

DOI: <http://dx.doi.org/10.20435/multi.v27i66.3618>
Recebido em: 18/01/2022; aprovado para publicação em: 02/05/2022

**Estabilidade de emulsões lipídicas ricas em ômega-3 para
preparo de microcápsulas para aditivo de leite humano para
recém-nascidos prematuros**

***Stability of omega-3 rich lipid emulsions for preparing
microcapsules for human milk additive for premature
newborns***

***Estabilidad de emulsiones lipídicas ricas en omega-3 para la
preparación de microcápsulas de aditivo de leche materna
para recién nacidos prematuros***

Teresa Cristina Abranches Rosa¹
Karla Rejane de Andrade Porto²
Márcio Olívio Figueiredo Vargas³
Durval Batista Palhares⁴

¹ Mestrado em Metabolismo e Nutrição pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Especialização pelo Programa de Residência Multiprofissional em Saúde da UFMS. Graduação em Nutrição pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Nutricionista na UFMS. E-mail: teresacristinaar@yahoo.com.br, Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9990-6560>

² Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade pela Rede Pró-Centro-Oeste (UFMS/UnB/UFMG/UCDB). Mestrado em Química e Biotecnologia, e graduação em Nutrição pela Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Pesquisador e orientador de PIBIC e pós-graduação. Coordena o curso de Nutrição da Faculdade Mato Grosso do Sul (FACSUL). E-mail: portokra@gmail.com, Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6309-8696>

³ Graduação em Química pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Lotado na Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública (UTASP), na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição (FACFAN), na UFMS. E-mail: marcio.vargas@ufms.br, Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5861-3198>

⁴ Pós-Doutoramento na Case Western Reserve University (RBCH). Doutorado e mestrado em Pediatria pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto na Universidade de São Paulo (USP). Graduação em Medicina pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). Professor titular da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), e da Faculdade de Medicina (FAMED). Orientador de mestrado e doutorado na UFMS. E-mail: dbpalhares@hotmail.com, Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4300-6125>

Resumo: Leite humano é o alimento de escolha para prematuros de baixo peso, mas seu processamento e administração ocasiona perdas nutricionais. Estudos vêm propondo aditivos do leite humano, e o desafio é buscar técnicas para uma eficaz suplementação de lipídeos, com ênfase no ômega-3, devido a sua importância no desenvolvimento neurológico e integridade celular. O objetivo foi desenvolver e testar emulsões contendo óleo fonte de ômega-3 para fabricação de microcápsulas para adição em leite humano. O estudo experimental utilizou óleo de peixe, lecitina de soja como emulsificante e amido e maltodextrina como materiais de parede com posterior liofilização para produção de pós das microcápsulas. As análises da estabilidade e das características do produto apresentaram resultados positivos, sendo alternativa viável de adição de lipídeos ao leite humano. Futuras análises permitirão o estudo do comportamento do produto acrescido ao leite humano e subsidiarão pesquisas sobre aditivos ao leite humano para crianças em vulnerabilidade.

Palavras-chave: prematuridade neonatal; cápsulas; nutrição do lactente; baixo peso ao nascer; tecnologia de alimentos.

Abstract: Human milk is the food of choice for low birth weight preterms, but its processing and administration lead to nutritional losses. Studies have been proposing human milk additives, and the challenge is to seek techniques for effective lipid supplementation, with emphasis on omega-3, due to its importance in neurological development and cell integrity. The objective was to develop and test emulsions containing omega-3 source oil to microcapsules manufacture for addition to human milk. The experimental study used fish oil, soy lecithin as emulsifier, and starch and maltodextrin as wall materials with subsequent lyophilization for the production of powders from the microcapsules. The stability and characteristics analyzes of the product showed positive results, being a viable alternative for the addition of lipids to human milk. Future analyzes will allow the study of the behavior of the product added to human milk and will subsidize research on human milk additives for vulnerable children.

Keywords: neonatal prematurity; capsules; nursing nutrition; low birth weight; food technology.

Resumen: La leche materna es el alimento de elección para prematuros de bajo peso, pero su procesamiento y administración provocan pérdidas nutricionales. Estudios vienen proponiendo aditivos para la leche materna, y el desafío es buscar técnicas para la suplementación lipídica eficaz, con énfasis en el omega-3, debido a su importancia en el desarrollo neurológico e integridad celular. El objetivo era desarrollar y probar emulsiones que contienen omega-3 para la fabricación de microcápsulas para adición a la leche materna. El estudio experimental utilizó aceite de pescado, lecitina de soja como emulsionante y almidón y maltodextrina como materiales de pared con posterior liofilización para la producción de las microcápsulas. Los análisis de estabilidad y características del producto arrojaron resultados positivos, siendo alternativa viable para la adición de lípidos a la leche materna. Los análisis futuros permitirán estudiar el comportamiento del producto agregado a la leche materna y subsidiarán la investigación sobre aditivos para niños vulnerables.

Palabras clave: recién nacido prematuro; cápsulas; nutrición del lactante; recién nacido de bajo peso; tecnología de alimentos.

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que mais de 20 milhões de crianças nasçam com baixo peso a cada ano e que esta condição esteja relacionada ao parto prematuro, aquele que ocorre antes de 37 semanas completas de gestação e acomete cerca de 340 mil neonatos por ano no Brasil. Tais situações colocam os lactentes em maior risco de atraso ou prejuízos no crescimento e desenvolvimento, maior propensão a doenças infecciosas e até mesmo risco de morte durante a infância. Desta forma, a implementação de cuidados apropriados, incluindo a alimentação, pode reduzir substancialmente a morbimortalidade neste grupo altamente vulnerável.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que esses lactentes, incluindo aqueles com muito baixo peso ao nascer (<1500 g), sejam alimentados preferencialmente com o próprio leite materno. Diante da impossibilidade, recomenda-se que sejam alimentados com leite humano proveniente de bancos de leite.

Os bancos de leite humano desempenham um papel fundamental na captação, no manejo e na distribuição do leite humano. Contudo, os procedimentos necessários realizados durante o processamento até a distribuição do leite humano pasteurizado às crianças não são isentos de perdas.

Embora estudos venham sendo desenvolvidos visando propor aditivos do leite humano, como é o caso do suplemento comercial FM85®, de suplementos homólogos ao leite humano e da adição de ácidos graxos da série ômega-3 diretamente ao leite humano, a técnica da nutrição enteral e os dispositivos utilizados na administração estão relacionados a uma diminuição do conteúdo final de lipídeos, devido à interação química e adesão ao equipo e à sonda nasogástrica e aos processos de oxidação.

O desafio agora é buscar técnicas que permitam uma eficaz suplementação de lipídeos, com ênfase nos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), em especial nos componentes da série ômega-3, devido a sua importância no desenvolvimento neurológico e na integridade celular dessas crianças.

Neste sentido, surgem como alternativa os processos de encapsulação de lipídeos, visando melhorar sua estabilidade em solução e biodisponibilidade. A microencapsulação de óleos ricos em ômega-3 apresenta-se como uma alternativa para aumentar sua estabilidade físico-química, principalmente

a fim de evitar reações de oxidação, bem como facilitar sua incorporação em diversos tipos de preparações alimentares e, ainda, com potencial para melhorar a biodisponibilidade.

Assim, surge a presente proposta com o objetivo de desenvolver e testar emulsões lipídicas contendo óleo de peixe, fonte de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, para fabricação de microcápsulas para adição em leite humano a ser utilizado, posteriormente, na alimentação de recém-nascidos prematuros.

Espera-se, com a presente proposta, fornecer uma metodologia viável, de baixo custo e exequível para enriquecimento do leite humano com lipídeos, dando ênfase nos ácidos graxos ômega-3, de modo a garantir biodisponibilidade e reduzindo perdas mediante processo de microencapsulação.

2 METODOLOGIA

Trata-se de estudo experimental para fabricação de microcápsulas contendo fonte de ácidos graxos ômega-3 sob a forma de óleo. Anteriormente à execução das preparações das microcápsulas, foram estimadas as necessidades energéticas, tendo como base um neonato de 1,5 kg e a demanda energética média de 75 kcal/kg/dia, totalizando 112,5 kcal/dia, contemplando de 1,5 a 5,25 g/dia de lipídeos (1,0 a 3,5 g/kg/dia), dos quais 10% sob a forma de ácidos graxos poli-insaturados. Consideraram-se ainda as *Dietary reference intakes* (DRIs) para o ômega-3, prevendo-se 0,5 g/dia (AMÂNCIO; FISBERG; MARCHIONI, 2013), e que o suplemento de óleo de peixe em cápsulas adquirido no comércio local fornecia 540 mg de ácido eicosapentaenoico (EPA) e 360 mg de ácido docosahexaenoico (DHA), na porção de 4,2 g (3 cápsulas), ou seja, 0,12 g de EPA e 0,086 g de DHA por grama de produto.

O preparado das emulsões, base das microcápsulas, envolveu a incorporação de óleo de peixe em lecitina de soja como emulsificante para aumento do perfil hidrofílico do óleo, e do amido e da maltodextrina como material de parede. Após a obtenção da solução final, foram realizados estudos sobre a estabilidade das emulsões contendo ácidos graxos ômega-3 e das características das microcápsulas formadas. A metodologia foi adaptada de Jiménez-Martín *et al.* (2015), e cada etapa do preparo dos pós será descrita a seguir:

3 FASE I: PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES CONTENDO ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3

2.1 Emulsões Primárias

As emulsões foram preparadas no Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (LDTI) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Conforme mencionado anteriormente, a fonte lipídica foi emulsionada em lecitina na proporção de 3:1 p/v por agitação magnética. Em seguida, adicionada à solução de ácido acético a 1%, no volume de 100 vezes o volume do óleo de peixe; então, homogeneizada a 18.000 rpm por 10 minutos, utilizando-se um homogeneizador/triturador Turratec® TE-102 conforme Figura 1, formando a primeira camada denominada monocamada (MO).

Figura 1 – Aparelho homogeneizador/triturador e processo de homogeneização de óleo de peixe rico em ômega-3 com lecitina de soja como emulsificante na presença de ácido acético a 1%

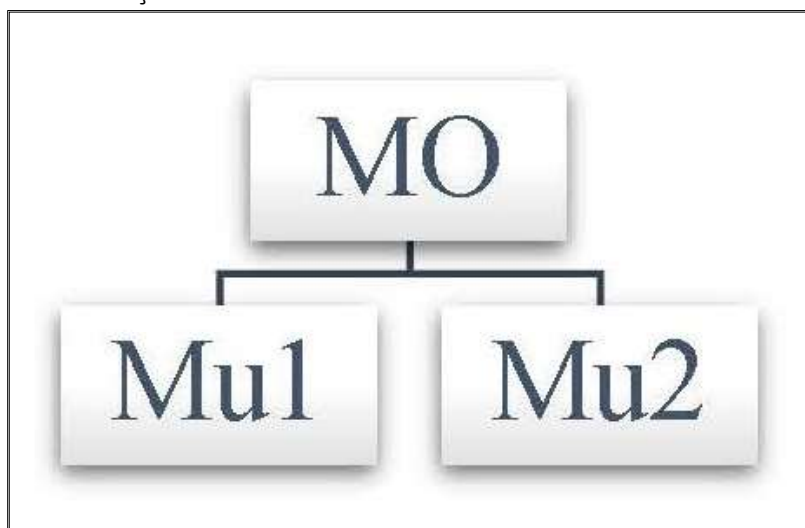


Fonte: Autoria própria.

2.2 Emulsões Secundárias (Mu):

A partir das emulsões primárias, foram preparados dois tipos de emulsões secundárias segundo a concentração do revestimento de amido, identificadas como emulsões multicamadas (Mu1 e Mu2) nas concentrações de 0,5% e 1% (m/m), em solução de ácido acético a 1% (Figura 2).

Figura 2 – Preparo das emulsões multicamadas com diferentes concentrações de amido



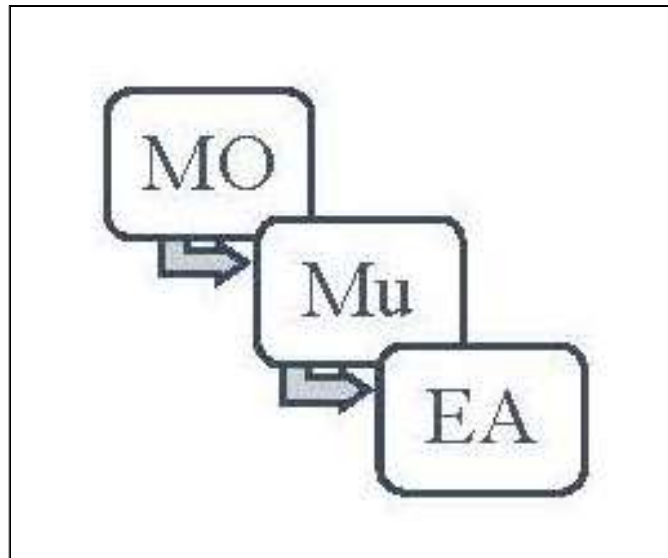
Mo: Emulsões Monocamadas; Mu1 – Emulsão Multicamada com 0,5% de amido; Mu2 – Emulsão Multicamada com 1,0% de amido.

Fonte: Autoria própria.

2.3 Emulsões de Alimentação (EA):

Em separado, ao conteúdo da Mu1 e da Mu2 foi adicionada a solução de maltodextrina a 30% p/p, diluída em ácido acético 1% (Figura 3).

Figura 3 – Representação da etapa sequencial do preparo da emulsão de alimentação com maltodextrina como material de parede



MO – Emulsão Monocamada; Mu – Emulsões Multicamadas;
EA – Emulsões de Alimentação.
Fonte: A autoria própria.

2.4 Caracterização e avaliação da estabilidade das emulsões:

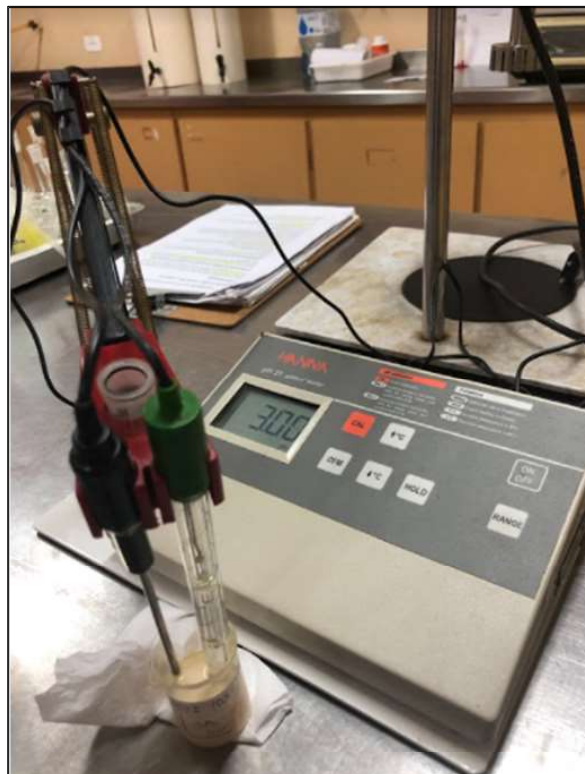
Imediatamente após a produção, as emulsões foram mantidas sob agitação suave para manter a homogeneidade, e, em seguida, uma gota de amostra foi coletada com uma pipeta Pasteur, colocada em uma lâmina de microscópio e coberta por uma lamínula. As lâminas foram preparadas em triplicata para cada solução, nas diferentes concentrações de amido (0,5% e 1,0%), e observadas em microscópio óptico para a avaliação das microestruturas e emulsões reconstituídas por meio de uma objetiva de imersão em óleo 10 × 100. As imagens foram capturadas utilizando-se uma câmera digital.

Posteriormente, as imagens foram analisadas utilizando-se o *software* livre ImageJ® para estudo da morfologia e quantificação da área das microcápsulas. As análises das médias obtidas nas diferentes concentrações

foram submetidas à análise de variância – ANOVA e pós-teste de Tukey ao nível de significância de 5% utilizando o *software* RStudio.

Utilizando um medidor de pH de bancada (Hanna Instrumentos® mod. pH21) (Figura 4), foi realizada a verificação do pH nas triplicatas de cada emulsão preparada logo após a produção e passados 15 dias em armazenamento em temperatura ambiente.

Figura 4: Medidor de pH de bancada (Hanna Instrumentos® mod. pH 21)



Fonte: Autoria própria.

Para teste da estabilidade das emulsões nas diferentes concentrações de amido, um volume fixo de 20 ml foi transferido para provetas graduadas de vidro, devidamente seladas e armazenadas por 15 dias em temperatura ambiente.

As emulsões armazenadas foram avaliadas quanto à separação de fases do dia 1 até o décimo quinto dia. A estabilidade foi medida em função da porcentagem de separação e expressa segundo o índice de cremeação descrito pela equação: $IC (\%) = (H/H_0) \times 100$, em que: H_0 representa a altura inicial da fase inferior e H representa a altura inicial da fase superior após 24 horas (CARNEIRO *et al.*, 2013).

3 FASE II: PREPARAÇÃO DE PÓS DE MICROCÁPSULAS CONTENDO ÓLEO DE PEIXE RICO EM ÔMEGA-3

As emulsões foram separadas em volumes fixos, acomodadas em tubos Falcon com capacidade de 50 ml e armazenadas em ultrafreezer a -80°C . Posteriormente, foram submetidas à secagem por liofilização em parceria com o Laboratório de Purificação de Proteínas e suas Funções Biológicas (LPPFB) da UFMS, utilizando-se o aparelho *Vacuum Pump RZ 2.5* (VACUUBRAND®) para produção dos pós.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dada a prevalência de prematuridade e baixo peso ao nascer (CARVALHO *et al.*, 2021) e a necessidade frequente de oferta de leite humano oriundo de bancos, vários estudos vêm sendo desenvolvidos visando propor aditivos do leite humano, como é o caso do suplemento comercial FM85®, de suplementos homólogos ao leite humano e adição de ácidos graxos da série ômega-3 (PALHARES *et al.*, 2012; THOMAZ *et al.*, 2012; GRANCE *et al.*, 2015; MULLER, 2017); contudo, a técnica da nutrição enteral e os dispositivos utilizados na administração estão relacionados a uma diminuição do conteúdo final de lipídeos, devido à interação química e adesão ao equipo e à sonda nasogástrica e aos processos de oxidação (RAYYAN; ROMMEL; ALLEGAERT, 2015; MULLER, 2017).

Neste sentido, recentemente, as atenções têm sido voltadas para o desenvolvimento de substitutos lipídicos para o leite materno, a fim de garantir e melhorar a saúde infantil. Estes substitutos da gordura do leite humano podem ser feitos de várias fontes, e os experimentos têm utilizado óleo de soja, óleo de palma, óleo de canola e outros óleos básicos. No

entanto, os substitutos de lipídeos são, na verdade, derivados de óleos e, portanto, sujeitos à oxidação, à baixa palatabilidade, à dificuldade de se armazenar e transportar; portanto, sua preparação deve ser idealmente entregue na forma microencapsulada (LI *et al.*, 2018).

Os lipídeos são quimicamente instáveis e suscetíveis à deterioração oxidativa e perda de compostos voláteis, especialmente quando expostos a oxigênio, luz e umidade, o que acaba por afetar a qualidade de produtos fortificados com óleos, exercendo um efeito negativo na estabilidade de prateleira, nas propriedades sensoriais e na aceitabilidade geral dos produtos desenvolvidos. Assim, para desenvolver produtos contendo óleos marinhos, vegetais ou essenciais, a tecnologia de microencapsulação pode ser uma opção viável para manter suas características biológicas e funcionais (BAKRY *et al.*, 2016).

A tecnologia da microencapsulação é um processo em que minúsculas esferas de materiais bioativos, como os lipídios, são rodeadas por um revestimento ou parede de filme solúvel para formar microcápsulas (LI *et al.*, 2018). Pode ser utilizado para envolver substância sólida, líquida ou gasosa em uma cápsula selada muito pequena – microcápsula. O material do núcleo é gradualmente difundido por meio das paredes da cápsula, oferecendo propriedades de liberação controlada sob as condições desejadas, o que faz com que a tecnologia de microencapsulação seja utilizada com componentes bioativos, melhorando suas propriedades de manuseio (BAKRY *et al.*, 2016).

A seleção do material de revestimento para microencapsulação é uma etapa crucial. Polissacarídeos, proteínas e lipídeos são comumente usados na formação de camadas ao redor de óleos ricos em ácidos graxos poli-insaturados (KANWAL *et al.*, 2021), como é o caso do óleo de peixe, fonte de ômega-3, escolhido no presente trabalho.

A maioria dos trabalhos encontrados na literatura sobre microencapsulação de óleos ricos em ácidos graxos poli-insaturados usa óleo de peixe como material ativo (CARNEIRO *et al.*, 2013). A escolha do óleo de peixe, no presente estudo, justifica-se pelo fato de ele ser fonte de ácidos graxos essenciais, incluindo o ômega-3, cujos benefícios à saúde estão bem documentados na literatura. Eles desempenham um possível papel

no desenvolvimento fetal, na primeira infância e na melhora da cognição; têm efeitos anti-inflamatórios e fornecem proteção contra vários cânceres; têm função estrutural no tecido sensorial e da retina vascular, dentre outros. Porém, os principais obstáculos associados à incorporação de óleo de peixe em produtos alimentícios são a insolubilidade na água, a suscetibilidade dos ácidos graxos poli-insaturados à deterioração oxidativa e o desenvolvimento de odor e sabor rançosos indesejáveis. Assim, a utilização de óleo de peixe em sistemas alimentares aquosos pode ser melhorada usando tecnologia de encapsulamento, objeto do presente trabalho (BAKRY *et al.*, 2016).

A microencapsulação de lipídios requer uma base aquosa como material de parede, e, como os lipídios e a água são imiscíveis, um emulsificante apropriado precisa ser adicionado para que a fase lipídica possa ser distribuída de maneira estável e uniforme no filme aquoso. A lecitina de soja é um emulsificante amplamente utilizado, com efeito notável, e foi o agente emulsificante de escolha no presente estudo, assim como na pesquisa de Li *et al.* (2018), a qual mostrou outros óleos para teste, além do óleo de peixe. Porém, outras substâncias podem ser empregadas como agente emulsificante, a depender do interesse e da aplicabilidade do produto.

As emulsões são utilizadas em uma ampla variedade de produtos alimentícios e farmacêuticos, e a tecnologia de emulsificação é uma etapa fundamental na microencapsulação de óleos. Geralmente, são preparadas utilizando-se um dispositivo mecânico conhecido como homogeneizador (misturador de alto cisalhamento, homogeneizador de alta pressão, moinho coloidal, sonicador ou homogeneizador de membrana) (BAKRY *et al.*, 2016). No presente estudo, foi utilizado um homogeneizador/triturador Turrtec® TE-102 a 18.000 rpm por 10 min. Li *et al.* (2018) utilizaram uma rotação de 4.000 rpm/min. em alta velocidade, durante 3 min. Já Carneiro *et al.* (2013) utilizaram um homogeneizador Ultra-Turrax MA-102 operando a 18.000 rpm, por 5 min.

A emulsão óleo-água consiste em pequenas gotículas de óleo dispersas em um meio aquoso, com as gotículas de óleo sendo envolvidas por uma fina camada interfacial, consistindo de moléculas de emulsificante. As vantagens desses sistemas são relativa facilidade de preparação e baixo custo, mas têm as desvantagens de instabilidade física quando expostos a

aquecimento, resfriamento, congelamento, secagem, pH extremos e altas concentrações de minerais. Neste sentido, a eficiência da microencapsulação pode ser ampliada com o aumento da concentração de sólidos (materiais da parede) na solução, o que pode estar relacionado à formação de uma casca ao redor do material do núcleo. Dependendo do material do núcleo e das características desejadas no produto final, os materiais da parede podem ser selecionados a partir de uma ampla variedade de polímeros naturais (por exemplo, amido e celulose) e sintéticos (por exemplo, náilon, polietileno e poliéster) (BAKRY *et al.*, 2016). No presente estudo, optou-se por amido e maltodextrina como materiais de parede.

O amido é um tipo de carboidrato constituído por duas frações polissacarídicas distintas, a amilose, fração linear, e a amilopectina, fração ramificada. Esse polímero de carboidratos é abundante na natureza, apresenta baixo custo, é biocompatível, biodegradável, atóxico e é naturalmente renovável, além de apresentar propriedades físicas como a capacidade de reter vários materiais sensíveis, como compostos organolépticos, o que justifica o aumento do interesse em seu uso nos últimos anos, na indústria e tecnologia de alimentos, indústria farmacêutica e de nanotecnologia (ANDRADE; CAMILLOTO; CRUZ, 2020), assim como sua escolha como material de parede no presente estudo.

Charles *et al.* (2021) optaram por utilizar combinações de proteína de soro de leite como material de parede, com amido de araruta e maltodextrina para encapsular óleo de atum, e observaram melhora da vida útil e estabilidade oxidativa, justificando sua utilização como material de parede, assim como o uso e a aplicação na fortificação de alimentos.

No estudo de Yue *et al.* (2020) que tinha por objetivo otimizar o método de microencapsulação de um óleo funcional utilizando-se amido de milho com alto teor de amilose (*high amylose corn starch* – HACS), os autores evidenciaram que a estabilidade das microcápsulas aumentava quando este tipo de amido era usado como material de parede e que sua adição não afetou a uniformidade e a morfologia da superfície das partículas. Os autores referem que o processo de encapsulação não só melhorou a estabilidade oxidativa dos óleos, mas também aumentou o valor nutricional das microcápsulas e que estas, ao utilizarem este amido como material

de parede, eram altamente aconselháveis para controlar a condição de pacientes diabéticos.

Outros materiais de parede são referidos na literatura científica. A gelatina é um biopolímero frequentemente utilizado na indústria alimentícia e tem papel importante na microencapsulação de ômega-3, uma vez que possui propriedades adequadas para o uso em várias técnicas de encapsulamento, como secagem por pulverização e coacervação complexa (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). A quitosana também costuma ser mencionada nos estudos científicos de encapsulação de óleos. Esse polissacarídeo derivado da quitina é amplamente aplicado na indústria de alimentos para microencapsulação, devido a sua natureza comestível, biodegradabilidade, não tóxica, barata, antioxidante e antimicrobiana. É um agente espessante que atribui alta viscosidade, além de ser um bom agente encapsulante, ocasionando baixos valores de separação de fases (KANWAL *et al.*, 2021).

Porém, a quitosana não é eficiente em produzir emulsão estável quando está sozinha, e este problema é solucionado quando este polímero é misturado em concentrações adequadas, por exemplo, à maltodextrina (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). A maltodextrina é um amido hidrolisado comumente usado como material de parede na microencapsulação de ingredientes alimentícios (LI *et al.*, 2018). Esse polissacarídeo neutro oferece vantagens como custo relativamente baixo, aroma e sabor neutros, baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos e boa proteção contra oxidação (CARNEIRO *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2018).

Os carboidratos, como é o caso da maltodextrina e do amido, são os materiais de parede mais amplamente usados na indústria de alimentos para proteger os materiais do núcleo da oxidação, interação química e volatilização, bem como para maximizar a eficiência de encapsulamento, conforme foi evidenciado no trabalho de Zhu *et al.* (2021).

Os critérios para selecionar um material de parede devem basear-se, principalmente, em suas propriedades físico-químicas, dentre as quais a solubilidade e as propriedades de emulsificação. Além disso, o custo também deve ser considerado. A seleção de materiais de parede para microencapsulação pode envolver procedimentos de tentativa e erro até que as

microcápsulas sejam formadas. As cápsulas devem ser então submetidas a várias avaliações, por exemplo, eficiência de encapsulação, tamanho de partícula, estabilidade sob diferentes condições de armazenamento, grau de proteção fornecido ao material do núcleo e morfologia das microcápsulas por microscopia de varredura, dentre outros (BAKRY *et al.*, 2016).

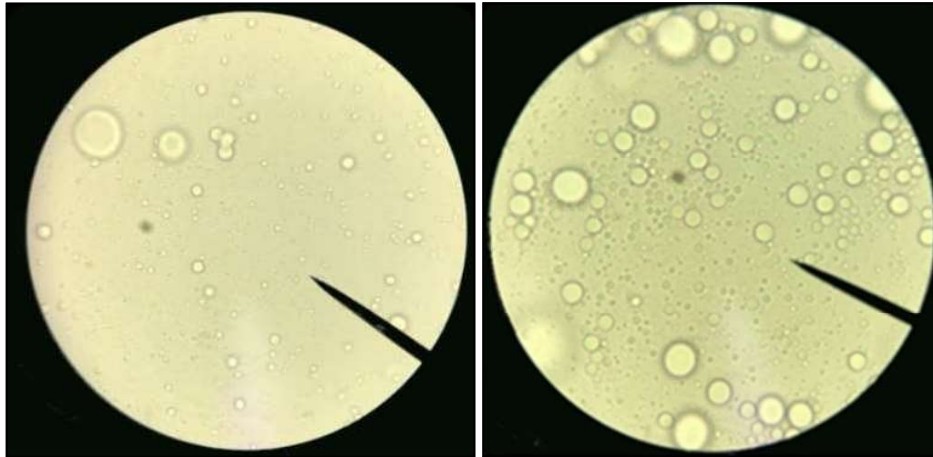
Outro ponto de análise é o rendimento das emulsões e dos pós das microcápsulas após secagem. O rendimento total das emulsões nas diferentes concentrações do presente estudo (0,5% de amido e 1,0% de amido) foi, respectivamente, de 572,5 ml e 565,0 ml em ambas, com 2,57 g de EPA e 1,71 g de DHA, porém com um total de sólidos de 90 g (0,15 g/ml ou 15%) e 94 g (0,17 g/ml ou 17%), respectivamente. No trabalho de Carneiro e colaboradores (2013), a concentração total de sólidos (material da parede + óleo) foi fixada em 30%.

O tamanho e a forma das microcápsulas dependem dos materiais da parede e dos métodos em seu preparo. As técnicas de microencapsulação comumente usadas são emulsificação, secagem por pulverização, homogeneização de alta pressão, liofilização, sistema de *eletrospray* coaxial, secagem por congelamento, coacervação, polimerização *in situ*, extrusão, revestimento em leito fluidizado e tecnologia de fluido supercrítico (BAKRY *et al.*, 2016; COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016). No presente estudo, adotou-se a técnica de emulsificação, seguida de liofilização, para obtenção das microcápsulas.

Para caracterização das emulsões e avaliação da sua estabilidade, foram utilizados critérios como observações microscópicas, análise de pH e observação da separação de fases comumente empregadas para emulsões, o índice de creme ou cremeação (CARNEIRO *et al.*, 2013).

Para a microscopia, as lâminas foram preparadas em triplicata para cada solução nas diferentes concentrações de amido (0,5% e 1,0%) (Figura 5). As imagens obtidas foram, então, convertidas de pixel para dpi (inc), utilizando a conversão interna do *software* para quantificar a área de cada gotícula formada expressa em μm , para comparação aos padrões da literatura e validação estatística. O tamanho das partículas que serviram de base no cálculo das médias das áreas das microcápsulas está demonstrado na Figura 5.

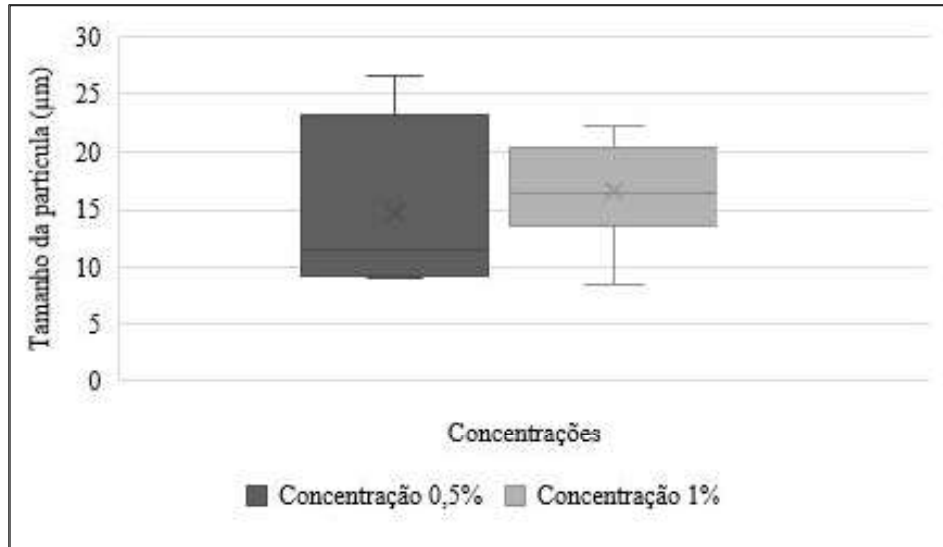
Figura 5 – Observações microscópicas com auxílio de objetiva de imersão em óleo $\times 100$ de emulsões com diferentes concentrações de amido (0,5% e 1,0%)



Fonte: Autoria própria.

A comparação dos dois produtos obtidos a partir das emulsões identificadas como 0,5% e 1% está representada no gráfico de *boxplot*, em que é possível verificar que a concentração a 1% apresentou menor variação entre seus dados, ainda que conte com pontos de variação mais evidentes de mínimos e máximos. Sua distribuição quartil foi mais homogênea, e o desvio se manteve muito próximo da mediana e com valor médio de $16,61 \pm 4,64 \mu\text{m}$, sendo a diferença significativa (*p value* 0,67) e nível de confiança de 95%.

Figura 6: *Boxplot* relacionado à área média das partículas nas concentrações a 0,5% e 1,0 % de amido



Fonte: Autoria própria.

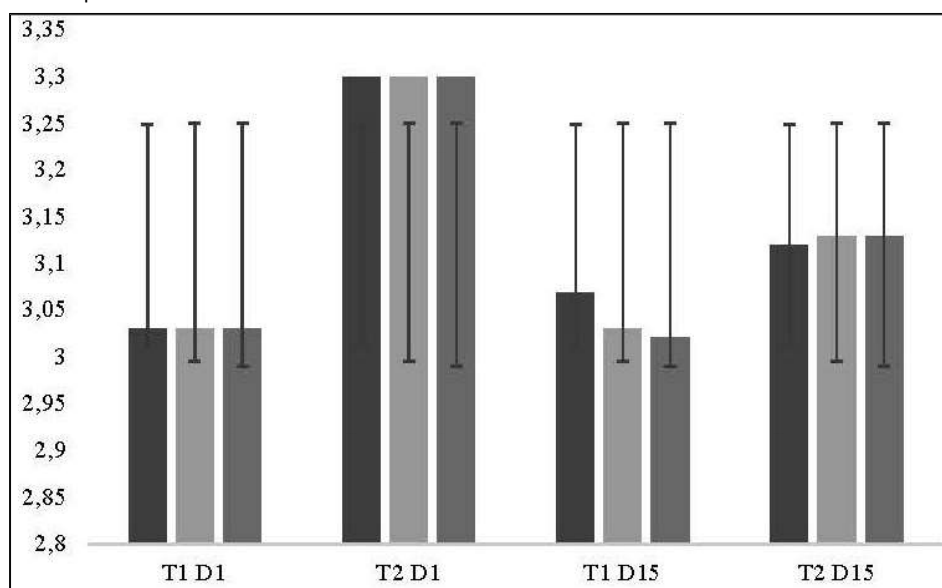
Carneiro *et al.* (2013) obtiveram em seu estudo emulsões com diâmetro de gotícula variando de 0,6 µm a 26 µm. Os autores utilizaram óleo de linhaça e observaram que o uso de diferentes materiais de parede teve influência significativa no tamanho das gotas das emulsões. Os autores discutem que a emulsão preparada a partir da mistura maltodextrina e goma arábica apresentou as menores gotículas e que este resultado pode estar relacionado à maior viscosidade apresentada pela emulsão, o que implica maior resistência ao movimento das gotas, evitando coalescência e resultando em diâmetros menores.

Os valores encontrados neste trabalho variaram entre 9,05 µm e 26,6 µm, para a emulsão a 0,5%, e de 8,4 µm a 22,3 µm, para a emulsão a 1%. Também atendem aos padrões estabelecidos para o diâmetro das gotículas de emulsão em sistemas alimentares, que variam de 0,1 µm a 100 µm, segundo Bakry *et al.* (2016), e para as microcápsulas obtidas por Zhu *et al.* (2021), que variaram de 16,16 µm a 48,43 µm em tamanho.

Outro ponto de análise importante na avaliação da estabilidade das emulsões foi a medição de pH. O pH das duas amostras de emulsão de

alimentação foi medido nos dias 1 e 15, e os resultados são apresentados na Figura 7.

Figura 7 – Evolução do pH avaliado em triplicata nos dias 1 e 15 nas emulsões com diferentes concentrações de amido (T1=0,5% e T2=1,0%) armazenadas à temperatura ambiente



Fonte: Autoria própria.

Independentemente da concentração de amido (0,5% ou 1,0%), o pH das soluções se manteve nas faixas de 3,02 a 3,3, e o tempo de armazenamento em temperatura ambiente não ocasionou grandes variações. Acredita-se que essa faixa de pH foi favorável à manutenção da estabilidade das emulsões. Bakry *et al.* (2016) discutem que emulsões óleo-água apresentam como vantagens a relativa facilidade de preparação e baixo custo, mas têm como desvantagens a instabilidade física quando expostos a aquecimento, resfriamento, congelamento, secagem e pH extremos. Neste sentido, os autores apresentam uma série de estudos que trabalharam com pH variando de 2,5 a 5,9 a depender do material a ser microencapsulado, constituintes de parede e método de encapsulação.

Outro parâmetro analisado para caracterizar a estabilidade das emulsões foi a separação de fases durante armazenamento. Para isso, as emulsões foram armazenadas por 15 dias em provetas de vidro, devidamente seladas e avaliadas quanto à separação de fases, não tendo sido observada decantação durante esse período. A estabilidade foi medida em função da porcentagem de separação e pôde-se observar estabilidade das emulsões, visto que não houve separação de fases, conforme Figura 8.

Figura 8: Avaliação da separação de fases e índice de cremação para estudo da estabilidade das emulsões em diferentes concentrações de amido



Fonte: Autoria própria.

Carneiro *et al.* (2013), durante o estudo de estabilidade, observaram que as emulsões preparadas com proteína do soro do leite e maltodextrina apresentaram a formação de uma pequena camada de separação e uma fase de espuma, 24h após sua homogeneização. No presente estudo, embora tenha sido observada uma pequena camada superficial de espuma imediatamente após a homogeneização, ela se manteve durante os dias subsequentes de armazenamento e não houve separação de fases. Algumas hipóteses para esse resultado positivo seria a rotação do homogeneizador em função do tempo (18.000 rpm por 10 minutos), os reagentes utilizados e o pH ácido das emulsões.

Nas fases subsequentes do trabalho, outras análises serão realizadas visando averiguar parâmetros físico-químicos de estabilidade das microcápsulas, sua morfologia, dimensões e capacidade de retenção dos lipídeos e proteção do óleo de peixe contra a oxidação. Diante de resultados positivos

como os obtidos nesta fase, o produto poderá ser proposto como alternativa para enriquecimento de leite humano destinado a recém-nascidos prematuros, após ser submetido a testes *in vitro* e de comportamento quando acrescido ao leite humano.

Bakry *et al.* (2016), em sua revisão, apresentam estudos a partir de 2008 que tratam da microencapsulação de lipídeos e sua utilização em formulações destinadas ao público infantil. A microencapsulação de óleo de peixe pode fornecer muitos benefícios quando incorporada nessas formulações, como fornecer uma barreira ao oxigênio resultando em uma vida útil estendida, mascarando o sabor e odor do óleo de peixe e aumentando a densidade e disponibilidade de nutrientes.

Finalmente, é de conhecimento que os óleos microencapsulados encontraram várias aplicações nas áreas de alimentos, pesticidas, têxteis e farmacêuticos (BAKRY *et al.*, 2016; COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016) e, portanto, este estudo experimental vem corroborar esses achados ao sugerir uma nova metodologia de incorporação de lipídeos, com ênfase nos ácidos graxos essenciais, como é caso do ômega-3, ao leite humano. Acredita-se que o presente estudo subsidiará novas pesquisas no contexto da garantia e promoção do aleitamento materno, incentivo às políticas públicas de amamentação e fortalecimento de políticas e ações no contexto da saúde pública.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo oferece uma alternativa viável e exequível de adição de lipídeos ao leite humano, com ênfase nos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, visto que as emulsões produzidas demonstraram estabilidade e houve formação de microcápsulas. Essa técnica garante biodisponibilidade, melhora da palatabilidade e proteção dos lipídeos contra a oxidação e agregação nos tubos de alimentação, evitando perdas.

Trata-se da primeira fase da pesquisa e as futuras análises dos pós permitirão avanços, como o estudo do comportamento do produto quando acrescido ao leite humano. Desta forma, acredita-se que o presente trabalho subsidiará novas pesquisas visando expandir as oportunidades e melhorar as

técnicas de fortificação e proposição de aditivos ao leite humano destinado ao uso em bancos de leite para crianças em situação de vulnerabilidade.

REFERÊNCIAS

AMÂNCIO, O. M. S.; FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L. Nutrição no primeiro ano de vida. In: SILVA, S. M. C. S.; MURA, J. D. P. *Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2013. p. 371-99.

ANDRADE, I. H. P.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Estudo prospectivo relativo à nanopartículas de amido. *Brazilian Applied Science*, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 529-46, mar./abr. 2020. DOI: 10.34115/basrv4n2-010

BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUWELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of oils: a comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Chicago, v. 15, n. 1, p. 143-82, jan. 2016. DOI: 10.1111/1541-4337.12179

CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGE, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, Amsterdam, v. 115, n. 4, p. 443-51, apr. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412001756>. Acesso em: 9 dez. 2021.

CARVALHO, F. C.; ROCHA, A. M.; CALIL, L. F.; OLIVEIRA, S. M.; PIRES, C. A. B.; PASCOAL, C. K. P. Fatores de risco maternos mais prevalentes relacionados à ocorrência de partos prematuros: revisão de literatura. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*, Cianorte, v. 36, n. 1, p. 112-23, set./nov. 2021. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20210906_133301.pdf. Acesso em: 28 dez. 2021.

CHARLES, A. L.; ABDILLAH, A. A.; SARASWATI, Y. R.; SRIDHAR, K.; BALDERAMOS, C.; MASITHAH, E. D.; ALAMSJAH, M. A. Characterization of freeze-dried microencapsulation tuna fish oil with arrowroot starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids*, Amsterdam, v. 112, mar. 2021. DOI: doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106281

COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: a review. *Food Hydrocolloids*, Amsterdam, v. 61, p. 442-57, dec. 2016. DOI: doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.003

GRANCE, T. R. S.; SERAFIN, P. O.; THOMAZ, D. M. C.; PALHARES, D. B. Aditivo homólogo para a alimentação do recém-nascido pré-termo de muito baixo peso. *Revista Paulista de Pediatria*, São Paulo, v. 33, n. 1, jan./mar. 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rpp/a/9HHMFsnMzLHX4PJ7v3ydyjYK/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 29 dez. 2021.

JIMÉNEZ-MARTÍN, E.; GHARSALLAOUI, A.; PÉREZ-PALACIOS, T.; CARRASCAL, J. R.; ROJAS, T. A. Suitability of Using Monolayered and Multilayered Emulsions for Microencapsulation of ω -3 Fatty Acids by Spray Drying: effect of Storage at Different Temperatures. *Food and Bioprocess Technology*, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 100-11, 2015. DOI: doi.org/10.1007/s11947-014-1382-y

KANWAL, S. *et al.* Development of chitosan based microencapsulated spray dried powder of tuna fish oil: oil load impact and oxidative stability. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 84, p. 1-8, oct. 2021. DOI: [10.1590/1519-6984.254010](https://doi.org/10.1590/1519-6984.254010)

LI, X.; CAO, J.; BAI, X.; JIANG, Z.; SHEN, X. Optimization of microencapsulation of human milk fat substitute by response surface methodology. *Journal of Oleo Science*, Tokyo, v. 67, n. 4, p. 407-17, 2018. DOI: [10.5650/jos.ess17226](https://doi.org/10.5650/jos.ess17226)

MULLER, K. T. C. *Avaliação da suplementação de óleo de peixe (série ω -3) na alimentação de recém-nascidos pré-termo de muito-baixo-peso*. 2017. 95p. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2017.

PALHARES, D. B.; THOMAZ, D. M.; TAVARES, L. V. M.; SERAFIN, P. O. Effect of diet on serum amino acid profile in very-low-birthweight neonates. *In*: BERHARDT, L. V. *Advances in medicine*. [volume 4]. Hauppauge: Nova Science Publishers, 2012.

RAYYAN, M.; ROMMEL, N.; ALLEGAERT, K. The Fate of Fat: Pre-Exposure Fat Losses during Nasogastric Tube Feeding in Preterm Newborns. *Nutrients*, Basel, v. 7, n. 8, p. 6213-223. jul. 2015. DOI: [10.3390/nu7085279](https://doi.org/10.3390/nu7085279).

THOMAZ, D. M. C.; SERAFIM, P. O.; PALHARES, D. B.; MELNIKOV, P.; VENHOFEN, L.; VARGAS, M. O. F. Comparação entre suplementos homólogos do leite humano e um suplemento comercial para recém-nascidos de muito baixo peso. *Jornal de Pediatria*, Porto Alegre, v. 88, n. 2, p. 119-24, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jped/a/CQgHvTBkqPYTD8YghP77FhB/?lang=pt>. Acesso em: 27 dez. 2021.

YUE, H.; QIU, B.; JIA, M.; LIU, J.; WANG, J.; HUANG, F.; XU, T. Development and optimization of spray-dried functional oil microcapsules: oxidation stability and

Teresa Cristina Abranches ROSA; Karla Rejane de Andrade PORTO; Márcio Olívio Figueiredo VARGAS; Durval Batista PALHARES

release kinetics. *Food Science & Nutrition*, [s.l.], v. 8, n. 9, p. 4730-738, sep. 2020. DOI: 10.1002/fsn3.1684

ZHU J.; LI, X.; LIU, L.; LI, Y.; QI, B.; JIANG, L. Preparation of spray-dried soybean oil body microcapsules using maltodextrin: effects of dextrose equivalence. *LWT – Food Science and Technology*, Amsterdam, v. 154, [s.p.], jan. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821020272>. Acesso em: 27 dez. 2021.