broussignac (BROUSSIGNAC, 1970). Este consiste na dissolução da quitosana na presença de um excesso de HCl  $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$  e sendo em seguida esta titulada com NaOH  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ . Foram dissolvidos 200 mg de quitosana em 20 mL de HCl  $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$  e diluídos com 200 mL de água destilada para uma boa dispersão do polímero em solução. Conduziu-se a titulação até o volume final de 100 mL de NaOH, com adições de 0,2 mL de titulante. A titulação condutimétrica foi feita em triplicata.

**3.2.2 PREPARAÇÃO DAS MICROESFERAS DE QUITOSANA:** As microesferas de quitosana foram preparadas a partir da solução de quitosana descrita anteriormente. A solução viscosa obtida foi gotejada com auxílio de uma bomba peristáltica acoplada a um banho de precipitação, contendo solução de NaOH  $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ . As microesferas geleificadas foram lavadas com água destilada até pH 7,0.

**3.2.3 MICROENCAPSULAÇÃO DO CORANTE DE URUCUM COM QUITOSANA:** A microencapsulação do corante de urucum com quitosana foi realizada por diferentes métodos: separação de fases (coacervação), impregnação em microesferas e reticulação.

**3.2.3.1 ADSORÇÃO DO CORANTE NAS MICROESFERAS DE QUITOSANA:** As microesferas de quitosana foram impregnadas com o corante urucum de acordo com a técnica de adsorção por contato. O corante foi dissolvido em solução tampão fosfato pH  $\cong 8$  e a solução resultante foi colocada em contato com as microesferas de quitosana para microencapsulação por 24 horas a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , sob agitação. As microesferas foram lavadas com água para remover o excesso do corante nas superfícies das microesferas e posteriormente filtradas e secas a vácuo.

**3.2.3.2 MICROENCAPSULAÇÃO DO CORANTE PELO MÉTODO DE COACERVAÇÃO:** Pelo método de separação de fases ou coacervação, 5 g de quitosana e uma quantidade adequada do corante natural urucum foi dissolvido em 100 mL de ácido acético 5% (m/v).

A solução polimérica obtida foi gotejada com auxílio de uma bomba peristáltica sobre uma solução de NaOH 2,0 mol.L<sup>-1</sup>. As microesferas formadas foram deixadas durante 30 minutos numa solução de NaOH 2,0 mol/L sob agitação para completar a precipitação, sendo posteriormente lavadas até meio neutro.

**3.2.3.3 RETICULAÇÃO DO CORANTE NAS MICROESFERA DE QUITOSANA:** As microesferas de quitosana foram colocadas em contato com o corante em álcool isopropílico, em um balão de refluxo e deixadas reagir por 72h a temperatura de 60 °C. Após o refluxo, as microesferas foram filtradas, lavadas com álcool isopropílico e deixadas secar a temperatura ambiente.

**3.2.4 MORFOLOGIA DAS MICROESFERAS:** A morfologia interna e externa das microesferas de quitosana pura e das microesferas impregnadas com corante foram analisadas empregando um microscópio eletrônico de varredura (MEV).

**3.2.5 ANÁLISES TÉRMICAS:** Análises termogravimétricas foram realizadas para amostras das espécies formadas nos diferentes métodos de microencapsulação com o objetivo de avaliar as características térmicas dos materiais formados. As amostras foram analisadas utilizando-se um Analisador Termogravimétrico. As análises foram efetuadas sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50,0 mL/min e velocidade de aquecimento de 10°C/min.

**3.2.6 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA:** Análises de DSC foram realizadas para as amostras formadas nos três diferentes métodos de microencapsulação com o objetivo de avaliar possíveis interações polímero – corante e a existência de corante livre no polímero. As amostras foram analisadas utilizando-se um analisador de DSC, sob atmosfera de nitrogênio, com taxa de aquecimento de 10 °C/min.

**3.2.7 DETERMINAÇÃO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO (GI):** A determinação do Grau de Intumescimento foi realizada em soluções tampão de pH 2.0, 3.0, 4.0 e 5.0; as mesmas soluções utilizadas nos estudos de liberação. As microesferas secas em estufa foram inicialmente pesadas e mantidas nos tampões a 25 °C sob agitação de 100 rpm; e

foram inicialmente pesadas e mantidas nos tampões a 25 °C sob agitação de 100 rpm; e em intervalos de 5 min foram retiradas, secas para a retirada do excesso de solução e pesadas novamente. O grau de Intumescimento de cada amostra no tempo t, foi calculado pela equação:

$$GI = \frac{(W_t - W_o)}{W_o} \quad (\text{Equação 1})$$

onde  $W_t$  e  $W_o$  são referentes às amostras pesadas no tempo t e no estado seco.

### 3.2.8 DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE CORANTE MICROENCAPSULADO:

Foram utilizados para este estudo 30mg de cada uma das amostras microencapsuladas como descrito anteriormente. As amostras foram deixadas em contato com 25mL de KOH 5% por 7h. Após o contato, alíquotas foram retiradas da solução e analisadas no comprimento de onda do corante,  $\lambda_{\text{máx}}$ . 452 nm. Para a quantificação dos resultados, utilizou-se uma curva de calibração com o corante extraído na sua forma pura.

### 3.2.9 ESTUDOS DE LIBERAÇÃO:

A estabilidade do corante livre e do corante microencapsulado frente a fatores como temperatura e pH foram avaliadas por técnicas espectroscópicas UV-VIS. Os estudos de liberação do corante foram realizados em 50 mL de solução tampão (pH=2, ácido clorídrico; pH=3, ácido fórmico; pH=4 e 5, ácido acético) a  $25,0 \pm 0,1$  °C. Amostras (50 mg) de microesferas de quitosana funcionalizada contendo o corante foram suspensas em 50 mL de tampão pH 2,0; pH 3,0; pH 4,0 e pH 5,0 e mantidas sob agitação constante (150 rpm) em banho termostatizado a  $25,0 \pm 0,1$  °C. Após intervalos de tempo pré-determinados, 3 mL da amostra, foram removidos para determinar a quantidade de corante liberado, sendo em seguida devolvida ao erlenmeyer ( $25,0 \pm 0,1$  °C). As amostras foram analisadas no comprimento de onda máximo do corante,  $\lambda_{\text{máx}}$ . 452 nm usando um espectrofotômetro. A porcentagem de corante liberada foi calculada usando uma curva de calibração do urucum. O experimento foi realizado em triplicata para cada pH.

## 4. RESULTADOS e DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização da Quitosana

As amostras de quitosana foram caracterizadas por: espectroscopia de infravermelho, microscopia eletrônica de varredura, grau de desacetilação, análise termogravimétrica e DSC.

#### 4.1.1 Determinação do grau de desacetilação da Quitosana (% GD)

Vários métodos são descritos para a determinação do grau de desacetilação da quitosana, sendo a titulação condutimétrica o método escolhido em função da simplicidade do método e de sua precisão. A maneira como a titulação foi conduzida já foi descrita anteriormente. A curva dos valores de condutância,  $k$ , versus volume de titulante apresenta dois pontos de inflexão (Figura 5).

Uma das mais importantes propriedades é o grau de desacetilação, o qual determina se o polímero é quitina ou quitosana, arbitrariamente, o grau de desacetilação  $\geq 40$  define o material polimérico como quitosana (TAN, 1998).

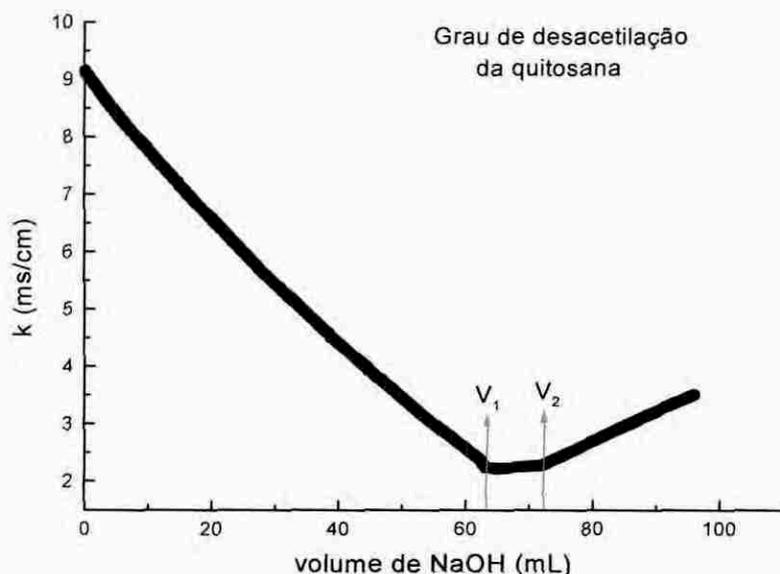


Figura 5 - Curva de titulação condutimétrica da quitosana.

A curva de titulação apresenta dois pontos de inflexão, sendo o primeiro correspondente a neutralização de HCl em excesso na solução e o segundo referente à neutralização do polímero protonado. A diferença entre os dois pontos de equivalência corresponde ao volume de base requerido para neutralizar os grupos amino. A porcentagem de grupos amino foi calculada pela equação:

$$\% \text{ GD} = \frac{M(V_2 - V_1)161}{W} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde M é a concentração da solução de NaOH,  $V_1$  (62,70mL) e  $V_2$  (72,97mL) são os volumes de NaOH em mL, empregados para neutralizar o excesso de ácido clorídrico e a quitosana protonada, 161 é a massa de uma unidade monomérica do polímero e W é a massa de amostra em mg empregada na titulação. O grau de desacetilação calculada por este método foi de 82,75%, sendo que este valor representa a média de três determinações.

#### 4.1.2 Análise do Espectro de Infravermelho (IV) da Quitosana

A espectroscopia de Infravermelho é muito importante para se obter informações estruturais dos polímeros, bem como suas modificações. A região do espectro eletromagnético, correspondente ao infravermelho ( $4000$  a  $667 \text{ cm}^{-1}$ ) é a região onde esta localizada a maior parte da energia das vibrações moleculares (SILVERSTEIN, 2002).

Analisando-se o espectro de infravermelho da quitosana (Figura 6), consegue-se observar a presença dos picos referentes aos grupos funcionais existentes na cadeia polimérica, tais como, OH,  $\text{NH}_2$  e C=O sendo ainda uma contribuição da quitina. Observa-se para a quitosana as principais bandas:  $3448 \text{ cm}^{-1}$  banda de estiramento da ligação OH e  $\text{H}_2\text{O}$ ;  $2922 \text{ cm}^{-1}$  banda de estiramento C-H;  $1654 \text{ cm}^{-1}$  banda característica da ligação C=O de amida secundária, sendo uma contribuição da quitina; e  $1388 \text{ cm}^{-1}$  deformação do grupo N-H de amina primária e em  $1026 \text{ cm}^{-1}$  estiramento da ligação C-O de álcool primário. Através da análise de infravermelho comprova-se a presença de todos os grupos funcionais da quitosana mostrando que a análise de infravermelho é útil para a caracterização do polímero

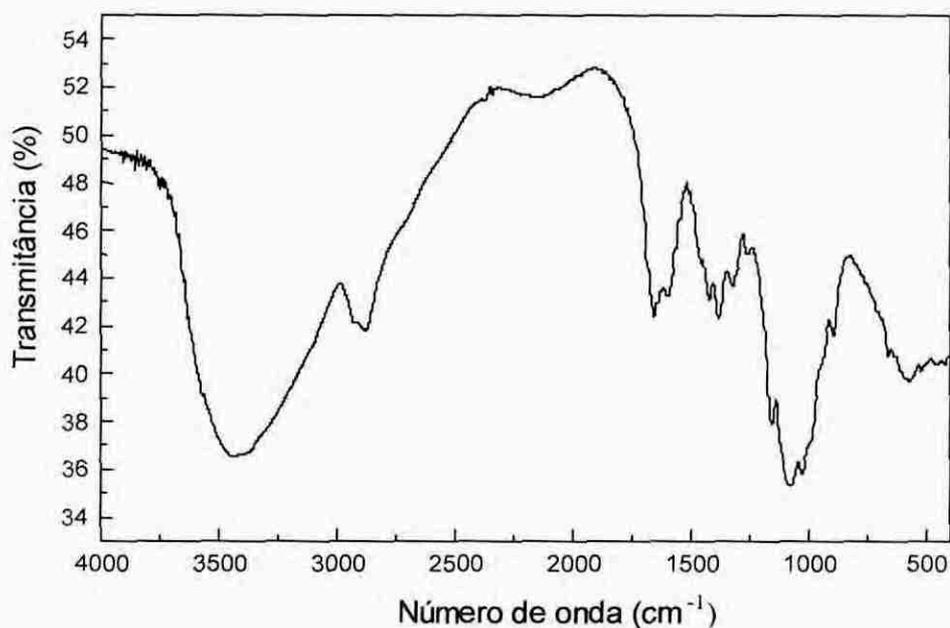


Figura 6 – Espectro de Infravermelho para a Quitosana em pastilha de KBr.

#### 4.2 Preparação das Microesferas de Quitosana

Neste trabalho as microesferas de Quitosana foram preparadas pelo método de separação de fases, via coacervação simples.

A formação das microesferas, através deste método, resulta de um fenômeno de superfície devido à interação da solução polimérica (solução de quitosana) e o meio coagulante (solução de hidróxido de sódio), que induz a separação de fases, precipitando a membrana polimérica.

Após a obtenção das microesferas geleificadas corrige-se o pH das mesmas (pH neutro) lavando-as em água destilada com posterior secagem. As microesferas secas foram caracterizadas com descrito anteriormente e utilizadas para os estudos de impregnação do corante.

### 4.3 Espectro de UV – Visível para o Corante Urucum

A Figura 7 ilustra o espectro de UV – VIS do corante urucum e seu respectivo comprimento de onda máximo ( $\lambda_{\text{máx}}$ ). A partir do espectro de absorção da solução do corante e medindo a absorbância na faixa do espectro de 350 a 750 nm, o valor de  $\lambda_{\text{máx}}$  foi determinado em 452 nm. Os espectros apresentam o mesmo comportamento em toda a faixa de pH estudado.

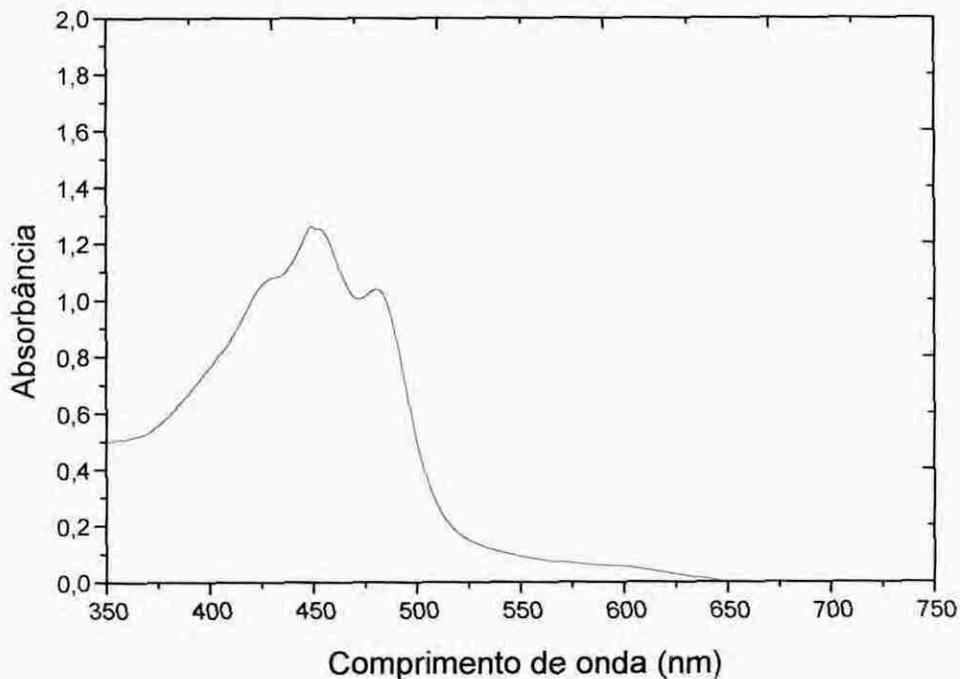
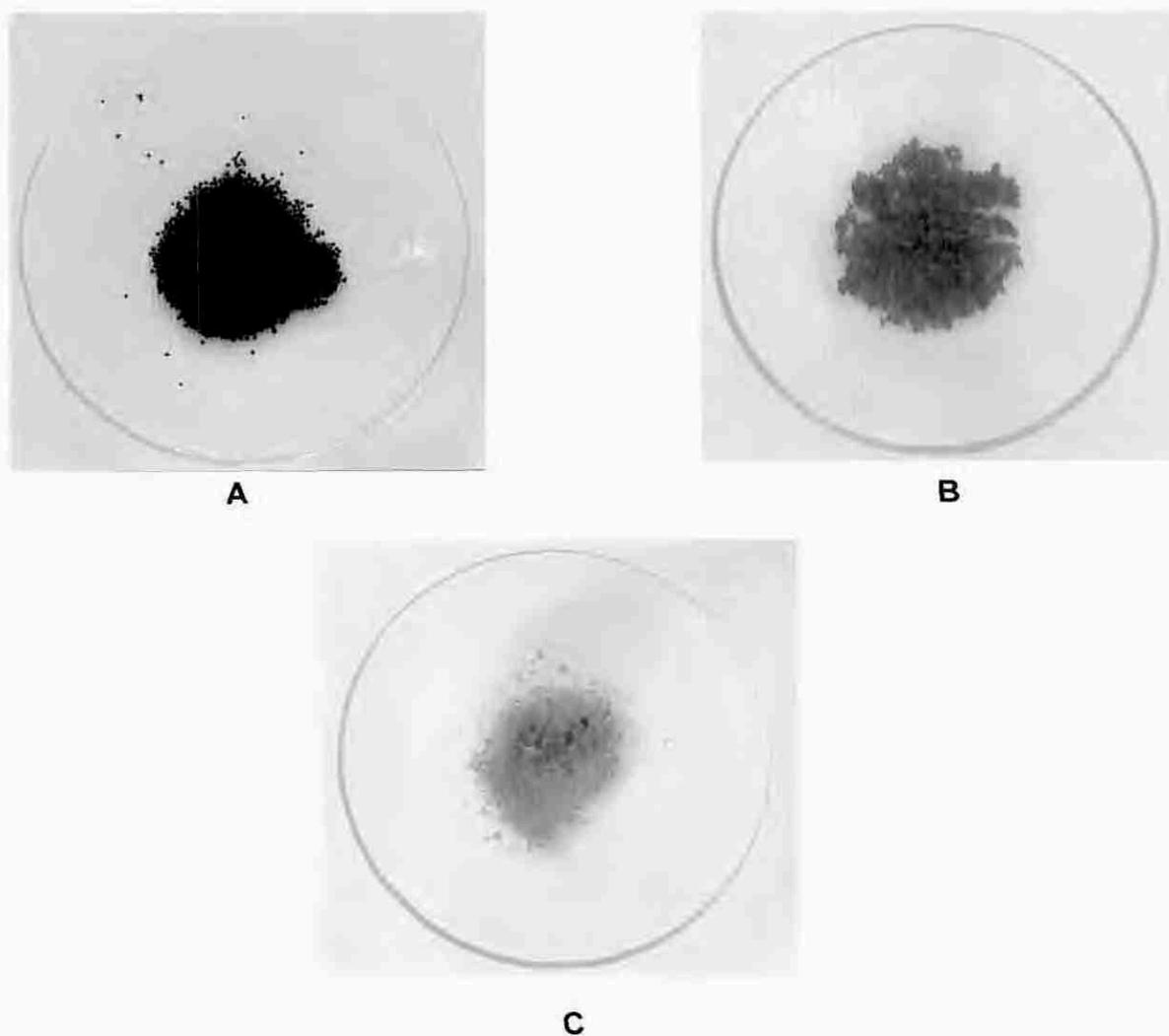


Figura 7 – Espectro eletrônico UV-VIS para o corante urucum obtido em solução aquosa.

### 4.4 Microencapsulação do Corante Natural de Urucum com Matriz Polimérica de Quitosana

A microencapsulação do corante urucum com quitosana foi realizada empregando três métodos diferentes: a) adsorção em microesferas, b) separação de fases (coacervação) e c) reticulação.

Obteve-se microesferas de quitosana com diferentes tonalidades, conforme o método utilizado para a microencapsulação, Figura 8.



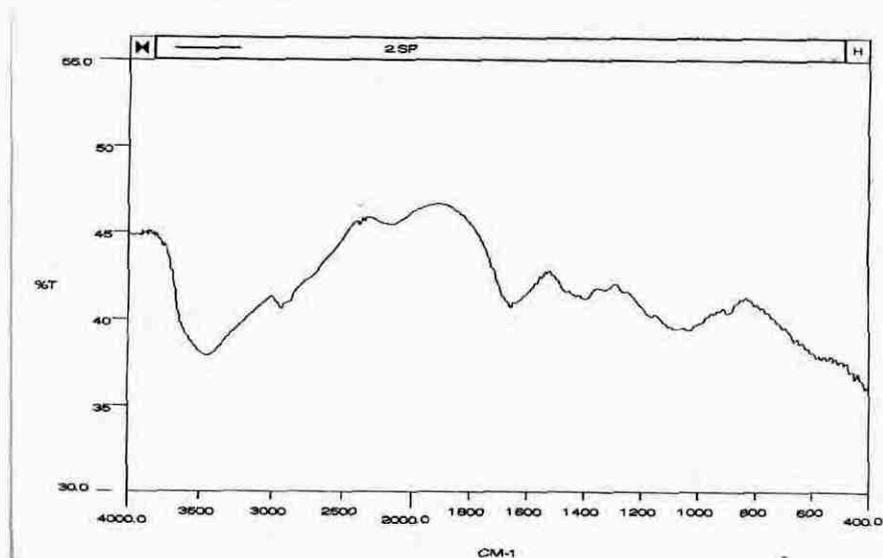
**Figura 8 - Fotografias de microesferas de quitosana microencapsuladas com urucum: A) adsorvida, B) coacervada e C) reticulada.**

As diferentes amostras de quitosana foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), infravermelho (IV), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC).

#### **4.5 Caracterização de Infravermelho para as Amostras Contendo Corante**

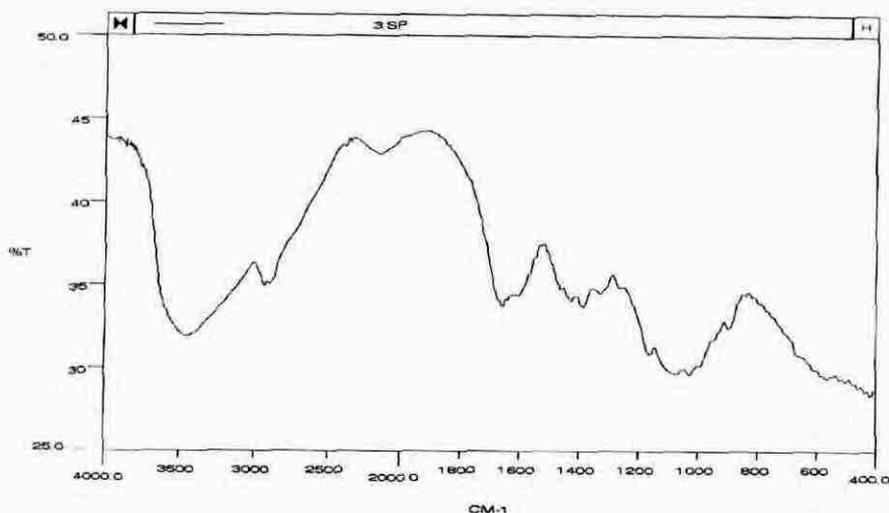
As amostras preparadas de acordo com os métodos já mencionados, foram analisadas no Infravermelho, para a observação de possíveis interações entre o polímero

e o corante utilizado neste trabalho. Amostras de microesferas de quitosana que foram adsorvidas, reticuladas e coacervadas com o corante forma trituradas e posteriormente foram analisadas no Infravermelho com pastilha de KBr, e os espectros resultantes estão ilustrados nas Figuras 9, 10 e 11.



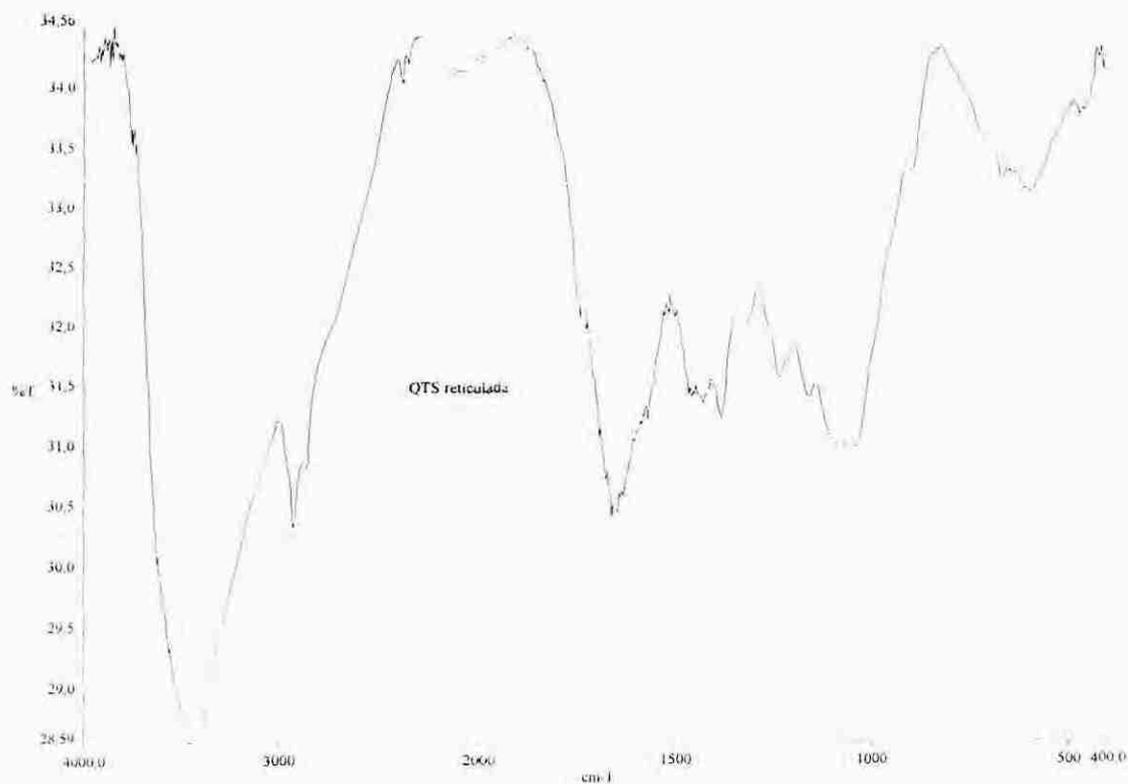
**Figura 9 – Espectro de Infravermelho para microesfera adsorvida.**

Para as amostras de microesfera coacervada e adsorvida, observa-se que todos os picos referentes a grupos funcionais do polímero estão preservados, ou seja, a interação provável que acontece neste sistema é apenas física onde o polímero atua como agente encapsulante do corante mantendo as características do mesmo intactas.



**Figura 10 – Espectro de Infravermelho para microesfera coacervada**

Para a amostra de microesfera reticulada, através da análise do espectro de Infravermelho, sendo a interação entre polímero – corante química, observa-se um deslocamento nos principais picos do polímero, ocasionados pela inserção do material reticulante (corante). O material reticulante forma com o polímero uma ligação amidica.



**Figura 11 – Espectro de Infravermelho para microesfera reticulada**

#### **4.6 Análise da Morfologia das Microesferas utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A microscopia eletrônica de varredura fornece informações sobre as características morfológicas das microesferas como a presença de fissuras e poros, permitindo uma análise rápida e direta de eficiência do processo de encapsulação. A presença de fissuras e rachaduras na superfície das microesferas pode comprometer a proteção oferecida ao material de parede. Pode-se também observar a partir do MEV a homogeneidade do tamanho das microesferas formadas.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram reveladas a partir de uma população mista de microesferas, algumas tendo boa esfericidade. As microesferas foram caracterizadas morfologicamente incluindo o tamanho de distribuição das partículas. Para a realização das análises, amostras de microesferas obtidas a partir dos diferentes métodos de preparação foram colocadas sobre suportes, sendo tratadas com uma película de ouro e posteriormente analisadas. A estrutura externa obtida dos produtos microencapsulados mostrou-se sem fissuras ou porosidade aparente, indicando a formação de um filme contínuo na parede (Figura 12).



A



B



C



D

**Figura 12 – Microscopia eletrônica de varredura das amostras: A) microesfera de quitosana, B) microesfera adsorvida, C) microesfera reticulada e D) microesfera coacervada.**

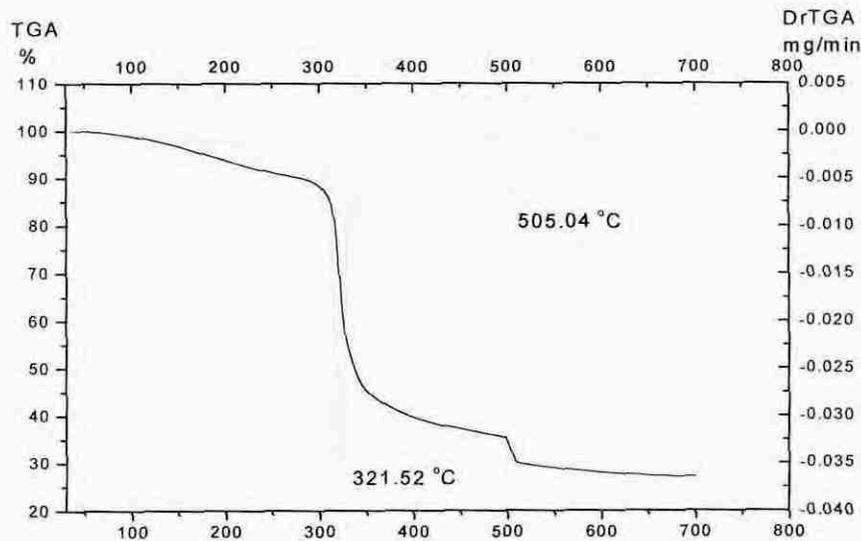
O perfil de distribuição do tamanho das partículas foi similar para os três métodos. A média de tamanho para as microesferas foi: 618  $\mu\text{m}$  para a amostra adsorvida, 582  $\mu\text{m}$

para a amostra coacervada e 583  $\mu\text{m}$  para amostra reticulada, sendo que para a amostra de microesfera não impregnada o tamanho foi de 553  $\mu\text{m}$ .

As análises das micrografias das microesferas impregnadas com o corante revelam uma impregnação eficiente sugerindo que o corante está dissolvido na matriz polimérica.

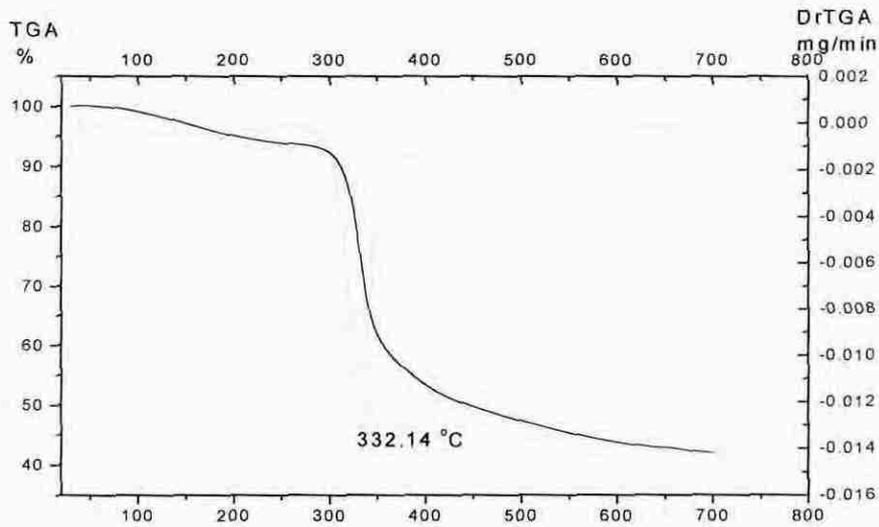
#### 4.7 Análise Térmica para as amostras de Quitosana

As microesferas impregnadas com urucum nos três diferentes métodos foram caracterizadas por análise térmica (TGA, DrTGA) para examinar possíveis interações entre a matriz polimérica e o corante. As microesferas de quitosana impregnadas pelo método de adsorção mostraram pico de decomposição em 321,52  $^{\circ}\text{C}$  (Figura 13).



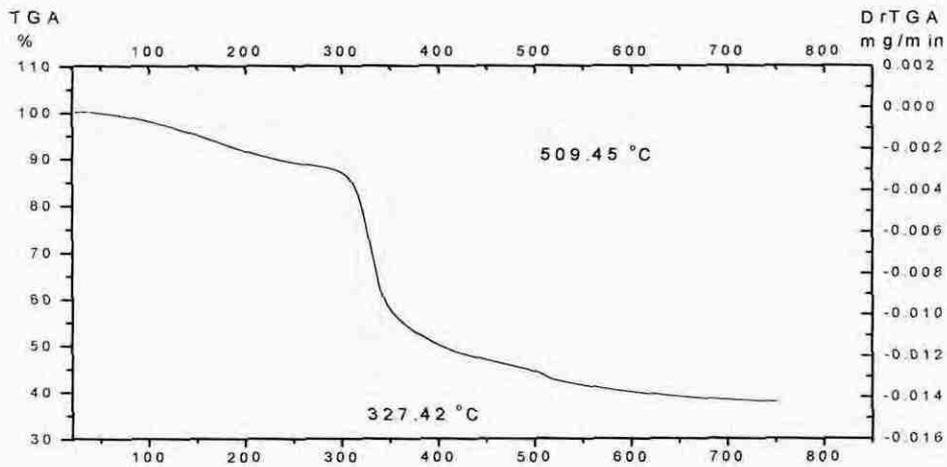
**Figura 13 – Análise térmica para a amostra de microesfera adsorvida**

As microesferas reticuladas com o corante mostraram pico de decomposição em 332,14  $^{\circ}\text{C}$  (Figura 14).



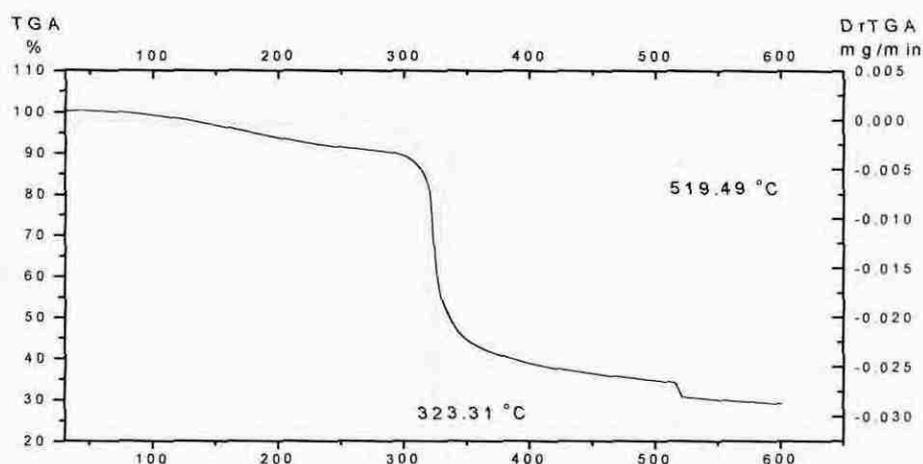
**Figura 14– Análise térmica para amostra de microesfera reticulada**

As microesferas que foram coacervadas com o corante foi observado pico de decomposição em 327,42 °C (figura 15).



**Figura 15 – Análise térmica para a amostra de microesfera coacervada**

Estes picos foram comparados com o pico de decomposição da microesfera de quitosana não impregnada 323,21 °C (Figura 16). Estes dados sugerem a ocorrência de uma interação entre polímero e corante formando-se desta maneira um outro material nas microesferas o qual apresenta picos de decomposição diferentes do material de partida. Este fato pode ser observado pela mudança da coloração das microesferas para vermelho intenso após a microencapsulação.



**Figura 16 – Análise térmica para amostra de quitosana não – impregnada.**

Observa-se um deslocamento acentuado dos picos em relação a quitosana pura principalmente para as microesferas obtidas a partir do método de reticulação, onde o próprio corante atua como agente reticulante dando em consequência uma maior estabilidade ao polímero.

#### **4.8 Análises de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)**

Quando um material sente mudanças no seu estado físico, tais como fusão ou transição de uma forma cristalina para outra ou quando reage quimicamente, uma quantidade de calor está envolvida no processo.

A técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC) é empregada para determinar a entalpia deste processo. O processo consiste no aquecimento de uma amostra sendo que a temperatura tem um aumento linear em função do tempo.

Foram feitas análises de DSC das diferentes amostras de microesferas de quitosana impregnadas com urucum a fim de verificar as possíveis interações polímero – corante, sendo observado um perfil destas análises na Figura 17.

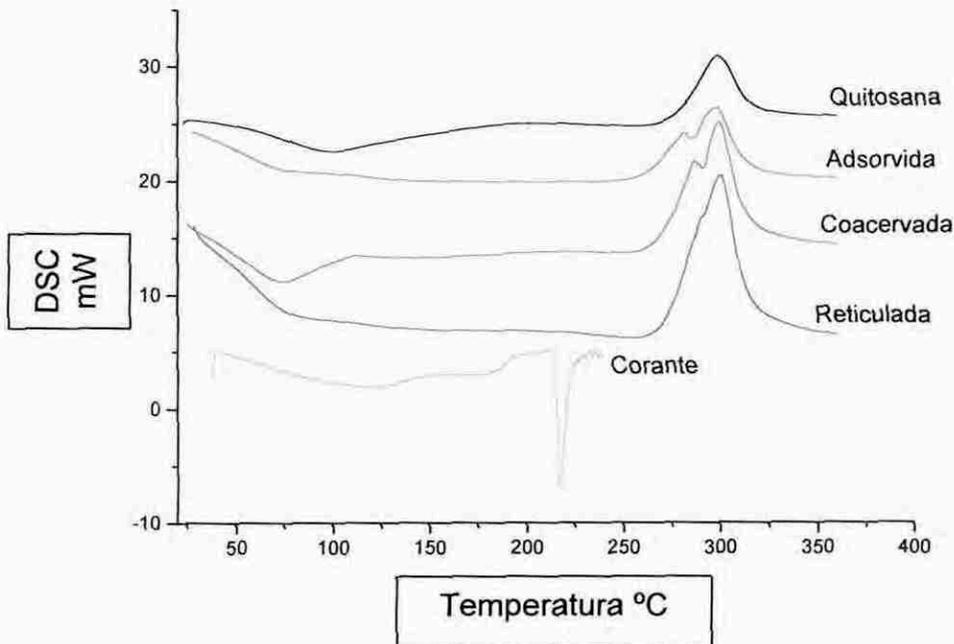


Figura 17 – Comparativo de análise de DSC para todas as amostras

Através da análise de DSC, observa-se para todas as amostras a ausência de corante livre. Para as amostras adsorvidas e coacervadas observa-se os picos de decomposição do corante e do polímero. Já para a amostra reticulada verifica-se a presença de um único pico de decomposição. Estes dados sugerem a ocorrência de uma interação física entre polímero – corante nos processos de adsorção e coacervação e a ocorrência de uma interação química polímero – corante no processo de reticulação.

Em meio ácido a atração é de origem eletrostática, no entanto, outras formas possíveis de interação seriam por pontes de hidrogênio, atração de Van der Waals e interação através da molécula do corante orientada ao longo da cadeia polimérica.

#### 4.9 Determinação da Quantidade de Corante Microencapsulado

Através desta análise pode-se quantificar a porcentagem de corante microencapsulado através dos diferentes métodos. Pode-se observar que o método que mais microencapsulou o corante foi o método de adsorção. Para o método de reticulação

observa-se uma quantidade de corante microencapsulado muito pequena, sugerindo-se desta forma que o mesmo pode conter corante presente na superfície externa sem ter reagido com a microesfera. Os valores obtidos são mostrados na Tabela 3.

**Tabela 3** – Determinação da quantidade de corante microencapsulado.

MICROESFERA	QUANTIDADE DE CORANTE MICROENCAPSULADO (mg %)
ADSORVIDA	48,6
COACERVADA	2,48
RETICULADA	0,78

Estes dados podem ser justificados pelo maior tempo de contato entre o polímero e o corante no processo de adsorção e pela suposição da existência de interação química entre polímero – corante no processo de reticulação (conforme dados de DSC).

#### 4.10 Determinação do Grau de Intumescimento

O estudo do grau de intumescimento das microesferas preparadas através dos diferentes métodos foi realizado conforme descrito no item 3.2.9.

Alguns fatores como hidrofiliicidade / hidrofobicidade do polímero e respostas a mudanças no pH influenciam no grau de intumescimento.

A Tabela 4 apresenta os valores obtidos para todas as amostras nos diferentes valores de pH, em um período de 60 minutos.

**Tabela 4** – Grau de intumescimento das diferentes amostras de microesferas de quitosana impregnadas com o corante

Grau de Intumescimento								
Microesfera Adsorvida			Microesfera Coacervada			Microesfera Reticulada		
pH	Grau	Tempo(min)	pH	Grau	Tempo(min)	pH	Grau	Tempo(min)
2	30,20	15	2	1,30	30	2	28,30	5
3	54,70	10	3	1,78	15	3	75,20	5
4	84,70	20	4	5,71	25	4	71,30	25
5	56,80	50	5	3,50	30	5	30,50	25

Observa-se que as microesferas coacervadas são as amostras que apresentam um menor grau de intumescimento.

#### 4.11 Estudos de liberação

A tecnologia de liberação controlada para aditivos alimentícios é vantajosa para a indústria alimentícia. Liberação controlada ajuda a superar a utilização no efetivo e a perda de aditivos alimentícios durante as etapas de processamento.

Sendo assim, o estudo do comportamento de liberação do corante microencapsulado a diferentes pH é interessante.

A quantidade de corante urucum liberado com o tempo ( $M_t$ ) foi seguido pelo monitoramento do meio de liberação a 452 nm em um espectrofotômetro UV-Vis. A quantidade total de corante liberado ( $M_f$ ) foi obtida após manter o mesmo algumas horas em solução

O aspecto geral da curva de liberação do urucum para as microesferas adsorvidas está mostrado na Figura 18, que mostra um gráfico da fração de corante liberado em relação ao total liberado em função do tempo.

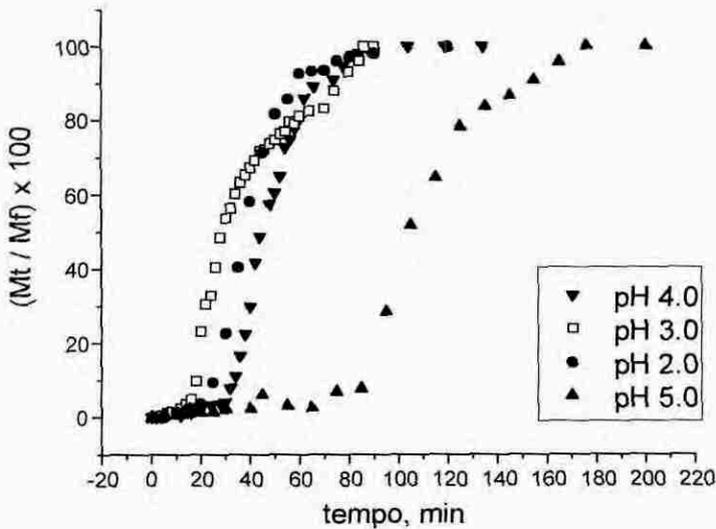


Figura 18 – Perfil da curva de liberação para as microesferas adsorvidas: pH 2, 3, 4 e 5 a 25 °C.

O perfil da curva de liberação do urucum adsorvido nas microesferas de quitosana sugere um processo de dois estágios. O primeiro estágio resulta no intumescimento das microesferas devido o contato com o solvente. No segundo estágio, o corante é liberado por difusão através do polímero.

Observa-se que a pH 5, a liberação começa após 80 min., devido o tempo requerido para a permeação do corante alcançando o meio a partir da cavidade interna da microesfera. Para a liberação nos pH 2, 3 e 4, necessita-se de aproximadamente 30 min.

Pode-se observar na Figura 18, que todo o corante é liberado a partir da matriz de quitosana, em menos de três horas não considerando-se o pH. O tempo necessário para liberar 50% do corante nos pH 2, 3, 4 e 5 é mostrado na Tabela 5. Contudo, observa-se uma liberação mais rápida no pH 3 e uma liberação mais lenta a pH 5.

Observa-se uma velocidade de liberação mais rápida do urucum microencapsulado pelo método de coacervação comparado com o método de adsorção, sendo o perfil da liberação para as microesferas coacervadas mostrado na Figura 19.

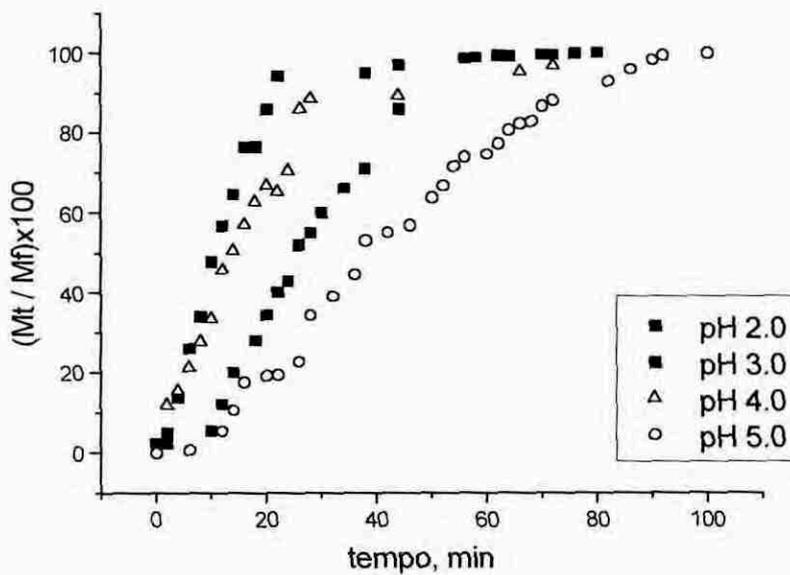


Figura 19 – Perfil da curva de liberação do corante para as microesferas coacervadas: pH 2, 3, 4 e 5 a 25 °C

Observa-se que a liberação do corante é controlada por difusão nas microesferas coacervadas. A porcentagem de liberação de 50% do corante a diferentes pH é mostrado na Tabela 5.

O corante foi liberado a partir das microesferas coacervadas em menos de duas horas. A liberação mais rápida ocorre a pH 2 e 4 enquanto que a mais lenta ocorreu a pH 5.

Nas microesferas reticuladas com urucum não observa-se liberação em nenhum dos pH utilizados no estudo.

**Tabela 5** – Liberação de 50% do corante a partir das microesferas de quitosana adsorvida e coacervada

Microesferas de quitosana	pH	Liberação de 50% do corante (min)
Adsorvida	2.0	37
	3.0	28
	4.0	44
	5.0	104
Coacervada	2.0	11
	3.0	25
	4.0	13
	5.0	38

As curvas de calibração utilizadas para a determinação das diferentes concentrações de corante e conseqüentemente da massa de corante liberada foram feitas mantendo-se as soluções tampão empregadas nos estudos de liberação e utilizando-se o  $\lambda_{\text{máx}} = 452 \text{ nm}$ . A absorbância foi plotada em função do tempo, obtendo-se as curvas de calibração para cada pH.

A partir da massa de corante liberado, determinado através da curva de calibração, o cálculo da porcentagem de corante liberado em cada pH foi feito a partir da equação:

$$\% \text{ corante liberado} = \frac{M_{\text{liberada}}}{M_{\text{microencapsulada}}} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O uso de encapsulante adequado pode proporcionar máxima proteção ao material ativo contra condições adversas como luz, pH, oxigênio e ingredientes reativos.
- O estudo do comportamento de liberação do corante microencapsulado a diferentes pH pode permitir o controle durante as etapas de processamento dos alimentos
- De acordo com os resultados encontrados neste trabalho o biopolímero quitosana mostrou-se eficiente no processo de microencapsulação do corante urucum.

## 6. BIBLIOGRAFIA

ARAÚJO, J. M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa : UFV, 1999.

BAKAN, J. A., **Microencapsulation of foods and related products**, Food Technology, v. 27, n.11, p. 34-44, 1973.

BENITA, S., **Microencapsulation methods and industrial application**, New York:Marcel Dekker, Inc., 1996.

BROUSSIGNAC, J., **Un hault polymere naturel per connum dans l'industrie le chitosan**, Chimie et Industrie-Genie Chimique, v. 99, 1241, 1972.

CARVALHO, P. R. N.; SARANTOPOULOS, C. I. G. L.; SHIROSE, I.; SILVA, M.G., **Estudo da vida de prateleira do corante ( bixina) das sementes de urucum (*Bixa orellana L.*)**. Coletânea do ITAL, v.23, n.1, p. 98-104, 1994.

CHEN, R. H., TSAIH, M. L., LIN, W. C., **Effects of chain flexibility of chitosan molecules on the preparation, phisical and realese characteristics of the prepared capsule**, Carbohydrate polymers, n.31, p. 141-148, 1996.

DE SOUZA, M. S. M., **Ativos Microencapsulados encontram mais aplicações**, [on line] Disponível na internet via <http://www.quimica.com.br/revista/qd388/microencp1.htm>. Arquivo capturado em 26 de julho de 2002.

DZIEZAK, J. D., **Food Techol**; 42, 136-151, 1988.

ENGELHARDT, J.et al. **Natcol Quaterly Information Bulletin**, 2, 4-10,1988.

FURLAN, L., **Adsorção de corantes reativos e fotossensíveis por aminopolissacarideos naturais**, 1997, Tese (Doutorado em Química) – departamento de Química – UFSC – Florianópolis.

KING, A. H., **Encapsulation of food ingredients: a review of available technology, focusing hydrocolloids**. In: RISH, S. J., REINECCIUS, G. A, Encapsulation and controlled release of food ingredients, Washington, DC: 1995, p. 8 – 25.

KUSUHARA, K. **Corantes naturais utilizados em alimentos no Japão**. In: **SBCN (Sociedade Brasileira de Corantes Naturais)** [on line] Disponível na internet via <http://www.uesb.br/sbcn.html>. Arquivo capturado em 12 de novembro de 1998.

MATHUR, N. K., NARANG, K. C., **Versatile polyssacharides from marine animals**, **Journal of Chemical Education**, v.67, n.11, p.938, nov 1990.

MCKEOWN, G.G. & MARK, E. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 45, 761, 1962.

MUZZARELLI, R.A.A. **Natural chelating polymers**, Pergamon Press, Oxford, 1973.

POTHAKAMURY, U. R., BARBOSA – CANOVÁS, G. V., **Trends in food Sci & technology**, 6, 1995.

RISH, S. J., **Encapsulation: overview of uses and techniques**, In: RISH, S. J., REINECCIUS, G. A, Encapsulation and controlled release of food ingredients, Washington, DC: 1995, p. 8 – 25.

SANFORD, P. A , HUTCHINGS, G. P., **CHITOSAN – A natural cationic biopolymer commercial applications**, In: YALPINI, M., **Industrial polysaccharides: genetic engineering structure / property relations and applications**, p. 363 – 367, 1997.

SHAHIDI, F. & HAN, X. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, 33, 6, 501-547, 1995.

SIMÃO, A. M., **Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico**. 2º ed., São Paulo, 1985.

SPARKS, R.E., **Microencapsulation**. In: Kirk-Othmer. Encyclopedia of Chemical Technology, 3 ed. John Wiley and Sons, New York, v. 15, p. 470, 1981.

STRINGHETA, P. C. et al. *Rev. Bras. Cor. Nat.*, **3**, 1999.

TAN, C.S.; KHOR, E.; TAN, T.K.; WONG, S.M., **The degree of deacetylation of chitosan: advocating the first derivate UV-spectrophotometry method of determination**. *Talanta*, v. 45, p. 713 – 719, 1998.

WHORTON, C. & REINECCIUS, G. A. Evaluation of the mechanism associated with the release of encapsulation flavor materials from maltodextrin matrices. In: **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**. Risch, S. J. and Reineccius, G. A. Eds., American Chemical Society, Washington, DC, p. 143-160, 1995.

WHORTON, C. **Factors influencing volatile release from encapsulation matrices**. ACS Symposium Series no 590. Washington, p. 134-142, 1995.