

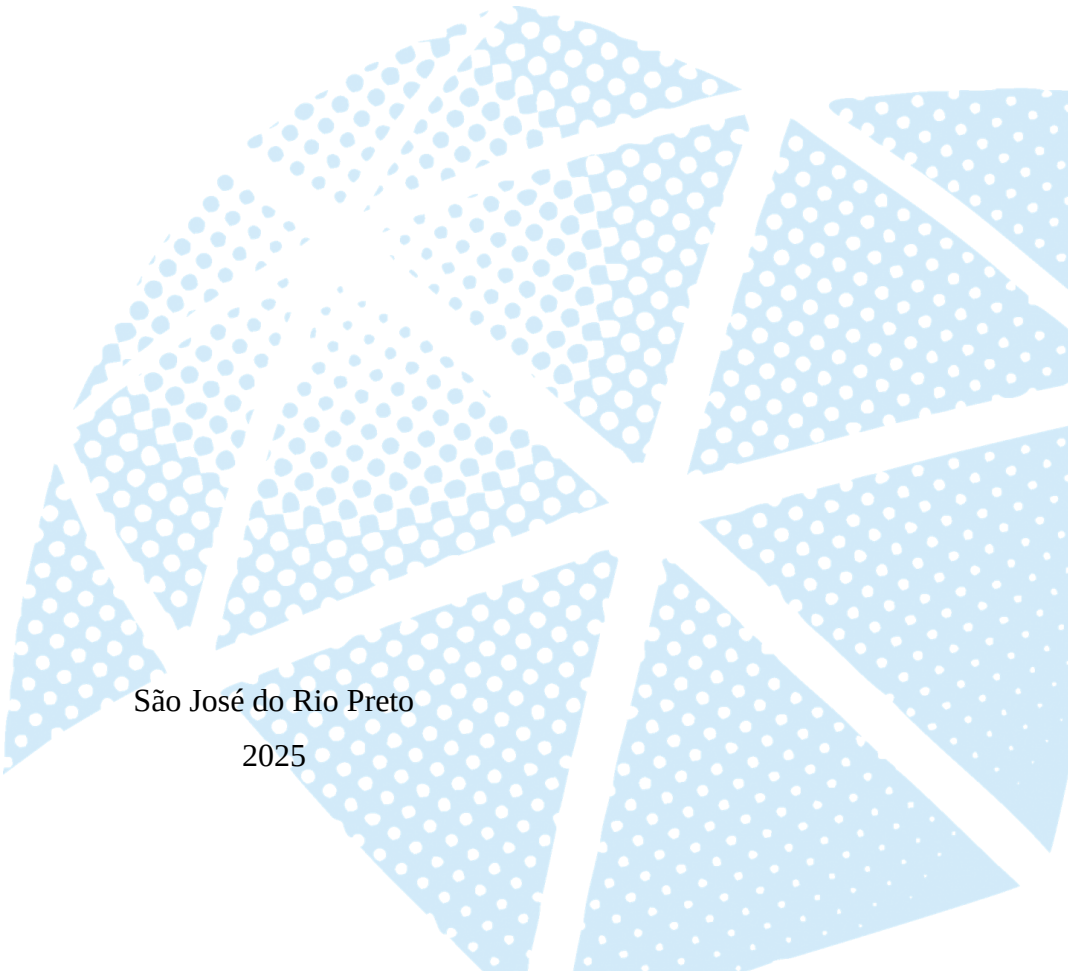
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio
Preto

VINÍCIUS RUBENS DE BIAGI

COENCAPSULAÇÃO DE FERRO, VITAMINA A E VITAMINA D VISANDO A
FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS

São José do Rio Preto

2025



VINÍCIUS RUBENS DE BIAGI

**COENCAPSULAÇÃO DE FERRO, VITAMINA A E VITAMINA D VISANDO A
FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestre em Alimentos, Nutrição e Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Alimentos e Nutrição

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Conti

Coorientadora: Profa. Dra. Louise Emy Kurozawa

São José do Rio Preto

2025

D286c

De Biagi, Vinícius Rubens

Coencapsulação de ferro, vitamina A e vitamina D visando a fortificação de alimentos / Vinícius Rubens De Biagi. -- São José do Rio Preto, 2025

94 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Ana Carolina Conti

Coorientadora: Louise Emy Kurozawa

1. Alimentos fortificados. 2. Microencapsulação. 3. Ferro. 4. Vitamina A. 5. Vitamina D. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O impacto esperado desta pesquisa reside na importância de oferecer nutrientes de forma satisfatória às populações, especialmente àquelas que, por razões econômicas, sociais e/ou culturais, não os ingerem em quantidades adequadas. Entre esses nutrientes, destacam-se o ferro e as vitaminas A e D, focos deste trabalho. Ao utilizar a microencapsulação como forma de proteção desses compostos, viabilizando uma fortificação de alimentos oportuna, este estudo estabelece um importante precedente para o atendimento de necessidades nutricionais relevantes, tanto em âmbito regional quanto global.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The expected impact of this research lies in the importance of providing adequate nutrients to populations, especially those who, for economic, social, and/or cultural reasons, do not consume them in sufficient quantities. Among these nutrients, iron and vitamins A and D stand out and are the focus of this work. By using microencapsulation as a means of protecting these compounds, enabling timely food fortification, this study sets an important precedent for meeting relevant nutritional needs, both regionally and globally.

VINÍCIUS RUBENS DE BIAGI

**COENCAPSULAÇÃO DE FERRO, VITAMINA A E VITAMINA D VISANDO A
FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestre em Alimentos, Nutrição e Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Alimentos e Nutrição

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Ana Carolina Conti

Unesp – Câmpus de São José do Rio Preto/SP

Profa. Dra. Daniela Remonato

Instituto Federal de São Paulo – Campus Matão/SP

Profa. Dra. Juliana Cristina Bassan

Faculdade de Tecnologia de Barretos "Profa Édi Salvi Lima" – Barretos/SP

*Aos meus pais, Roseli e João,
por quem me dedico e dedicarei o resto de minha vida (e, quem sabe, além).*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, meus companheiros de jornada.

Agradeço aos meus pais e ao meu irmão Victor pelo apoio incondicional e atemporal.

Agradeço à Profa. Dra. Ana Carolina por todo o apoio e paciência durante o meu período de Mestrado, especialmente por ter mantido as portas abertas quando precisei adiar, por dois anos seguidos, meu ingresso. Professora, você é um exemplo de excelência e profissionalismo no Ensino Superior público, e tudo isso sem perder o mais importante: o senso de humanidade.

Agradeço à Profa. Dra. Louise Emy Kurozawa pela coorientação e apoio ao longo da execução do meu projeto.

Agradeço aos membros da banca examinadora, por aceitarem prontamente meu convite.

Agradeço à Dra. Caroline Gregoli Fuzetti e Dr. Adilson Localli Pereira, por terem me ensinado a utilizar os equipamentos do Laboratório de Medidas Físicas do Ibilce/Unesp, sem esquecer da Profa. Dra. Vânia Nicoletti por todas as orientações técnicas.

Agradeço aos colegas do Laboratório de Análise Sensorial do Ibilce/Unesp, em especial à futura Dra. Juliana de Carvalho Marchesin, por ter me dado essencial suporte durante meu período de análises; à Profa. Ma. Caline Nogueira Inácio, pelos convites para atuar como avaliador nas atividades do Curso de Nutrição da Unifunec.

Agradeço à Ma. Leda Atílio Pita por todo o apoio material e moral.

Agradeço aos colegas de trabalho do Fórum da Comarca de Cardoso/SP, em especial à Supervisora Ana Paula Menezes de Oliveira e à Juíza de Direito Dra. Helen Komatsu, pela flexibilidade quando necessitei.

Agradeço, por fim, e de modo não menos importante, aos meus queridos amigos Marcella, Eduardo, Rafael, André e Éverton por terem, mesmo de longe, mandado boas energias. E também aos que estiveram perto de mim, dando-me igual apoio: Francis e Fernando.

“Mas Rieux endireitou-se e disse, com uma voz firme, que aquilo era tolice e que não era vergonha preferir a felicidade.

– Sim – disse Rambert – mas pode haver vergonha em ser feliz sozinho.”

(CAMUS, 2013, p. 269)

RESUMO

As deficiências de micronutrientes causam vários problemas graves de saúde, sendo as de ferro, vitamina A e vitamina D algumas das mais importantes em termos de saúde pública nacional e mundial. A fortificação de alimentos é uma das estratégias utilizadas para a prevenção e combate às deficiências nutricionais. Por sua vez, a coencapsulação de micronutrientes pela secagem de emulsões utilizando *spray dryer* tem se mostrado eficiente em termos de formação de micropartículas estáveis e com boa retenção do material encapsulado. Assim, o objetivo deste trabalho foi obter micropartículas carreadoras de ferro, vitamina A e vitamina D, visando uma futura fortificação de alimentos. Para tal, duas emulsões foram produzidas: uma contendo ferro quelado como fonte do elemento ferro, além de retinol e colecalciferol (formas mais ativas das vitaminas A e D, respectivamente) e outra contendo sulfato ferroso como fonte de ferro, além de retinol, colecalciferol e ácido ascórbico. As duas formulações foram preparadas utilizando como material de parede o isolado proteico de soja e a maltodextrina DE 10. As emulsões foram secas em *spray dryer* de bancada. Depois de secas, as micropartículas foram analisadas quanto à umidade, atividade de água, distribuição do tamanho de partícula, características morfológicas, retenção dos nutrientes empregados, bem como à estabilidade ao longo de quatro meses. O pó produzido apresentou rendimento de secagem de 72 e 64% para a formulação com ferro quelado e sulfato ferroso, respectivamente. Para ambas as formulações, os resultados foram positivos em termos de estabilidade físico-química e microbiológica. A distribuição do tamanho de partícula apresentou parâmetros indicativos de homogeneidade no processo de produção das micropartículas por *spray drying*. Para as duas formulações, as partículas apresentaram formato esférico irregular, de superfície majoritariamente lisa, com grau de rugosidade leve, além de terem se aglomerado. A retenção do ferro foi de 45% para a formulação com ferro quelado e 22% para a formulação com sulfato ferroso. Para a formulação com ferro quelado, houve retenção em torno de 26% de retinol e 14% de colecalciferol. Para a formulação com sulfato ferroso, 36% do retinol foram retidos e a retenção de colecalciferol foi de 3%. A retenção de ácido ascórbico (na formulação com sulfato ferroso) foi de 15%. Concluindo, a coencapsulação de nutrientes é tarefa complexa, pois exige o contorno das limitações e fragilidades de cada componente, evitando a interação dos mesmos com o ambiente e entre eles próprios, com o objetivo de conservar sua estrutura e os benefícios da encapsulação. Embora não seja factível contemplar a

totalidade dessas exigências, é possível otimizar a preservação dos compostos encapsulados, chegando-se a um balanço que viabilize a utilização das micropartículas de modo benéfico e vantajoso.

Palavras-chave: fortificação, sulfato ferroso, ferro quelado, retinol, colecalciferol, emulsão, *spray dryer*, microencapsulação.

ABSTRACT

Micronutrients deficiency causes several important health problems, being iron, vitamin A and vitamin D deficiencies some of the most important ones in terms of national and global public health. Food fortification is one of the strategies used to prevent and combat nutritional deficiencies. In turn, co-encapsulation of micronutrients by the drying of emulsions using a spray dryer has proved to be efficient in terms of stable microparticles formation with good retention of the encapsulated material. This research aimed to obtain iron, vitamin A and vitamin D-carrying particles, evaluating them regarding retention, water activity, particle size, morphological characteristics, and stability, aiming for a future fortification of foods. In order to achieve this, soy protein isolate and maltodextrin DE 10 were utilized as wall materials, added in the two proposed formulations: the first, containing iron chelate as iron source and sunflower oil enriched with retinol and cholecalciferol, the most active forms of vitamin A and D, respectively; the second, containing iron sulfate as iron source and sunflower oil enriched with retinol and cholecalciferol, with ascorbic acid, which aids the bioavailability of ferrous sulfate (lower than the iron chelate). The emulsions were dried in a benchtop spray dryer. After drying, the particles were analyzed regarding moisture, water activity, particle size distribution, morphological characteristics, retention of nutrients and stability throughout four months. The produced powder presented yield of 72 and 64% for the formulation with iron chelate and ferrous sulfate, respectively. For both formulations, the results were good in terms of physical-chemical and microbiological stability. The particle size distribution presented parameters that indicated homogeneity in the microparticles production using spray drying. For both formulations, the particles showed irregular round shape, with surface predominantly smooth and light rugosity, showing also agglomeration for both cases. There was an iron retention of 45% for the formulation with iron chelate and 22% for the formulation with ferrous sulfate. For the formulation with iron chelate, there was a retention of around 26% for retinol and 14% for cholecalciferol. For the formulation with ferrous sulfate, 36% of the retinol were retained and the cholecalciferol retention was 3%. The ascorbic acid retention for the formulation with ferrous sulfate was 15%. In conclusion, nutrient co-encapsulation is a complex task, because it requires bypassing the fragilities and limitations of each component, avoiding its interaction with the environment and between themselves, in order to preserve their structure and the benefits of the encapsulation. Although it is not feasible to achieve the totality of these

requirements, it is possible to optimize the conservation of the encapsulated compounds, reaching a balance that enables the utilization of the microparticles in a benefic and advantageous way.

Keywords: fortification, ferrous sulfate, iron chelate, retinol, cholecalciferol, emulsion, spray dryer, microencapsulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Moléculas da família da vitamina A que possuem importância no organismo humano.	16
Figura 2: Estruturas moleculares do ergocalciferol (Vitamina D ₂) e colecalciferol (Vitamina D ₃).	17
Figura 3: Estrutura do ácido ascórbico.	19
Figura 4: Esquema de microesfera (a) e esquema de microcápsula (b).	22
Figura 5: Um <i>spray dryer</i> (a) Esquema de funcionamento do processo de secagem por <i>spray drying</i> (b).	25
Figura 6: Esquema do preparo das emulsões a serem secas em <i>spray dryer</i>	31
Figura 7: Distribuição do tamanho de partícula para as formulações com ferro quelado e com sulfato ferroso nos tempos zero (t ₀) e quatro meses (t ₄).	40
Figura 8: Imagens obtidas por MEV (aumento de 2.000 e 5.000×) para a formulação com ferro quelado (F1).	43
Figura 9: Imagens obtidas por MEV (aumento de 2000 e 5000×) para a formulação com sulfato ferroso (F2).	44
Figura 10: Algumas micropartículas rompidas após quatro meses. Formulação com ferro quelado (F1) e sulfato ferroso (F2), aumentos de 2.000 e 5.000× em MEV.	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Componentes das formulações com ferro quelado e com sulfato ferroso para o preparo das emulsões.....	31
Tabela 2: Umidade e atividade de água das micropartículas com ferro quelado e com sulfato ferroso nos tempos zero (t_0), dois meses (t_2) e quatro meses (t_4).	38
Tabela 3: Valores do diâmetro de Brouckere ($D[4,3]$), span e moda para a formulação com ferro quelado e formulação com sulfato ferroso nos tempos zero e quatro meses. 40	
Tabela 4: Quantidade de ferro na formulação com ferro quelado e com sulfato ferroso	46
Tabela 5: Concentração das vitaminas A e D e retenção na formulação com ferro quelado e com sulfato ferroso.	49
Tabela 6: Quantidade de ácido ascórbico/g de pó e retenção na formulação com sulfato ferroso.....	51
Tabela A1: Componentes de F1 (a – com ajuste de pH e b – sem ajuste de pH) e F2 (c – com ajuste de pH e d – sem ajuste de pH).....	72

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos.....	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 Ferro	13
3.2 Vitamina A	14
3.3 Vitamina D	16
3.4 Ácido ascórbico	18
3.5 Deficiências de micronutrientes	19
3.6 A microencapsulação.....	21
3.6.1 Microencapsulação por <i>spray drying</i>	24
3.6.2 Materiais de parede utilizados	25
3.6.2.1 Isolado proteico de soja	26
3.6.2.2 Maltodextrina	28
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Material.....	29
4.2 Métodos	29
4.2.1 Preparo das emulsões para coencapsulação dos nutrientes e secagem por <i>spray dryer</i>	29
4.2.2 Rendimento da secagem	32
4.2.3 Caracterização das micropartículas	33
4.2.3.1 Umidade e atividade de água (aW).....	33
4.2.3.2 Distribuição do tamanho de partícula.....	33
4.2.3.3 Características morfológicas.....	33
4.2.3.4 Retenção de nutrientes.....	34

4.2.4 Análise da estabilidade das micropartículas	35
4.2.5 Análise dos dados	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 Rendimento da secagem	37
5.2 Caracterização das micropartículas	37
5.2.1 Umidade e atividade de água.....	37
5.2.2 Distribuição do tamanho de partícula.....	39
5.2.3 Características morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	41
5.3 Retenção de nutrientes.....	46
5.3.1. Ferro	46
5.3.2. Retinol e colecalciferol.....	47
5.3.3. Ácido ascórbico	50
5.3.4. Quantidade de pó a ser adicionada em alimentos e limitações do estudo	51
6 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	55
APÊNDICE A – TESTES PRELIMINARES	71
A.1 MATERIAL E MÉTODOS	71
A.1.1 Correção de pH	71
A.1.2 Microscopia óptica das emulsões	72
A.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
A.2.1 Correção de pH	73
A.2.2 Microscopia óptica das emulsões	75
ANEXO 1 – LAUDOS TÉCNICOS	78

1 INTRODUÇÃO

As vitaminas e minerais são classificados como micronutrientes, moléculas e elementos dos quais o organismo necessita em pequenas quantidades para desempenhar suas funções adequadamente. A deficiência de micronutrientes pode causar problemas sérios de saúde, com redução do nível de energia do indivíduo, falta de clareza mental e diminuição de sua capacidade geral. Em casos mais severos, pode até mesmo representar uma ameaça à vida de uma pessoa ou grupo de pessoas sobre as quais o problema incida. As principais causas da deficiência de micronutrientes estão relacionadas à sua ingestão inadequada, má utilização pelo organismo ou aumento de sua perda. Tal privação pode ser evitada com a educação voltada à manutenção de uma alimentação saudável e práticas como a suplementação e fortificação de alimentos (OMS, 2022).

Os quadros de deficiência de ferro, vitamina A e vitamina D são alguns dos mais importantes do ponto de vista da nutrição global. A deficiência de ferro é a mais difundida no mundo, apresentando-se como um desafio tanto nos países industrializados, quanto naqueles não-industrializados. A falta de ferro no organismo pode levar, por exemplo, ao desenvolvimento físico e cognitivo insatisfatório, perda de produtividade e diagnósticos de anemia, sendo esta última responsável, em formas mais severas, por quadros de mortalidade materna e infantil. Em relação à vitamina A, sua carência apresenta-se como a principal causa de cegueira evitável em crianças. Além disso, pode aumentar o risco de morte por infecções severas como doenças diarreicas e sarampo. Já a deficiência de vitamina D está associada a casos de raquitismo em crianças, problemas ósseos em adultos, e, em estudos mais recentes, a diagnósticos de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e depressão (OMS, 2021; Sizar et al., 2023).

Para suprir a demanda por micronutrientes e encontrar soluções que permitam seu consumo em quantidades adequadas, diversas técnicas têm sido estudadas a fim de aumentar a disponibilidade de vitaminas e minerais. O mercado de suplementos de vitaminas e minerais é expressivo. Segundo a consultoria de mercado *Future Market Insights* (2025), o negócio apresenta valor aproximado de 61,8 bilhões em 2025 e deve crescer 5,4% nos próximos dez anos. Dados de importação de suplementos alimentares pelo Brasil, por exemplo, mostram a movimentação de 234 bilhões de dólares somente em importação de vitaminas (ABIAD, 2024). Ainda, a fortificação está entre as estratégias adotadas para aumentar o conteúdo de micronutrientes na dieta e diminuir suas deficiências ao aproveitar os produtos industrializados como veículos carreadores (Dary;

Guamuch-Castañeda; Mora, 2023). A fortificação, aliada a técnicas como a microencapsulação, pode exercer papel importante na entrega de micronutrientes a populações em estado de vulnerabilidade nutricional.

A microencapsulação, técnica de aprisionamento de pequenas porções sólidas, líquidas ou gasosas (chamadas de núcleo) por um material polimérico (denominado material de parede), apresenta-se como uma alternativa que pode fornecer uma proteção satisfatória do material do núcleo (composto de interesse) em relação ao meio externo, melhorando suas características de solubilidade, liberação controlada, maior facilidade do manuseio do material presente no núcleo e aumento de biodisponibilidade (Abbasi et al., 2014; Assadpour; Jafari, 2019).

Dessa forma, este projeto buscou aliar as estratégias de microencapsulação por secagem de emulsões em *spray dryer*, mais especificamente a coencapsulação dos nutrientes ferro, vitamina A e vitamina D, a uma futura fortificação de alimentos carreadores do pó produzido. Ao entregar, dentro de uma mesma micropartícula, os três micronutrientes mencionados, abre-se um importante precedente no atendimento a necessidades nutricionais importantes como as supramencionadas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Coencapsular ferro (ferro quelado e sulfato ferroso, separadamente), vitamina A (retinol) e vitamina D (colecalfiferol) visando a futura fortificação de alimentos.

2.2 Objetivos específicos

Produzir dois tipos de micropartículas (ferro quelado + retinol + colecalfiferol e sulfato ferroso + ácido ascórbico + retinol + colecalfiferol) por meio de secagem em *spray dryer* de emulsões óleo em água (O/A).

Caracterizar as micropartículas quanto à retenção dos nutrientes, umidade, atividade de água, distribuição do tamanho de partícula e características morfológicas.

Avaliar a estabilidade das micropartículas ao longo de quatro meses em relação às características mencionadas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Ferro

O ferro é um nutriente essencial e desempenha funções importantes no organismo humano, tais como o transporte de oxigênio, síntese de DNA e metabolismo muscular. Existem dois tipos de ferro na dieta: ferro heme e ferro não-heme. O ferro heme, de boa absorção pelo organismo, é proveniente da hemoglobina e mioglobina e representa uma fração pequena da ingestão de ferro na dieta humana. O ferro não-heme, de absorção menor se comparada ao ferro heme, é inorgânico e provém de fontes vegetais, sendo este o ferro utilizado na fortificação de alimentos. Além disso, o principal elemento traço no organismo humano apresenta-se em duas formas de oxidação nos sistemas biológicos: ferrosa (Fe^{2+}) e férrica (Fe^{3+}). O estado ferroso é mais solúvel em água do que o correspondente férrico (López; Martos, 2004). O ferro heme tem como fontes principais as carnes, principalmente as vermelhas e as vísceras como o fígado. Já o ferro não heme se apresenta tanto na forma Fe^{3+} , quanto Fe^{2+} , e está presente em alimentos de origem vegetal (cereais, leguminosas, castanhas e vegetais como brócolis, couve e espinafre) e também de origem animal (Henriques, 2020; Marreiro et al. 2024).

A anemia ferropriva, deficiência nutricional com maior prevalência ao redor do globo, tem como principal causa a deficiência de ferro. Esta doença afeta 33% de mulheres não-grávidas, 40% de gestantes e 42% de crianças em todo o mundo (OMS, 2020a). No Brasil, os dados variam em decorrência de estudos isolados, porém estima-se, por exemplo, que entre 40 e 50% das crianças menores de três anos apresentem diagnósticos de anemia ferropriva nas regiões Norte e Nordeste (Fiocruz, 2019). Mesmo na ausência de anemia, a deficiência de ferro pode ocasionar fadiga, diminuição de desempenho físico, baixa produtividade e desenvolvimento cerebral subótimo (OMS, 2020b).

O Ministério da Saúde brasileiro, por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece diretrizes legais obrigatórias para o enriquecimento de alguns produtos alimentícios. Como exemplo, tem-se a adição de ferro e ácido fólico às farinhas de trigo e milho. Apesar disso, muitos produtos disponíveis no mercado ainda apresentam teor de ferro inadequado. Segundo o Relatório do Monitoramento da Fortificação de Farinhas de Trigo e Milho com Ferro e Ácido Fólico, um levantamento feito no ano de 2021 mostra que 23% das amostras de farinha analisadas estavam em

desacordo com o estabelecido pela Resolução RDC n. 604/2022, a qual preconiza que farinhas de trigo e milho enriquecidas devam conter entre quatro e nove miligramas de ferro por 100 gramas de farinha (BRASIL, 2022a; BRASIL, 2022b). Isso mostra a importância da elaboração de estratégias alternativas para disponibilização de ferro na dieta das populações.

Em relação à interação do ferro com outros nutrientes, algumas vitaminas, como a vitamina A e a vitamina C, melhoram a biodisponibilidade do ferro, bem como atuam no combate a inibidores da absorção de ferro, como os polifenóis e o ácido fítico. Isso se dá pela habilidade destas vitaminas em reduzir o ferro de seu estado férrico ao estado ferroso (mais solúvel) e/ou pela possibilidade de formação de complexos solúveis com os íons férricos (Fidler et al., 2003; López; Martos, 2004).

3.2 Vitamina A

A vitamina A faz parte do grupo de vitaminas lipossolúveis e apresenta papel importante em variados processos biológicos, como por exemplo os relacionados à visão e à resposta imune. Por seu papel no sistema imunológico, a vitamina A é considerada, inclusive, como um anti-inflamatório. Além disso, a vitamina A atua no crescimento, manutenção da visão e integridade do tecido epitelial e mucosas (Ross et al., 2000; OMS, 2009; Wirth et al., 2017; Huang et al., 2018).

A vitamina A foi a primeira vitamina a ser identificada. O termo “vitamina A” aplica-se de modo genérico a uma série de moléculas: vitamina A pré-formada (chamada de *all-trans-retinol* ou seu acetato, palmitato ou outro éster natural, ou *all-trans-retinal*, sozinho ou ligado, que apresente atividade biológica de vitamina A) combinada com provitamina A (β -caroteno e outros carotenoides que podem ser metabolizados em *all-trans-retinal*); ou apenas vitamina A pré-formada (retinol e/ou ésteres de retinol). A molécula básica e mais biologicamente ativa da vitamina A é o retinol, um álcool. O isômero com maior atividade biológica é o *all-trans-vitamina A*. Dois importantes metabólitos ativos da vitamina A são o retinaldeído (ou retinal) e o ácido retinóico (Figura 1) (Shahidi; Janitha; Wanasundara, 1992; Dawson, 2000; Ramalho, 2024).

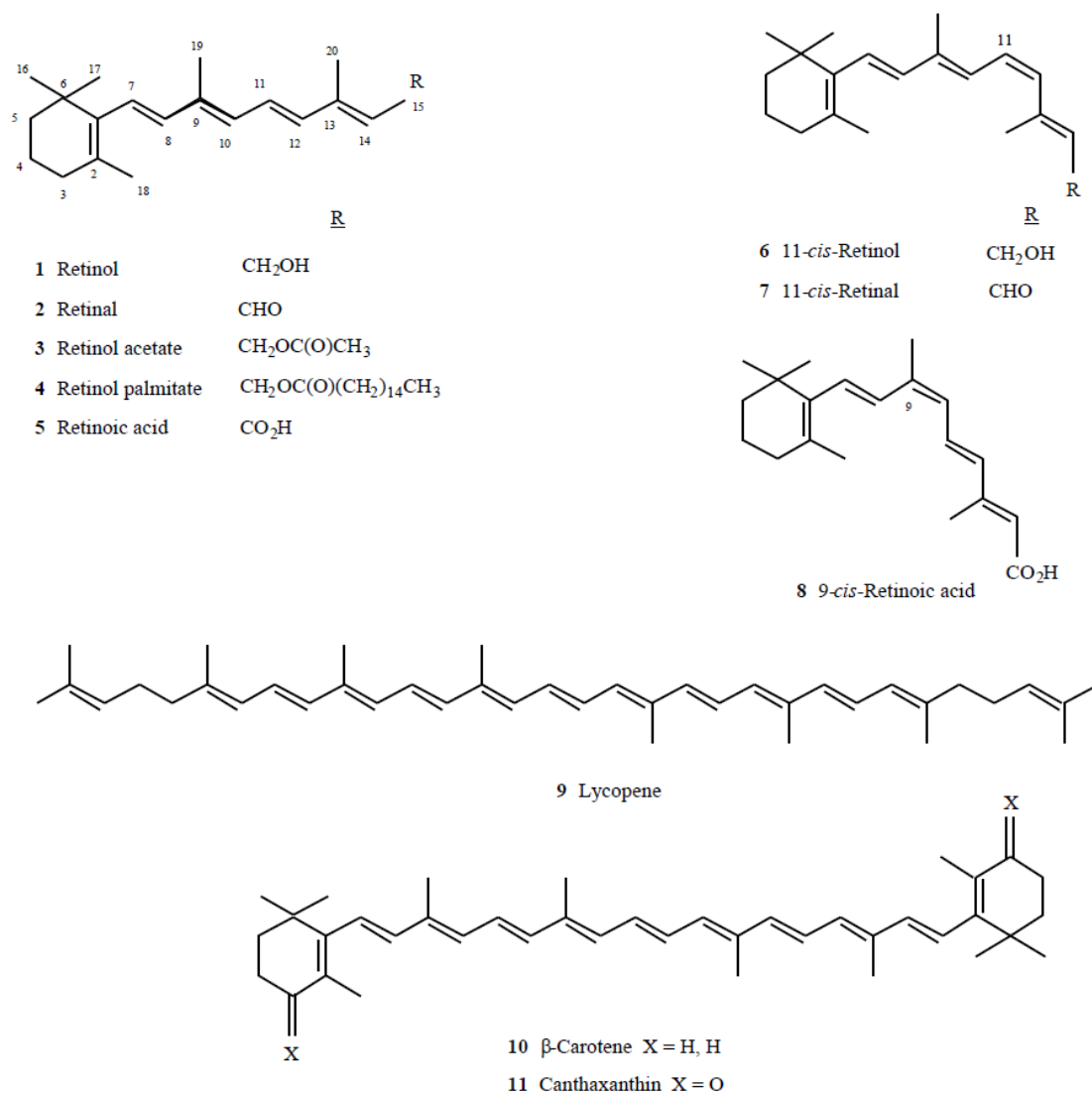
A vitamina A é encontrada principalmente no fígado, geralmente na forma de ésteres ligados a ácidos graxos de cadeia longa. O retinol pode ser encontrado na forma de cristais amarelos solúveis em solventes orgânicos e lipídeos (Anosike, 1994; Berry Ottaway, 2010). Em relação às fontes vegetais, folhas verdes e vegetais amarelos e

alaranjados possuem carotenoides, como β -caroteno e β -criptoxantina, os quais podem ser convertidos em vitamina A por oxigenases presentes no organismo (Bates, 1995; Edem, 2008).

A deficiência de vitamina A é um problema global de saúde pública, afetando principalmente crianças e mulheres grávidas. Em cenários de deficiência de vitamina A, efeitos como cegueira, crescimento inadequado e aumento do risco de doenças e mortalidade provenientes de infecções severas podem ocorrer (Wirth et al., 2017).

Segundo Edem (2008), a vitamina A pode interagir com outros nutrientes ao longo das vias metabólicas no organismo, inclusive com o ferro. A vitamina A tem papel importante no recrutamento de ferro para o processo de hematopoese (formação e desenvolvimento de células sanguíneas), melhorando sua utilização e liberando este elemento das reservas do organismo. O retinol e/ou o ácido retinóico são necessários na síntese da proteína carreadora de ferro, transferrina (Muslimatun, 2001; Schmidt, 2001; Devlin, 2011).

Figura 1: Moléculas da família da vitamina A que possuem importância no organismo humano.



Fonte: DAWSON (2000).

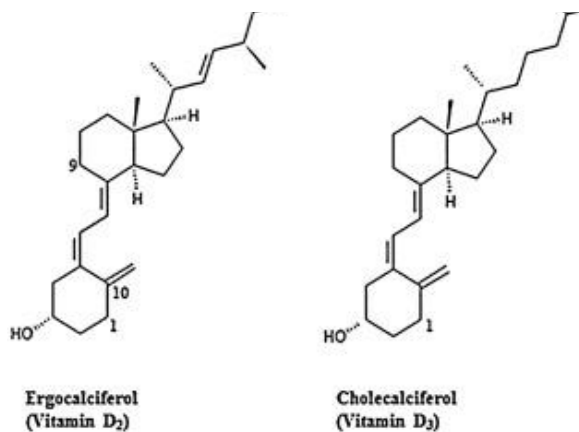
3.3 Vitamina D

A vitamina D, também pertencente ao grupo das vitaminas lipossolúveis, é essencial para a saúde óssea humana. Além disso, estudos desenvolvidos nos últimos anos mostram que a vitamina D é também importante na prevenção de uma série de doenças, como a depressão e doenças autoimunes (Haq; Hasnain; Razzaque, 2020).

A vitamina D apresenta-se em duas formas mais representativas: colecalciferol (vitamina D₃) e ergocalciferol (vitamina D₂) (Figura 2). O colecalciferol é a forma natural da vitamina D, produzida pela exposição do corpo humano à luz UV na faixa de 290-315

nm. Já o ergocalciferol é a forma sintética da vitamina, produzido por meio da irradiação do ergosterol, um esterol vegetal, e utilizado na fortificação de alimentos (Holick, 2017).

Figura 2: Estruturas moleculares do ergocalciferol (Vitamina D₂) e colecalciferol (Vitamina D₃).



Fonte: (Holick, 2017).

A vitamina D pode ser obtida por meio da exposição ao sol ou por meio da alimentação. Estima-se que, em humanos, de 80 a 90% da vitamina D corpórea seja adquirida pela síntese cutânea e o restante pela ingestão de alimentos (Holick, 1999, citado por Giudici; Peters; Martini, 2018), uma vez que a quantidade de vitamina D é geralmente baixa nos alimentos e está presente em um grupo reduzido, como no fígado de bacalhau e gema de ovo, por exemplo.

A deficiência/insuficiência de vitamina D acomete mais de um bilhão de indivíduos ao redor do mundo (Holick, 2017). Inicialmente, acreditava-se que países ensolarados e de menor latitude, como o Brasil, não apresentassem deficiência de vitamina D. No entanto, vários estudos locais mostraram a alta prevalência de deficiência de vitamina D na América Latina, em diferentes faixas etárias (Brito; Mujica, 2011, citados por Giudici; Peters; Martini, 2018). No Brasil, as prevalências de insuficiência e de deficiência de vitamina D são de 45,3% e 28,2%, respectivamente, sendo tal deficiência mais encontrada nas regiões Sul e Sudeste e a insuficiência mais observada nas regiões Sudeste e Nordeste do país (Pereira-Santos et al., 2019). Ainda, segundo estes autores, a prevalência encontrada de deficiência e insuficiência de vitamina D em crianças é de 23,0% e 44,0%, respectivamente. Para este grupo de indivíduos, o raquitismo apresenta-se como um dos principais problemas da falta de vitamina D. Já para os adultos,

os problemas ósseos são o principal ponto de atenção (Malacova et al., 2019). Ainda, para os idosos, a falta de vitamina D implica em vários efeitos, tanto na estrutura óssea, quanto em outras partes do corpo. Em idade mais avançada, a produção e metabolismo de vitamina D sofrem alterações, já que há, entre outros fatores, redução da exposição ao sol e diminuição da capacidade produtiva da pele (Giustina et. al, 2023).

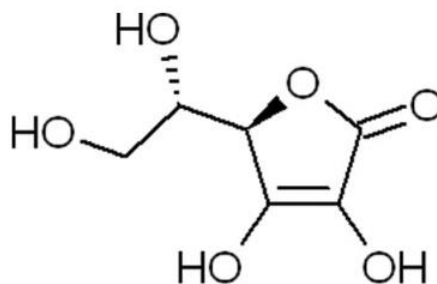
Assim, torna-se interessante realizar o processo de fortificação de alguns produtos alimentícios de modo a aumentar a ingestão de vitamina D pela população (MOULAS; VAIU, 2018; LIPS et al., 2019).

3.4 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico, L-ácido ascórbico ou vitamina C é uma vitamina hidrossolúvel natural. Atua como potente agente redutor e antioxidante, auxiliando no combate a bactérias infecciosas, em reações de desintoxicação e na formação de colágeno em tecidos fibrosos, dentes, ossos, pele, entre outros. Seu poder antioxidante relaciona-se ao fato de ajudar na remoção de espécies reativas de oxigênio, subprodutos de reações metabólicas do organismo humano. Esse nutriente pode ser encontrado em frutas cítricas e algumas outras frutas, bem como em vegetais verdes folhosos, não podendo ser produzido ou armazenado pelo corpo humano. Sua obtenção se dá, portanto, por meio da alimentação (Abbas et al., 2012; Fu et al., 2014).

A molécula de ácido ascórbico (Figura 3) possui um anel de cinco membros, com dois carbonos quirais e quatro isômeros. De fórmula molecular $C_6H_8O_6$, apresenta-se como um pó cristalino branco ou levemente amarelado. Outros compostos relacionados à vitamina C incluem o ácido D-isoascórbico e o ácido L-dehidroascórbico. O primeiro, com 5% de atividade de ácido ascórbico, não é normalmente encontrado na natureza (apenas em alguns microrganismos), mas pode ser um subproduto do ácido ascórbico sintético. O segundo é a forma oxidada do ácido ascórbico, possuindo 80% de atividade de ácido ascórbico. O mecanismo pelo qual o ácido ascórbico apresenta poder antioxidante reside na habilidade da molécula em doar átomos de hidrogênio e neutralizar radicais livres. Nesse processo, o ácido ascórbico é convertido em ácido dehidroascórbico, o qual pode se tornar novamente ativo ao receber novos átomos de hidrogênio do meio (Bendich, 1990; Davey et al., 2000; Ogiri et al., 2002).

Figura 3: Estrutura do ácido ascórbico.



Fonte: Abbas et al. (2012).

O ácido ascórbico é reconhecido como o mais poderoso melhorador da absorção de ferro no organismo humano. Isto porque ele age como um agente quelante, ligando-se ao ferro no pH ácido do estômago, transportando-o, assim, até o intestino. Essa ligação previne que o ferro se combine com outras moléculas, como fitatos, as quais tendem a se unir ao ferro em faixas de pH maiores (Siegenberg et al., 1991). Alguns autores sugerem, inclusive, que o complexo ácido ascórbico-ferro possa ser absorvido intacto no duodeno (Teucher; Olivares; Cori, 2004). Além disso, o ácido ascórbico é capaz de reduzir o ferro de sua forma férrica (Fe^{3+}), menos solúvel e menos biodisponível, ao estado ferroso (Fe^{2+}), mais solúvel e com maior biodisponibilidade (Sharp, 2007; Han, 2011). Segundo Teucher, Olivares e Cori (2004), o ferro e o ácido ascórbico devem ser consumidos juntos para que o aumento da absorção de ferro ocorra. Existem, ainda, evidências da atuação do ácido ascórbico como agente protetor da vitamina A, mais especificamente do β -caroteno, tanto na forma líquida quanto na forma em pó. Entende-se que o referido ácido atue como antioxidante, protegendo os carotenoides da oxidação e aumentando sua manutenção no meio (Morais et al., 2002; Sánchez-Moreno et al., 2003).

3.5 Deficiências de micronutrientes

As deficiências de micronutrientes causam vários problemas graves de saúde. As deficiências de ferro, vitamina A e iodo são as mais importantes em termos de saúde pública global, representando uma grande ameaça à saúde e ao desenvolvimento das populações em todo o mundo, especialmente crianças e mulheres grávidas em países de baixa renda (OMS, 2021). A falta de ferro, ácido fólico e vitaminas A e B_{12} pode levar à anemia. A anemia é uma condição em que há redução do número de glóbulos vermelhos

ou da concentração de hemoglobina, causando fadiga, fraqueza, falta de ar e tontura, podendo ter impacto negativo no trabalho, educação e envolvimento na comunidade. Estima-se que 33% da população mundial sejam anêmicas, tendo a deficiência de ferro como causa principal, e que 42% das crianças em idade pré-escolar em todo o mundo tenham anemia ferropriva (OMS, 2020). Ainda em relação à vitamina A, sua deficiência é a principal causa de cegueira evitável em crianças e aumento do risco de doenças e morte por infecções graves, como diarreia e sarampo (OMS, 2022).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) trabalha com os Estados Membros e parceiros para prevenir deficiências de micronutrientes por meio de uma série de programas, seguindo a estratégia de nutrição da OMS 2016-2025. Esses programas incluem suplementação de ferro e ácido fólico, suplementação de vitamina A em altas doses, promoção da amamentação, fortificação de alimentos com micronutrientes e dietas saudáveis e diversificadas contendo alimentos naturalmente ricos em vitaminas e minerais. Ainda, a OMS colabora com os parceiros da Organização das Nações Unidas para disseminar a orientação global sobre a avaliação do *status* de micronutrientes e intervenções eficazes de micronutrientes. Essas diretrizes permitem que a OMS e outras agências respondam melhor às populações afetadas por emergências quando as deficiências de micronutrientes são mais comuns devido à insegurança alimentar crônica e grave (OMS, 2022). Apesar disso, cerca de 45% das mortes de crianças menores de 5 anos estão relacionadas à desnutrição e isso ocorre principalmente em países de baixa e média renda (OMS, 2021).

No Brasil a situação não é diferente. Apesar do avanço do excesso de peso na população e de suas complicações relacionadas, ainda persistem as deficiências de ferro e vitamina A. A Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher, realizada em 2006, reafirmou que as deficiências de ferro e vitamina A persistiam como problemas de saúde pública no Brasil, uma vez que 20,9% e 17,4% das crianças apresentavam anemia ferropriva e hipovitaminose A, respectivamente (Brasil, 2009). Além disso, segundo Ramalho (2024), mesmo com medidas de controle de hipovitaminose A implementadas ao longo dos últimos anos no Brasil, por exemplo, ainda há consumo subótimo deste nutriente, bem como baixa concentração no leite materno, especialmente em mulheres de baixa renda. Em relação ao ferro, ainda não há um estudo nacional a respeito da prevalência e da incidência de anemia ferropriva considerado metodologicamente adequado, pois a maior parte dos estudos é de caráter regional, com ou sem amostras de conveniência e utilizam diferentes critérios

diagnósticos, levando a grande variação nos dados. Apesar disso, os estudos feitos estimam uma prevalência de anemia ferropriva em 40 a 50% das crianças estudadas, chegando a 53% nas regiões Norte e Nordeste, sendo sempre maior em crianças menores de três anos (SBP, 2018). De modo geral, estes estudos localizados mostram que o teor de ferro presente nas dietas encontra-se abaixo das recomendações de ingestão desse mineral em diferentes faixas etárias (Marreiro et. al, 2024).

Em termos de disponibilidade de nutrientes em produtos já estabelecidos no mercado, encontram-se, na maioria dos casos, apenas produtos farmacêuticos destinados à suplementação de minerais e vitaminas de interesse. Há, portanto, relativa escassez de produtos alimentícios que possam suprir tal demanda. Nesse contexto, a fortificação está entre as estratégias utilizadas para aumentar a oferta de micronutrientes, tendo como veículos os alimentos industrializados (Dary; Guamuch-Castañeda; Mora, 2023). Quando aliada a técnicas como a microencapsulação, a fortificação pode exercer papel importante no aumento da disponibilidade de micronutrientes para grupos de pessoas que necessitem de maior qualidade nutricional.

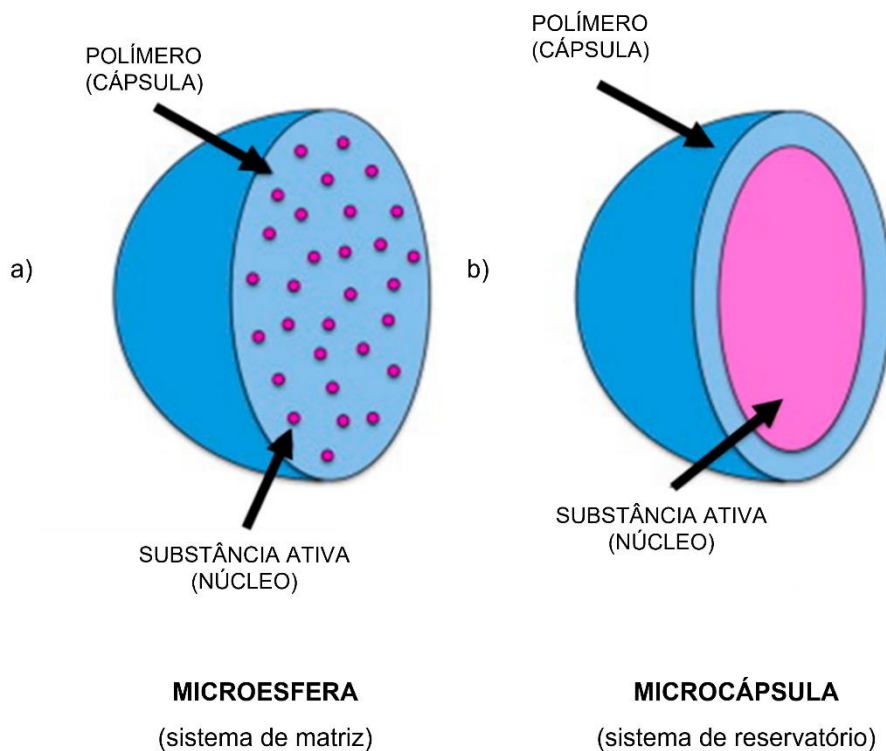
3.6 A microencapsulação

A microencapsulação é uma tecnologia em que pequenos sólidos, líquidos ou partículas de gás (chamados de material do núcleo, ativos, preenchimento, fase interna ou carga útil) são revestidos ou aprisionados em um contínuo filme de material polimérico (chamado de agente encapsulante, material de parede, casca ou transportador), resultando em pequenas partículas (com dimensão entre poucos micrômetros e poucos milímetros). Tal tecnologia fornece uma proteção eficaz do material do núcleo em relação ao ambiente circundante, bem como otimização em termos de aumento de solubilidade, liberação controlada, maior facilidade do manuseio do material presente no núcleo e aumento de biodisponibilidade (Gonçalves; Estevinho; Rocha, 2016; Assadpour; Jafari, 2019).

De maneira mais específica, a morfologia do produto da microencapsulação pode ser dividida em dois grupos: microcápsula, caracterizada por um sistema do tipo reservatório; e microesfera, caracterizada por uma estrutura monolítica (Figura 4). No sistema reservatório (microcápsula), o material encapsulado é totalmente rodeado pelo material de parede. Já no sistema monolítico (microesfera), o material encapsulado encontra-se disperso pela matriz formada pelo material de parede, podendo ser

encontrado também na superfície da micropartícula (Nunes et al., 2015; Ray; Raychaudhuri; Chakraborty, 2016).

Figura 4: Esquema de microesfera (a) e esquema de microcápsula (b).



Fonte: Adaptado de Paulo e Santos (2017).

A microencapsulação de variados compostos bioativos é vantajosa quando se trata da proteção dos mesmos contra condições adversas de processamento e armazenagem, tais como altas temperaturas, alta umidade, elevada concentração de oxigênio, pH e exposição a luz (Jafari, 2017). Além disso, a liberação controlada de compostos de interesse no organismo humano agrega valor aos produtos aos quais os ingredientes microencapsulados são adicionados (Ray; Raychaudhuri; Chakraborty, 2016; Sarabandi et al., 2018).

De acordo com Kharel et al. (2021), a encapsulação de nutrientes como vitaminas lipossolúveis e o ferro, por exemplo, não só os protege contra a degradação, mas tem o potencial de melhorar sua biodisponibilidade por meio de liberação controlada e direcionada no trato gastrointestinal, além de aumentar a vida de prateleira do produto. Ademais, as cápsulas produzidas permitem sua incorporação em matrizes alimentares, provocando aumento de estabilidade térmica e mascaramento de sabores indesejáveis.

Os motivos que levam à encapsulação de ferro são: proteção do ferro de fatores ambientais adversos (exposição ao oxigênio, variações de pH etc.) e durante seu trajeto pelo trato gastrointestinal; mascarar o sabor metálico e reduzir as alterações de cor geradas pelo ferro quando incorporado em alimentos; reduzir o efeito catalisador do ferro sobre a oxidação lipídica; diminuir a precipitação do ferro no estômago; e mesclar diferentes formas de ferro (Durán et al., 2017). Quanto à vitamina A, os principais motivos para sua encapsulação são: melhorar sua solubilidade em água; diminuir sua instabilidade na presença de oxidantes, luz, calor, temperatura e umidade elevadas; e garantir sua liberação controlada, promovendo assim sua liberação no local desejado e otimizando sua absorção (Gonçalves et al., 2016). E, em relação à encapsulação da vitamina D, os objetivos são: superar a barreira de solubilidade entre a vitamina D e a matriz alimentar; proteger a vitamina D dos efeitos da umidade, oxidação, pH, temperatura e estresse mecânico; garantir uma melhor biodisponibilidade por meio de sua liberação controlada; e reduzir seus efeitos em determinados aspectos sensoriais dos alimentos, como aparência e sabor (Maurya et al., 2020).

A coencapsulação, que é a encapsulação de mais de um componente em uma mesma partícula, tem-se mostrado viável no caso de nutrientes, mesmo quando compostos com diferentes polaridades são encapsulados. Foram encontrados alguns estudos com essa temática e diversos nutrientes até o momento. No que diz respeito aos nutrientes foco deste projeto, foram coencapsuladas vitaminas A e C (Liu et al., 2020), vitaminas D e B₁₂ (Bajaj et al., 2021), vitamina C e quercetina (Ji et al., 2021), ferro e vitamina A (Kharel et al., 2021), ferro e vitaminas A, D e C, além de outros micronutrientes (Zhu et al., 2021), e vitaminas B₂, A e E (Sun et al., 2022). Zhu et al. (2021) coencapsularam diversos micronutrientes e avaliaram *in vitro* suas digestibilidades, mas não suas biodisponibilidades. Os próprios autores concluem que ‘a digestão no corpo humano é um processo complexo que precisa ser mais estudado’. Ainda, o ferro foi utilizado somente na forma de sulfato ferroso, não sendo avaliadas diferentes formas do mineral, o que é extremamente relevante para a questão da biodisponibilidade. Por fim, as análises foram feitas nas micropartículas, não levando em consideração uma matriz alimentar, embora os autores discutam os benefícios da fortificação de alimentos em contraste à suplementação alimentar.

A encapsulação de componentes pode ser obtida por meio de diversos métodos físicos, químicos e físico-químicos. O método mais utilizado em alimentos é a secagem

por atomização devido a seu baixo custo e altas taxas de produção (Ray; Raychaudhuri; Chakraborty, 2016).

Os atuais métodos de encapsulação de compostos hidrofílicos se aplicam, também, a compostos hidrofóbicos. Dessa forma, a coencapsulação (encapsulação de mais de um composto em um único sistema) surge como uma técnica promissora no que diz respeito ao “carregamento” de nutrientes (Aditya; Espinosa; Norton, 2017; Ji et al., 2021).

3.6.1 Microencapsulação por *spray drying*

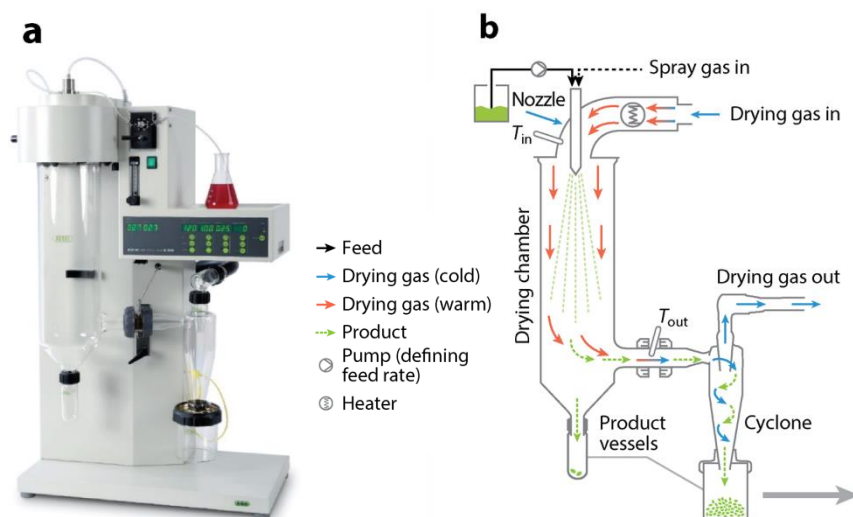
O método de encapsulação por *spray drying* é comum e economicamente adequado, sendo utilizado para encapsular vitaminas, aromas, carotenoides, culturas microbianas, óleos, gorduras, entre outros. Até mesmo ingredientes sensíveis ao calor podem ser encapsulados pelo referido método, visto que sua etapa de secagem dura apenas alguns segundos. Além disso, o método é conveniente por reduzir produtos líquidos ao formato de pó, aumentando a estabilidade, diminuindo custos de armazenagem e transporte e facilitando sua utilização (Di Battista et al., 2017; Assadpour; Jafari, 2019).

O *spray dryer* (Figura 5) é composto pelos seguintes elementos: reservatório de alimentação, bomba de alimentação, bico atomizador, aquecedor e fonte de gás de secagem, câmara de secagem, ciclone para separação das partículas secas e um exaustor provido de filtro para a saída do gás de secagem. Essencialmente, o material a ser seco (geralmente um líquido ou emulsão) é sugado pela bomba de alimentação e passa pelo bico atomizador, sendo pulverizado em pequenas gotículas, as quais entram na câmara de secagem. Ao mesmo tempo, a câmara recebe o ar de secagem (em paralelo ou em contracorrente à alimentação da amostra) o qual, em contato com o produto pulverizado, seca-o em poucos segundos, fazendo com que o mesmo seja depositado no fundo da câmara já como pó. As pequenas partículas obtidas são então sugadas por um ciclone conectado à saída de ar e depositadas em um pote coletor apropriado. Ao mesmo tempo, o ar é direcionado a um filtro para separação de partículas residuais e sai do sistema através de um exaustor (Jafari et al., 2008; Assadpour; Jafari, 2019).

Entre os principais benefícios do uso do *spray dryer* no processo de microencapsulação estão a simplicidade do processo (tanto em relação à facilidade de manipulação de equipamentos quanto à maximização da escala produtiva), a

possibilidade de secagem de substâncias sensíveis ao calor, o desenvolvimento de partículas com liberação controlada de compostos bioativos, a alta eficiência de encapsulação e o aumento de vida de prateleira dos pós obtidos no processo (Assadpour; Jafari, 2019).

Figura 5: Um *spray dryer* (a) Esquema de funcionamento do processo de secagem por *spray drying* (b).



Fonte: Adaptado de Assadpour e Jafari (2019).

Um dos maiores desafios durante a encapsulação por *spray drying* é a obtenção de um bom rendimento e eficiência de encapsulação (Assadpour; Jafari, 2019). Sendo assim, é importante avaliar tais parâmetros ao se trabalhar com esse tipo de secagem.

3.6.2 Materiais de parede utilizados

A escolha do material de parede que será parte da micropartícula é importante, já que ela influenciará diretamente na eficiência do processo de microencapsulação, na estabilidade e na adequação da micropartícula ou microesfera. No caso específico dos alimentos, o material de parede deve possuir grau alimentício, ser biodegradável e ter como característica a formação de uma barreira entre o composto encapsulado e o meio externo. Dentre os materiais mais utilizados encontram-se a goma arábica, os amidos modificados e as maltodextrinas (Costa et al., 2015; Zhang et al., 2015; Pereira et al., 2018). Segundo Akhavan Mahdavi et al. (2016), estes materiais asseguram estabilidade do composto de interesse. Entretanto, Vargas-Muñoz e Kurozawa (2020) explicam que o

emprego de um único material não garante todos os benefícios requeridos para uma boa encapsulação, motivo pelo qual diversos estudos combinam materiais amiláceos e proteínas para melhorar as características dos pós produzidos e a proteção dos materiais bioativos encapsulados (Du et al., 2014; Moser; Souza; Nicoletti Telis, 2017).

Atualmente, utiliza-se uma combinação de proteínas e materiais amiláceos como materiais de parede buscando-se o aumento das propriedades emulsificantes, solubilidade, efeito antioxidante e fluidez do pó produzido (Muzaffar; Kumar, 2016; Moser; Souza; Nicoletti Telis, 2017).

3.6.2.1 Isolado proteico de soja

O isolado proteico de soja (ou proteína isolada de soja), por ser um biopolímero natural com propriedades emulsificantes, apresenta algumas vantagens em relação aos sintéticos, sendo geralmente ser mais barato, ambientalmente mais vantajoso (biodegradável) e obtido por meio de técnicas mais simples de extração, as quais não envolvem compostos químicos complexos (Fayad et al., 2013).

A proteína isolada de soja é obtida da farinha de soja desengordurada, subproduto da extração de óleo de soja, e contém cerca de 90% de proteína em base seca (Sui; Zhang; Jiang, 2021; Feng et al., 2023). A legislação brasileira define que, em base seca, a proteína isolada de soja deve conter no mínimo 88% de conteúdo proteico (g/100g) (Brasil, 2005). Os isolados proteicos de soja são obtidos pela remoção de polissacarídeos insolúveis em água, oligossacarídeos e outros compostos de baixo peso molecular. Flocos ou farinhas desengorduradas tratadas com mínimo calor e umidade são submetidos a tratamento com água e compostos alcalinos em pH de 7 a 8,5. Em seguida, o resíduo insolúvel contendo polissacarídeos insolúveis em água e proteína residual é separado. O extrato proteico tem, então, seu pH ajustado para 4,5, fazendo com que as proteínas se precipitem, separando-as dos açúcares que ainda restavam no meio, por filtração ou centrifugação. O precipitado é, então, lavado, neutralizado e seco (Onayemi; Lorenz, 1978; Singh et al., 2008). Com seu alto teor de proteína (cerca de 90%), a proteína isolada de soja possui também boas aplicações tecnológicas devidas ao seu sabor neutro e capacidade emulsificante, ainda que sua solubilidade não seja tão alta quanto a das proteínas de origem animal (Pelegri; Gasparetto, 2005; O'Flynn et al., 2021). Além disso, a proteína isolada de soja é um ótimo surfactante, o qual reduz a tensão interfacial entre água e óleo, melhorando a estabilidade da emulsão onde é aplicada (Qi et al., 2017).

Em sua estrutura, a proteína isolada de soja possui dois componentes majoritários, os quais representam mais de 80% do total da proteína. São eles a 7S β -conglícina e a 11S glicínina. A primeira é formada por três subunidades (um trímero): alfa, alfa' e β , com peso molecular de 67, 71 e 50 kDa, respectivamente. Ela possui estrutura espacial bastante empacotada e baixa quantidade de pontes dissulfeto e sulfidrilas. A 11S glicínina, por sua vez, é formada por seis subunidades (um hexâmero), cada uma sendo subdividida em uma subunidade ácida (chamada de A, com 37-42 kDa) e uma subunidade básica (denominada B, com 17-20 kDa). Tais subunidades são unidas por uma ponte dissulfeto e também se encontram fortemente empacotadas (Huang et al., 2022; Zhao et al., 2022).

A solubilidade da proteína isolada de soja é afetada por variáveis como dissolução, temperatura, força iônica e pH, sendo que no pH 4,6 apresenta a menor solubilidade (10%) por ser este seu ponto isoelétrico. Sendo uma proteína, a relação entre pH e solubilidade apresenta-se um formato de U, isto é, a proteína isolada de soja apresenta maior solubilidade em qualquer um dos lados do seu ponto isoelétrico, atingindo possivelmente sua maior solubilidade em pH 11 (Söderberg, 2013). Tal comportamento pode ser explicado pela dissociação da estrutura da β -conglícina e glicína em suas respectivas subunidades em ambientes altamente ácidos ou alcalinos, resultando em grande aumento de solubilidade (Peng et al., 2020).

A funcionalidade das proteínas depende da configuração de suas moléculas. As proteínas de soja, por possuírem múltiplos grupos ligados às suas cadeias poliméricas, tais como grupos lipofílicos, polares, apolares, grupos carregados positiva e negativamente, podem associar-se a diferentes compostos, como por exemplo, água e óleo, atuando assim como um agente emulsificante. Além disso, tratamentos mecânicos como agitação podem até mesmo sobrepor-se à relação positiva existente entre as características clássicas de um surfactante e o comportamento das emulsões, otimizando a formação destas (Singh, 2008).

A proteína isolada de soja possui propriedades tecnológicas interessantes do ponto de vista do processamento de alimentos, entre elas a emulsificação, formação de espuma, viscosidade e gelificação (Shao; Lin; Kao, 2016; Xu et al., 2020). Além disso, sob um aspecto industrial, é economicamente mais viável utilizar isolados proteicos de soja em detrimento das proteínas de origem animal (Nishinari et al., 2014). Mais especificamente, quando se trata do processo de secagem em *spray dryer*, ao ser submetida ao ar quente da câmara de secagem, a proteína migra para a interface ar-gotícula, formando-se assim um

filme proteico na superfície das partículas secas. Essa camada dificulta a adesão das partículas de pó dentro da câmara de secagem, aumentando, então, o rendimento do processo (Shi; Fang; Bhandari, 2013; Samborska; Gajek; Kaminska-Dworznicka, 2015).

3.6.2.2 Maltodextrina

As maltodextrinas são misturas de oligo e polissacarídeos obtidas por meio da hidrólise de amido de diferentes fontes botânicas, como milho, milho ceroso e batata, por exemplo. Essa hidrólise pode ser do tipo ácida ou alcalina, sendo que cada um destes processos resulta em maltodextrinas com características próprias em termos de estrutura da molécula e consequentes propriedades tecnológicas. Sua estrutura, formada por monômeros de glicose em números de três até cerca de vinte, apresenta ligações glicosídicas do tipo α -1,4 e α -1,6. As maltodextrinas são comercializadas em forma de pós brancos ou soluções concentradas. Na forma de pó, as maltodextrinas são facilmente dissolvidas em água (Kong et al., 2021; Tiefenbacher, 2017).

Segundo Wilson e Shah (2007), os materiais encapsulantes usados no processo de microencapsulação devem possuir boa capacidade emulsionante, de formação de filme, além de baixa viscosidade. Além disso, o uso de hidrocoloides solúveis em água, como a maltodextrina, é comum. Este polissacarídeo age como uma “casca” durante a encapsulação, garantindo proteção aos compostos bioativos de interesse. Além disso, segundo estudos já conduzidos, ela é capaz de gerar partículas menores quando comparada a gomas e amidos durante o processo de *spray drying*, por conta de sua menor viscosidade (Fernandes; Borges; Botrel, 2014; Ravichandran et al., 2014). Uma menor viscosidade implica na produção de gotículas menores durante a secagem, gerando, assim, partículas também menores. Vitaminas lipossolúveis, por exemplo, são melhor protegidas em partículas de tamanho menor, já que partículas grandes acabam por romper-se mais facilmente, prejudicando o aprisionamento do material encapsulado (Jafari et al., 2008; Salvia-Trujillo et al., 2013).

Considerando as deficiências nutricionais de ferro, vitamina A e vitamina D, a necessidade de combatê-las e a utilização já bastante difundida da técnica de microencapsulação por *spray drying*, este trabalho propôs a coencapsulação daqueles nutrientes, projetando a convergência entre a metodologia aqui empregada e a estratégia de fortificação de alimentos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Os nutrientes foram adquiridos em farmácia de manipulação em São José do Rio Preto/SP, sendo: sulfato ferroso pó seco U.S.P. 40 (Canton, EUA), ferro glicinato quelado *taste free* (Albion Minerals, EUA), vitamina A na forma de acetato de retinol (Xiamen Kingdomway, China), vitamina D na forma de D₃ - colecalciferol (SM Empreendimentos Farmacêuticos LTDA, origem China), vitamina C - ácido ascórbico (SM Empreendimentos Farmacêuticos LTDA, origem China). Os demais ingredientes, óleo de girassol (ADM do Brasil, Brasil), isolado proteico de soja (Ingredientes de Tovani Benzaquen, Brasil) e maltodextrina DE 10 (Get do Brasil, Brasil) foram adquiridos no comércio local ou diretamente com o fabricante.

4.2 Métodos

4.2.1 Preparo das emulsões para coencapsulação dos nutrientes e secagem por *spray dryer*

Foram trabalhadas duas linhas de coencapsulação, sendo a diferença entre elas a forma de ferro a ser encapsulada, uma com ferro quelado e outra com sulfato ferroso:

- 1) coencapsulação de ferro quelado + retinol + colecalciferol
- 2) coencapsulação de sulfato ferroso + ácido ascórbico + retinol + colecalciferol

A escolha do ferro quelado justifica-se por ser este um ferro de maior biodisponibilidade em relação ao sulfato ferroso, mas de custo mais elevado. Já a escolha do sulfato ferroso justifica-se por ainda ser este um composto de referência para programas governamentais de suplementação, sendo também de menor custo. Para compensar a menor biodisponibilidade do sulfato ferroso, ácido ascórbico também foi coencapsulado, pelo fato de ser este um composto que favorece a absorção do ferro não-heme, no caso o sulfato ferroso, no intestino delgado. As escolhas do retinol e do colecalciferol (vitamina D₃) foram feitas pelo fato de serem as formas mais ativas das vitaminas A e D no organismo humano, respectivamente, além de o retinol ser mais absorvível do que outras formas da vitamina A. Neste trabalho, “retinol” e “vitamina A”

serão tratados como sinônimos e serão intercambiáveis ao longo do texto, assim como “colecalfiferol” e “vitamina D”; e “ácido ascórbico” e “vitamina C”.

A definição das quantidades de nutrientes foi pensada e calculada levando-se em consideração o intuito de fortificar *snacks* expandidos, produto-alvo definido nas etapas de concepção do presente projeto. Os *snacks* seriam, futuramente, oferecidos a crianças em idade pré-escolar, público de atenção quando se trata de deficiências de micronutrientes, em especial de ferro. Entretanto, posteriormente, optou-se por generalizar a aplicação das formulações propostas para alimentos em geral, porém as quantidades de cada nutriente continuaram baseadas na fortificação de *snacks*, já que os testes (ver Apêndice A – Testes preliminares) já haviam sido conduzidos. Assim, os critérios utilizados foram: 1) fortificação de 25 g de *snacks* expandidos (porção recomendada segundo Brasil, 2020) com 10 mg de ferro, 600 µg de retinol, 5 µg de colecalfiferol (quantidades referentes a 100% das recomendações para as faixas etárias de 4-8 anos e 9-13 anos e ambos os sexos segundo DRI, 2005) e 25 mg de ácido ascórbico (quantidade recomendada por OMS, 2004 para favorecer a absorção do ferro não heme); 2) adição de 1 g de micropartícula a 25 g de *snacks* expandidos; 3) porcentagem real de cada nutriente na matéria-prima adquirida em farmácia de manipulação (por exemplo, em 100 g de ferro quelado comprado como tal, a porcentagem de ferro é em torno de 20%, quantidade ainda que é variável e, dessa forma, atestada em laudo do fabricante). Os laudos com os percentuais dos nutrientes nas matérias-primas constam no ANEXO A e as quantidades dos nutrientes adicionadas estão na Tabela 1.

Tabela 1: Componentes das formulações com ferro quelado e com sulfato ferroso para o preparo das emulsões.

Componente	Formulação com ferro quelado		Formulação com sulfato ferroso	
	g	%**	g	%
Água	54,10	56,00	54,10	56,39
Maltodextrina	34,10	35,30	34,10	35,55
Óleo de girassol	5,00	5,18	5,00	5,21
Ferro quelado*	2,50	2,59	-	-
Sulfato ferroso*	-	-	0,57	0,60
Ácido ascórbico*	-	-	1,26	1,31
Isolado proteico de soja	0,90	0,93	0,9	0,94
Retinol*	0,19	0,20	0,19	0,20
Colecalciferol*	0,00024	0,00025	0,00024	0,00025

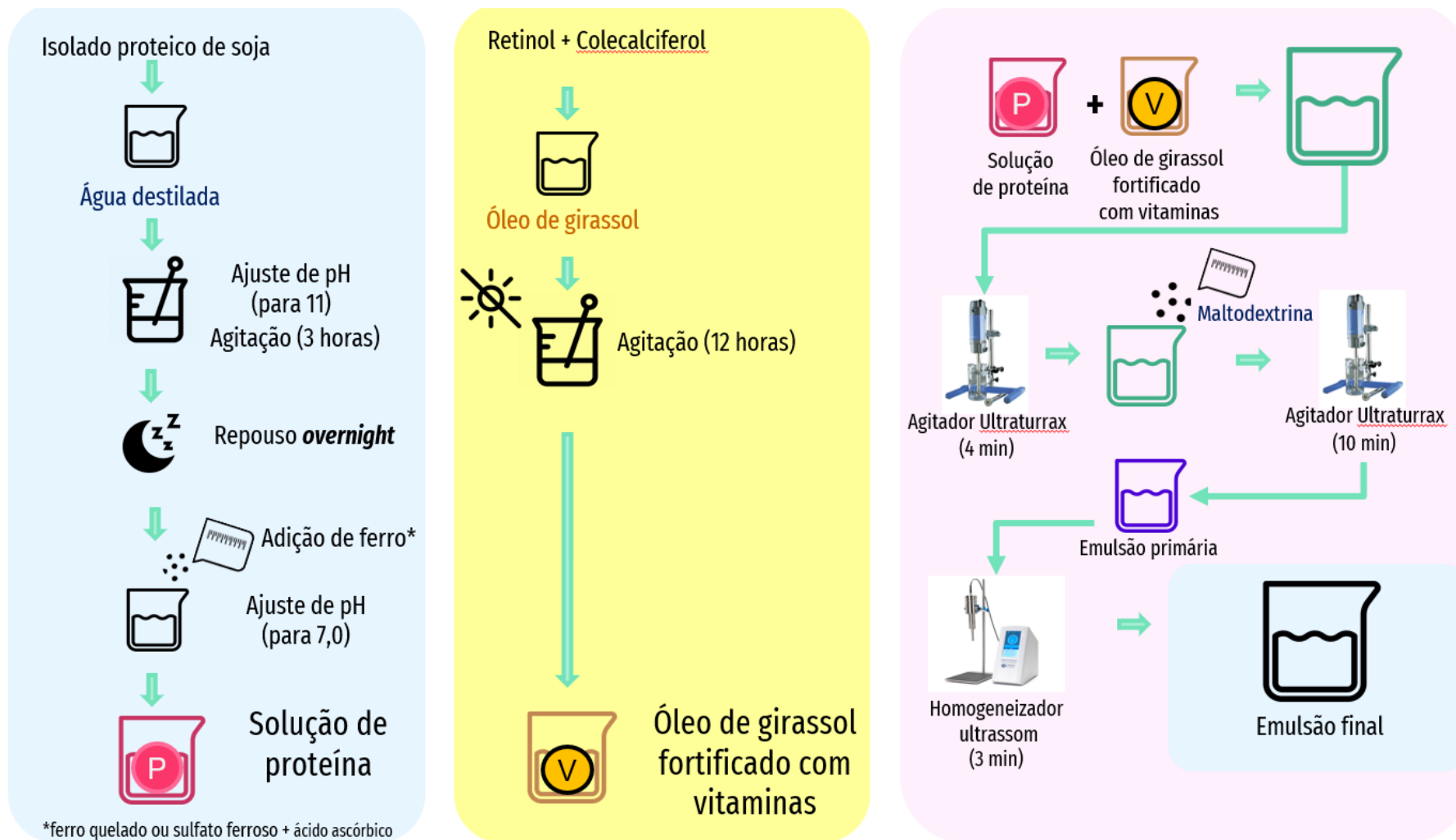
* As quantidades de nutrientes adicionadas dizem respeito às matérias-primas, não à porcentagem real de cada nutriente na matéria-prima.

** A porcentagem diz respeito à soma total de todos os ingredientes.

Para proceder com a coencapsulação, foram preparadas emulsões do tipo óleo em água (O/W) para posterior secagem por *spray dryer*, segundo metodologia proposta por Locali-Pereira et al. (2021), com alterações. A Tabela 1 mostra as quantidades dos componentes de cada uma das formulações e a Figura 6 mostra o esquema de preparo das emulsões.

O isolado proteico de soja foi previamente dissolvido em água destilada. A solução foi agitada com agitador magnético pelo período de 3 h até completa dissolução. O pH da solução de proteína foi ajustado para 11 (adicionando-se ácido acético), durante a agitação, de modo a aumentar a solubilidade do isolado proteico de soja. Após a agitação, a solução foi mantida em repouso *overnight*. Em seguida, foi adicionada a fonte de ferro (ferro quelado ou sulfato ferroso com ácido ascórbico) e o pH final da solução de isolado proteico de soja foi ajustado para 7,0 (ver APÊNDICE A sobre testes preliminares).

Figura 6: Esquema do preparo das emulsões a serem secas em *spray dryer*.



Fonte: Autor (2023).

Na sequência, os nutrientes lipofílicos (retinol e colecalciferol) foram adicionados ao óleo de girassol e a mistura mantida sob agitação suave à temperatura ambiente e protegida da luz por 12 h para completa solubilização. Uma emulsão primária foi obtida pela adição do óleo de girassol fortificado à solução de isolado proteico de soja utilizando agitador Ultra Turrax® (T-25, IKA, Alemanha) a 18.000 rpm durante 4 min. Em seguida, à emulsão foi adicionada solução de maltodextrina, mantendo-se a rotação a 18.000 rpm por mais 10 min. Para a produção da emulsão final, a emulsão primária adicionada de maltodextrina foi sonicada (240 W, 20 kHz) por 3 min com a utilização de ultrassom Sonic Ruptor 4000 (Omni International, USA), de modo a diminuir o tamanho das gotas de óleo. A sonda do ultrassom foi posicionada aproximadamente 1 cm abaixo da superfície da emulsão.

As emulsões foram secas em um *spray dryer* provido de atomizador do tipo duplo-fluido (B-290, Buchi, Suíça) equipado com bico atomizador de 0,7 mm de diâmetro. O sistema foi alimentado com as emulsões por uma bomba peristáltica. As condições operacionais para o *spray dryer* foram as seguintes: temperatura de entrada do ar de secagem de 140 °C, taxa de alimentação da emulsão de 2 mL/min, vazão de ar de atomização de 819 L/h e taxa de sucção do ar de secagem de 35 m³/h. A temperatura de saída da câmara de secagem foi monitorada e ficou em torno de 98 °C. Após o término da secagem, as micropartículas foram coletadas e armazenadas em sacos de polietileno tereftalato (PET) metalizados do tipo *stand up pouch* para proteção da luz e mantidos em dessecador, à temperatura ambiente até o momento das análises.

Foi realizada apenas uma repetição de todo o processo (preparo da emulsão e secagem) para cada tipo de ferro utilizado, uma vez que foi obtida a quantidade necessária de micropartículas para realização de todas as análises.

4.2.2 Rendimento da secagem

O rendimento da secagem foi calculado dividindo-se a massa do pó obtido ao final da secagem pela massa dos componentes secos utilizados, expressando-se o resultado em porcentagem.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\sum \text{componentes secos (g)}}{\text{massa de pó obtida (g)}} \times 100$$

4.2.3 Caracterização das micropartículas

4.2.3.1 Umidade e atividade de água (aW)

A umidade foi determinada gravimetricamente, por secagem de 1 g de pó em estufa de circulação forçada a 105 °C (AOAC, 2005). A atividade de água (aW), por sua vez, foi medida em um medidor de atividade de água a 25 °C. Ambas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.3.2 Distribuição do tamanho de partícula

A distribuição do tamanho de partícula foi determinada em triplicata, em instrumento de difração de luz laser (Malvern Mastersizer Hydro 2000MU). Uma pequena quantidade de pó foi dispersa em álcool etílico 99,5% com agitação. A distribuição do tamanho das partículas foi monitorada durante cada medição sucessiva até que as leituras se tornassem constantes (Gomes e Kurozawa, 2020). O diâmetro médio foi expresso como o diâmetro de *Brouckere* (D 4,3). Além disso, foi calculado o *span*, o qual corresponde à medida da largura da distribuição dos tamanhos das partículas, utilizando-se a fórmula:

$$Span = \frac{D_{90}-D_{10}}{D_{50}}$$

onde D10, D50 e D90 são, respectivamente, diâmetros a 10%, 50% e 90% do volume acumulado (Jafari; He; Bhandari, 2007).

4.2.3.3 Características morfológicas

As características morfológicas das micropartículas foram avaliadas por Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) com Detector de Energia Dispersiva de raios X, MEV/EDS Leo Electron Microscopy/Oxford, Modelo Leo 440i, Modelo do EDS: 6070, (Cambridge, Inglaterra), utilizando-se uma tensão de 10 kV, corrente de 50 pA, detector SE, em aplicações de 2.000 e 5.000×.

4.2.3.4 Retenção de nutrientes

A retenção de nutrientes foi determinada como o percentual de composto nutricional aprisionado nas micropartículas após o processo de revestimento em relação aos conteúdos adicionados na formulação da emulsão. Para isso, o conteúdo dos diferentes compostos de interesse foi determinado conforme os seguintes métodos:

- 1) ferro por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (González et al., 2017), com adaptações;
- 2) retinol por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), segundo Arnaud et al. (1991) adaptado por Teles et al. (2018);
- 3) colecalciferol por HPLC, segundo Neyestani et al. (2007) e Olkowski et al. (2003), adaptados por Simões et al. (2016);
- 4) ácido ascórbico por HPLC (Robitaille; Hoffer, 2016).

Para o ferro, aproximadamente 500 mg de cada amostra foram digeridos utilizando seis mililitros de HNO_3 (7 mol.L⁻¹) e dois mililitros de H_2O_2 30% (v/v) em frascos PFA fechados. A curva de aquecimento do microondas foi realizada como segue: (i) 20 minutos para atingir 160 °C; (ii) manutenção em 160 °C por 20 minutos. A temperatura foi controlada por um sensor de temperatura interno. Depois da digestão, os frascos foram deixados em temperatura ambiente até o seu resfriamento e as soluções-branco foram transferidas para um balão volumétrico de 14 mililitros, completando-se o volume com água deionizada. Posteriormente, as análises foram realizadas em espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) Thermo Scientific, modelo iCAP 6500 com vista axial, *software* Thermo iTeve Analyst versão 1.2.0.30. As amostras foram diluídas em um fator de 10 e 100 vezes para as leituras no equipamento. A curva analítica foi preparada a partir de uma solução padrão de referência de Fe de 1000 mg/L (AccuStandard, New Haven, EUA), na faixa de concentração de 0,01 a 2,0 mg/L em HNO_3 1% v/v. A curva analítica apresentou um fator de correlação acima de 0,9999. Os parâmetros instrumentais utilizados foram: radiofrequência 40 MHz, potência de radiofrequência (RF) 1,15 kW, vazão do gás do plasma 12,0 L min⁻¹, vazão do gás auxiliar 0,5 L min⁻¹, vazão do gás de arraste 0,7 L min⁻¹, tempo de estabilização 10 s, tocha quartzo, vista axial, linha de emissão Fe 259,940 nm. A análise foi conduzida em triplicata.

Para as vitaminas A e D, 500 mg de amostra foram pesadas e adicionadas a um tubo de extração de 10 mL com tampa. Quatro mililitros de uma mistura solvente de acetona-clorofórmio (30:70) foram adicionados ao tubo, sendo este submetido a jato de N₂, a fim de proteger as vitaminas da exposição ao ar, e selado. A mistura foi agitada em misturador do tipo vórtex por um minuto, seguido de repouso por 5 min e agitado novamente por 1 min. Após centrifugação a 4.000 rpm por 5 min, 1 mL do sobrenadante foi transferido para um tubo de 1,5 mL e evaporado sob nitrogênio para remoção do solvente. O resíduo foi dissolvido em 0,3 mL n-butanol antes da injeção no cromatógrafo (fase móvel: metanol a fluxo de 1,5 mL/min; comprimento de onda de detecção de 290 nm; coluna Shim-pack C18 VP-ODS 250L x 4,6 (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Para análise da vitamina C, 500 mg de amostra foram dissolvidas em água pura (em banho com ultrassom a 60 °C durante um ciclo de 30 min) e injetadas imediatamente no cromatógrafo. Após a sonicação, as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente. Antes da análise cromatográfica, todas as amostras foram filtradas através de seringa com filtros de 0,45 µm e depositadas em tubos de vidro. A separação cromatográfica foi realizada em coluna Zorbax Eclipse XDB C18, 3,0 x 150 mm, com partículas de 5 µm (Agilente, Santa Clara, USA). O gradiente de eluição foi realizado com (A) água contendo 0,1% de ácido trifluoroacético e (B) acetonitrila contendo 0,1% de ácido trifluoroacético, a um fluxo de 1,3 mL/min. As condições do gradiente foram: 0 min B 0%, 5 min B 3%, 6 min B 15%, 10 min B 20%, 12 min B 0% e 12 min B 0 % para reequilíbrio. O forno da coluna foi mantido a 25 °C.

4.2.4 Análise da estabilidade das micropartículas

Considerando que as micropartículas serão utilizadas para fortificar alimentos, a estabilidade das micropartículas foi avaliada durante quatro meses, nos tempos zero (logo após a obtenção das micropartículas no *spray dryer*), dois (apenas para as análises de umidade, atividade de água e retenção de vitaminas A, D e C) e quatro meses. Para isso, as micropartículas foram armazenadas em embalagem de polietileno tereftalato (PET) metalizado do tipo *stand up pouch* para proteção da luz, à temperatura ambiente e sem modificação de atmosfera, dentro de dessecador. As mesmas características descritas na seção 4.2.3 foram avaliadas.

Salienta-se que a análise de distribuição do tamanho de partícula não foi realizada no tempo dois meses pela dificuldade logística e de custo do envio das amostras para o

local de análise. Para a análise de ferro, foi inicialmente considerado que os tempos zero e quatro meses também seriam suficientes para obter os dados necessários em termos de retenção, porém a primeira análise (tempo zero) foi feita pelo método de ICP OES, e segunda (tempo quatro meses) foi feita pelo método de espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS), por questão do custo elevado por ICP OES. Assim, ficaria inviável a comparação dos resultados. Portanto, optou-se por apresentar apenas a análise inicial, visto que o elemento ferro contido nas amostras não seria perdido com a passagem do tempo.

4.2.5 Análise dos dados

As médias das características das micropartículas, quando analisadas no tempo zero, dois meses e quatro meses, foram comparadas por meio de análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey. Quando as análises foram realizadas apenas no tempo zero e quatro meses, as médias foram comparadas por meio do teste t de Student para amostras pareadas. Foi utilizado nível de significância de 5% em todas as análises e o programa Statistica 7.0 (StatSoft Inc., USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por questão de fluidez, a caracterização e a estabilidade das micropartículas serão tratadas em conjunto nesta seção, principalmente devido às análises estatísticas.

5.1 Rendimento da secagem

O rendimento de secagem foi de 72 e 64% para a formulação com ferro quelado e com sulfato ferroso, respectivamente. De acordo com Bhandari, Datta e Howes (2007), um rendimento maior que 50% é considerado ótimo para secagem em *spray dryer*.

5.2 Caracterização das micropartículas

5.2.1 Umidade e atividade de água (aW)

A Tabela 2 mostra os valores de umidade e atividade de água (aW) para os tempos zero, dois e quatro meses. Para a formulação com ferro quelado, houve um aumento de umidade ao longo dos tempos testados, variando de 4,7 a 5,0%. Já para a formulação com sulfato ferroso, a umidade apresentou aumento do tempo zero para o tempo de dois meses (de 4,9 para 5,7%), mas diminuição deste para o tempo de quatro meses, passando a 5,4%. Por esta ter sido uma oscilação pequena, sugere-se que seja fruto dos procedimentos operacionais da análise.

Em relação à aW houve, para a formulação com ferro quelado, diminuição do tempo zero (0,33) para o tempo de dois meses (0,31), mantendo-se esta formulação estável até o final do estudo. Isso indica que a umidade relativa no interior da embalagem manteve-se estável durante o período estudado. No caso da formulação com sulfato ferroso, houve aumento progressivo da atividade de água ao longo do período de armazenamento, partindo de 0,28 e terminando com 0,30.

Verifica-se que a variação de aW ao longo do tempo de estudo foi pequena. Alguma oscilação pode ocorrer devido à abertura da embalagem para coleta de amostras e variações discretas de temperatura, por exemplo.

Tabela 2: Umidade e atividade de água das micropartículas com ferro quelado e com sulfato ferroso nos tempos zero (t_0), dois meses (t_2) e quatro meses (t_4).

Umidade (%)				Atividade de água		
Amostra	t_0	t_2	t_4	t_0	t_2	t_4
Ferro quelado	4,7 ^c (0,0)	4,9 ^b (0,0)	5,0 ^a (0,0)	0,33 ^a (0,004)	0,31 ^b (0,008)	0,31 ^b (0,007)
Sulfato ferroso	4,9 ^c (0,0)	5,7 ^a (0,0)	5,4 ^b (0,0)	0,28 ^c (0,005)	0,29 ^b (0,005)	0,30 ^a (0,008)

Média (desvio-padrão); n = 3.

Letras diferentes na mesma linha indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados encontrados evidenciam boa estabilidade em termos microbiológicos e físico-químicos, principalmente a estabilidade oxidativa. Segundo EMBRAPA (2010), o conteúdo de água (umidade) presente em alimentos é o principal fator relacionado à degradação do ponto de vista microbiológico e de alterações por reações químicas e enzimáticas. De maneira geral, quanto menor este conteúdo, melhor será a conservação do alimento. Não obstante, a atividade de água é um indicador complementar da estabilidade do alimento, visto que se trata de um atributo que mede a água disponível para as reações mencionadas. Usualmente, valores de a_w abaixo de 0,83 são considerados o patamar mínimo para crescimento de bactérias patogênicas (Sperber, 1983). Além disso, para valores de $a_w < 0,3$, atinge-se um estado chamado de zona de absorção primária, no qual há forte ligação das moléculas de água à matriz alimentar. Esta ligação impossibilita a utilização da água em reações, levando-as a terem velocidades próximas de zero, bem como ausência de desenvolvimento de microrganismos (EMBRAPA, 2010; Shishir; Chen, 2017).

Além disso, atividade de água e umidade são determinantes em micropartículas produzidas por secagem em *spray* no que diz respeito, entre outros parâmetros, à estabilidade de armazenamento dos pós produzidos. Ao reduzir a umidade das partículas, é possível minimizar a aglomeração e formação de rachaduras, ocorrência indesejada no tocante à armazenagem tanto do pó, quanto do produto no qual ele possa ser adicionado. A manutenção do conteúdo de umidade em patamares menores do que 6% é, portanto, muito importante no armazenamento por longos períodos (Bajac et al., 2022).

Nota-se que todos os resultados colhidos para atividade de água encontram-se muito próximos (formulação com ferro quelado, $\sim 0,31$) ou iguais (formulação com

sulfato ferroso, $\sim 0,30$) aos limiares mencionados acima, indicando a produção um pó estável em termos deste atributo, no qual o desenvolvimento de microrganismos e reações físico-químicas são bastante desfavorecidos. Aliado a isso, a umidade das amostras não ultrapassou os 6%, o que sugere que os pós produzidos poderiam ser armazenados por um período de, no mínimo, quatro meses.

5.2.2 Distribuição do tamanho de partícula

A distribuição do tamanho de partícula é parâmetro vital nas mais diversas aplicações do pó em escala industrial (Oti; Offia-Olua; Ukom, 2024). Na mistura de ingredientes em pó para formulações alimentícias, um possível uso para as micropartículas produzidas neste trabalho, é importante avaliar o tamanho de partícula para garantir a produção satisfatória de alimentos com textura, sabor e qualidade desejáveis (Shenoy et al., 2015).

O diâmetro de *Brouckere* ($D[4,3]$) é apresentado na Tabela 3. Ao longo dos quatro meses de ensaio, houve aumento de 92,26 μm no diâmetro das micropartículas com ferro quelado e diminuição de 10,46 μm no caso das partículas com sulfato ferroso. O referido aumento para a formulação com ferro quelado corrobora a formação de aglomerados de partículas para este pó, a ser abordada na Seção 5.2.3.

A Tabela 3 traz, ainda, o valor de *span* e a moda. O *span* corresponde à medida da largura da distribuição dos tamanhos das partículas, ou seja, quanto mais homogênea a distribuição, menor será o valor de *span*. A distribuição do tamanho de partícula dos pós analisados foi unimodal para ambas as amostras no tempo zero (Figura 7), com um pico em torno de 18 μm para a formulação com ferro quelado e um pico em torno de 40 μm para a formulação com sulfato ferroso. A moda, importante parâmetro de análise da distribuição do tamanho de partícula, corresponde ao tamanho de partícula com maior frequência na distribuição, representada pelo ponto mais elevado do gráfico. Após quatro meses, a formulação com ferro quelado apresentou distribuição bimodal, com valores de 30 e 275 μm , indicando, assim, predominância destes dois tamanhos de partícula. Esse comportamento sugere a formação de aglomerados de partículas para este pó (ver seção 5.2.3). Para o mesmo tempo, a formulação com sulfato ferroso manteve o comportamento unimodal, porém sua moda diminuiu, passando a ter o valor em torno de 22 μm .

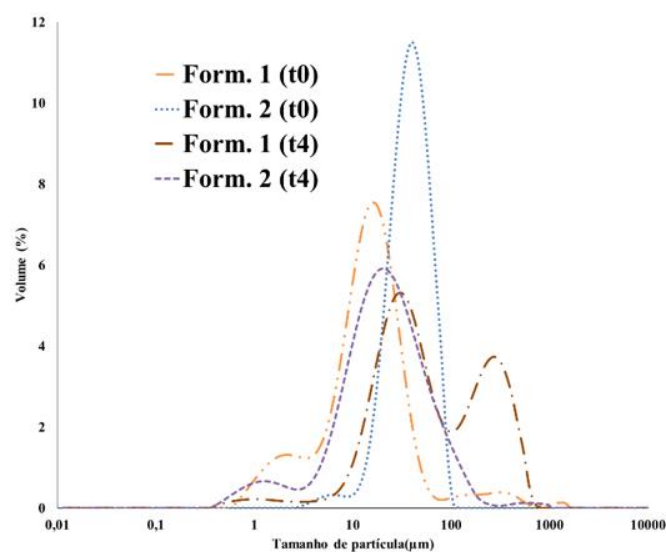
Tabela 3: Valores do diâmetro de Brouckere (D[4,3]), span e moda para a formulação com ferro quelado e formulação com sulfato ferroso nos tempos zero e quatro meses.

Amostra	D (4,3) (μm)		Span		Moda (μm)	
	t0	t4	t0	t4	t0	t4
Formulação com ferro quelado	20,46 ^b (3,29)	112,72 ^a (4,22)	2,39 ^b (0,10)	6,68 ^a (0,21)	18	30 e 275
Formulação com sulfato ferroso	43,50 ^a (0,93)	33,04 ^b (1,45)	1,22 ^b (0,03)	3,20 ^a (0,52)	40	22

Média (desvio-padrão); n = 3.

Letras diferentes na mesma linha indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste t de Student ($p \leq 0,05$).

Figura 7: Distribuição do tamanho de partícula para as formulações com ferro quelado (formulação 1) e com sulfato ferroso (formulação 2) nos tempos zero (t₀) e quatro meses (t₄).



Fonte: Autor (2024).

Para ambas as amostras, o intervalo de distribuição (*span*) no tempo inicial foi pequeno (2,39 e 1,22 μm para as formulações com ferro quelado e sulfato ferroso, respectivamente), aumentando para 6,68 para a formulação com ferro quelado e 3,20 para a formulação com sulfato ferroso após o armazenamento por quatro meses. Ainda que tenha havido leve aumento estatisticamente significativo para ambas as amostras, o intervalo manteve-se pequeno, o que indica homogeneidade no processo de produção das

micropartículas por *spray drying*. Este parâmetro está diretamente ligado à uniformidade na distribuição do tamanho de partícula (Gaudel et al., 2023).

Alguns autores encontraram relação positiva entre o tamanho de partícula e eficiência da encapsulação, reportando que quanto maior o tamanho de partícula, melhor a retenção do ingrediente ativo e menor a quantidade de óleo na superfície da micropartícula (Fang et al., 2019). Por outro lado, alguns autores não evidenciaram nenhum efeito do tamanho de partícula na retenção do óleo, atribuindo este efeito à alimentação do *spray dryer* com alto teor de sólidos, somente. Além disso, outros parâmetros, como o tamanho das gotículas na emulsão, também podem exercer efeito na retenção, concluindo que tamanho menores de gotículas na emulsão geram tamanhos maiores de micropartículas e, em consequência, maior proteção e controle da liberação do material do núcleo (Buffo, 2002).

De acordo com Jafari et. al (2008), estudos encontraram um tamanho “ótimo” de partícula: tamanhos no intervalo de 2,4 a 6,40 µm exibiram boa retenção de óleo, variando entre 54,7 e 95,5%. Nota-se que ambas as formulações apresentaram tamanhos fora deste intervalo, o que pode explicar a perda de nutrientes explicada na Seção 5.3.

5.2.3 Características morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

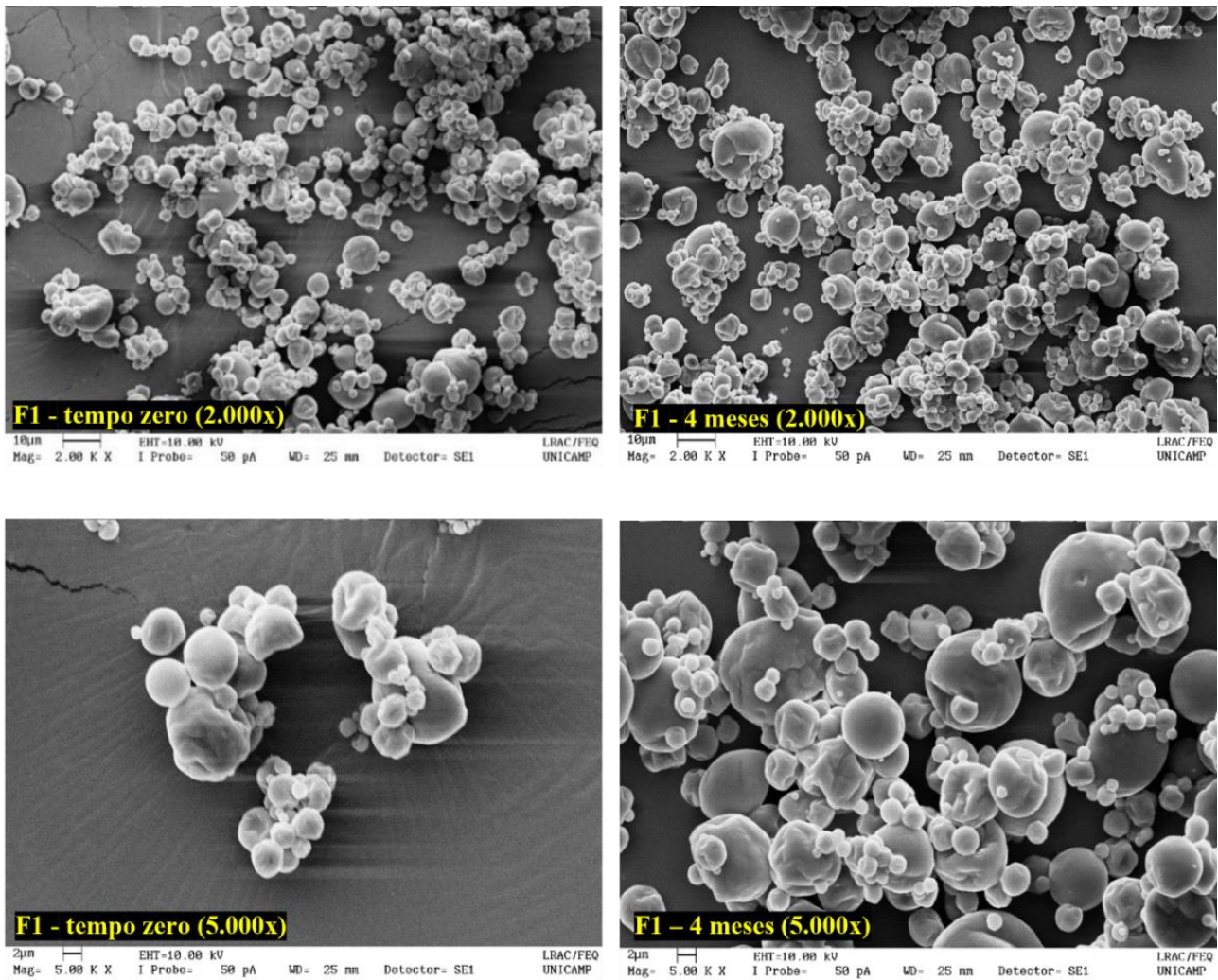
As Figuras 8 e 9 exibem, respectivamente, as imagens das micropartículas da formulação com ferro quelado e com sulfato ferroso. As partículas apresentam formato esférico irregular, de superfície majoritariamente lisa, porém com grau de rugosidade leve. As ranhuras superficiais nas micropartículas devem-se à desidratação do filme interfacial formado pela proteína e polissacarídeo durante a secagem e resfriamento das gotículas/partículas (Fang et al., 2019). As imagens não mostram, em sua maior parte, rachaduras. Sabe-se que a ausência de rachaduras é um fator que contribui para a preservação do material do núcleo nas micropartículas. As moléculas de proteína apresentam relativa flexibilidade pela sua capacidade de formação de filme na superfície da micropartícula, o que provoca encolhimento, mas também aumento da dureza na superfície de sua estrutura, sem provocar ruptura (Muzaffar; Kumar, 2016). As partículas parecem-se com aquelas observadas em outros trabalhos da mesma natureza (Locali Pereira; Gonçalves Cattelan; Nicoletti, 2019; Ravichandran et al., 2023).

Além disso, é possível observar micropartículas consideravelmente aglomeradas. A aglomeração é um fenômeno relacionado, entre outros fatores, ao conteúdo de

maltodextrina. Zhang e colaboradores (2024) reportaram que conteúdos de maltodextrina maiores do que 15% (b. s.) resultaram na formação de aglomerados e até mesmo flocos na secagem em *spray dryer* devido à alta higroscopicidade desse polissacarídeo. No presente trabalho, a utilização de cerca de 35% de maltodextrina pode ter contribuído para a formação dos aglomerados evidenciados. Além do conteúdo de maltodextrina no material de parede, a umidade, o tamanho e formato das partículas influenciam em sua coesividade. Sabe-se que quanto menores as partículas, maior será sua área superficial por unidade de massa, aumentando, assim, o número de pontos de contato passíveis de interação e união entre elas. De maneira oposta, quanto maiores as cápsulas, menor será a quantidade de pontos de contato que possibilitariam a interação entre as estruturas, resultando em menor coesividade do pó produzido. Adicionalmente, superfícies rugosas e com dobras oferecem menor área de contato e, portanto, menor aglomeração quando comparadas a superfícies lisas e sem dobras (Muzaffar; Kumar, 2016; Zhang et al., 2020). Neste trabalho, os tamanhos de partícula encontrados (para a formulação com ferro quelado, 18 µm no tempo zero e entre 30 e 275 µm no tempo quatro meses; e para a formulação com sulfato ferroso, 40 µm no tempo zero, passando a 22 µm após quatro meses) (Tabela 3) são semelhantes aos encontrados por Zhang e colaboradores (2020), os quais obtiveram seus maiores resultados de coesividade para formulações com pouca ou nenhuma quantidade de isolado proteico de soja. É importante lembrar que no presente estudo o percentual de isolado proteico de soja empregado foi de apenas 0,9% (em proporção, há maior quantidade de maltodextrina, portanto), conforme a Tabela 1 (~35% de maltodextrina).

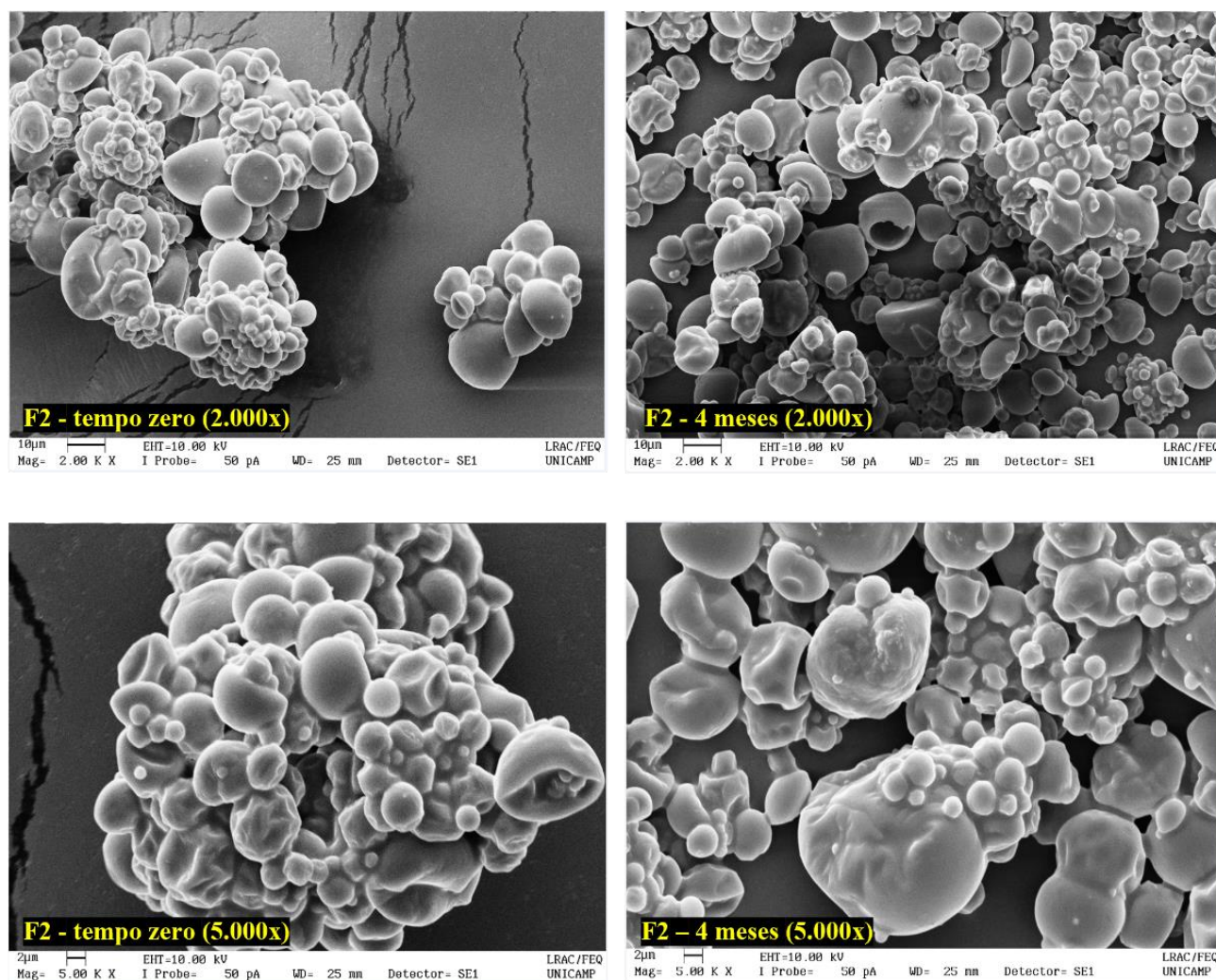
Assim, embora o índice de coesividade entre as partículas não tenha sido efetivamente medido no presente estudo, a aglomeração vista nas imagens pode ser consequência da quantidade de maltodextrina das formulações e tamanho das partículas produzidas, aliados à sua configuração morfológica, isto é, majoritariamente lisas e sem dobras. É importante notar que, após o armazenamento por quatro meses, foi observada a presença de algumas das micropartículas quebradas (Figura 10). Analisando as imagens é possível perceber, porém, que essas partículas aparecem de modo bastante pontual, sendo razoável assumir que, embora presentes, as partículas rompidas não comprometeriam a retenção dos nutrientes empregados neste trabalho.

Figura 8: Imagens obtidas por MEV (aumento de 2.000 e 5.000x) para a formulação com ferro quelado (F1).



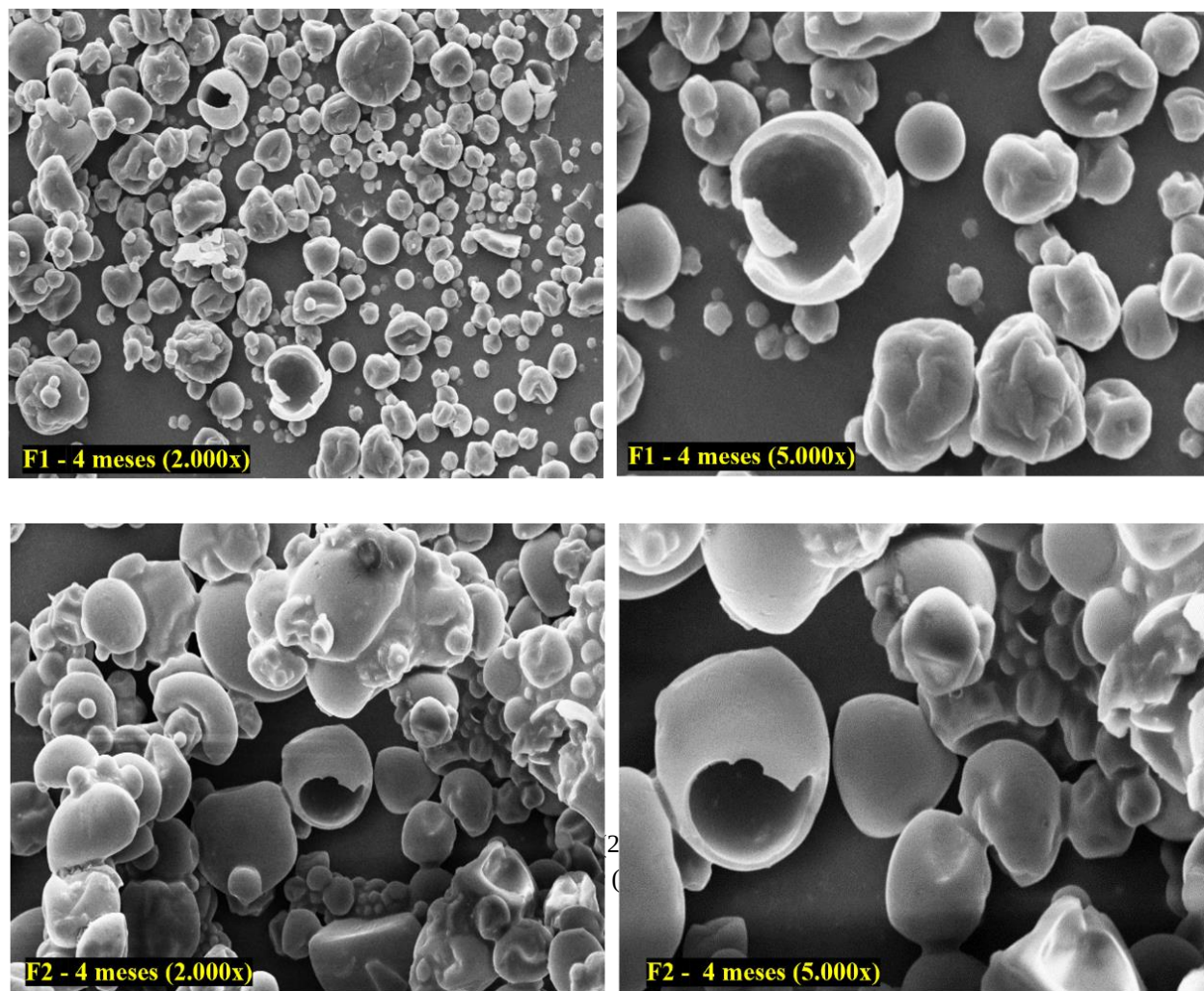
Fonte: Autor (2024).

Figura 9: Imagens obtidas por MEV (aumento de 2000 e 5000×) para a formulação com sulfato ferroso (F2).



Fonte: Autor (2024).

Figura 10: Algumas micropartículas rompidas após quatro meses. Formulação com ferro quelado (F1) e sulfato ferroso (F2), aumentos de 2.000 e 5.000× em MEV.



Fonte: Autor (2024).

5.3 Retenção de nutrientes

5.3.1. Ferro

A Tabela 4 mostra a quantificação do ferro no tempo zero. Houve melhor retenção do ferro nas micropartículas com ferro quelado (45%) em relação às micropartículas com sulfato ferroso (23%). Nimbkar et al. (2023), em sua pesquisa de microencapsulação pelo método de *spray drying*, encontraram retenção variando de 80 a 90%. Sabe-se que a retenção se relaciona diretamente com o material de parede utilizado, bem como com as condições de secagem empregadas. Um resultado acima de 70% é esperado para qualquer composto quando se utiliza o método de secagem em questão (Buchi, 2019; Pratap-Singh; Leiva, 2021).

A quantidade total de ferro foi avaliada somente no tempo zero, uma vez que o conteúdo deste micronutriente por grama de amostra não é passível de alteração em termos totais. Sabe-se que a habilidade do ferro em ganhar ou perder elétrons influencia sua solubilidade e consequente capacidade de absorção no intestino delgado. Em alimentos, o ferro encontra-se predominantemente em sua forma não-heme (Fe^{3+}), presente, por exemplo, em produtos vegetais e alimentos fortificados. Trata-se da forma menos absorvível deste elemento. O ferro heme (Fe^{+2}), por sua vez, é mais biodisponível, mas só pode ser encontrado em carnes e derivados, assim como em alimentos fortificados. Tratando-se de otimização da ingestão e absorção de ferro, é muito importante que se promova a manutenção do ferro neste estado (Baldelli et al., 2023).

Tabela 4: Quantidade de ferro (tempo zero) na formulação com ferro quelado e com sulfato ferroso.

Amostra	Quantidade. adicionada/esperada (mg de ferro/g de micropartícula)	Concentração (mg de ferro/g de micropartícula)	Retenção (%)
Ferro quelado	10	4,50 (0,47)	45
Sulfato ferroso	10	2,25 (0,50)	23

Média (desvio-padrão); n = 3.

Nota-se que, embora a quantidade de ferro adicionada às emulsões seja a mesma para ambas as formulações, a retenção de ferro para a formulação com sulfato ferroso é praticamente a metade da retenção para a formulação com ferro quelado. É possível que, no momento da preparação da emulsão da formulação com sulfato ferroso, parte do

sulfato ferroso não tenha sido completamente dissolvida em água e tenha se depositado no fundo do béquer, tendo em vista a diferença de solubilidade entre este composto e o ferro quelado: 32,0 g/100 ml de água para o sulfato ferroso contra 59,0 g/100 de água para o ferro quelado (EPA, 2008; CETESB, s.d.). No entanto, sempre foi tentado aproveitar ao máximo o conteúdo residual no béquer.

Conforme explicado na seção 4.2.3.4, o ferro foi analisado apenas no tempo zero por mudança do método inicialmente utilizado. Este método analisa a quantidade do átomo ferro, mas não distingue ferro ferroso (Fe^{2+}) de ferro férrico (Fe^{3+}). Ao longo do tempo, pode haver mudanças no estado de oxidação do ferro, mas não na quantidade total deste elemento, visto que o átomo ferro continua na amostra, independentemente de seu estado oxidativo. Portanto, pressupõe-se que a quantidade de ferro até os 4 meses seja a mesma. No entanto, o método de quantificação de ferro será modificado em estudos futuros, de forma a identificar os diferentes estados de oxidação ao longo do tempo.

A quantificação utilizada neste trabalho (seção 4.2.4) não é capaz de avaliar o estado de oxidação do ferro empregado, tanto no caso do ferro quelado, quanto no caso do sulfato ferroso.

5.3.2. Retinol e colecalciferol

Considerando as quantidades de nutrientes empregados neste trabalho, as quais seguiram as recomendações apontadas no parágrafo final da seção 4.2.1, cada grama de micropartículas deveria conter, teoricamente, 600 μg retinol e 5 μg de colecalciferol. A quantidade de vitamina D empregada foi bastante reduzida após o processo de secagem em ambas as formulações: houve, ao longo de quatro meses, retenção de apenas 14 (formulação com ferro quelado) e 3% (formulação com sulfato ferroso) do colecalciferol adicionado na emulsão. O resultado mais promissor relaciona-se ao retinol, o qual apresentou retenção de cerca de 26 (formulação com ferro quelado) e 36% (formulação com sulfato ferroso) ao longo do tempo de estudo (Tabela 5).

Fatores como o tipo de embalagem, exposição a oxigênio, luz, umidade e temperatura podem afetar a estabilidade das vitaminas (Edelmann et al., 2016). A vitamina A apresenta boa estabilidade em atmosfera com nitrogênio e ambientes refrigerados sem a presença de luz. (Chávez-Servín; Castellote; López-Sabater, 2008). Além disso, Yang et al. (2022) encontraram resultados que apontam para uma estabilidade de vitamina A influenciada pela temperatura, isto é, quanto maior a

temperatura ao qual este nutriente é exposto, maior é sua degradação. Embora no presente trabalho não tenham sido empregadas temperaturas elevadas no preparo das emulsões, o calor ao qual as amostras foram submetidas, ainda que de modo breve, na entrada da câmara de secagem pode ter influenciado na perda deste nutriente. Outro fator que pode ter colaborado para a degradação foi a utilização do ultrassom no preparo das emulsões, método que, ainda que utilizado por tempo reduzido (3 min), pode ter colaborado em algum grau para a perda evidenciada. Ainda, a exposição da vitamina A à atmosfera durante o preparo das emulsões pode ter colaborado para o mesmo efeito.

Temova-Rakuša et al. (2021), em amplo estudo sobre a estabilidade da vitamina D₃ em soluções aquosas, encontraram boa estabilidade desse nutriente em solventes orgânicos (provavelmente pela ausência de íons hidrônio e hidroxilas, participantes em hidrólises e catalisadores em reações de oxidação), porém instabilidade em meio aquoso. Em relação ao pH, os mesmos autores apontaram boa estabilidade para a vitamina D₃ em pH acima de 5, apontando uma tendência de aumento da estabilidade conforme o aumento do pH. Tal tendência contradiz o comportamento usual para oxidação: menor estabilidade em pHs mais elevados. Quanto à influência de metais na degradação da vitamina D, houve rápida degradação independentemente dos íons testados (Fe²⁺, Cu e Cu²⁺), sendo os íons de ferro mais eficientes nesta degradação, o que pode justificar a perda evidenciada no presente trabalho, já que este elemento foi empregado e encontra-se distribuído por toda a micropartícula, envolvendo as porções hidrofóbicas da estrutura.

Tabela 5: Concentração das vitaminas A e D e retenção na formulação com ferro quelado e com sulfato ferroso.

		Concentração (µg/g de micropartícula)						
Amostra/Retenção	Quantidade adicionada (µg/g)	Retinol			Quantidade adicionada (µg/g)	Colecalciferol		
		t ₀	t ₂	t ₄		t ₀	t ₂	t ₄
Formulação com ferro quelado	600	178 (5) ^a	166 (10) ^b	154 (7) ^c	5	0,81 (0,01) ^a	0,74 (0,01) ^b	0,69 (0,01) ^b
Retenção (%)		30	28	26		16	15	14
Formulação com sulfato ferroso	600	235 (10) ^a	215 (32) ^b	214 (3) ^b	5	0,14 (0,01) ^a	0,13 (0,01) ^a	0,14 (0,01) ^a
Retenção (%)		39	36	36		3	3	3

Média (desvio-padrão); n = 3.

Letras diferentes na mesma linha, para cada nutriente, indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Considerando apenas o tempo de armazenamento, isto é, a variação do conteúdo das vitaminas efetivamente retidas durante o período de estocagem, foram obtidos os resultados que seguem: para a formulação com ferro quelado, houve perda significativa ($p \leq 0,05$) da quantidade de retinol ao longo dos quatro meses de armazenagem, embora numericamente essa diminuição tenha sido pouco expressiva, passando de 178 µg/g no tempo zero para 154 µg/g no tempo final (diminuindo, assim, a retenção de 30% para 26%). Para a mesma formulação, houve diminuição da quantidade de colecalciferol entre os tempos zero e dois meses, não havendo diferença estatística em relação ao tempo de quatro meses.

No caso da formulação com sulfato ferroso, a perda de retinol foi significativa ao se comparar o tempo zero e dois meses e o tempo zero e quatro meses, isto é, para o nível de significância testado, houve perda desse nutriente desde o momento pós-produção até dois meses de armazenamento, não havendo diferença estatística entre dois meses e o final do estudo. Para o colecalciferol, não houve diminuição da quantidade retida considerando todo o período do teste (quatro meses).

É interessante observar que a quantidade de colecalciferol resultante da análise cromatográfica difere bastante entre as formulações com ferro quelado e com sulfato ferroso. Como a quantidade desta vitamina é muito pequena, torna-se consideravelmente difícil, no momento da pesagem, retirar a porção desejada de seu recipiente de armazenamento. Adicionalmente, superada esta etapa, com a pesagem da quantidade correta na balança analítica, o momento da transferência deste ingrediente para incorporação à emulsão pode ter sido crítico em termos de perda mecânica deste nutriente.

Ainda assim, nota-se que, para ambas as formulações, houve, de maneira geral, pouca perda de colecalciferol ao longo do tempo, ou seja, houve boa preservação desta vitamina durante o armazenamento, uma das principais metas deste estudo.

5.3.3. Ácido ascórbico

A quantidade retida de ácido ascórbico na formulação com sulfato ferroso foi de cerca de 15%, não havendo diferença estatística entre a quantidade deste nutriente desde o momento da produção do pó fortificado até o final dos quatro meses de estudo (Tabela 6).

Tabela 6: Quantidade de ácido ascórbico (mg/g de micropartícula) e retenção na formulação com sulfato ferroso

	Quantidade adicionada (mg/g de micropartícula)	Concentração (mg/g de micropartícula)		
		t ₀	t ₂	t ₄
Formulação com sulfato ferroso	25	3,70 ^a (0,27)	4,05 ^a (0,12)	3,85 ^a (0,20)
Retenção (%)		15	16	15

Média (desvio-padrão); n = 3.

Letras diferentes na mesma linha indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A vitamina C, além de ser uma das mais sensíveis ao calor, é instável na presença de oxigênio e agentes como luz, pH (mais bem conservada em faixas ácidas de pH) e a presença de íons metálicos podem influenciar sua degradação. Sua estrutura é facilmente modificável quando exposta a ambientes desfavoráveis em termos dos elementos citados (Yan et al., 2021; Burch, 2011). Alguns estudos sugerem que a simples adição de vitamina C à emulsão a ser seca não basta para a proteção deste nutriente, apontando para a necessidade de incorporação de outros materiais na fase aquosa, tais como gomas e polímeros em gel (Comunian et al., 2022; Abbas et al., 2012). Sameh et al. (2012) evidenciaram a migração de vitamina C para a superfície das micropartículas, mesmo na secagem de emulsões de camada dupla. Em adição, Tian Xiang e Li (2021) ao empregarem, por exemplo, goma xantana em suas emulsões, conseguiram proteger ingredientes hidrofílicos na estrutura da micropartícula por eles produzida. No presente trabalho, o emprego de vitamina C sem a adição de agentes protetores pode ter impactado sua perda, deixando as moléculas deste nutriente expostas aos fatores de degradação previamente mencionados.

5.3.4. Quantidade de pó a ser adicionada em alimentos e limitações do estudo

Considerando a quantidade de ferro retida neste estudo, para alcançar a recomendação diária desejada, seria necessário adicionar cerca de 2 g de pó da formulação com ferro quelado e 4 g da formulação com sulfato ferroso a cada porção de 25 g de *snacks* expandidos, considerando os objetivos iniciais deste estudo (seção 4.2.1). Com estas quantidades, para a formulação com ferro quelado, obter-se-iam 57 e 31% da quantidade recomendada para as vitaminas A e D, respectivamente. Para a formulação com sulfato ferroso, obter-se-iam 159, 12 e 68% das quantidades recomendadas para as vitaminas A, D e C, respectivamente.

Em relação à quantidade de vitamina A retida, para alcançar a recomendação diária, seriam necessários 3,9 g de pó da formulação com ferro quelado e 2,8 g de pó da formulação com sulfato ferroso. Neste cenário, e em relação aos demais nutrientes, seriam obtidos para a formulação com ferro quelado 175 e 54% das quantidades de ferro e vitamina D, respectivamente; e, no caso da formulação com sulfato ferroso, seriam obtidos 8% (vitamina D), 43% (vitamina C) e 63% (ferro) da recomendação indicada.

Colocando a vitamina D como referência, e considerando sua retenção neste estudo, seriam necessários 7,2 g de pó da formulação com ferro quelado e 35,7 g da formulação com sulfato ferroso. Assim, em relação ao restante dos nutrientes, seriam obtidos para a formulação com ferro quelado, respectivamente, 326 e 186% das quantidades recomendadas de ferro e vitamina A; para a formulação com sulfato ferroso, seriam obtidos 804, 1276 e 550% das quantidades recomendadas de ferro, vitamina A e vitamina C, respectivamente.

Para obter a quantidade desejada de nutrientes, a emulsão que alimentou a câmara de secagem deveria conter cerca de 4× mais retinol e de cerca de 6 a 50× mais colecalciferol, considerando os resultados para a formulação com ferro quelado e sulfato ferroso, respectivamente. Em termos de custos, e levando em conta somente a importância dispendida com essa matéria prima, esses dados significariam um incremento pequeno por grama de micropartícula produzida. Isso porque o ingrediente crítico para a produção do pó fortificado seria o colecalciferol, o qual, embora possua preço cerca de 40× superior, é utilizado em pequena quantidade comparado à quantidade empregada de vitamina A, impactando minimamente o custo do pó produzido.

Vale lembrar que, considerando a fonte de ferro, a formulação com ferro quelado apresenta custo mais elevado do que a formulação com sulfato ferroso. Isso porque, por si só, o ferro quelado em pó tem maior custo em comparação com o sulfato ferroso em pó (preço por grama cerca de 60× mais caro). Aliado a esse fato, para que seja atingida a recomendação diária deste mineral, é necessária a adição de maior quantidade do pó de ferro quelado do que de sulfato ferroso, pois o percentual do elemento ferro naquele é de cerca de apenas 20%, enquanto neste ultrapassa os 90% (ver ANEXO 1).

É possível perceber, assim que, apesar de resultados positivos em termos de atividade de água, umidade, homogeneidade do processo de secagem e morfologia das micropartículas, a perda dos nutrientes adicionados pode apresentar-se como fator impeditivo para a coencapsulação aqui proposta. As evidências apontam para uma necessidade de melhorias no preparo das emulsões que alimentarão o *spray dryer*, visto

que as diminuições mais notáveis da quantidade de nutrientes tomam lugar entre o momento da adição destes ingredientes à emulsão e sua respectiva secagem. Sugere-se que a quantificação de todos os nutrientes seja realizada não só no pó fortificado, mas também durante a produção das emulsões e, possivelmente, nas matérias-primas utilizadas, viabilizando o rastreio de pontos críticos de perda ou degradação, principalmente das vitaminas. No caso do ferro a análise de seu estado de oxidação também é sugerida, uma vez que este pode ser parâmetro crítico na absorção do elemento ao ingerir-se o produto no qual o pó fortificado possa vir a ser aplicado. É interessante, também, avaliar a possibilidade de adição de agentes protetores dos componentes hidrofílicos da partícula, como as gomas, por exemplo.

6 CONCLUSÕES

O rendimento da secagem mostrou resultados dentro do esperado. Os resultados das análises de atividade de água e umidade encontram-se dentro dos parâmetros de prevenção às reações físico-químicas e do crescimento microbiológico, o que indica estabilidade de ambas as formulações quando se trata destes atributos. O tamanho de partícula avaliado indicou homogeneidade no processo de secagem para ambas as formulações. Para a formulação com ferro quelado, houve aumento do diâmetro das partículas ao longo dos quatro meses de armazenamento, fato que pode ser explicado pela formação de aglomerados. A microscopia eletrônica de varredura corrobora essa possibilidade. Notou-se, porém, a formação de aglomerados também para a formulação com sulfato ferroso. Além disso, sob o microscópio eletrônico de varredura, as micropartículas apresentaram, de modo geral, aparência lisa, com pouca rugosidade. Adicionalmente, não apresentaram, em sua maioria, ruptura mesmo após quatro meses de armazenamento. Em relação à retenção, houve perda expressiva de colecalciferol e a retenção máxima dos nutrientes foi de 45% para o ferro presente no ferro quelado. Durante a produção da emulsão, fatores como exposição à luz e oxigênio ambientes podem ter contribuído para a degradação deste componente. Além disso, pode ter havido perda mecânica, já que a quantidade utilizada torna difícil a pesagem deste nutriente. Ao longo do tempo, as micropartículas apresentaram, de modo geral, pouca ou nenhuma perda significativa dos nutrientes. Esta preservação, porém, pode não ser capaz de compensar a perda de vitaminas quando comparamos a quantidade adicionada na emulsão ao teor quantificado no pó. Concluindo, a coencapsulação de nutrientes é tarefa complexa, pois exige que as fragilidades de cada componente adicionado sejam identificadas e contornadas. Ao se trabalhar com elementos de naturezas tão diversas (no caso deste estudo, o ferro, um elemento hidrofílico e passível de oxidação, junto das vitaminas A e D, componentes hidrofóbicos e sensíveis a elementos como luz, oxigênio e temperatura elevada), o desafio torna-se ainda maior, visto que a estrutura da micropartícula produzida deve ser capaz de protegê-los da interação com ambiente e da interação entre eles, sem perder de vista a liberação controlada, uma das características mais valiosas dos métodos de encapsulação de nutrientes. Por óbvio, não é possível contemplar todas as exigências de manutenção dos ingredientes utilizados. Ainda assim, é importante ter em vista que ajustes podem ser feitos para otimizar sua preservação, chegando-se a um balanço que viabilize a utilização das micropartículas de modo benéfico e vantajoso.

REFERÊNCIAS

ABBAS, S. et al. Ascorbic Acid: Microencapsulation Techniques and Trends—A Review. **Food Reviews International**, v. 28, n. 4, p. 343–374, out. 2012.

ABBASI, A. et al. Stability of vitamin D3 encapsulated in nanoparticles of whey protein isolate. **Food Chemistry**, v. 143, p. 379–383, jan. 2014.

ABIAD, Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Fins Especiais e Congêneres, **Importações | Em milhões de dólares e variação percentual | Acumulado de janeiro a dezembro de 2023**, 2023. Disponível em: <https://abiad.org.br/infografico/importacoes-em-milhoes-de-dolares-e-variacao-percentual-janeiro-a-dezembro-2021/>. Acesso em: 21 mar. 2025.

ADITYA, N. P.; ESPINOSA, Y. G.; NORTON, I. T. Encapsulation systems for the delivery of hydrophilic nutraceuticals: Food application. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 4, p. 450–457, jul. 2017.

AKHAVAN MAHDAVI, S. et al. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 379–385, abr. 2016.

AOAC (2005). *Official methods of analysis*. (18th ed.). Washington: AOAC International.

ARNAUD, J., Fortis, I., Blachier, S., Kia, D., & Favier, A. (1991). Simultaneous determination of retinol, alfa-tocopherol, and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 572, 103-116.

CAMUS, A. A Peste. 22ª Edição. Rio de Janeiro: Record, 2013.

ANOSIKE, E. O. **An introduction to the Principles of Biochemistry**. 1. ed. Port Harcourt, Nigéria: Sunray Publication Ltd., 1994.

ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M. Advances in Spray-Drying Encapsulation of Food Bioactive Ingredients: From Microcapsules to Nanocapsules. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 10, n. 1, p. 103–131, 25 mar. 2019.

BAJAC, J. et al. Microencapsulation of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L.) by spray drying: microcapsule characterization and release kinetics of the oil. **Food Hydrocolloids**, v. 125, p. 107430, 1 abr. 2022.

BAJAJ, S. R.; MARATHE, S. J.; SINGHAL, R. S. Co-encapsulation of vitamins B12 and D3 using spray drying: Wall material optimization, product characterization, and release kinetics. **Food Chemistry**, v. 335, p. 127642, jan. 2021.

BALDELLI, A. et al. Effect of the formulation on mucoadhesive spray-dried microparticles containing iron for food fortification. **Food Hydrocolloids**, v. 134, p. 107906, 1 jan. 2023.

BATES, C. J. Vitamin A. **The Lancet**, v. 345, n. 8941, p. 31–35, jan. 1995.

BENDICH, A. Antioxidant Micronutrients and Immune Responses. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 587, n. 1, p. 168–180, jun. 1990.

BERRY OTTAWAY, P. Stability of vitamins during food processing and storage. Em: **Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages**. [s.l.] Elsevier, 2010. p. 539–560.

BHANDARI, B. R.; DATTA, NIVEDITA; AND HOWES, T. Problems Associated With Spray Drying Of Sugar-Rich Foods. **Drying Technology**, v. 15, n. 2, p. 671–684, 1997.

BRASIL. RESOLUÇÃO RDC Nº 268, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde, Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher, 2009. Disponível em https://bvsms.saude.gov.br/bvs/pnds/img/relatorio_final_pnds2006.pdf. Acesso em 20 mar. 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Relatório do Monitoramento da Fortificação de Farinhas de Trigo e Milho com Ferro e Ácido Fólico. Brasília, Brazil, jun. 2022a.

BRASIL. RESOLUÇÃO RDC Nº 604, DE 10 DE FEVEREIRO DE 2022b.

BRITO, A.; MUJICA, M. F. Technical Report –Vitamin D deficiency in Latin America and the Caribbean: a systematic review. DSM Nutritional Products Ltd., 2011.

BUFFO, R. Effects of Type of Atomization and Processing Temperatures on the Physical Properties and Stability of Spray-Dried Flavors. **Journal of Food Science**, 1 jan. 2002.

BURCH, R. The stability and shelf life of vitamin-fortified foods. Em: **Food and Beverage Stability and Shelf Life**. [s.l.] Elsevier, 2011. p. 743–754.

CHÁVEZ-SERVÍN, J. L.; CASTELLOTE, A. I.; LÓPEZ-SABATER, M. C. Vitamins A and E content in infant milk-based powdered formulae after opening the packet. **Food Chemistry**, v. 106, n. 1, p. 299–309, jan. 2008.

CHAWDA, P. J. et al. Co-encapsulation of bioactives for food applications. **Food Quality and Safety**, v. 1, n. 4, p. 302–309, 21 dez. 2017.

CETESB, Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, Ficha de Informação de Produto Químico, Disponível em https://sistemasinter.cetesb.sp.gov.br/produtos/ficha_completa1.asp?consulta=SULFATO%20FERROSO. Acesso em: 15 jan. 2025.

COMBS, G. F.; MCLUNG, J. P. **The Vitamins**. [s.l.] Elsevier, 2022.

COMUNIAN, T. et al. Protection and controlled release of vitamin C by different micro/nanocarriers. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 12, p. 3301–3322, 21 abr. 2022.

COSTA, S. S. et al. Drying by spray drying in the food industry: Micro-encapsulation, process parameters and main carriers used. **African Journal of Food Science**, v. 9, n. 9, p. 462–470, 30 set. 2015.

DAMODARAN, S.; PARAF, A. **Food Proteins and their Applications**. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 2017.

DARY, O.; GUAMUCH-CASTAÑEDA, M.; MORA, J. O. Food fortification: Technological aspects. Em: **Encyclopedia of Human Nutrition**. [s.l.] Elsevier, 2023. p. 339–350.

DAVEY, M. W. et al. PlantL-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 825–860, 15 maio 2000.

DAWSON, M. The Importance of Vitamin A in Nutrition. **Current Pharmaceutical Design**, v. 6, n. 3, p. 311–325, 1 fev. 2000.

DEVLIN, T. M. (ED.). **Textbook of biochemistry: with clinical correlations**. 7th ed ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2011.

DI BATTISTA, C. A. et al. Process analysis and global optimization for the microencapsulation of phytosterols by spray drying. **Powder Technology**, v. 321, p. 55–65, nov. 2017.

DU, J. et al. Comparison of the Efficiency of Five Different Drying Carriers on the Spray Drying of Persimmon Pulp Powders. **Drying Technology**, v. 32, n. 10, p. 1157–1166, 27 jul. 2014.

DURÁN, E. et al. Preparation and characterization of novel edible matrices based on alginate and whey for oral delivery of iron. **Food Hydrocolloids**, v. 98, p. 105277, 1 jan. 2020.

EDELMANN, M. et al. Stability of added and in situ-produced vitamin B12 in breadmaking. **Food Chemistry**, v. 204, p. 21–28, ago. 2016.

EDEM, D. O. Vitamin A: A Review. **Asian Journal of Clinical Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 65–82, 15 dez. 2008.

EITENMILLER, R. R.; YE, L.; LANDEN, W. O. **Vitamin analysis for the health and food sciences**. 2nd ed ed. Boca Raton: CRC Press, 2008.

EMBRAPA. Princípios de Secagem de Alimentos. **Princípios de Secagem de Alimentos**, n. 1, p. 14–20, 2010.

EPA, Environmental Protection Agency, USA Government, Iron Chelate 20% Fe, Federal Register. V. 77, No. 58, 2012. Disponível em: <https://sds.simplot.com/datasheets/77632.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2025.

FANALI, C. et al. Advanced analytical techniques for fat-soluble vitamin analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 87, p. 82–97, fev. 2017.

FANG, S. et al. Fabricating multilayer emulsions by using OSA starch and chitosan suitable for spray drying: Application in the encapsulation of β -carotene. **Food Hydrocolloids**, v. 93, p. 102–110, ago. 2019.

FAYAD, S. J. et al. Morphology of Soy Protein Isolate at Oil/Water and Oil/Air Interfaces. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2013.

FENG, J. et al. Functional properties of soybean isolate protein as influenced by its critical overlap concentration. **Food Hydrocolloids**, p. 108478, 10 jan. 2023.

FERNANDES, R. V. DE 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, jan. 2014.

FIDLER, M. C. et al. Iron absorption from ferrous fumarate in adult women is influenced by ascorbic acid but not by Na_2EDTA . **British Journal of Nutrition**, v. 90, n. 6, p. 1081–1085, dez. 2003.

FIOCRUZ. **Carências Nutricionais: Anemia Ferropriva**. , 2019. Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/atencao-crianca/carencias-nutricionais-anemia-ferropriva/>. Acesso em: 20 fev. 2023

FMI, Future Market Insights, **Vitamin and Mineral Supplement Market Insights - Trends & Forecast 2025 to 2035**, 2025. Disponível em: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/vitamin-and-mineral-supplement-market>. Acesso em: 21 mar. 2025.

- FREITAS, M. L. F.; ALBANO, K. M.; TELIS, V. R. N. Characterization of biopolymers and soy protein isolate-high-methoxyl pectin complex. **Polímeros**, v. 27, n. 1, p. 62–67, mar. 2017.
- FU, S. et al. Interactions of buttermilk with curcuminoids. **Food Chemistry**, v. 149, p. 47–53, abr. 2014.
- GAUDEL, N. et al. Effect of stirring speed and particle size on couscous powder reconstitution. **Powder Technology**, v. 430, p. 119026, 1 dez. 2023.
- GONZALEZ, M. H., Silva, C. S., Amaral, C. D. B., Bianchi, S. R., Oliveira, L. H. B., Coelho, J. S., et al. (2017). Determination of elemental impurities in acyclovir ointment and raw materials using microwave acid digestion (MW-AD) and ICP-MS. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28, 98-105.
- GOMES, M. H. G., & Kurozawa, L. E. (2020). Improvement of the functional and antioxidant properties of rice protein by enzymatic hydrolysis for the microencapsulation of linseed oil. *Journal of Food Engineering*, 267, 109761.
- GIUDICI, K.; PETERS, B.; MARTINI, L. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes: Vitamina D. São Paulo, v. 2, p. 1 – 43, 2018. Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/biblioteca/vitamina-d-funcoes-plenamente-reconhecidas-de-nutrientes/>. Acesso em 22 jun. 2023.
- GIUSTINA, Andrea et al. Vitamin D in the older population: a consensus statement. **Endocrine**, v. 79, n. 1, p. 31–44, 26 out. 2022.
- GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 76–87, maio 2016.
- GOTO, Y.; FINK, A. L. Conformational states in .beta.-lactamase: molten-globule states at acidic and alkaline pH with high salt. **Biochemistry**, v. 28, n. 3, p. 945–952, 7 fev. 1989.
- HAN, O. Molecular mechanism of intestinal iron absorption. **Metallomics**, v. 3, n. 2, p. 103, 2011.

HAQ, A.; HASNAIN, S. E.; RAZZAQUE, M. S. Diverse functions of vitamin D in health and disease. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 200, p. 105668, jun. 2020.

HENRIQUES, G. S. Ferro. In: COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença. – 2. ed., rev. e atual. – Barueri (SP): Manole, 2020.

HOLICK, M. F. Ultraviolet B Radiation: The Vitamin D Connection. Em: AHMAD, S. I. (Ed.). **Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing, 2017. v. 996p. 137–154.

HUANG, Z. et al. Role of Vitamin A in the Immune System. **Journal of Clinical Medicine**, v. 7, n. 9, p. 258, 6 set. 2018.

HUANG, G. et al. An insight into the changes in conformation and emulsifying properties of soy β -conglycinin and glycinin as affected by EGCG: Multi-spectral analysis. **Food Chemistry**, v. 394, p. 133484, nov. 2022.

JAFARI, S. M. et al. Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. **Drying Technology**, v. 26, n. 7, p. 816–835, jul. 2008.

JAFARI, S. M. An overview of nanoencapsulation techniques and their classification. Em: **Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 1–34.

Jl, R. et al. Co-encapsulation of L-ascorbic acid and quercetin by gelatin/sodium carboxymethyl cellulose coacervates using different interlayer oils. **Food Research International**, v. 145, p. 110411, jul. 2021.

JIANG, J.; WANG, Q.; XIONG, Y. L. A pH shift approach to the improvement of interfacial properties of plant seed proteins. **Current Opinion in Food Science**, v. 19, p. 50–56, fev. 2018.

JIANG, J.; XIONG, Y. L. Extreme pH treatments enhance the structure-reinforcement role of soy protein isolate and its emulsions in pork myofibrillar protein gels in the

presence of microbial transglutaminase. **Meat Science**, v. 93, n. 3, p. 469–476, mar. 2013.

JIANG, J.; XIONG, Y. L.; CHEN, J. Role of β -Conglycinin and Glycinin Subunits in the pH-Shifting-Induced Structural and Physicochemical Changes of Soy Protein Isolate. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. C293–C302, mar. 2011.

KHAREL, S. et al. Valorizing okara waste into nutritionally rich polysaccharide/protein-extracts for co-encapsulation of β -carotene and ferrous sulphate as a potential approach to tackle micronutrient malnutrition. **Journal of Functional Foods**, v. 87, p. 104749, dez. 2021.

KONG, H. et al. Fine structure impacts highly concentrated starch liquefaction process and product performance. **Industrial Crops and Products**, v. 164, p. 113347, jun. 2021.

LIPS, P. et al. Current vitamin D status in European and Middle East countries and strategies to prevent vitamin D deficiency: a position statement of the European Calcified Tissue Society. **European Journal of Endocrinology**, v. 180, n. 4, p. P23–P54, abr. 2019.

LIU, X. et al. Co-encapsulation of Vitamin C and β -Carotene in liposomes: Storage stability, antioxidant activity, and in vitro gastrointestinal digestion. **Food Research International**, v. 136, p. 109587, out. 2020.

LOCALI PEREIRA, A. R.; GONÇALVES CATTELAN, M.; NICOLETTI, V. R. Microencapsulation of pink pepper essential oil: Properties of spray-dried pectin/SPI double-layer versus SPI single-layer stabilized emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 581, p. 123806, 20 nov. 2019.

LOCALI-PEIRA, A. **Microencapsulação por spray drying do óleo essencial de pimenta rosa (Schinus terebinthifolius Raddi): emulsões de camada dupla estabilizadas com SPI/pectina vs. emulsões de camada única estabilizadas com SPI**, 2020.

LÓPEZ, M. A. A.; MARTOS, F. C. Iron availability: An updated review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 55, n. 8, p. 597–606, jan. 2004.

MALACOVA, E. et al. Prevalence and predictors of vitamin D deficiency in a nationally representative sample of adults participating in the 2011–2013 Australian Health Survey. **British Journal of Nutrition**, v. 121, n. 8, p. 894–904, 28 abr. 2019.

MARREIRO, D. N. et al. Ferro [livro eletrônico], 3. ed. -- São Paulo : International Life Sciences Institute do Brasil - ILSI Brasil, 2024.

MAURYA, V. K.; BASHIR, K.; AGGARWAL, M. Vitamin D microencapsulation and fortification: Trends and technologies. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 196, p. 105489, fev. 2020.

MORAIS, H. et al. Effect of ascorbic acid on the stability of β -carotene and capsanthin in paprika (*Capsicum annuum*) powder. **Nahrung/Food**, v. 46, n. 5, p. 308–310, 1 set. 2002.

MOSER, P.; SOUZA, R. T. D.; NICOLETTI TELIS, V. R. Spray Drying of Grape Juice From Hybrid CV. BRS Violeta: Microencapsulation of Anthocyanins Using Protein/Maltodextrin Blends as Drying Aids: SPRAY DRYING OF GRAPE JUICE FROM HYBRID. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 1, p. e12852, fev. 2017.

MOULAS, A. N.; VAIYOU, M. Vitamin D fortification of foods and prospective health outcomes. **Journal of Biotechnology**, v. 285, p. 91–101, nov. 2018.

MURUGANANDAM, L. et al. Studies on Droplet Size Distribution of Oil-in-Water Emulsion in SMX Static Mixer. **Journal of Applied Fluid Mechanics**, v. 11, n. 1, p. 107–114, 1 jan. 2018.

MUSLIMATUN, S. **Nutrition of Indonesian women during pregnancy and lactation: a focus on vitamin A and iron**. [s.l.] Wageningen Univ., 2001. Disponível em:

https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Nutrition+of+Indonesian+women+during+pregnancy+and+lactation%3A+a+focus+on+vitamin+A+and+iron&author=Muslimatun%2C+S.&publication_year=2001. Acesso em: 22 maio. 2023.

MUZAFFAR, K.; KUMAR, P. Effect of Soya Protein Isolate as a Complementary Drying Aid of Maltodextrin on Spray Drying of Tamarind Pulp. **Drying Technology**, v. 34, n. 1, p. 142–148, 2 jan. 2016.

NEYESTANI, T. R., GHARAVI, A., & KALAYI, A. (2007). Determination of serum 25-hydroxy cholecalciferol using high-performance liquid chromatography: a reliable tool for assessment of vitamin D status. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 77, 341-346.

NIMBKAR, S. et al. Development of iron-vitamin multilayer encapsulates using 3 fluid nozzle spray drying. **Food Chemistry**, v. 406, p. 135035, abr. 2023.

NISHINARI, K. et al. Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 301–318, ago. 2014.

NUNES, G. L. et al. Microencapsulação de culturas probióticas: princípios do método de spray drying. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 132, 15 dez. 2015.

O'FLYNN, T. D. et al. Rheological and Solubility Properties of Soy Protein Isolate. **Molecules**, v. 26, n. 10, p. 3015, 19 maio 2021.

OGIRI, Y. et al. Very Low Vitamin C Activity of Orally Administered L - Dehydroascorbic Acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 1, p. 227–229, 1 jan. 2002.

ONAYEMI, O.; LORENZ, K. Concentrates and isolates in bread making. v. 52, p. 18–24, 1978.

OTI, H. C.; OFFIA-OLUA, B. I.; UKOM, A. N. Flavour profiles, antioxidant activity, particle size distribution and functional properties of some ethnic spice seed powder used as food additive. **Food Chemistry Advances**, v. 5, p. 100744, 1 dez. 2024.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, p. 1327–1340, ago. 2017.

PELEGRINE, D. H. G.; GASPARETTO, C. A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 77–80, fev. 2005.

PENG, Y. et al. Functional properties of mildly fractionated soy protein as influenced by the processing pH. **Journal of Food Engineering**, v. 275, p. 109875, jun. 2020.

PEREIRA, K. C. et al. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. 0, 14 jun. 2018.

PEREIRA-SANTOS, M. et al. Epidemiology of vitamin D insufficiency and deficiency in a population in a sunny country: Geospatial meta-analysis in Brazil. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 13, p. 2102–2109, 20 jul. 2019.

PRATAP-SINGH, A.; LEIVA, A. Double fortified (iron and zinc) spray-dried microencapsulated premix for food fortification. **LWT**, v. 151, p. 112189, nov. 2021.

QI, B. et al. Deciphering the characteristics of soybean oleosome-associated protein in maintaining the stability of oleosomes as affected by pH. **Food Research International**, v. 100, p. 551–557, out. 2017.

RAMALHO, A. Vitamina A [livro eletrônico], 3. ed. -- São Paulo: International Life Sciences Institute do Brasil - ILSI Brasil, 2024.

RAVICHANDRAN, K. et al. Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 2216–2221, set. 2014.

RAVICHANDRAN, K. S. et al. Spray drying to produce novel phytochemical-rich ingredients from juice and pomace of American elderberry. **Food Bioscience**, v. 55, p. 102981, out. 2023.

RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v. 13, p. 76–83, mar. 2016.

ROBITAILLE, L., & HOFFER, L. J. (2016). A simple method for plasma total vitamin C analysis suitable for routine clinical laboratory use. *Nutrition Journal*, 15, 40.

ROSS, S. A. et al. Retinoids in Embryonal Development. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 3, p. 1021–1054, 1 jul. 2000.

SALVIA-TRUJILLO, L. et al. Influence of particle size on lipid digestion and β -carotene bioaccessibility in emulsions and nanoemulsions. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 1472–1480, nov. 2013.

SAMBORSKA, K.; GAJEK, P.; KAMINSKA-DWORZNICKA, A. Spray Drying of Honey: The Effect of Drying Aids on Powder Properties. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 65, n. 2, p. 109–118, 30 jun. 2015.

SÁNCHEZ-MORENO, C. et al. Vitamin C, Provitamin A Carotenoids, and Other Carotenoids in High-Pressurized Orange Juice during Refrigerated Storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 647–653, 1 jan. 2003.

SARABANDI, K. et al. Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicochemical, antioxidant and microstructure properties. **Journal of Food Engineering**, v. 237, p. 86–95, nov. 2018.

SBP, Sociedade Brasileira de Pediatria, Consenso sobre anemia ferropriva: mais que uma doença, uma urgência médica!, 2018. Disponível em https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/21019f-diretrizes_Consenso_sobre_anemia_ferropriva-ok.pdf. Acesso em 20 mar. 2023.

SCHMIDT, M. K. **The role of maternal nutrition in growth and health of Indonesian infants: a focus on vitamin A and iron — Research@WUR**. Disponível em: <https://research.wur.nl/en/publications/the-role-of-maternal-nutrition-in-growth-and-health-of-indonesian>. Acesso em: 22 maio. 2023.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67–103, jan. 1992.

SHAO, Y.-Y.; LIN, K.-H.; KAO, Y.-J. Modification of Foaming Properties of Commercial Soy Protein Isolates and Concentrates by Heat Treatments: FOAMING

PROPERTIES OF HEATED SOY PROTEINS. **Journal of Food Quality**, v. 39, n. 6, p. 695–706, dez. 2016.

SHARP, P. Molecular mechanisms involved in intestinal iron absorption. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 35, p. 4716, 2007.

SHENOY, P. et al. Effect of powder densities, particle size and shape on mixture quality of binary food powder mixtures. **Powder Technology**, v. 272, p. 165–172, 1 mar. 2015.

SHI, Q.; FANG, Z.; BHANDARI, B. Effect of Addition of Whey Protein Isolate on Spray-Drying Behavior of Honey with Maltodextrin as a Carrier Material. **Drying Technology**, v. 31, n. 13–14, p. 1681–1692, 26 out. 2013.

SHISHIR, M. R. I.; CHEN, W. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65, p. 49–67, 1 jul. 2017.

SIEGENBERG, D. et al. Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 2, p. 537–541, fev. 1991.

SINGH, P. et al. Functional and Edible Uses of Soy Protein Products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 7, n. 1, p. 14–28, jan. 2008.

SIZAR, O. et al. Vitamin D Deficiency. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.

SÖDERBERG, J. Functional Properties of Legume Proteins Compared to Egg Proteins and Their Potential as Egg Replacers in Vegan Food; Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Food Science, Faculty of Natural Resource and Agricultural Sciences: Uppsala, Sweden, 2013; p. 378

SPERBER, W. H. Influence of Water Activity on Foodborne Bacteria — A Review. **Journal of Food Protection**, v. 46, n. 2, p. 142–150, fev. 1983.

SUI, X.; ZHANG, T.; JIANG, L. Soy Protein: Molecular Structure Revisited and Recent Advances in Processing Technologies. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 12, p. 119–147, 25 mar. 2021.

TEMOVA RAKUŠA, Ž. et al. Comprehensive Stability Study of Vitamin D3 in Aqueous Solutions and Liquid Commercial Products. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 5, p. 617, 25 abr. 2021.

TELES, L. F. S., PAIVA, A. A., LUZIA, L. A., LIMA-FERREIRA, F. E. L., CARVALHO, C. M. R. G., & Rondó, P. H. C. (2018). The relationship between serum retinol concentrations and subclinical infection in rural Brazilian children. *Revista de Nutrição*, 31, 299-310.

TEUCHER; OLIVARES; CORI. Enhancers of Iron Absorption: Ascorbic Acid and other Organic Acids. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 74, n. 6, p. 403–419, 1 nov. 2004.

TIEFENBACHER, K. F. Technology of Main Ingredients—Water and Flours. Em: **Wafer and Waffle**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 15–121.

VARGAS-MUÑOZ, D. P.; KUROZAWA, L. E. Influence of combined hydrolyzed collagen and maltodextrin as carrier agents in spray drying of cocona pulp. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, p. e2019254, 2020.

OMS. **WHO guidance helps detect iron deficiency and protect brain development**. Disponível em: <https://www.OMS.int/news/item/20-04-2020-OMS-guidance-helps-detect-iron-deficiency-and-protect-brain-development>. Acesso em: 8 fev. 2023.

OMS. **WHO guideline on use of ferritin concentrations to assess iron status in individuals and populations**. Disponível em: <https://www.OMS.int/publications/i/item/9789240000124>. Acesso em: 8 fev. 2023.

OMS. **Micronutrients**. Disponível em https://www.who.int/health-topics/micronutrients#tab=tab_1 , 2021. Acesso em: 20 maio. 2023

OMS. **Guideline Fortification of wheat flour with vitamins and minerals as a public health strategy**. Geneva: World Health Organization, 2022.

- WILSON, N.; SHAH, N. Microencapsulation of Vitamins. **ASEAN Food Journal**, v. 14, 1 jan. 2007.
- WIRTH, J. et al. Vitamin A Supplementation Programs and Country-Level Evidence of Vitamin A Deficiency. **Nutrients**, v. 9, n. 3, p. 190, 24 fev. 2017.
- XU, X. et al. Bio-adhesives from unfolded soy protein reinforced by nano-chitosan for sustainable textile industry. **Textile Research Journal**, v. 90, n. 9–10, p. 1094–1101, maio 2020.
- YANG, H. et al. Stability of vitamin A, E, C and thiamine during storage of different powdered enteral formulas. **Heliyon**, v. 8, n. 11, p. e11460, nov. 2022.
- ZHAI, M. et al. Study on the matching relationship between dispersed droplet size in O/W emulsion and reservoir permeability. **International Journal of Multiphase Flow**, v. 150, p. 104025, maio 2022.
- ZHANG, C. et al. Utilization of Microcapsule Technology in Foods. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 12, p. 9330–9340, 1 dez. 2015.
- ZHANG, J. et al. Effect of spray drying on phenolic compounds of cranberry juice and their stability during storage. **Journal of Food Engineering**, v. 269, p. 109744, mar. 2020.
- ZHANG, X. et al. Emulsion stability and dilatational rheological properties of soy/whey protein isolate complexes at the oil-water interface: Influence of pH. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106391, abr. 2021.
- ZHANG, X. et al. Microencapsulation of Zanthoxylum schinifolium essential oil through emulsification followed by spray drying: microcapsule characterization and functional evaluation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 687, p. 133484, abr. 2024.
- ZHAO, Y. et al. Recent advances in soy protein extraction technology. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, p. aocs.12676, 30 dez. 2022.

ZHU, H. et al. Insight into the structural, chemical and surface properties of proteins for the efficient ultrasound assisted co-encapsulation and delivery of micronutrients. **Food Chemistry**, v. 362, p. 130236, nov. 2021.

APÊNDICE A – TESTES PRELIMINARES

Foram realizados testes preliminares com o intuito de avaliar o comportamento dos componentes, em termos visuais, das duas formulações propostas (Quadro 1A) durante a formação de suas respectivas emulsões.

A.1 MATERIAL E MÉTODOS

A.1.1 Correção de pH

Os testes preliminares foram iniciados com a investigação da necessidade de correção do pH (ajuste para 7,0) da solução de isolado proteico de soja após a adição da fonte de ferro. Salienta-se que um abaixamento de pH se faz necessário para a formulação com ferro quelado, já que, ao ser adicionado o ferro, a solução apresenta pH em torno de 7,8. A formulação com sulfato ferroso, por outro lado, necessita de aumento de pH devido à presença de ácido ascórbico, o qual diminui substancialmente o pH (para próximo de 3,2) ao ser adicionado ao meio.

Para tal investigação, cada formulação subdividiu-se em duas variações: com e sem correção do pH (para 7,0) da solução de isolado proteico de soja após a adição da fonte de ferro. Assim, quatro versões de emulsões foram produzidas, sendo:

- a) F1 (ferro quelado + retinol + colecalciferol) com ajuste de pH para 7,0;
- b) F1 (ferro quelado + retinol + colecalciferol) sem ajuste de pH (~7,8);
- c) F2 (sulfato ferroso + ácido ascórbico + retinol + colecalciferol) com ajuste de pH para 7,0;
- d) F2 (sulfato ferroso + ácido ascórbico + retinol + colecalciferol) sem ajuste de pH (~3,2).

A investigação do efeito do pH nas formulações, mais especificamente na solução de isolado proteico de soja após a adição de ferro, fez-se necessária pelo aparecimento de grumos no momento da adição de ácido acético para abaixamento do pH (no caso da formulação com ferro quelado) ou no momento da adição de sulfato ferroso + ácido ascórbico (no caso da formulação com sulfato ferroso). A Tabela A1 mostra a quantidade e porcentagem de cada componente adicionado na emulsão.

Tabela A1: Componentes de F1 (a – com ajuste de pH e b – sem ajuste de pH) e F2 (c – com ajuste de pH e d – sem ajuste de pH).

Componente	F1 (a, b)		F2 (c, d)	
	Qtde. (g)	Percentual (%)	Qtde. (g)	Percentual (%)
Água	54,10	56,00	54,10	56,39
Maltodextrina	34,10	35,30	34,10	35,55
Óleo de girassol	5,00	5,18	5,00	5,21
Ferro quelado	2,50	2,59	-	-
Sulfato ferroso	-	-	0,57	0,60
Ácido ascórbico	-	-	1,26	1,31
Isolado proteico de soja	0,90	0,93	0,9	0,94
Retinol	0,19	0,20	0,19	0,20
Colecalciferol	0,00024	0,00025	0,00024	0,00025

A.1.2 Microscopia óptica das emulsões

Com o intuito de levantar informações sobre a formação adequada das emulsões testadas, o tamanho das gotas de óleo em cada formulação foi investigado capturando-se imagens das amostras de cada emulsão preparada. As imagens das emulsões foram feitas logo após seu preparo. Para a avaliação e captura das imagens foi utilizado um microscópio óptico (Olympus, CX31), com lente objetiva de aumento de 100x e câmera digital (Olympus, SC30) acoplada. Os diâmetros de 300 gotas de óleo foram medidos a partir das imagens, aleatoriamente, com o auxílio do software Image-Pro Plus 6.0. Para determinar o tamanho médio das gotas foi feita uma média aritmética simples das medições realizadas nas gotas para cada formulação investigada na seção A.1.1.

A.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A.2.1 Correção de pH

A avaliação das emulsões com e sem correção de pH foi motivada pela percepção da presença de grumos ao adicionar-se ácido acético (formulação com ferro quelado) ou ácido ascórbico (formulação com sulfato ferroso) à solução de isolado proteico de soja. A Figura A1 mostra a adição de ácido acético (formulação com ferro quelado) à solução de proteína e consequente formação de grumos na solução, porém o mesmo efeito foi notado para a formulação com sulfato ferroso (a qual contém ácido ascórbico) no momento da adição do ácido à solução de isolado proteico de soja. A diferença é que, para esta, o abaixamento do pH não se fez necessário, já que, ao inserir o ácido ascórbico no sistema, o pH caiu de 11 para cerca de 3,2. A correção de pH (para 7,0), portanto, foi feita adicionando-se solução de NaOH (3M). A Figura A1b traz a aderência de grumos à parede do béquer após agitação inicial leve.

Figura A1: F1 - formação de grumos ao adicionar-se ácido acético à solução de isolado protéico de soja (a) grumos na parede do béquer (b) solução já sem grumos após completa agitação (pH 7,0) (c).



Fonte: Autor (2023).

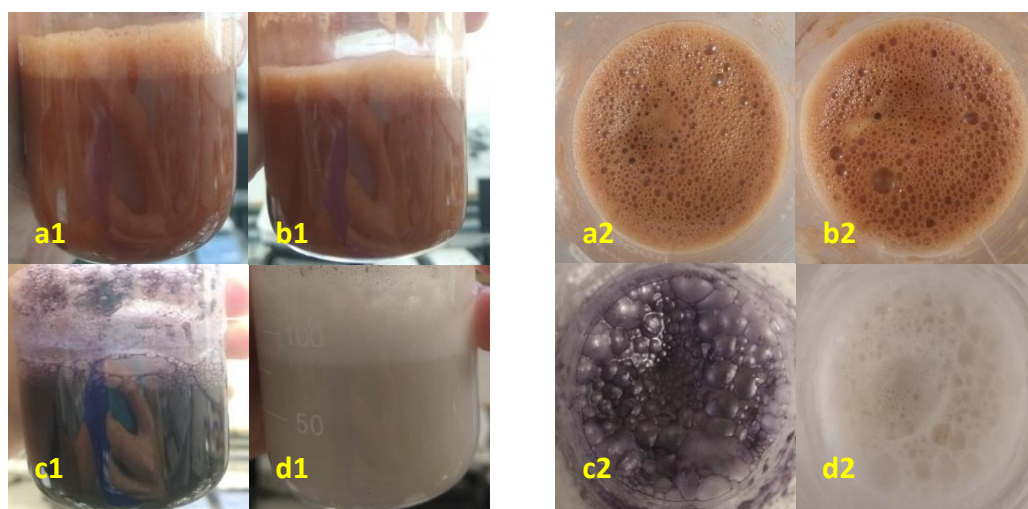
Notou-se, porém, que, após agitação, os grumos se desfazem, tornando a solução em questão aparentemente homogênea (Figura A1c). Segundo Damodaran e Paraf (2017), ao afastar-se do ponto isoelétrico, as proteínas passam a apresentar carga, fazendo com que haja repulsão eletrostática e hidratação iônica com consequente aumento da solubilidade. É possível que a formação inicial de grumos tenha se dado pela aproximação do pH do meio do ponto isoelétrico do isolado proteico de soja (em torno de 4,0 (Freitas; Albano; Telis, 2017) na região onde foi inserido o ácido. Ao proceder-se com a agitação, houve uma melhora na distribuição dos ácidos, homogeneizando o pH da solução e,

consequentemente ocorrendo o afastamento do ponto isoelétrico da proteína de soja, desfazendo, assim, os grumos.

Solucionada a questão da formação de grumos na solução de isolado proteico de soja, prosseguiu-se com a adição do restante dos componentes das formulações, de modo a produzir as emulsões e avaliar o aspecto final das mesmas. A Figura A2 mostra as emulsões finais das quatro variações estudadas (formulação com ferro quelado com correção de pH (a), formulação com ferro quelado sem correção de pH (b), formulação com sulfato ferroso com correção de pH (c) e formulação com sulfato ferroso sem correção de pH (d)).

Nota-se que, visualmente, as emulsões da formulação com ferro quelado (a e b, F1) apresentaram o mesmo aspecto. Além disso, seu pH final foi semelhante (7,2 para a emulsão a e 7,4 para a emulsão b). Já para a formulação com sulfato ferroso (F2), o pH impactou substancialmente a coloração da emulsão: a emulsão na qual se corrigiu o pH (aumentando-o para 7,0) apresentou uma coloração roxo escuro (c1 e c2), enquanto a emulsão sem correção de pH apresentou coloração esbranquiçada e pH 3,4 (d1 e d2). Além disso, a emulsão d parece não ter ficado tão homogênea quanto a primeira, apresentando pequenos grumos ao final da sonicação.

Figura A2: Visão lateral do béquer (F1 com correção de pH (a1); F1 sem correção de pH (b1); F2 com correção de pH (c1); F2 sem correção de pH (d1)) e visão superior do béquer (F1 com correção de pH (a2); F1 sem correção de pH (b2); F2 com correção de pH (c2); F2 sem correção de pH (d2)).

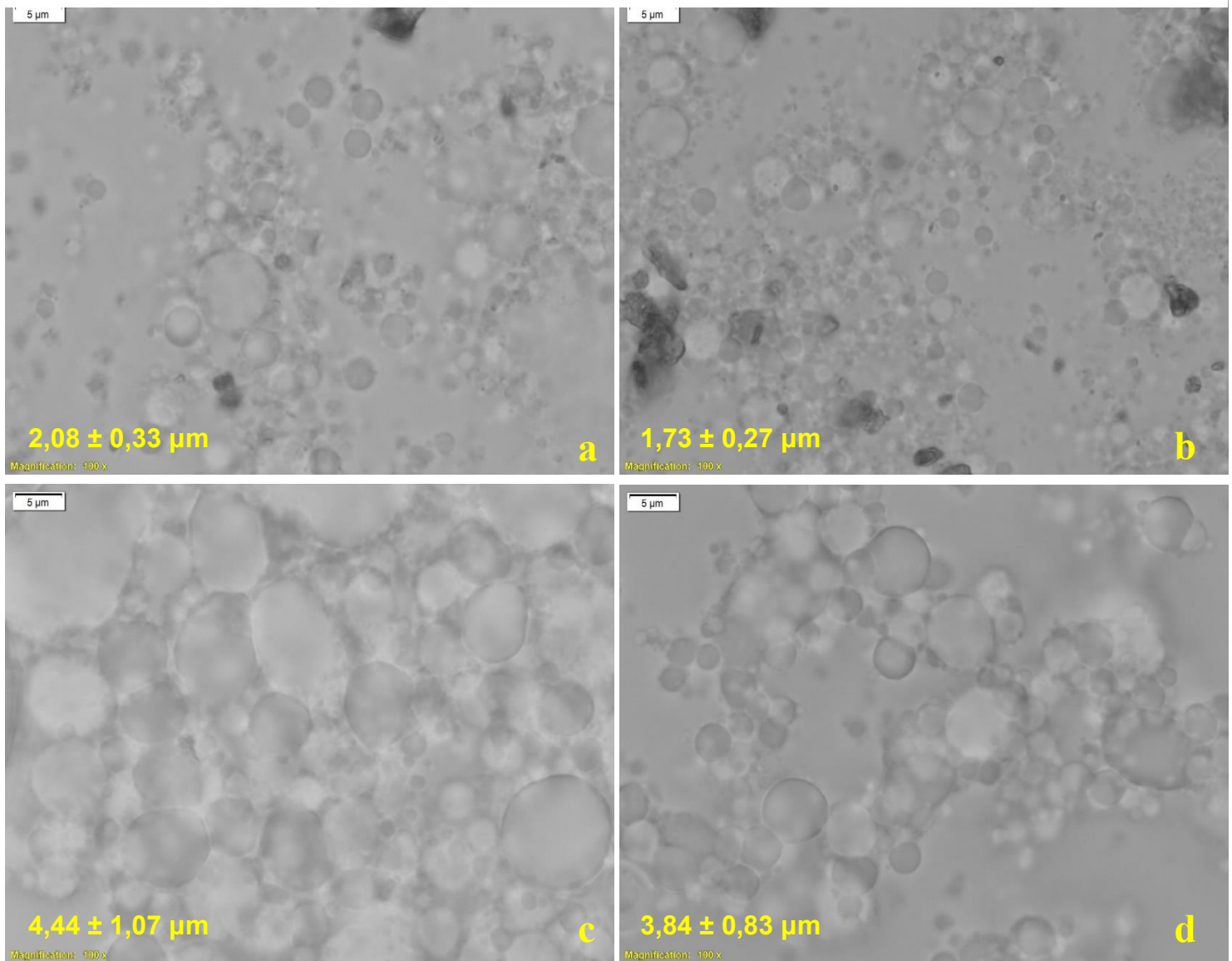


Fonte: Autor (2023).

A.2.2 Microscopia óptica das emulsões

A Figura A3 apresenta as imagens obtidas na microscopia óptica das emulsões e traz os tamanhos de gotícula das emulsões avaliadas.

Figura A3: Tamanhos de gotícula de F1 com correção de pH (a), F1 sem correção de pH (b), F2 com correção de pH (c), F2 sem correção de pH (d).



Fonte: Autor (2023).

Para as quatro variações, é possível perceber que há formação da emulsão com tamanho de gotículas razoável, fator que não impediria a etapa subsequente de secagem em *spray dryer*. Diversas publicações mostram tamanhos de gotas de óleo em uma faixa ampla, de 3 até mais de 100 µm, dependendo do equipamento utilizado (Muruganandam

et al., 2018; Zhang et al., 2021; Locali-Pereira, 2020; Zhai et al., 2022), para produção de emulsões.

As variações com ferro quelado não apresentaram diferença expressiva, tanto visualmente (como visto na seção 5.1), quanto na microscopia óptica. Dessa forma, optou-se por manter a metodologia proposta por Locali-Pereira et al. (2021), a qual prevê a etapa de correção do pH de 11 para 7 na solução de isolado proteico de soja. Segundo (Jiang; Wang; Xiong, 2018) as proteínas provenientes de leguminosas em geral são geralmente pouco solúveis em água, o que prejudica suas propriedades tecnológicas, como a emulsificante. Para que as propriedades funcionais das proteínas sejam melhoradas, são necessários tratamentos, como por exemplo o tratamento com ácidos ou álcalis. Proteínas globulares, como as da soja, ao receber este tipo de tratamento, aumentam a repulsão intramolecular devido ao acúmulo de cargas de sua estrutura, tornando-se mais flexíveis (Goto; Fink, 1989). Estes ajustes de força iônica tanto dentro quanto entre as moléculas podem otimizar as propriedades funcionais das proteínas (Jiang; Xiong, 2013). Mais especificamente, uma suspensão proteica submetida a condições altamente ácidas ou alcalinas faz com que as proteínas se descubram. Se mantida nestas condições por certo período e então submetida a condições de neutralidade, a estrutura proteica pode aumentar de forma substancial sua solubilidade, bem como suas propriedades emulsificantes. Isso ocorre porque, ao afastar a proteína de seu ponto isoelétrico, o complexo proteico se separa em suas subunidades constituintes, as quais são mais solúveis em água. Após o tratamento alcalino, já em pH próximo da neutralidade (entre 6 e 7), a solubilidade do isolado proteico de soja aumenta em duas vezes e meia. Este efeito é mais pronunciado em soluções com baixas concentrações de sais. Neste processo, redes proteicas unidas por pontes dissulfeto são formadas, tendo, estes, papel importante na estabilidade de emulsões óleo em água (Jiang; Xiong; Chen, 2011).

A metodologia proposta por Locali-Pereira et al. (2021) também foi mantida para a formulação com sulfato ferroso (com sulfato ferroso), visto que a emulsão se apresentou visualmente mais homogênea com a correção do pH, como descrito por aqueles autores.

Além disso, Temova Rakuša et al. (2021) encontraram boa estabilidade da vitamina D₃ em valores de pH > 5 em soluções aquosas. Por outro lado, os mesmos autores apontam que seu trabalho contradiz publicações que apontam menor estabilidade em pHs alcalinos (Combs; Mclung, 2022; Eitenmiller; Ye; Landen, 2008; Fanali et al., 2017).

Dessa forma, o pH próximo de 7 pareceu ser uma boa alternativa quando se avalia a possibilidade de manutenção das vitaminas adicionadas como nutrientes neste trabalho, tornando as formulações promissoras quanto à estabilidade dos mesmos.

ANEXO 1 – LAUDOS TÉCNICOS

Este Anexo apresenta os laudos técnicos do fabricante dos seguintes materiais utilizados na execução deste projeto: ferro quelado (Laudos 1), sulfato ferroso (Laudos 2), retinol (Laudos 3), colecalciferol (Laudos 4) e ácido ascórbico (Laudos 5).

Laudo 1 - Ferro quelado

110398

	MASE PRODUTOS QUÍMICOS E FARMACÊUTICOS LTDA. RUA DO GRITO, 268/274 - CEP: 04217-000 - IPIRANGA - SÃO PAULO - SP FONE/FAX: (11) 2272-0872 - 0800 7700557 - Site: www.mase.com.br - E-mail: mase@mase.com.br Aut. Funcionamento 1.02.281-2 / Aut. Especial 1.20360-7	
	044270 70/10/23 1kg	

CERTIFICADO DE ANÁLISE		Nº	DATA
		721/23	05/09/2023
INSUMO: FERRO GLICINATO QUELATO TASTE FREE (19%)		LOTE: INTERNO: 113813523 FABRICANTE: BN12000002738	
FABRICANTE: ALBION HUMAN NUTRITION			
FABRICAÇÃO: 06/06/2022		VALIDADE: 05/06/2025	
ORIGEM: USA		PROCEDÊNCIA: USA	
FÓRMULA MOLECULAR:		P.M.:	Nº OF: 135/23
DCB: 09439		CAS: 34369-82-9	NCM: 29224990
CLIENTE: CREUZA MANZALLI & TOLEDO LTDA		NOTA FISCAL Nº: 058683	DATA DA EMISSÃO: 09/10/2023

TESTES		
ANÁLISE	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO
DESCRIÇÃO (1)	PO MARROM AVERMELHADO.	CONFORME
IDENT. FT-IR (2)	ESPECT. AMOSTRA IDENTICO AO DO PADRAO.	CONFORME
PERDA SECAGEM (3)	NO MAXIMO 6,0%.	1,26%
DENSIDADE (4)	NO MINIMO 0,60 g/CC.	0,7148 g/cc
pH (SOL. 1%) (5)	ENTRE 6,0 E 8,0.	7,53
ARSENIO (*)	NO MAXIMO 7,00 ppm.	5,07 ppm
CHUMBO (*)	NO MAXIMO 1,50 ppm.	0,18 ppm
CADMIO (*)	NO MAXIMO 0,50 ppm.	< 0,05 ppm
MERCURIO (*)	NO MAXIMO 0,10 ppm.	< 0,05 ppm
TEOR DE FERRO(*)	MINIMO 19%.	20%
NITROGENIO (*)	ENTRE 12,0 E 13,5%.	12,6%
CONT.TT.BACTERIAS	ENSAIO MICROBIOLOGICO Nº 062/23	
FUNGOS/LEVED. (*)	MAXIMO 1000 UFC/g.	< 10 UFC/g
BACILOS CEREUS	MAXIMO 100 UFC/g.	< 10 UFC/g
STAPHYLOCOCCUS AU	AUSENTE/10g	CONFORME
ESCHERICHIA C. (*)	AUSENTE/10g.	CONFORME
SALMONELLA	AUSENTE/10g.	CONFORME
CONT. ENTEROB. (*)	AUSENTE/10g.	CONFORME
	MAXIMO 100 UFC/g.	< 100 UFC/g

REFERÊNCIAS:	ESPECIFICACOES DO FABRICANTE (1-5) LABORATORIO MASE-METODOS GERAIS (FB VI, USP 41, EP 10) (*) RESULTADO CONFORME LAUDO DO FABRICANTE
CONSERVAÇÃO:	CONSERVAR EM RECIPIENTES BEM FECHADOS, AO ABRIGO DA LUZ E UMIDADE
OBSERVAÇÕES:	SUPLEMENTO ALIMENTAR (ANVISA IN 28/2018). INSUMO HIGROSCOPICO
PARECER:	INSUMO CONFORME ESPECIFICACOES DESCRITAS.

20.000 - 10/2022

DRA. PATRICIA BLAZQUEZ MASSARO
FARMACEUTICO RESPONSÁVEL-CRF-SP 24178-5

Laudo 2 - Sulfato ferroso

Labsynth

Empresa Certificada:

27001

ISO



500g

25/10/22

DEPARTAMENTO DE CONTROLE DE QUALIDADE

FAB.: 01/05/2021

VAL.: 30/04/2024

BOLETIM TÉCNICO

Cliente PEDIDO 938973 CREUSA MANZALLI & TOLEDO LIMITADA - EPP

Origem :

Canton

PRODUTO
SULFATO FERROSO PÓ SECO U.S.P. 40

Lote Fabricante :
210369

LOTE
256663

FÓRMULA
 $\text{FeSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$

P.M.
151,92

CHAVE AUTENTICIDADE
OCEHE-FFZFW-YZPJQ-LJKIR

Informações Adicionais :

* Resultados transcritos segundo laudo do fabricante

TESTES	LIMITES	RESULTADOS
01 CARACTERÍSTICAS	Pó fino, verde-acinzentado ou bege, inodoro	de acordo
02 IDENTIFICAÇÃO	Positiva	positiva
03 * ARSÊNIO	máx. 03ppm	< 03ppm
04 * CHUMBO	máx. 0,001%	< 0,001%
05 * MERCÚRIO	máx. 03ppm	< 03ppm
06 TEOR	86,0 - 89,0%	87,44%

DATA EMISSÃO	ANALISTA	RESPONSÁVEL	RESULTADO
19/10/2022	GIOVANA	IZILDA MORELLI - CRF/SP 9371	APROVADO

CERTIFICADO EMITIDO VIA SISTEMA INTEGRADO COM APROVAÇÃO ELETRÔNICA

Página 01 de 01

Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda.

Av. Dr. Ulisses Guimarães 3657 - Vila Nogueira - Diadema - SP - CEP 09990-080 - Tel: (11) 4072-6100 - C.N.P.J. 51.462.471/0001-52 - I.E. 286.056.465/111
Site: www.labsynth.com.br E-mail: synth@labsynth.com.br



Laudo 3 - Retinol

111670

78/12/23
70x100g



Purifarma

CERTIFICADO DE ANÁLISE

044626

INFORMAÇÕES DO PRODUTO

Produto.: VIT. A ACETATO PO 500.000 UI/G	Código.: 079400.000100
Origem.: CHINA	Procedência.: BRASIL
Lote Interno.: PURI025870	Lote do Fabricante.: 5111-2303003
Fabricação : 08/03/2023	Validade : 07/03/2025
Peso Molecular : 328	Formula Molecular : C22H32O2
DCB : 07694	CAS : 127-47-9
Categoria Terapeutica : VITAMINA	Parte Utilizada : Não Aplicável
Nome Científico : Não Aplicável	Familia : Não Aplicável
Ordem de Produção : 02587001001	Data de Análise : 22/11/2023
Data de Emissão : 15/12/2023	Nota Fiscal : 000308858

Análises

Ensaio	Especificação	Resultado
DOSEAMENTO	MINIMO 500.000 UI/G	511.442 UI/G
IDENTIFICACAO - UV	ATENDE AO ENSAIO DE SUBSTANCIAS RELATADAS	DE ACORDO
IDENTIFICACAO - TLC	A COMPOSICAO DOS ESTERES E CONFIRMADA PELA MANCHA OU MANCHAS OBTIDAS NA SOLUCAO TESTE CORRESPONDENTES AS OBTIDAS COM A SOLUCAO REFERENCIA.	DE ACORDO
A300/A326	MAXIMO 0,60	0,5863
A350/A326	MAXIMO 0,54	0,5293
A370/A326	MAXIMO 0,14	0,1333
RETINOL	MAXIMO 1,0%	< 1,0%
SUBSTANCIAS RELATADAS	CUMPRE TESTE	DE ACORDO
ATIVIDADE DE AGUA	INFORMATIVO	0,2871 AV
CONTAGEM TOTAL MICRO-ORGANISMOS VIAVEIS	MAXIMO 1000 UFC/G	35 UFC / G
CONTAGEM TOTAL DE FUNGOS E LEVEDURAS	MAXIMO 100 UFC/G	< 10 UFC / G
DENSIDADE APARENTE	INFORMATIVO	0,4823 G / ML
SALMONELLA	AUSENTE	AUSENTE
ESCHERICHIA COLI	AUSENTE	AUSENTE
PSEUDOMONAS AERUGINOSA	AUSENTE	AUSENTE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS	AUSENTE	AUSENTE
COLIFORMES	MAXIMO 0,3 NMP/G	< 0,3 NMP / G
ARSENIO	MAXIMO 1 PPM	< 1 PPM
ASPECTO FISICO	PO LIVRE DE FLOCULACAO AMARELO PALIDO A AMARELO	DE ACORDO
CADMIU	MAXIMO 1 PPM	< 1 PPM
CHUMBO	MAXIMO 2 PPM	< 1 PPM
GRANULOMETRIA	MINIMO DE 90% PASSA ATRAVES DA MALHA 60	99,5%
MERCURIO	MAXIMO 0,1 PPM	< 0,1 PPM
SOLUBILIDADE	DISPERSA FACILMENTE EM AGUA FRIA (15°C) PARA FORMAR UMA EMULSAO ESTAVEL E HOMOGENEA	DE ACORDO
PERDA POR SECAGEM (%)	Max. 5,00	1,43

REFERÊNCIAS / OBSERVAÇÕES

OBS. 1: RESULTADOS DE ACORDO COM ANALISES REALIZADAS NO LABORATORIO DE CONTROLE DE QUALIDADE GEMINI

CERTIFICADO DE ANÁLISE**INFORMAÇÕES DO PRODUTO**

Produto.: VIT. A ACETATO PO 500.000 UI/G	Código.: 079400.000100
Origem.: CHINA	Procedência.: BRASIL
Lote Interno.: PURI025870	Lote do Fabricante.: 5111-2303003
Fabricação : 08/03/2023	Validade : 07/03/2025
Peso Molecular : 328	Formula Molecular : C22H32O2
DCB : 07694	CAS : 127-47-9
Categoria Terapeutica : VITAMINA	Parte Utilizada : Não Aplicável
Nome Científico : Não Aplicável	Familia : Não Aplicável
Ordem de Produção : 02587001001	Data de Análise : 22/11/2023
Data de Emissão : 15/12/2023	Nota Fiscal : 000308858

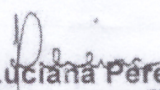
REFERÊNCIAS / OBSERVAÇÕES

(BP 2023 / DESENVOLVIMENTO LOCAL).

OBS. 2: CHUMBO, MERCURIO, CADMIO, TAMANHO DA PARTICULA, RESULTADO TRANSCRITO DO LAUDO DE ANALISE DO FABRICANTE (METODOLOGIA DO FABRICANTE).

OBS. 3: PERDA POR SECAGEM, ARSENIO E ANALISE MICROBIOLOGICA REALIZADO DE ACORDO COM ORIENTACAO DO FABRICANTE.

CONSERVACAO: FOTOSSENSIVEL, HIGROSCOPICO, SENSIVEL AO AR. CONSERVAR MAXIMO 25°C.

RESULTADO FINAL☒ (X) Aprovado☐ () Reprovado**SERVIÇO DE ATENDIMENTO GEMINI**Email : sacgo@purifarma.com.br - 0800 0258 825
Dra. Luciana Pereira
Farm. Resp. CRF-GO 2400

Laudos Fornecedores:	
Conferido:	<i>Todos os itens</i>
Data:	<i>28/12/23</i>
Assp.:	<i>Eha</i>

Laudo 4 - Colecalciferol

1,11209

SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA



10x 5g
27/11/23

CERTIFICADO DE ANÁLISE

044477

Insumo:	Vitamina D3		
Lote Interno:	23126-B008-200391	Lote Fabricante:	CH23051004
Data de Fabricação:	08-05-2023	Data de Validade:	07-05-2025
Origem:	China	Procedência:	China
Data de Análise:	25-10-2023	Ordem de Fracionamento:	200391
Condições de Armazenamento:	Temperatura Geladeira		

DCB:	02569	DCI:	COLECALCIFEROL
CAS:	67-97-0	Peso Molecular:	384.64
Fórmula Molecular:	C27H44O		
Observações:	- Produto cristalizado consiste em 40.000.000 IU/G		
	-		
	-		
	-		
	-		

Testes	Especificações	Resultados	Unidade	Referências
Solubilidade *	Solúvel em álcool, em clorofórmio e em óleos gordurosos; Insolúvel em água.	Conforme		USPNF - 2023
Ponto de fusão *	Em torno de 85	84,1	°C	USPNF - 2023
Identificação *	A: IV - O espectro da amostra está de acordo com o do padrão.	Conforme		USPNF - 2023
Identificação *	B: UV - Absortividade não difere mais que 3,0.	0,45		USPNF - 2023
Identificação *	C: HPLC - O tempo de retenção da amostra corresponde ao tempo de retenção do padrão.	Conforme		USPNF - 2023
Rotação específica *	+105 a +112	+106,00	°	USPNF - 2023
Solvente residual (CG) *	Metanol <= 3000	124,95	ppm	USPNF - 2023
Solvente residual (CG) *	Hexano <= 290	36,55	ppm	USPNF - 2023
Solvente residual (CG) *	Formiato de metila <= 100	Não detectado	ppm	USPNF - 2023
Solvente residual (CG) *	Acetona <= 5000	Não detectado	ppm	USPNF - 2023
Solvente residual (CG) *	Trietilamina <= 5000	Não detectado	ppm	USPNF - 2023
Teor (HPLC) *	97,0 a 103,0	98,53	%	USPNF - 2023
	38.800.000 a 41.200.000	39.412.000	UI/g	USPNF - 2023
Teste adicional				
Densidade aparente *	Informativo (Sem compactação)	0,28	g/mL	MG FB - VI
Arsênio *	<= 1	Não detectado	ppm	Fabricante
Descrição *	Informativo	Pó branco.		MG FB - VI
Metais pesados (Pb)	<= 10	< 10	ppm	Fabricante

* Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA. E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.

Conclusão:

SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA

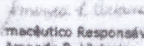


Reprovado

()

CERTIFICADO DE ANÁLISE


Farmacêutico Responsável
João Paulo Serin Mendes
CRF-GO: Nº 7.355
Pegron Services Brasil


Farmacêutico Responsável
Amanda R. Victorino
CRF-SP: Nº 50.836
Pegron Distribution Brazil
SAC: (11) 5186-4840

Fim do Documento

Lauda Fornecedor:

Conferido: todos os itens

Data: 30/11/23

Assinatura: Eha



CERTIFICADO DE ANÁLISE

043809

Insumo:	Vitamina C Po ✓	Data de Análise:	24-06-2023
Lote Interno:	23F05-B056-104986 ✓	Lote Fabricante:	1122066034 ✓
Data de Fabricação:	12-06-2022 ✓	Data de Validade:	11-06-2025 ✓
Origem:	China ✓	Procedência:	Brasil ✓
Condições de Armazenamento:	Temperatura até 25°C	Ordem de Fracionamento:	104986 ✓

DCB:	00104 ✓	DCI:	ASCORBIC ACID ✓
CAS:	50-81-7 ✓	Peso Molecular:	176,1232
Fórmula Molecular:	C6H8O6		
	-		
	-		

Testes	Especificações	Resultados	Unidade	Referências
Descrição *	Pó cristalino, branco ou quase branco, ou cristais incolores.	Conforme		EP - 11
Solubilidade *	Facilmente solúvel em água; Ligeiramente solúvel em etanol 96%.	Conforme		EP - 11
Ponto de fusão *	Em torno de 190 (Com decomposição)	190,4	°C	EP - 11
Identificação *	A: UV - Absorção máxima em 243 nm, e absorbância específica de 545 a 585.	573,7		EP - 11
Identificação *	B: IV - O espectro da amostra está de acordo com o do padrão.	Conforme		EP - 11
Identificação *	C: pH de 2,1 - 2,6 (Solução 5%)	2,43		EP - 11
Identificação *	D: Colorimétrica - Um precipitado cinza é formado.	Conforme		EP - 11
Aparência da solução *	A solução é límpida e não mais intensamente colorida que a solução referência BY7.	Conforme		EP - 11
Rotação específica *	+20,5 a +21,5	+20,69	°	EP - 11
Impureza E *	<= 0,2	Conforme	%	EP - 11
Cinzas sulfatadas *	<= 0,1	0,04	%	EP - 11
Substâncias relacionadas (HPLC) *	Impureza C <= 0,15	Não detectado	%	EP - 11
Substâncias relacionadas (HPLC) *	Impureza D <= 0,15	Não detectado	%	EP - 11
Substâncias relacionadas (HPLC) *	Impurezas não especificadas <= 0,10	Não detectado	%	EP - 11
Substâncias relacionadas (HPLC) *	Impurezas totais exceto C e D <= 0,2	Não detectado	%	EP - 11
Ferro	<= 2	Conforme	ppm	EP - 11
Cobre	<= 5	Conforme	ppm	EP - 11
Teor *	99,0 - 100,5	100,16	%	EP - 11
Solvente residual (CG) *	Metanol <= 3000	582,92	ppm	EP - 11
Testes microbiológicos				
Contagem total de bactérias *	<= 1000	< 10	UFC/g	Fabricante
Fungos e leveduras *	<= 100	< 10	UFC/g	Fabricante
Escherichia coli *	Ausente	Ausente		Fabricante
Salmonella *	Ausente	Ausente		Fabricante
Staphylococcus aureus *	Ausente	Ausente		Fabricante

SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA



CERTIFICADO DE ANÁLISE

Insumo:	Vitamina C Po	Data de Análise:	24-06-2023
Lote Interno:	23F05-B056-104986	Lote Fabricante:	1122066034
Data de Fabricação:	12-06-2022	Data de Validade:	11-06-2025
Origem:	China	Procedência:	Brasil
Condições de Armazenamento:	Temperatura até 25°C	Ordem de Fracionamento:	104986

DCB:	00104	DCI:	ASCORBIC ACID
CAS:	50-81-7	Peso Molecular:	176,1232
Fórmula Molecular:	C6H8O6		
	-		
	-		

Testes	Especificações	Resultados	Unidade	Referências
Testes adicionais				
Densidade aparente *	Informativo (Sem compactação)	1,12	g/mL	MG FB - VI
Cádmio	$\leq 0,5$	Conforme	mg/Kg	Fabricante
Chumbo	$\leq 0,5$	Conforme	mg/Kg	Fabricante
Arsênio	$\leq 1,0$	Conforme	mg/Kg	Fabricante
Mercurio	$\leq 0,1$	Conforme	mg/Kg	Fabricante
Tamanho das partículas	≥ 95 passa na malha 20	100	%	Fabricante
Tamanho das partículas	≤ 30 passa na malha 100	12,2	%	Fabricante
pH *	2,4 - 2,8 (Solução 2% em água)	2,62		Fabricante
Perda por dessecação *	$\leq 0,4$	0,18	%	Fabricante
Atividade de água *	$\leq 0,6$	0,4379	aw	MG-FQ/149

* Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA. E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.

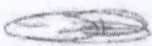
Conclusão:

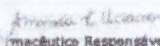
Aprovado (X)

Reprovado ()

Laudo Fornecedor:

Conferido: *João os itens*Data: *14/07/23*Assp: *Elza*


Farmacêutico Responsável
João Paulo Sartin Mendes
CRF-GO: Nº 7.355
Fagron Services Brasil


Farmacêutico Responsável
Amanda R. Victorino
CRF-SP: Nº 50.836
Fagron Distribution Brazil
SAC: (11) 5186-4840

Fim do Documento