



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS

**MICROPARTÍCULAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA DOCE (*Citrus
aurantium* var. *dulcis*) EM MATRIZ DE GELATINA E MALTODEXTRINA**

JAYURI SUSY FERNANDES DE ARAÚJO

POMBAL – PB

2019

JAYURI SUSY FERNANDES DE ARAÚJO

MICROPARTÍCULAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA DOCE (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) EM MATRIZ DE GELATINA E MALTODEXTRINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais da Universidade Federal de Campina Grande, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sistemas Agroindustriais.

**Orientadores: Prof^a Dr^a Mônica Tejo Cavalcanti
Prof^o. Dr. André Leandro da Silva**

POMBAL – PB

2019

A663m Araújo, Jayuri Susy Fernandes de.
Micropartículas de óleo essencial de laranja doce (*Citrus aurantium*
var. dulcis) em matriz de gelatina e maltodextrina / Jayuri Susy Fernandes
de Araújo. – Pombal, 2019.
38 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade
Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia
Agroalimentar, 2019.

“Orientação: Profa. Dra. Mônica Tejo Cavalcanti, Prof. Dr. André
Leandro da Silva.”

Referências.

1. Óleos essenciais. 2. Microencapsulação. 3. *Citrus*. 4. Liofilização.
5. Estabilidade termo-oxidativa. I. Cavalcanti, Mônica Tejo. II. Silva,
André Leandro da. III. Título.

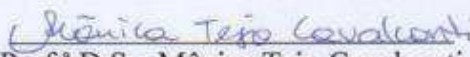
CDU 665.5(043)


CAMPUS DE POMBAL


**MICROPARTÍCULAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA DOCE (*Citrus aurantium*
var. dulcis) EM MATRIZ DE GELATINA E MALTODEXTRINA**

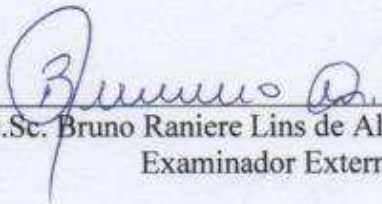
Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal-PB, em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre (M.Sc.) em Sistemas Agroindustriais.

COMISSÃO EXAMINADORA


Prof.^a D.Sc. Mônica Tejo Cavalcanti
1^a Orientadora


Prof. D.Sc. André Leandro da Silva
2^o Orientador


Prof. D.Sc. Adriano Sant'Ana Silva
Examinador Interno


Prof. D.Sc. Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles
Examinador Externo

Pombal - PB, 27 de fevereiro de 2019

*A **Deus**, por me refazer forte e persistente.
A minha **família**, alicerce que me impulsiona a
buscar além.
Aos meus **orientadores**, que foram essenciais
para a realização deste trabalho.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar viva, ter saúde e coragem para enfrentar cada um dos obstáculos, tornando tudo possível; sentir Seu amor infinito, que renova as minhas forças a cada dia, principalmente nos momentos mais difíceis. No meu íntimo eu tinha a certeza de que daria tudo certo, e deu, sempre dá!

Ao Laboratório de Tecnologia de Grãos e Cereais (LTGC) e a Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), por toda estrutura disponibilizada e suporte ao longo de toda minha jornada acadêmica.

Ao Laboratório de Nutrição Animal da UFCG, Laboratório de Eletrofição e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Laboratório de Produtos e Tecnologia em Processos da Universidade Federal do Ceará (UFC) e ao Instituto de Pesquisa em Drogas e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Aos meus pais, José Farias de Araújo (*in memoriam*) e Maria Zélia Fernandes de Araújo. O amor de mãe prevalece, e a senhora sempre fez até mesmo o impossível para que meus sonhos fossem realizados. Abdicou de sua vida para viver a minha e a do meu irmão, José Farias de Araújo Júnior. Ter família é benção de Deus e mesmo com falhas sou grata pela minha.

A minha orientadora, amiga, inspiração, Prof^a. Dr^a Mônica Tejo Cavalcanti, a quem devo muito do que sou hoje. Foi quem me guiou e sempre ajudou, abrindo portas, e me fazendo melhorar a cada dia como profissional. Como me disse recentemente: “Se quiser sucesso tem que insistir”. Tento me espelhar e extrair o que há de melhor na sua essência, tipo um óleo essencial mesmo. Obrigada pela confiança!

Ao meu orientador, Prof^o. Dr. André Leandro da Silva, por toda atenção, ensinamentos, incentivo e por desenvolver este trabalho junto comigo, dispondo do seu tempo, mesmo nos detalhes. Seus direcionamentos foram essenciais. Uma pessoa muito querida, que sempre me deixou tão feliz com seus elogios. Que bom poder ver que parte do brilho da sua expertise foi refletida em mim por meio deste trabalho.

Aos professores Dr. Adriano Sant’Ana Silva e Dr. Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles, por terem aceitado gentilmente o convite para participar da minha banca de mestrado e por colaborar com esta dissertação. E ainda, ao prof^o. Dr. Evandro Leite de Souza, pela participação na minha banca de qualificação, pelas valiosas contribuições e ajuda para a finalização do artigo.

Ao meu namorado, Leandro Medeiros de Alencar, com quem quero sempre compartilhar muitos momentos felizes como esse. Obrigada por todo amor, carinho, paciência e por me ajudar e incentivar quando preciso.

A minha família, agradeço em nome da minha tia, Maria das Graças Fernandes de Lima, por todo carinho e consideração. Por me colocar sempre em suas orações, reconhecer o meu esforço e estar sempre disposta a dizer palavras de incentivo.

A Climene Medeiros, técnica do LTGC, por quem nutro um carinho muito especial. Agradeço pela ajuda, parceria e amizade que só cresceu ao longo dos meus dias de trabalho no LTGC.

Aos meus amigos, companheiros de vida e de laboratório ao longo dessa caminhada. Foram muitos momentos de trabalho intenso e cansaço. Agradeço especialmente a João Vitor Feitoza, Rafaela Nobre, Bruno Feitosa, Wisla Kivia de Araújo, Rerisson Alves e Lediania Xavier. O que vai ficar marcado mesmo é o companheirismo e muitos momentos alegres, principalmente, todas as vezes que os experimentos deram certo. Obrigada por todo apoio de vocês!

Paralelamente a realização deste trabalho tive a oportunidade de participar de outros projetos, pelos quais, agradeço a Incubadora de Agronegócios das Cooperativas, Organizações Comunitárias, Associações e Assentamentos Rurais do Semiárido da Paraíba (IACOC) e a Fundação Parque Tecnológico da Paraíba (PaqTcPB) pelas bolsas concedidas, o que possibilitou minha permanência no mestrado e, principalmente, pela oportunidade de crescimento humano e profissional. Estar no convívio e poder contribuir para o desenvolvimento de empreendimentos solidários foi muito gratificante.

Esta é a parte mais difícil, os agradecimentos. Tão difícil quanto encontrar artigos, escrever e interpretar resultados. É complicado definir a significância das pessoas que fizeram parte de uma trajetória tão importante.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, seja na realização das análises, tabulação dos dados, interpretação dos resultados, apoio e incentivo. Tenho a certeza que não me faltou nada. Tive de tudo, carinho, afeto, compreensão, parcerias e o principal, Deus comigo, em todos os momentos.

Ninguém vence sozinho. Obrigada a todos!

“As pessoas olham as estrelas de modo diferente. Para os viajantes elas servem de guia. Para outros, são apenas pequenas luzes. Para os cientistas, são desafios. Para o homem de negócios, são feitas de ouro. Mas as estrelas se calam. Você, porém, terá estrelas como nunca ninguém teve...”

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

O óleo essencial de laranja doce (OELD) é obtido, principalmente, dos resíduos agroindustriais da produção e processamento de suco de laranja. Este produto possui um alto valor agregado, principalmente, devido as suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Porém, apresenta alta sensibilidade a condições ambientais adversas, sendo volátil e passível de oxidação pelo efeito de temperatura, luz e oxigênio. A microencapsulação, por sua vez, é uma tecnologia emergente que proporciona proteção a compostos bioativos. Assim, objetivou-se avaliar o efeito da utilização dos agentes de parede maltodextrina (MD) e gelatina (GEL) compondo três diferentes formulações (LD1, LD2 e LD3), sendo LD1 apenas com MD e LD2 e LD3 utilizando misturas de MD e GEL nas proporções de 2:1 e 1:1, respectivamente) na microencapsulação do OELD (10% m/m). As microesferas de OELD foram obtidas por emulsificação, seguida de liofilização e caracterizadas quanto ao rendimento, eficiência de microencapsulação, espectroscopia na região do infravermelho, microscopia eletrônica de varredura (MEV), termogravimetria (TG e DTG), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e bioatividade por meio da determinação do conteúdo fenólico total, atividade antioxidante e antibacteriana. Os resultados mostraram rendimento de encapsulação e eficiência de até 90,19 e 75,75%, respectivamente. A análise por MEV mostrou microesferas de LD1, LD2 e LD3 com forma irregular típica de secagem por liofilização. As curvas TG, DTG e DSC mostraram uma redução na volatilização de OELD em LD1 e maior proteção termo-oxidativa em LD2 e LD3. Propriedades antibacterianas e antioxidantes, bem como o teor total de fenólicos do OELD, foram mantidos após microencapsulação. As microesferas de OELD desenvolvidas apresentam alto valor agregado, além de possuir maior estabilidade frente a fatores extrínsecos, menor taxa de volatilização, manuseio mais prático e seguro, facilitando o transporte, armazenamento e inserção em matrizes alimentícias.

Palavras-chave: Liofilização, microesferas, estabilidade termo-oxidativa, óleos essenciais.

ABSTRACT

Sweet orange essential oil (OELD) is mainly obtained from agro-industrial waste from the production and processing of orange juice. This product has a high added value, mainly due to its antioxidant and antimicrobial properties. However, it presents high sensitivity to adverse environmental conditions, being volatile and susceptible to oxidation by the effect of temperature, light and oxygen. Microencapsulation, in turn, is an emerging technology that provides protection to bioactive compounds. The objective of this study was to evaluate the effect of the use of maltodextrin (MD) and gelatin (GEL) on three different formulations (LD1, LD2 and LD3), with LD1 being only with MD and LD2 and LD3 using mixtures of MD and GEL in the proportions of 2:1 and 1:1, respectively) in the microencapsulation of OELD (10% m/m). Microspheres of OELD were obtained by emulsification, followed by lyophilization and characterized as yield, microencapsulation efficiency, infrared spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetry (TG and DTG), differential scanning calorimetry (DSC) and bioactivity through the determination of total phenolic content, antioxidant and antibacterial activity. The results showed encapsulation yield and efficiency of up to 90.19 and 75.75%, respectively. SEM analysis showed LD1, LD2 and LD3 microspheres with typical irregular lyophilization drying form. TG, DTG and DSC curves showed a reduction in the volatilization of OELD in LD1 and greater thermo-oxidative protection in LD2 and LD3. Antibacterial and antioxidant properties, as well as the total phenolic content of OELD, were maintained after microencapsulation. The developed OELD microspheres present high added value, besides being more stable against extrinsic factors, lower rate of volatilization, more practical and safe handling, facilitating transport, storage and insertion in food matrices.

Key-words: Lyophilization, microspheres, thermo-oxidative stability, essential oils.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVOS.....	12
2.1	Objetivo geral.....	12
2.2	Objetivos específicos.....	12
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1	GÊNERO <i>CITRUS</i>	13
3.2	SISTEMA AGROINDUSTRIAL DA LARANJA E GERAÇÃO DE SUBPRODUTOS.....	15
3.3	ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA DOCE.....	16
3.4	TECNOLOGIA DE MICROENCAPSULAÇÃO.....	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1	Material.....	22
4.2	Métodos.....	23
4.2.1	Microencapsulação do OELD.....	23
4.2.2	Caracterização das microesferas de OELD.....	24
4.2.2.1	Rendimento de microencapsulação.....	24
4.2.2.2	Eficiência de microencapsulação.....	24
4.2.2.3	Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR).....	25
4.2.2.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	25
4.2.2.5	Atividade de água (A_w).....	25
4.2.2.6	Termogravimetria.....	26
4.2.2.7	Calorimetria diferencial exploratória.....	26
4.2.3	Avaliação da bioatividade de microesferas de OELD.....	26
4.2.3.1	Determinação do conteúdo fenólico total e atividade antioxidante.....	26
4.2.3.2	Atividade antibacteriana.....	27
4.3	Análise Estatística.....	27
	REFERÊNCIAS.....	29
	ARTIGO: Microencapsulation of sweet orange essential oil (<i>Citrus aurantium</i> var. <i>dulcis</i>) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixture: preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities.....	38

1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta-se como o maior produtor do mundo de suco de laranja (FAOSTAT, 2017). Desta atividade é gerado um grande volume de resíduos, desde a produção dos frutos até o seu processamento para obtenção do suco. O óleo essencial (OE) é um dos possíveis subprodutos gerados a partir destes resíduos agroindustriais, sendo geralmente, obtido por meio de processo paralelo de prensagem das cascas, resultando em um produto de alto valor agregado (REZZADORI; BENEDETTI; AMANTE, 2012).

As variedades cítricas possuem elevadas quantidades de OEs, sendo o flavedo a seção principal que os contém. Os OEs apresentam um destacável valor comercial em virtude de suas propriedades aromáticas (SAWAMURA, 2010), e, ainda, por sua biofuncionalidade. Os OEs de *Citrus* são substâncias geralmente reconhecidas como seguras (GRAS) pela *Food and Drug Administration* (FDA, 2005) e podem ser utilizados para diversas finalidades, incluindo para a indústria cosmética, farmacêutica e de alimentos (ESPINA et al., 2011).

O OE de laranja doce (OELD) pode trazer benefícios para a saúde. Oferece potencial para uso na melhoria da segurança dos alimentos por meio da inibição de bactérias patogênicas (O'BRYAN et al., 2008; ESPINA et al., 2011; GERACI et al., 2017), além de propriedades antioxidante (RANTZSCH et al., 2009; OLATUNYA; AKINTAYO, 2017), antifúngica (SHARMA; TRIPATHI, 2008; VELÁZQUEZ-NUÑEZ et al., 2013) antiaflatoxigênica (ADARSHA; RAMANI; MADHUSUDHAN, 2015), anti-inflamatória (RANTZSCH et al., 2009), inseticida (MARTINS, et al., 2017) e ansiolítica (FATURI et al., 2010).

Devido à natureza volátil, os OEs são sensíveis a condições ambientais adversas, se degradando com facilidade durante o armazenamento (JESUS et al., 2016). Bakry et al. (2016) em uma revisão abrangente sobre a microencapsulação de OEs apresentam esta tecnologia como uma ferramenta promissora para proteção de compostos voláteis, que são instáveis e podem ser oxidados e deteriorados quando expostos ao calor, luz, oxigênio e umidade (BRINGAS-LANTIGUA et al., 2011). O processo de microencapsulação, além de reduzir a volatilidade de OEs, tem sido utilizado pela possibilidade de transformar líquidos em pós, mascarar sabores indesejáveis e controlar a liberação de ingredientes (SANTOS et al., 2015).

A proteção decorrente do processo de microencapsulação acontece por meio do envolvimento do núcleo (substância bioativa) com o material de parede, o qual pode ser um polímero natural ou sintético ou misturas de mais de um tipo de polímero. O sistema é

composto de acordo com o uso pretendido para a micropartícula (MPs) que pode ser selecionado de acordo com seu tamanho, forma ou natureza. Desta forma, existem diversas combinações de revestimentos e métodos de elaboração possíveis de uso para a encapsulação de óleos bioativos (JUN-XIA; HAI-YAN; JIAN, 2011; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014; LI et al., 2018).

No caso de OEs é recomendada encapsulação a baixa temperatura para evitar perdas por volatilização (BENAVIDES et al., 2016). A liofilização é uma das técnicas que não expõe substâncias a altas temperaturas, pois o processo ocorre por sublimação do produto congelado. Sistemas emulsionados contendo moléculas ativas dispersas em uma fase contínua aquosa são submetidos a liofilização proporcionando produtos estáveis e de fácil transporte e armazenamento (MORAIS et al., 2016). Substâncias bioativas encapsuladas por liofilização podem apresentar maior eficiência de encapsulação e atividade antioxidante quando comparada a secagem por spray-drying. Isto pode estar relacionado às baixas temperaturas aplicadas durante a liofilização em detrimento de temperaturas elevadas utilizadas no método por spray-drying (PASRIJA et al., 2015, SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015).

Outro fator que determina a estabilidade das MPs é a escolha do tipo de polímero utilizado como agente encapsulante. A maltodextrina é um amido hidrolisado com aroma e sabor neutros e excelente propriedade de bloqueio de oxigênio, possui propriedades para formar rapidamente uma película ao redor de gotículas de emulsões e difusividade de água relativamente baixa nestas películas, mas possui baixa capacidade de emulsificação (ADHIKARI et al., 2009; UEKANE et al., 2016). Por sua vez, a gelatina apresenta capacidade de emulsificação, atividade de estabilização e tendência para formar uma rede densa e fina em emulsões (DICKINSON, 2009). A mistura de maltodextrina e proteína favorece a proteção de compostos bioativos (NESTERENKO et al., 2013).

Através das observações sobre o potencial da tecnologia de microencapsulação para a proteção de substâncias ativas, tal qual o OELD, este trabalho foi realizado com o intuito de desenvolver MPs que facilitem o transporte, armazenamento, manuseio e inserção deste OE em matrizes alimentícias, com manutenção de suas propriedades bioativas, diminuindo as perdas do OE por volatilização e por degradação devido a presença de agentes ambientais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver microesferas de maltodextrina e gelatina como encapsulantes, em diferentes proporções, contendo OELD como substância ativa, bem como avaliar a sua estabilidade e manutenção da bioatividade.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar diferentes proporções de agentes encapsulantes na formação de micropartículas de OELD por liofilização, para verificar características de rendimento e eficiência de microencapsulação.
- Caracterizar os sistemas microencapsulados por determinação de atividade de água, técnicas de microscopia eletrônica de varredura, termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial e espectroscopia na região do infravermelho;
- Avaliar a manutenção das propriedades bioativas do OELD através da análise de compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante e atividade antibacteriana.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 GÊNERO *CITRUS*

Em 1753, o gênero *Citrus* foi estabelecido por Carole Linneaus e, desde então, a taxonomia deste gênero e o seu número de espécies vêm sendo discutida. Existem divergências quanto ao número exato de espécies em decorrência da diversidade de variedades, cultivares e híbridos resultantes da mutação entre um ou mais tipos (SUN et al., 2015).

As frutas do gênero *Citrus* pertencem à família *Rutaceae*, são abundantes em regiões tropicais e fazem parte das culturas mais difundidas no mundo, incluindo laranjas, toranjas, tangerinas, limas, limões e mandarinas (SHARMA et al., 2017). A laranja doce (*Citrus sinensis*) constitui-se como a principal fruta neste grupo e representa cerca de 70% da produção e consumo total de citrinos. Várias partes da fruta podem ser aproveitadas e possuem benefícios para saúde (OKWI; EMENIKE, 2006; OLATUNYA; AKINTAYO, 2017).

A estrutura física das frutas cítricas, geralmente, apresenta casca formada pela epiderme; flavedo (composto por uma camada subepidérmica onde estão localizados sacos de óleos essenciais); albedo (corresponde à camada esponjosa abaixo do flavedo e é fonte de flavanonas); e membrana segmentar (rede de fios finos ao longo do segmento). A membrana interna tem segmentos, geralmente, alinhados e situados ao redor do núcleo central da fruta. Sacos pequenos e densamente acondicionados contendo suco (vesículas de suco) e sementes presentes na maioria das variedades cítricas preenchem os segmentos (LIU; HEYING; TANUMIHARDIO, 2012) A representação da composição estrutural de uma fruta cítrica é mostrada na Figura 1.

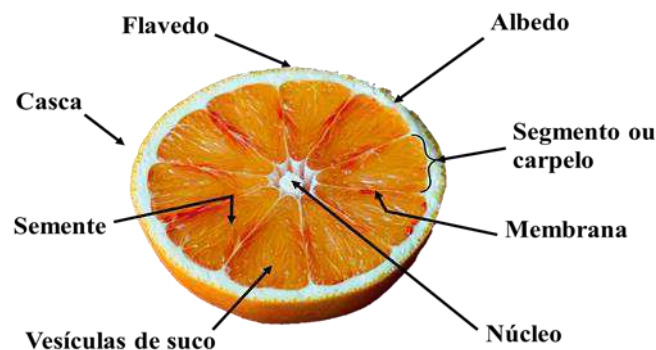


Figura 1. Divisões estruturais típicas de uma fruta cítrica (Fonte: próprio autor).

Os citrinos são reconhecidos por suas propriedades medicinais há muito tempo, estando relacionadas principalmente aos seus fitonutrientes. As frutas cítricas são boas fontes de vitaminas, minerais, fibras e bioativos, como alcalóides, carotenóides, flavonoides e polifenóis (OKWU; EMENIKE, 2006; MAHATO et al., 2018). Estes fitonutrientes e vitaminas podem ser responsáveis pelas atividades antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas, anti-inflamatórias, entre outras funcionalidades atribuídas às espécies cítricas (GAO et al., 2018).

Os compostos fitoquímicos se apresentam em quantidades consideráveis nas espécies cítricas. A biofuncionalidade relacionada a esses compostos se concentram em extratos, bem como nos OEs, obtidos a partir das frutas, folhas e cascas. Além de seu uso popular terapêutico, as frutas cítricas são largamente consumidas *in natura* e na forma de suco (KAEWSUKSAENG et al., 2011).

Foram produzidas cerca de 146,6 milhões de toneladas de frutas cítricas no mundo em 2017, em uma área plantada de aproximadamente 9.275.925 hectares. A China, Brasil, Índia e Estados Unidos são os líderes mundiais na produção dessas frutas. A citricultura brasileira lidera o ranking mundial da produção de laranjas, ocupando lugar de destaque, sendo a principal espécie cítrica produzida e exportada do país, com 17.459.908 toneladas produzidas em 2017 (FAOSTAT, 2017).

A área da citricultura nos Estados da Bahia e de Sergipe quase dobrou de tamanho desde o início da década de 1990 (NEVES, 2010). Dentre os estados do Nordeste brasileiro, Bahia e Sergipe, destacam-se na produção nacional e representam o quarto e o quinto estado, respectivamente, que mais produzem laranjas no Brasil, com 665.986 e 421.353 toneladas produzidas na safra de 2017, respectivamente. Também se destaca a produção de limões (88.781 t) e tangerinas (30.006 t) no Nordeste brasileiro (IBGE, 2017).

O Brasil é líder mundial na exportação de frutas cítricas processadas, com destaque para o suco concentrado de laranja congelado (OECD/FAO, 2016). Houve redução na produção da laranja em regiões estratégicas do centro-sul brasileiro ao longo dos últimos anos, apesar disso, o processamento e exportação desta fruta na forma de suco ainda são muito valorizados. Esta atividade tem grande importância para a geração de empregos e renda nas regiões produtoras, influenciando positivamente a economia brasileira (ERPEN et al., 2018).

3.2 SISTEMA AGROINDUSTRIAL DA LARANJA E GERAÇÃO DE SUBPRODUTOS

Diversos atores produtivos fazem parte do sistema agroindustrial da laranja, desde agricultores familiares que atuam na produção e fornecimento de matéria-prima para as indústrias processadoras e exportadoras do suco, até redes de distribuição e exportação da fruta *in natura* e, principalmente, do suco processado. As indústrias processadoras dessa fruta cítrica estão situadas, principalmente, no Estado de São Paulo. As atividades em torno da cadeia produtiva do suco da laranja beneficiam os produtores, as indústrias e os municípios por meio da agregação de valor com a transformação da fruta em suco (NEVES et al., 2006; ZULIAN; DÖRR; ALMEIDA, 2013).

De forma inegável, o estado de São Paulo tem grande relevância para o setor citrícola brasileiro. O Estado detém a maior extensão territorial de laranjeiras cultivadas, implicando em geração de renda, movimentação entre os elos dessa cadeia produtiva, além de agregar desenvolvimento para outros setores da economia, a exemplo de prestação de serviços e comércio. Tais informações evidenciam o destaque e justificam o posicionamento desse Estado no topo do ranking mundial da produção de laranja e exportação do suco (NEVES, 2010).

As laranjas são comercializadas em sua forma fresca (suco natural e laranja de mesa) e para processamento e obtenção do suco (pasteurizado, concentrado e congelado). Cerca de 30% da produção nacional, o equivalente a mais de 100 milhões de caixas de laranja, é consumido pelo mercado nacional que tem à sua disposição uma variedade de fruta nutritiva e saudável a um preço competitivo. A maior parte da produção brasileira, aproximadamente 70%, é destinada para a indústria de suco (ABECITRUS, 2013).

O processamento de sucos de frutas cítricas representa um ramo de atividade da citricultura muito importante para o agronegócio brasileiro. A industrialização de citros, como a laranja, gera quantidades significativas de resíduos agroindustriais. Nos últimos anos, diversas pesquisas têm sido realizadas com enfoque no reaproveitamento destes resíduos, como bagaços, cascas, sementes, caroços, talos, entre outras partes comumente descartadas (STORCK et al., 2013). Contudo, apesar do crescimento constante dos estudos relacionados com o reaproveitamento de resíduos agroindustriais, a indústria tem ainda pouco explorado esta vertente (ARANHA et al., 2017).

As laranjas doces estão entre as frutas mais populares do mundo. O seu teor de suco varia entre 40% e 50%, enquanto o teor de polpa e sementes varia entre 20% e 30%. A casca

pode atingir até 40% (FRANCO-VEGA et al., 2016) ou quase 50% do total da fruta de espécies cítricas, sendo julgada como resíduo (SHARMA et al., 2017).

De modo geral, estes resíduos podem se apresentar como uma alternativa para obtenção de novos compostos, com características nutricionais e bioativas, assim como geração de energia e novas tecnologias, reduzindo os impactos ao meio ambiente oriundo de descartes inadequados dos resíduos provenientes do sistema agroindustrial citrícola (ROCHA; ALMEIDA; CRUZ, 2017). Os resíduos possuem baixo teor calórico, podendo superar a polpa da respectiva fruta (UCHÔA THOMAS et al., 2014), sendo compostos por vitaminas, minerais e fibras, assim como antioxidantes de importância para as funções fisiológicas (INFANTE et al., 2013; PANESAR et al., 2016).

Os resíduos de suco de laranja, com destaque para as cascas, podem ser aproveitados na forma de farelo de polpa cítrica, fertilizantes orgânicos, enzimas, extratos vegetais e óleos essenciais (ARBOS, STEVANI; CASTANHA, 2013). A limonina corresponde a um dos principais componentes da casca de laranja, sendo causa do sabor amargo do suco. Apesar disso, este composto evidencia benefícios como na redução do colesterol e risco de trombose venosa profunda (CAKRAWATI; HANDAYANI, 2017).

Os subprodutos derivados de resíduos cítricos são considerados uma fonte econômica e renovável de compostos com potencial valor. A rentabilidade agregada aos OEs está em franca expansão nas indústrias farmacêutica, de alimentos e de cosméticos (MAHATO et al., 2018). O OELD é extensivamente comercializado, no entanto, a indústria não utiliza todo potencial econômico e biológico dos subprodutos da laranja. Pesquisas recentes demonstraram que o resíduo da casca de laranja é um recurso com grande potencial e pode ser convertido em produtos de alto valor agregado (REZZADORI; BENEDETTI; AMANTE, 2012; SHARMA et al., 2017; MAHATO et al., 2018).

3.3 ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA DOCE

OEs são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis, cuja composição pode ser influenciada por fatores fisiológicos e ambientais (JEYA-KUMARI et al., 2014). Os OEs também são denominados óleos voláteis ou etéreos, possuem aroma intenso e agradável, são líquidos de aspecto oleoso em temperatura ambiente, mas se volatilizam em exposição ao ar em temperaturas específicas. Tais características os distinguem dos óleos fixos (BERALDO et al., 2013).

A maior aplicabilidade na comercialização dos OEs se dar em função da sua qualidade aromática. Todavia, nos últimos anos, as indústrias e pesquisas científicas têm voltado sua atenção para esses compostos devido às suas propriedades funcionais e pelo seu potencial para utilização como conservante natural, principalmente, como agentes antimicrobianos, com potencial para o controle de bactérias patogênicas e deteriorantes em alimentos. Porém, o uso de OEs como antimicrobianos ainda possui limitações (GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2008; BERALDO et al., 2013).

Um dos entraves para a aplicação direta dos OEs é o seu forte sabor e odor, que implica diretamente nas características sensoriais dos alimentos, podendo exceder o limiar de aroma aceitável pelos consumidores ou, dependendo da concentração de OE utilizada, tornar o produto desejável (QUESADA et al., 2016). Logo, é necessária uma cuidadosa investigação de OEs apropriados ao perfil sensorial de determinado alimento e à composição do sistema alimentar (GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2009).

A possibilidade de extração de OEs a partir dos resíduos da laranja, bem como de outros frutos do gênero *Citrus*, é uma alternativa rentável (REZZADORI; BENEDETTI; AMANTE, 2012). É possível agregar valor e minimizar os impactos causados pelos resíduos agroindustriais da laranja através da obtenção de OEs (ZULIAN; DÖRR; ALMEIDA, 2013). Estes fornecem substâncias fitoquímicas que possuem atividades antioxidante e antimicrobiana naturais, que podem atuar sobre várias bactérias e fungos, além de diversas outras atividades que favorecem o seu uso diversificado (FAVELA-HERNÁNDEZ et al., 2016).

Bourgou et al. (2012), ao avaliarem o efeito do estágio de maturação e da composição química de OEs das cascas de *Citrus* sobre a atividade antibacteriana, encontraram diferenças expressivas entre espécies distintas e diferentes estágios de amadurecimento dos frutos. O OELD extraído das cascas de frutos maduros apresentaram atividade contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Além de estudos que reportam os efeitos do OELD como agente antibacteriano (O'BRYAN et al., 2008; ESPINA et al., 2011; GERACI et al., 2017), a eficácia antifúngica desse OE também foi observada no crescimento e na morfogênese de *Aspergillus niger*, com inibição do crescimento micelial (2,5 e 3,0 $\mu\text{g/mL}$ de OELD) e ação fungicida nas concentrações testadas (SHARMA; TRIPATHI, 2008). A forma de aplicação do OE pode influenciar sua atividade. O contato por vapores de OELD é mais eficaz na inibição de *A. flavus* do que o contato direto, uma vez que concentrações menores do vapor de OE são

necessárias para atingir o mesmo efeito antifúngico observado pelo contato direto VELÁZQUEZ-NUÑEZA et al., 2013).

Muitos estudos avaliam a capacidade antioxidante de material vegetal, inclusive a de OEs de *Citrus*; embora, as metodologias sejam diversas e as formas de expressar os seus resultados também (BACANLI; BAŞARAN; BAŞARAN, 2015; KHAN et al., 2012; REIS et al., 2017; YANG et al., 2017). Os OEs das sementes de diversas variedades de laranja doce, incluindo Hamlin, Natal, Pera-rio e Valência, apresentam quantidades expressivas de compostos bioativos (carotenoides, compostos fenólicos, tocoferóis e fitoesteróis) que podem estar relacionados à sua atividade antioxidante (JORGE; SILVA; ARANHA, 2016).

Efeitos antioxidante e anti-inflamatório do OE de laranja, em pesquisas *in vitro*, demonstraram que o mesmo pode combater a dor, infecção e doença pulmonar obstrutiva crônica. Entre OEs conhecidos como anti-inflamatórios, incluindo OE de limão, pinho e eucalipto, o OE de laranja demonstrou a maior redução na inflamação, com redução de espécies reativas de oxigênio de macrófagos alveolares ativadas (RANTZSCH et al., 2009).

Ensaio clínicos demonstraram potencial quimioprotetivo do OE da casca de laranja, que possui o monoterpeno cíclico D-limoneno (90-95%) em sua composição. Os monoterpenos como agentes quimiopreventivos podem ser muito eficazes contra vários tumores de roedores. Tal efeito quimiopreventivo do OE de laranja foi observado na pré-neoplasia hepática induzida por N-nitrosodietilamina em ratos (BODAKE et al., 2002). Constatações recentes foram reportadas sobre o elevado potencial anticancerígeno do OELD, com efeito positivo na inibição da proliferação de uma linha celular de cancro do pulmão humano A549 e da linha celular de cancro da próstata 22RV-1. E ainda, maior atividade antioxidante que os OEs de pomelo e toranja (YANG et al., 2017).

Evidências científicas apoiam o d-limonene como o monoterpeno mais promissor para se desenvolver como um agente anti-câncer, particularmente contra o câncer de mama. Estudos em animais e epidemiológicos suportam a presença de propriedades anti-câncer na casca de cítricos e o principal constituinte de alimentos bioativos, o d-limoneno. Modelos animais sugerem que, quando ingerido, o d-limoneno exibe um amplo espectro de atividade biológica, incluindo efeitos quimioterápicos e quimiopreventivos (MILLER et al., 2011).

O OELD também possui efeito ansiolítico para uso na aromaterapia. Os resultados da exposição de ratos Wistar ao aroma de OELD sugerem uma atividade ansiolítica aguda, dando algum suporte científico ao seu uso como tranquilizante, possibilitando sua utilização como tratamento alternativo para ansiedade (FATURI et al., 2010).

Outros possíveis benefícios para o uso do OE da casca de laranja foram descritos, como ingrediente funcional na dieta de animais. O OELD atuou como promotor de crescimento e imunoestimulante em tilápias. Além disso, a adição desse OE cítrico em suas dietas reduziu a mortalidade de peixes após a infecção por *Streptococcus iniae* (ACAR et al., 2015). A inclusão de OELD na dieta de ovelhas, dependendo da concentração, pode aumentar a produção de leite e o status antioxidante do plasma sanguíneo e do leite produzido (KOTSAMPASI et al., 2018).

Em uma abordagem recente, Ambrosio et al. (2017), demonstraram atividade antibacteriana de OEs provenientes dos resíduos da produção de suco de laranja (OEL), sobre bactérias patogênicas (*Salmonella Enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Listeria innocua*) e menores atividades contra bactérias benéficas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Bacillus subtilis*). Dentre 28 tipos diferentes de OE testados, incluindo *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba* e *Thymus vulgaris*, os OEL apresentaram a melhor atividade antibacteriana seletiva, sugerindo-se seu uso como uma alternativa para antibióticos convencionais utilizados na produção de rações para alimentação animal, a fim de obter alimentos mais seguros.

Dentre os possíveis benefícios a partir da utilização do OELD, é oportuna a utilização de tecnologias que atuem na preservação de seus compostos, que possuem natureza volátil. Tais compostos são frequentemente descritos como responsáveis pela biofuncionalidade que o mesmo apresenta. A proteção efetiva, armazenamento, transporte e inserção em matrizes alimentícias facilitados, com as limitações inerentes ao uso de OEs anteriormente descritas, podem ser obtidos com a tecnologia de microencapsulação.

3.4 TECNOLOGIA DE MICROENCAPSULAÇÃO

A definição de microencapsulação ocorreu primeiramente no final dos anos 1930, apresentando-se como um substituinte limpo para a utilização de papel carbono e fitas de carbono, sendo de grande relevância para as indústrias de máquinas. A aplicação das técnicas de microencapsulação por meio do uso de pulverização e liofilização passou a ser empregada a partir de 1999 (KUMAR; KAR, 2014).

A utilização do método consiste em revestir compostos de interesse para indústrias alimentícias, farmacêuticas, cosméticas, entre outras, a partir de agentes encapsulantes ou da mistura destes (HUQ et al., 2013). A microencapsulação se dá a partir de processos físico-

químicos ou mecânicos, gerando partículas de diâmetro pequeno, porém estruturalmente resistentes às condições adversas do meio no qual poderão ser inseridas (SIMEONI et al., 2014).

O processo de microencapsulação tem como produto resultante as microesferas e/ou as microcápsulas. Microesferas são MPs que acondicionam o material ativo espalhado por toda matriz homogênea. Já Microcápsulas são partículas onde o composto desejado, posicionado no centro da microcápsula, encontra-se totalmente envolto pelo agente encapsulante (BAKRY et al., 2016; JEYA-KUMARI; ZYNUDHEEN; PARVATHY, 2016). As MPs podem ser classificadas de acordo com o tamanho da partícula em macro ($> 5000 \mu\text{m}$), micro ($0,2$ a $5000 \mu\text{m}$) e nano ($< 0,2 \mu\text{m}$) (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Em geral, a microencapsulação é aplicada para alterar texturas, separar materiais com possibilidade de reagirem entre si, reduzir a toxicidade de compostos, mascarar sabores indesejáveis, reduzir a volatilidade de OEs e proporcionar liberação controlada dos compostos envolvidos pelo material de parede (ÇAM; İÇYER; ERDOGAN, 2014; SANTOS et al., 2015; SILVA et al., 2013 ; SILVA; VIEIRA; HUBINGER, 2014).

A técnica é capaz de propiciar a liberação do composto encapsulado no sítio de ação, sendo que vários fatores podem ser usados para iniciar a ação desejada, como o estresse mecânico, atividade enzimática, alteração no pH, tempo, temperatura, fermentação bacteriana, força osmótica, entre outros (COOK et al., 2012). Como consequência, a microencapsulação permite proteger e isolar o composto encapsulado de tensões ambientais, como oxigênio, acidez elevada e exposição a condições gástricas (HUQ et al., 2013).

Materiais que necessitem ser isolados, protegidos, ou ter sua ação retardada, podem ser encapsulados e utilizados em indústrias de alimentos, de cosméticos e farmacêutica. A escolha do método a ser usado para a microencapsulação deve ser favorável às características e composição química do composto que será encapsulado (RODRÍGUEZ et al., 2016). Segundo Favaro Trindade, Pinho e Rocha (2008), a escolha do método irá depender também do tamanho desejado da partícula, do mecanismo de liberação do núcleo e das propriedades físico-químicas do agente de parede e do núcleo.

Para a produção de MPs são utilizados diversos métodos aplicáveis para a indústria de alimentos. Os métodos mais comuns são por emulsificação, leitos fluidizados, secagem por pulverização, arrefecimento, arrefecimento por pulverização, co-cristalização e liofilização (HOLKEM; CODEVILLA; MENEZES, 2015; SANTOS et al., 2015). Dentre os diversos métodos que podem ser utilizados para a microencapsulação, a emulsificação seguida de liofilização tem sido reconhecida como alternativa viável (MORAIS et al., 2016).

A liofilização consiste na secagem em câmara fria a partir da remoção da água de um produto congelado submetido a vácuo, sob condições de baixa temperatura e pressão, para produzir MPs sólidas (GAIDHANI et al., 2015). É uma técnica bastante utilizada na aplicação de compostos termolábeis, que são sensíveis a temperaturas altas, como no caso de OEs (EZHILARASI et al., 2013; NIREESHA et al., 2013).

A técnica de emulsificação serve de base para outros métodos, quando o composto a ser encapsulado necessita unir uma fase dispersa em uma fase contínua pela ação de um emulsionante. Para garantir a permanência da emulsão é necessária uma combinação específica dos ingredientes utilizados, sendo indispensável o uso de emulsificante ou tensoativo (FRANZOL; REZENDE, 2015), os quais possuem como principais funções a redução da tensão interfacial e atuação como barreira contra a coalescência das gotículas (DICKINSON, 2009).

A escolha do(s) agente(s) encapsulante(s) depende de vários fatores, como fatores relacionados ao meio onde as MPs serão adicionadas. O agente encapsulante não deve interagir quimicamente com o material a ser encapsulado. Além disso, deve ser analisada a técnica que será utilizada para a formação da micropartícula, o mecanismo e liberação do material encapsulado, a habilidade de dispersar ou emulsificar, a capacidade de prover máxima proteção para o material a ser encapsulado contra condições desfavoráveis, como por exemplo, a inserção de MPs em alimentos com alta atividade de água (WEINBRECK; BODNÁR; MARCO, 2010).

Enquadram-se na categoria de agentes encapsulantes os compostos que serão responsáveis pela formação de filmes que irá envolver o material microencapsulado, sendo estes, polímeros naturais ou sintéticos (ASSUNÇÃO, 2014). Os materiais mais utilizados como agentes encapsulantes são carboidratos, gomas, lipídeos, poliésteres naturais, polímeros sintéticos e proteínas (JEYA-KUMARI; ZYNUDHEEN; PARVATHY, 2016).

A mistura de carboidratos e proteínas tem sido amplamente utilizada na microencapsulação de compostos bioativos. A maltodextrina (MD) é um composto derivado do amido que compreende dez monômeros de glucose sob a forma de cadeia linear (CAKRAWATI; HANDAYANI, 2017), e possui excelente propriedade de bloqueio de oxigênio. Além disso, possui capacidade de formar uma película, com baixa difusividade de água, ao redor de gotículas de emulsões, porém com baixa capacidade de emulsificação (ADHIKARI et al., 2009; UEKANE et al., 2016). Por sua vez, a gelatina (GEL) possui certa capacidade de emulsificação, atividade de estabilização e tendência para formar uma rede densa e fina quando em emulsões (DICKINSON, 2009). De forma geral, a mistura de MD e

proteína pode favorecer a proteção de compostos bioativos (NESTERENKO et al., 2013), inclusive na microencapsulação de OE de *Citrus* (CAMPELO et al., 2017; CAMPELO et al., 2018).

O OELD já foi encapsulado utilizando secagem em *spray drying* com diferentes agentes encapsulantes. Gonsalves et al. (2009) obtiveram microcápsulas de quitosana pelo método de coacervação simples em meio aquoso com OE de laranja, e constataram que a técnica foi eficaz, simples e reprodutível para encapsular este OE. Jun-Xia, Hai-Yan e Jian (2011) verificaram a retenção eficaz dos componentes de sabor, indicando boa proteção do OELD na microencapsulação por coacervação complexa em matriz de isolado proteico de soja e goma arábica. Sosa et al. (2013) utilizaram MD, sacarose e trealose, e amidos modificados como emulsionantes, para avaliar a retenção de aroma de OELD e obtiveram resultados promissores, mas relatam que a retenção satisfatória de compostos de aroma vai depender da escolha da matriz encapsulante e que, durante o encapsulamento de aromas por *spray drying*, alguns componentes voláteis podem ser perdidos facilmente. Souza et al. (2018) estudaram a liberação controlada de OELD em MPs poliméricas mistas contendo goma arábica, MD e nanofibrilas de celulose (NC). As NC atuaram como agente espessante, aumentando a viscosidade da emulsão. As formulações contendo NC apresentaram maior eficiência de microencapsulação.

Não há estudos sobre a microencapsulação do OELD que tenham utilizado as mesmas condições de processo para obtenção de microesferas contendo OELD. No presente estudo foram utilizados MD e GEL como agentes encapsulantes, realizou-se inicialmente a emulsificação entre o núcleo e os encapsulantes seguida de secagem por liofilização.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

O OELD utilizado como núcleo foi obtido da Ferquima Ind. Com. Ltda. (Vargem Grande Paulista, Brasil) e extraído por prensagem a frio da casca dos frutos. O OELD foi classificado como um líquido com coloração de amarelo a laranja, odor cítrico e doce, densidade relativa de 0,855 g/mL (20 °C), tendo como componente majoritário D-limoneno (aproximadamente 96%), de acordo com especificações apresentadas no relatório técnico disponibilizado pelo fornecedor. Os polímeros MD - DE 20 (Cargill, Uberlândia, Brasil) e GEL incolor na forma de pó (Mix, São Bernardo do Campo, Brasil) foram utilizados como

materiais de parede. Os demais reagentes químicos foram adquiridos da Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA.

Para análise da atividade antibacteriana foram utilizadas as cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 23235 (INCQS 00102) e *Escherichia coli* ATCC 35218 (INCQS 00325) adquiridas da Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária – CMRVS (FIOCRUZ-INCQS, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). As culturas de *S. aureus* e *E. coli* foram cultivadas em caldo Brain Heart Infusion (CBHI; Kasvi, PR, Brasil) a uma temperatura de 37 °C por 24 horas (NCCLS, 2003). Para obter os inóculos das cepas bacterianas com uma contagem entre 7 e 8 log UFC mL⁻¹, a densidade óptica da suspensão foi medida a 625 nm (OD₆₂₅) em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-220, Curitiba, PR, Brasil) até obtenção de OD₆₂₅ de 0,1 utilizando CBHI para o ajuste do inóculo e para o branco.

4.2 Métodos

4.2.1 Microencapsulação do OELD

Para o processo de microencapsulação (ME) foi realizada uma etapa inicial de emulsificação entre o núcleo (OELD) e encapsulantes (MD e GEL), seguida de secagem da emulsão. MD e GEL foram utilizados como agentes encapsulantes compondo três diferentes formulações (LD1, LD2 e LD3), sendo LD1 apenas com MD e LD2 e LD3 utilizando misturas de MD e GEL nas proporções de 2:1 e 1:1, respectivamente. As microesferas foram preparadas com teor fixo de OELD (10% m/m). Testes prévios foram realizados para obtenção das condições requeridas para o processo de ME, de acordo com as etapas citadas a seguir.

As emulsões foram preparadas por adição do OELD em soluções de MD ou MD/GEL nas proporções previamente testadas para as três formulações. Os agentes encapsulantes foram pesados em recipientes separados, homogeneizados em água destilada esterilizada a 35 °C até completa dissolução e acrescentados do agente tensoativo Tween 80 (concentração final de 5% v/m dos agentes encapsulantes). Em seguida, o OELD foi adicionado lentamente no sistema sob agitação constante (7000 rpm) por 15 min utilizando agitador mecânico tipo Turrax MA102 (Marconi, Piracicaba, Brasil). O procedimento foi realizado em banho de gelo a 4 °C para evitar a volatilização do OELD.

Após o preparo, as emulsões foram transferidas para recipientes plásticos, congeladas (-25 °C por 24 h em freezer horizontal) e submetidas a secagem em liofilizador Alpha 1-4 LD Plus (Christ, Osterode am Harz, Alemanha), sob pressão de 0,11 mbar e temperatura de -60

°C por 60 h. Durante o processo de liofilização, a câmara de secagem foi coberta para evitar incidência de luz nos materiais. As emulsões secas obtidas foram maceradas com auxílio de almofariz e pistilo até a obtenção de um pó homogêneo. O material obtido foi acondicionado em recipiente plástico, embalado com papel alumínio para evitar a incidência de luz e armazenado sob refrigeração até posterior caracterização.

4.2.2 Caracterização das microesferas de OELD

4.2.2.1 Rendimento de microencapsulação

O rendimento de microencapsulação (RM) foi avaliado com base nas massas dos encapsulantes, do OELD e do tensoativo utilizados no preparo das emulsões e na massa final após secagem, calculado por meio da equação seguinte:

$$RM = \frac{M_{\text{final}}}{M_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (1)$$

onde:

M_{final} : Massa do produto microencapsulado após secagem; e

M_{inicial} : Massa seca de encapsulantes, óleo essencial e tensoativo.

4.2.2.2 Eficiência de microencapsulação

A quantidade de OELD retida na matriz encapsulante foi determinada de acordo com o método descrito por Benavides et al. (2016). Para isso, 0,5 g de cada sistema microencapsulado foi homogeneizado com 30 mL de hexano, utilizado como agente extrator. A solução permaneceu sob agitação *overnight* em mesa agitadora NL343-01 (NewLab, Piracicaba, Brasil) a 25 °C. As amostras foram submetidas a ultrassonicação em banho ultrassônico USC-800 (Unique, Indaiatuba, Brasil) por 10 min, seguida de agitação em agitador de soluções AP56 (Phoenix Lufenco, Araraquara, Brasil) por 3 min e centrifugação em centrífuga CE01-B1 (Kacil, Recife, Brasil) (2317,80 x g por 5 min). O volume do sobrenadante obtido foi completado para 50 mL com adição de hexano, e a leitura da absorbância a 315 nm foi realizada utilizando espectrofotômetro UV-visível SP-220 (Biospectro, Curitiba, Brasil). O OELD foi utilizado como padrão e o seu componente

majoritário (D-Limoneno) foi utilizado como referência para obtenção da curva analítica ($y = 0,2579x - 0,0088$; $R^2 = 1$).

Para avaliar a eficiência de microencapsulação (EM) foram considerados o teor de OELD inserido no sistema e aquele retido pela matriz encapsulante após o processo. A EM foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$EM = \frac{OE_{\text{real}}}{OE_{\text{teórico}}} \times 100 \quad (2)$$

onde:

OE_{real} = Teor real de óleo essencial retido; e

$OE_{\text{teórica}}$ = Teor de óleo essencial inserido.

4.2.2.3 Espectroscopia na região de infravermelho (FTIR)

Os espectros de infravermelho foram recolhidos em um intervalo de varrimento de 500 a 4000 cm^{-1} utilizando Espectrofotômetro FTIR/NIR FRONTIER (Perkin Elmer, Waltham, Estados Unidos) e acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR), empregando cristal de seleneto de zinco (ZnSe), resolução de 4 cm^{-1} e média aritmética de quatro varreduras.

4.2.2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microestrutura das microesferas obtidas foi observada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os sistemas microencapsulados foram previamente cobertos por uma fina camada de ouro em metalizador Q150R ES (Quorum, Lewes, Inglaterra). As micrografias foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura SSX-550 (Shimadzu, Quioto, Japão), com voltagem de aceleração de 20 KV.

4.2.2.5 Atividade de água (A_a)

A A_a das microesferas foi analisada utilizando um medidor de atividade de água 3TE (Aqualab, Albufeira, Portugal) a 25° C .

4.2.2.6 Termogravimetria

As curvas termogravimétricas (TG) foram obtidas utilizando analisador térmico TGA/SDTA 851e (Mettler Toledo, Columbus, Estados Unidos), sob atmosfera inerte (Fluxo de 50 mL/min), taxa de aquecimento de 10 °C/min, em faixa de temperatura entre 30 e 600 °C, utilizando cadinho de alumina (óxido de alumínio), contendo aproximadamente 5 mg de amostra.

O parâmetro utilizado para determinação da temperatura inicial de degradação foi o T_{onset} segundo Haines (2002), obtido pela intersecção de uma tangente traçada entre as linhas de base horizontais superior, inferior e a parte íngreme da curva sigmoideal, caracterizada como o ponto que melhor representa a temperatura de degradação de um composto.

4.2.2.7 Calorimetria exploratória diferencial

O comportamento térmico das microesferas também foi avaliado pelas curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) obtidas em equipamento DSC 823e (Mettler Toledo, Columbus, Estados Unidos), sob atmosfera inerte (Fluxo de 50 mL/min), taxa de aquecimento de 10 °C/min em faixa de temperatura entre 30 e 150 °C, utilizando cadinho hermético de alumínio, contendo aproximadamente 5 mg de amostra.

4.2.3 Avaliação da bioatividade de microesferas de OELD

4.2.3.1 Determinação do conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

Para a quantificação dos compostos fenólicos totais (CFT) e determinação da atividade antioxidante (AA) pela captura do radical livre DPPH, as microesferas foram submetidas a ruptura como descrito por Reis et al. (2017).

Os CFT foram quantificados utilizando o método de Folin-Ciocalteu, como descrito por Waterhouse (2012). Para isso, foram utilizados 2 g do material resultante da ruptura das microesferas diluído em 10 mL de metanol. Uma alíquota de 300 µL foi misturada com 1825 µL de água destilada e 125 µL do reagente Folin-Ciocalteu, seguido de agitação utilizando agitador de soluções AP56 (Phoenix Lufenco, Araraquara, Brasil). Após cinco minutos, foi acrescentado 250 µL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 20%, seguido de nova agitação e repouso em banho maria a 40 °C, durante 30 min. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV-visível SP-220 (Biospectro, Curitiba, Brasil) a 765 nm. A curva

analítica foi obtida ($y = 0,2579x - 0,0088$; $R^2 = 1$), utilizando ácido gálico como padrão, e os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama das microesferas (EAG) (mg g^{-1}).

A medição da capacidade de eliminação do radical livre DPPH foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Fernandes et al. (2016). Para isso, utilizou-se 2 g de cada sistema microencapsulado em 10 mL de metanol. Uma alíquota de 350 μL foi adicionada em 3150 μL de DPPH e as leituras das amostras foram realizadas após 30 min. Para a curva de calibração foram preparadas soluções utilizando Trolox a 500 μM para o consumo de DPPH 600 μM em solução metanólica e água destilada para ajuste das concentrações finais (17,5, 35, 70, 105, 140 e 175 mg/mL). Como controle, utilizou-se uma solução com 3150 μL de DPPH e 350 μL de metanol. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível SP-220 (Biospectro, Curitiba, Brasil) a 765 nm nos tempos 0 e 30 min. Os resultados foram expressos como concentração de Trolox em μM versus % de inibição, submetidos a regressão linear ($y = 3,3697x + 7,2978$ e $R^2 = 0,9975$) e expressos em mg de trolox g^{-1} da amostra.

4.2.3.2 Atividade antibacteriana

Para avaliar a atividade antibacteriana foi utilizado o método de difusão em ágar. Para isso, três poços de 10 mm de diâmetro foram feitos com o uso de ponteira esterilizada em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton (MHA, Kasvi, PR, Brasil). Em seguida, 100 μL das suspensões das cepas de *S. aureus* e *E. coli* (contendo 7 – 8 log UFC mL^{-1}) foram espalhadas uniformemente sobre o MHA e os poços carregados com 50 mg de cada formulação das microesferas. As placas foram incubadas sob refrigeração por 12 h para promover a difusão das microesferas e liberação do OELD no MHA, sendo, em seguida, incubadas a 37 °C durante 24 h. Ao término do período de incubação, os diâmetros dos halos de inibição foram medidos, sendo considerada a ocorrência de efeito inibitório das cepas bacterianas teste quando da observação de halos de inibição do crescimento com diâmetro ≥ 11 mm (Benavides et al., 2016).

3.2 Análise estatística

Todos os experimentos (avaliação da bioatividade) foram realizados em triplicata em dois experimentos distintos, sendo os resultados expressos como médias das repetições. Os

dados foram analisados utilizando linguagem R (R Core team, 2014) por meio de ANOVA e teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$).

REFERÊNCIAS

- ABECITRUS. **O Mercado Mundial de Laranja**. São Paulo, 9 p., 2013. Disponível em <www.abecitrus.com.br>. Acesso em set. de 2018.
- ACAR, Ü.; KESBIÇ, O. S.; YILMAZ, S., GÜLTEPE, N.; TÜRKER, A. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. **Aquaculture**, v.437, p.282–286, 2015.
- ADARSHA, M. H.; RAMANI, V. M.; MADHUSUDHAN, B. The Control of Food-Borne Aflatoxin by Novel Essential Oil Fraction of *Citrus senensis* Peel Origin. **International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research**, v.4, n.2, p.71-78, 2015.
- ADHIKARI, B.; HOWES, T.; WOOD, B. J.; BHANDARI, B. R. 2009. The effect of low molecular weight surfactants and proteins on surface stickiness of sucrose during powder formation through spray drying. **Journal of Food Engineering**, v.94, n.2, p.135-146, 2009.
- AMBROSIO, C. M. S.; ALENCAR, S. M.; SOUSA, R. L. M.; MORENO, A. M.; DA GLORIA, E. M. Antimicrobial activity of several essential oils on pathogenic and beneficial bacteria. **Industrial Crops and Products**, v.97, p.128-136, 2017.
- ARANHA, J. B.; NEGRI, T. C.; MARTIN, J. G. P.; SPOTO, M. H. F. Efeito da radiação gama nos parâmetros microbiológicos, físico-químicos e compostos fenólicos de farinha de resíduos de frutas durante armazenamento. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.20, 2017.
- ARBOS, K. A.; STEVANI, P. C.; CASTANHA, R. F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. **Revista Ceres**, v.60, n.2, p.1, 2013.
- ASSUNÇÃO, L. S. Estudo prospectivo sobre encapsulamento de compostos bioativos. **Revista Geintec - Gestão, Inovação E Tecnologias**, v.4, p.1382-1391, 2014.
- BACANLI, M.; BAŞARAN, A. A.; BAŞARAN, N. The antioxidant and antigenotoxic properties of *Citrus* phenolics limonene and naringin. **Food and Chemical Toxicology**, v.81, p.160-170, 2015.
- BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, 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**, v.15, n.1, p.143-182, 2016.
- BENAVIDES, S., CORTÉS, P., PARADA, J., FRANCO, W. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food Chemistry**, v.204, p.77-83, 2016.
- BERALDO, C.; DANELUZZI, N. S.; SCANAVACCA, J.; DOYAMA, J. T.; FERNANDES JÚNIOR, A.; MORITZ, C. M. F. Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-da-índia

como sanitizantes na indústria de alimentos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.43, n.4, p.436-440, 2013.

BRINGAS-LANTIGUA, M.; EXPÓSITO-MOLINA, I.; REINECCIUS, G. A.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, O.; PINO, J. A. Influence of Spray-Dryer Air Temperatures on Encapsulated Mandarin Oil. **Drying Technology**, v.29, n.5, p.520-526, 2011.

BODAKE, H. B.; PANICKER, K. N. S.; KAILAJE, V. V.; KURAPATI, K. V. Chemopreventive effect of orange oil on the development of hepatic preneoplastic lesions induced by N-nitrosodiethylamine in rats: An ultrastructural study. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.40, n.3, p.245-251, 2002.

BOURGOU, S.; RAHALI, F. Z.; OURGHEMMI, I.; TOUNSI, M. S. Changes of peel essential oil composition of four Tunisian *Citrus* during fruit maturation. **The Scientific World Journal**, v.2012, p.1-10, 2012.

CAKRAWATI, D.; HANDAYANI, M. N. **Microencapsulation of limonin from orange juice waste using maltodextrin**. In: 1st Annual Applied Science and Engineering Conference, 2017.

CAMPELO, P. H., CARMO, E. L., ZACARIAS, R. D., YOSHIDA, M. I., FERRAZ, V. P., FERNANDES, R. V. B., BOTREL, D. A., BORGES, S. V. Effect of dextrose equivalent on physical and chemical properties of lime essential oil microparticles. **Industrial Crops and Products**, v.102, p.105-114, 2017.

CAMPELO, P. H., SANCHES, E. A., FERNANDES, R. V. B., BOTREL, D. A., BORGES, S. V. Stability of lime essential oil microparticles produced with protein-carbohydrate blends. **Food Research International**, v.105, p.936-944, 2018.

COOK, M. T.; TZORTZIS, G.; CHARALAMPOPOULOS, D.; KHUTORYANSKIY, V. V. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal Of Controlled Release**, v.162, n.1, p.56-67, 2012.

ÇAM, M.; İÇYER, N. C.; ERDOĞAN, F. Pomegranate peel phenolics: microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 117-123, 2014.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.1473-1482, 2009.

ERPEN, L.; MUNIZ, F. R.; MORAES, T. S.; TAVANO, E. C. R. Análise do cultivo da laranja no Estado de São Paulo de 2001 a 2015. **Revista iPecege**, v.4, n.1, p.33-43, 2018.

ESPINA, L.; SOMOLINOS, M.; LORÁN, S.; CONCHELLO, P.; GARCÍA, D.; PAGÁN, D. Chemical composition of commercial *Citrus* fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. **Food Control**, v.22, p.896- 902, 2011.

EZHILARASI, P. N.; KARTHIK, P.; CHHANWAL, N.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. **Food Bioprocess Technology**, v.6, p.628-647, 2013.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT. 2017. Crops. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: set. 2018.

FATURI, C. B.; LEITE, J. R.; ALVES, P. B.; CANTON, A. C.; TEIXEIRA-SILVA, F. Anxiolytic-like effect of sweet orange aroma in Wistar rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v.34, n.4, p.605-609, 2010.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; PINHO, S.C.; ROCHA, G.A. Review: Microencapsulation of food ingredients. **Brazilian Journal Food of Technology**, v.11, n.2, p.103-112, 2008.

FAVELA-HERNÁNDEZ, J. M. J.; GONZÁLEZ-SANTIAGO, O.; RAMÍREZ-CABRERA, M. A.; ESQUIVEL-FERRIÑO, P. C.; CAMACHO-CORONA, M. R. Chemistry and Pharmacology of *Citrus sinensis*. **Molecules**, v.21, n.247, p.1-24, 2016.

FERNANDES, R. V. B., BORGES, S. V., BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v.101, p.524-532, 2014.

FERNANDES, R. P., TRINDADE, M. A., TONIN, F. G., LIMA, C. G., PUGINE, S. M., MUNEKATA, P. E., LORENZO, J. M., & DE MELO, M. P. Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lam burgers. **Journal of Food Science and Technology**, v.51, p.451-460, 2016

FRANCO-VEGA, A.; REYES-JURADO, F.; CARDOSO-UGARTE, G. A.; SOSA-MORALES, M. E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Chapter 89 - Sweet Orange (*Citrus sinensis*) Oils. **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**, p.783-790, 2016.

FRANZOL, A.; REZENDE, M. C. Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. **Polímeros**, v.25, p.1-9, 2015.

GAIDHANI, K. A.; HARWALKAR, M.; BHAMBERE, D.; NIRGUDE, P. D. LYOPHILIZATION / FREEZE DRYING – A REVIEW. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v.4, n.8, p.516-543, 2015.

GAO, Z.; GAO, W.; ZENG, S.; LI, L.; LIU, E. Chemical structures, bioactivities and molecular mechanisms of citrus polymethoxyflavones. **Journal of Functional Foods**, v.40, p.498-509, 2018.

GERACI, A., DI STEFANO, V., DI MARTINO, E., SCHILLACI, D., SCHICCHI, R. Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity. **Natural Product Research**, v.31, p.653-659, 2017.

GONSALVES, J. K. M. C.; COSTA, A. M. B.; DE SOUSA, D. P.; CAVALCANTI, S.C.H.; NUNES, R. S. Microencapsulação do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) *Osbeck* pelo método da coacervação simples. **Scientia Plena**, v.5, p.1-8, 2009.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International Journal of Food Microbiology**, v.124, n.1, p.91-97, 2008.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. **Food Microbiology**, v.26, n.2, p.142-150, 2009.

HAINES, P. J. **Principles the Thermal Analysis and Calorimetry**. (1th ed.). The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2002.

HOLKEM, A. T.; CODEVILLA, C. F.; MENEZES, C. R. Emulsification/internal ionic gelation: Alternative for microencapsulation bioactive compounds. **Ciência e Natura**, v.37, p. 116–124, 2015.

HUQ, T.; KHAN A.; KHAN, R.A.; RIEDL, B.; LACROIX, M. Encapsulation of probiotic bacteria in biopolymeric system. **Critical Revista Food Sciences Nutrition**, v. 53, n. 9, p. 909-916, 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e estatística (2017). Produção Agrícola Municipal. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: set. 2018.

INFANTE, J.; SELANI, M. M.; TOLEDO, M. N. V.; SILVEIRA-DINIZ, M. F.; ALENCAR, S. M.; SPOTO, M. H. F. Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais. **Alimentos e Nutrição**, v.24, n.1, p.87-91, 2013.

JEYA-KUMARI, A.; VENKATESHWARLU, G.; CHOUKSE, M. K.; ANANDAN, R. Effect of Essential Oil and Aqueous Extract of Ginger (*Zingiber Officinale*) on Oxidative Stability of Fish oil-in-Water Emulsion. **Journal of Food Processing Technology**, v.6, n.1, p.1-5, 2014.

JEYA-KUMARI, A; ZYNUDHEEN, A. A.; PARVATHY, U. Microencapsulation of Bioactive Food Ingredients and Controlled Release - A Review. **MOJ**, v.2, n.6, p.1-9, 2016.

JESUS, A. S.; BLANK, A. F.; ALVES, M. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; LIMA, R. N.; ALVES, P. B. Influence of storage time and temperature on the chemical composition of the essential oil of *Hyptis pectinata* L. Poit. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, p.336-340, 2016.

JORGE, N.; SILVA, A. C.; ARANHA, C. P. M. Antioxidant activity of oils extracted from orange (*Citrus sinensis*) seeds. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.88, n.2, p.951-958, 2016.

JUN-XIA, X., HAI-YAN, Y., & JIAN, Y. Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. **Food Chemistry**, v.125, p.1267–1272, 2011.

KAWSUKSAENG, S.; URANO, Y.; AIAMLA-OR, S.; SHIGYO, M.; YAMAUCHI, N. Effect of UV-B irradiation on chlorophyll degrading enzyme activities and postharvest quality

in stored lime (*Citrus latifolia* Tan.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.61, p.124–130, 2011.

KHAN, M. M.; IQBAL, M.; HANIF, M. A.; MAHMOOD, M. S.; NAQVI, S. A.; SHAHID, M. JASKANI, M. J. Antioxidant and Antipathogenic Activities of *Citrus* Peel Oils. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v.15, n.6, p.972-979, 2012.

KOTSAMPASI, B.; TSIPLAKOU, E.; CHRISTODOULOU, C.; MAVROMMATIS, A.; MITSIOPOULOU, C.; KARAISSOU, C.; SOSSIDOU, E.; FRAGIOUDAKIS, N.; KAPSOMENOS, I.; BAMPIDIS, V. A.; CHRISTODOULOU, V.; ZERVAS, G. Effects of dietary orange peel essential oil supplementation on milk yield and composition, and blood and milk antioxidant status of dairy ewes. **Animal Feed Science and Technology**, v.245, p.20-31, 2018.

KUMAR, R.; KAR, A. Microencapsulation of Nutraceuticals Using Spray Freeze Drying Method: A Brief Review. **Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.4, n.2, p.47-51, 2014.

LI, Y.; WU, C.; WU, T.; WANG, L.; CHEN, S.; DING, T.; HU, Y. Preparation and characterization of *Citrus* essential oils loaded in chitosan microcapsules by using different emulsifiers. **Journal of Food Engineering**, v.217, p.108-114, 2018.

LIU, Y.; HEYING, E.; TANUMIHARDIO, S. A. History, global distribution, and nutritional importance of *Citrus* fruits. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.11, p.530-545, 2012.

MAHATO, N.; SHARMA, K.; SINHA, M.; CHO, M. H. Citrus waste derived nutraceuticals for health benefits: Current trends and future perspectives. **Journal of Functional Foods**, v.40, p.307-316, 2018.

MARTINS, G. S. O.; ZAGO, H. B.; COSTA, A. V.; ARAÚJO JUNIOR, L. M.; CARVALHO, J. R. Chemical Composition and toxicity of *Citrus* essential oils on *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae). **Caatinga**, v.30, n.3, p.811-817, 2017.

MILLER, J. A.; THOMPSON, P. A.; HAKIM, I. A.; CHOW, H. S. THOMSON, C. A. d-Limonene: a bioactive food component from citrus and evidence for a potential role in breast cancer prevention and treatment. **Oncology Reviews**, v.5, p.31-42, 2011.

MORAIS, A. R.; ALENCAR, É. N.; XAVIER JÚNIOR, F. H.; DE OLIVEIRA, C. M.; MARCELINO, H. R.; BARRATT, G.; FESSI, H.; DO EGITO, E. S.; ELAISSARI, A. Freeze-drying of emulsified systems: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v.503, n.1-2, p.102-114, 2016.

NAZER, A. I.; KOBILINSKY, A.; THOLOZANA, J. L.; DUBOIS-BRISSENETA, F. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* sv. typhimurium: a synergistic effect? **Food Microbiology**, v.22, n.4, p.391-398, 2005.

NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v.42, p.469–479, 2013.

NEVES, N. F. (Org.). **O retrato da citricultura brasileira**. Ribeirão Preto: Markestrat, 2010. 138 p.

NEVES, M. F.; JANK, M. S.; LOPES, F. F.; TROMBIN, V. G. Ações para aumentar a competitividade da cadeia de laranja no Brasil. Artigo Técnico. **Laranja**, v.27, n.2, p.213-229, 2006.

NIREESHA, G.R.; DIVYA, L.; SOWMYA, C.; VENKATESHAN, N.; NIRANJAN, B. M.; LAVAKUMAR, V. Lyophilization/freeze drying - an review. **International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences**, v.3, n.4, p.87-98, 2013.

O'BRYAN, C. A.; CRANDALL, P. G.; CHALOVA, V. I.; RICKE, S. C. Orange Essential Oils Antimicrobial Activities against *Salmonella* spp. **Journal of Food Science**, v.77, n.6, p.M264-M267, 2008.

OECD/FAO (2016), OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2025, OECD Publishing, Paris. doi: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2016-en.

OKWI, D. E.; EMENIKE, I. N. Evaluation of the phytonutrients and vitamins contents of *Citrus* fruits. **International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences**, v.2, n.1, p. 1-6, 2006.

OLATUNYA, A. M., AKINTAYO, E. T. Evaluation of the effect of drying on the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of peels from three species of citrus group. **International Food Research Journal**, v.24, p.1991-1997, 2017.

PANESAR, P. S.; KAUR, R.; SINGLA, G.; SANGWAN, R. S. Bio-processing of agro-industrial wastes for production of food-grade enzymes: progress and prospects. **Applied Food Biotechnology**, v.3, n.4, p.208-227, 2016.

PASRIJA, D.; EZHILARASI, P. N.; INDRANI, D.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. **LWT - Food Science and Technology**, v.64, p.289-296, 2015.

QUESADA, J.; SENDRA, E.; NAVARRO, C.; SAYAS-BARBERÁ, E. Antimicrobial Active Packaging including Chitosan Films with *Thymus vulgaris* L. Essential Oil for Ready-to-Eat Meat. **Foods**, v.5, n.57, p.1-13, 2016.

RANTZSCH, U.; VACCA, G.; DUK, R.; GILLISSEN, A. Anti-inflammatory effects of myrtol standardized and other essential oils on alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease. **European Journal of Medical Research**, v.14, n.4, p.205-209, 2009.

REIS, A. S.; DRIEDRICH, C.; MOURA, C.; PEREIRA, D.; ALMEIDA, J. F.; SILVA, L. D.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; TAVARES, R. A.W.; CARPES, S. T. Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at - 15 °C. **LWT - Food Science and Technology**, v.76, p.306-313, 2017.

- REZZADORI, K.; BENEDETTI, S.; AMANTE, E. R. Proposals for residues recovery: orange waste as raw material for new products. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, n.4, p.606-614, 2012.
- ROCHA, M. S. R. S.; ALMEIDA, R. M. R. G.; CRUZ, A. J. G. Avaliação do potencial energético de resíduos agroindustriais provenientes de diferentes regiões brasileiros. **ENGEVISTA**, v.19, n.1, p. 217-235, 2017.
- RODRÍGUEZ, J.; MARTÍN, M. J.; RUIZ, M. A.; CLARES, B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. **Food Research International**, v.83, p.41-59, 2016.
- SAIKIA, S; MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. **Food Chemistry**, v.171, p.144-152, 2015.
- SANTOS, M. G.; BOZZA, F. T.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation. **Food Chemistry**, v.171, p.32-39, 2015.
- SAWAMURA, M. In: *Citrus Essential Oils: Flavor and Fragrance*. Sawamura M., editor. John Wiley & Sons, Inc.; Hoboken, NJ, USA: 2010.
- SHARMA, N.; TRIPATHI, A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. **Microbiological Research**, v.163, n.3, p.337-344, 2008.
- SHARMA, K.; MAHATO, N.; CHO, M. H.; LEE, Y. R. Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. **Nutrition**, v.34, p.29-46, 2017.
- SILVA, P. I.; STRINGHETA, P. C.; TEOFILO, R. F.; OLIVEIRA, I. R. N. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**. v.117, p.538-544, 2013.
- SILVA, V. M.; VIEIRA, G. S.; HUBINGER, M. D. Influence of diferente combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. **Food Research International**. v.61, p.132-143, 2014.
- SIMEONI, C. P.; ETCHEPARE, M. A.; MENEZES, C. R.; FRIES, L. M.; MENEZES, M. F. C.; STEFANELLO, F. S. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Reget/UFSM**. v.18, p.66-75, 2014.
- SOSA, N.; ZAMORA, M. C.; VAN BAREN, C.; SCHEBOR, C. New Insights in the Use of Trehalose and Modified Starches for the Encapsulation of Orange Essential Oil. **Food and Bioprocess Technology**, v.7, n.6, p.1745-1755, 2014.
- SOUZA, H. J. B.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V.; FELIX, P. H. C.; VIANA, L. C. LAGO, A. M. T.; BOTREL, D. A. Utility of Blended Polymeric Formulations Containing

Cellulose Nanofibrils for Encapsulation and Controlled Release of Sweet Orange Essential Oil. **Food and Bioprocess Technology**, v.11, n.6, p.1188-1198, 2018.

STORCK, C. R.; NUNES, L. G.; OLIVEIRA, B. B.; BASSO, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciência Rural**, v.43, n.3, p.537-543, 2013.

SUN, Y.; KANG, H.; HAN, S.; PARK, Y.; HONG, S. Taxonomy and phylogeny of the genus *Citrus* based on the nuclear ribosomal DNA its region sequence. **Pakistan Journal of Botany**, v.47, n.1, p.95-101, 2015.

TAGHIZADEH-ALISARAEI, A.; HOSSEINI, S. H.; GHOBADIAN, B.; MOTEVALI, A. Biofuel production from citrus wastes: A feasibility study in Iran. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.69, p.1100-1112, 2017.

UCHÔA THOMAZ, A. M. A.; SOUSA, E. C.; LIMA, A.; LIMA, R. M. T.; FREITAS, P. A. P.; SOUZA, M. A. M.; THOMAZ, J. C. A.; CARIOCA, J. O. B. Elaboração e aceitabilidade de produtos de panificação enriquecidos com sementes de goiaba (*Psidium guajava*) em pó. **HOLOS**, v. 5, 2014.

UEKANE, T. M.; COSTA, A. C. P.; PIERUCCI, A. P. T. R.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; REZENDE, C. M. Sulfur aroma compounds in gum Arabic/maltodextrin microparticles. **Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie**, v.70, p.342-348, 2016.

VELÁZQUEZ-NUÑEZ, M. J.; ÁVILA-SOSA, R.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. **Food Control**, v.31, n.1, p.1-4, 2013.

WATERHOUSE, A. L. **Determination of Total Phenolics**. In Wrolstad, R. E. (Ed.), *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (pp. 11.1.1–11.1.8). John Wiley & Sons: New York, 2001.

WEINBRECK, F.; BODNÁR, I.; MARCO, M. L. Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products. **International Journal Food Microbiology**, v.136, n.3, p.364-367, 2010.

YANG, C.; CHEN, H.; CHEN, H.; ZHONG, B.; LUO, X.; CHUN, J. Antioxidant and Anticancer Activities of Essential Oil from Gannan Navel Orange Peel. **Molecules**, v.22, n.1391, p.1-10, 2017.

ZULIAN, A.; DÖRR, A. C.; ALMEIDA, S. C. Citricultura e agronegócio cooperativo no Brasil. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.11, n.11, p.2290-2306, 2013.

Os resultados obtidos neste estudo foram utilizados para publicação de artigo científico submetido a revista International Journal of Biological Macromolecules, fator de impacto 4.784, intitulado: “Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixture: preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities”.

Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixture: preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities

Running title: Microencapsulated orange essential oil

Declarations of interest: None

Jayuri Susy Fernandes de Araújo^a

Ana Cristina Alves Gomes^b

Jéssica Ribeiro Oliveira^c

Lloyd Ryan Viana Kotzebue^c

Deuber Lincon da Silva Agostini^d

Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira^c

Selma Elaine Mazzetto^c

Evandro Leite de Souza^b

André Leandro da Silva^c

Mônica Tejo Cavalcanti^a

^a *Graduation Program in Agroindustrial Systems, Center for Agro-Food Science and Technology, Federal University of Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brazil*

^b *Laboratory of Food Microbiology, Department of Nutrition, Center for Health Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil*

^c *Department of Organic and Inorganic Chemistry, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil*

^d *Department of Physics, Chemistry and Biology, State University of São Paulo, Presidente Prudente, SP, Brazil*

^e Center for Health and Rural Technology, Federal University of Campina Grande, Patos, Paraíba, Brazil

Abstract

This study evaluated maltodextrin (MD) and gelatin (GEL) in different ratios (SO1, MD only; SO2, MD and GEL = 2:1; and SO3, MD and GEL= 1:1, respectively) as wall materials to the microencapsulation of sweet orange essential oil (SOEO, fixed amount of 10% w/w). SOEO microspheres were obtained by emulsification/lyophilization and characterized regarding the microencapsulation yield and efficiency, infrared spectroscopy, ultrastructural aspects (scanning electron microscopy, SEM), thermogravimetric (TG), derivative thermogravimetry (DTG) and differential exploratory calorimetry (DSC) and bioactive properties. Yield and efficiency of encapsulation was of up to 90.19 and 75.75%, respectively. SEM analysis showed SO1, SO2 and SO3 microspheres with irregular shapes. TG, DTG and DSC curves showed more considerable decrease in SOEO volatilization in SO1 and higher thermo-oxidative protection in SO2 and SO3. Antibacterial and antioxidant properties, as well as the total phenolic content of SOEO were maintained after microencapsulation. These reveal the potential application of these SOEO microspheres as preservatives in food matrices.

Keywords: sweet orange, microencapsulation, freeze-drying, bioactive properties, stability.