



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DA REDE NORDESTE EM
BIOTECNOLOGIA

MIRLA DAYANNY PINTO FARIAS

PRODUÇÃO DE MICROESTRUTURADOS DE XILOGLUCANA DAS
SEMENTES DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* var. *courbaril*) E SUA
APLICAÇÃO NA ÁREA ALIMENTAR

Recife - PE
Dezembro, 2017

MIRLA DAYANNY PINTO FARIAS

**PRODUÇÃO DE MICROESTRUTURADOS DE XILOGLUCANA DAS
SEMENTES DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* var. *courbaril*) E SUA
APLICAÇÃO NA ÁREA ALIMENTAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, Universidade Federal de Pernambuco/UFPE, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia Industrial.

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria das Graças Carneiro da Cunha (Departamento de Bioquímica/UFPE).

Co-orientador: Prof. Dr. António Vicente (Departamento de Engenharia Biológica/ Universidade do Minho/UMINHO).

Recife - PE
Dezembro, 2017

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Farias, Mirla Dayanny Pinto

Produção de microestruturados de xiloglucana das sementes de Jatobá (*Hymenaea courbaril* var. *courbaril*) e sua aplicação na área alimentar. / Recife: O Autor, 2017.

97 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Maria das Graças Carneiro da Cunha

Coorientador: António Vicente

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Biotecnologia, Recife, 2017.

Inclui referências, apêndices e anexos

- 1. Polissacarídeos 2. Leguminosa 3. Vitamina C I. Cunha, Maria das Graças Carneiro da (orient.) II. Vicente, António (coorient.) III. Título**

572.566

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017- 631

MIRLA DAYANY PINTO FARIAS

**PRODUÇÃO DE MICROESTRUTURADOS DE XILOGLUCANA DAS
SEMENTES DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* var. *courbaril*) E SUA
APLICAÇÃO NA ÁREA ALIMENTAR**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, Universidade Federal de Pernambuco/UFPE, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia Industrial.

Aprovada em: 18/12/2017

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Maria das Graças Carneiro da Cunha
(Orientadora – Presidente) – Departamento de Bioquímica – CB/UFPE

Prof^a. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia
(Examinador Interno – Titular) – Departamento de Bioquímica – CB/UFPE

Profa. Dra. Priscilla Barbosa Sales de Albuquerque
(Examinador Externo – Titular) - Grupo de Pesquisa Biomoléculas em Processos
Biotecnológicos/CNPq

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra
(Examinador Interno – Titular) - Departamento de Bioquímica – CB/UFPE

Profa. Dra. Daniele Maria Teixeira Alves de Sá
(Examinador Externo – Titular) – Eixo Produção Alimentícia- IFCE-Campus Sobral

Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva
(Examinador Externo – Suplente) - Departamento de Bioquímica – CB/UFPE

Profa. Dra. Terezinha Silva
(Examinador Interno – Suplente) - Departamento de Antibióticos

Recife - PE
Dezembro, 2017

Dedico este trabalho aos meus filhos, Marlon Dayan e Milla Sarah, pela compreensão de esperar concluí-lo para brincarmos juntos. Ao meu esposo, pelo carinho, atenção e apoio principalmente nos dias de desânimo. Ao meu pai, irmãs, sogra, cunhada e familiares. E em especial a minha avó Mãe Dozinha e a minha Mãe Antônia Rodrigues (in memoriam) por crer está realizando o sonho delas!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por realizar grandes proezas no meu dia-a-dia.

À minha família pelo apoio e compreensão em todos os momentos de minha vida, e este foi um deles.

À minha orientadora Professora Graça Cunha, pela amizade, apoio, paciência, dedicação, e por ter me repassado muitos conhecimentos. Sem a senhora nada disto teria se concretizado, portanto serei eternamente agradecida pelos seus ensinamentos tão grandiosos!

Ao meu coorientador Professor Antônio Vicente, que mesmo distante sempre foi muito acessível e solícito todas as vezes que precisei. Este trabalho só pôde ser construído com as suas ideias e sugestões altamente valiosas. Muito obrigada!

À Daniele Maria Teixeira Sá, Professora do Instituto Federal do Ceará, pela amizade, apoio e por ter aceitado fazer parte deste trabalho, o meu muito obrigado!

À Dra. Suzan Diniz pela contribuição na realização da patente deste trabalho.

Ao pesquisador da Embrapa Caprinos de Sobral Ceará, Professor Antônio Silva do Egito, pela credibilidade e atenção dispensada a esta pesquisa.

Ao Instituto Federal de Educação do Ceará- Campus Sobral, pelo apoio na realização desta pesquisa.

À coordenadora do Programa de Pós-graduação da Rede Nordeste em Biotecnologia - RENORBIO, Professora Teresinha Gonçalves da Silva e aos professores, por cada momento de ensinamento, crescimento e aprendizagem no decorrer deste trabalho.

À minha amiga Francisca Joyce Timbó pela amizade, companheirismo, pelos momentos de aprendizagem e crescimento durante todo o período do curso. À Georgia Maciel e Lidiana Correia pelo apoio e amizade verdadeira.

Aos anjos que Deus colocou em meu caminho e que me acolheram em Recife, entre eles Priscilla Albuquerque, Aline Peixoto e Jéssica Batista. Vocês são exemplos de pessoas que não medem esforços para ajudar ao próximo!

A todos que fazem parte do Laboratório de Biotecnologia da UFPE, e que colaboraram com esta pesquisa diretamente e indiretamente, a minha eterna gratidão.

“Se avexe não, toda caminhada começa no primeiro passo, a natureza não tem pressa segue seu compasso, inexoravelmente chega lá.”

(Acioli Neto “A natureza das coisas”)

RESUMO

A *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* é uma árvore brasileira pertencente à família *Fabaceae* e subfamília *Caesalpinaceae*, popularmente conhecida por Jatobá. Recentemente a xiloglucana (X), polissacarídeo presente em suas sementes, tornou-se um foco de interesse para aplicação na área da biotecnologia alimentar, devido à sua solubilidade em água, não toxicidade e capacidade de formar soluções viscosas. Desta forma, pode ser usado na indústria de alimentos para formar materiais microestruturados no desenvolvimento de sistemas de liberação de aditivos alimentares. No presente trabalho, a xiloglucana da *H. courbaril* foi utilizada como agente encapsulante de ácido ascórbico (AA) por *spray drying*, e as micropartículas obtidas (XAA) foram caracterizadas e aplicadas em hambúrguer do peixe tilápia. A eficiência de encapsulação foi de $96,34 \pm 1,6\%$ e a retenção da atividade antioxidante foi de $89,48 \pm 0,88\%$ após 60 dias a 25°C . As imagens da microscopia eletrônica de varredura apresentaram microesferas com diâmetros variando de 4,4 a 34,0 μm . O espectro do FTIR confirmou a presença de AA nas micropartículas de XAA, o que foi corroborado por DSC e TGA. Verificou-se, ainda, que o AA libertado foi dependente do pH. A aplicação das micropartículas de XAA em hambúrgueres do peixe tilápia não alterou o pH após aquecimento e a retenção do AA foi maior em comparação com a sua forma livre. Além disso, os estudos de determinação de cor revelaram aumento da intensidade do parâmetro b^* (aparência amarelada) entre as amostras cruas e assadas, sendo esta intensidade mais acentuada nas amostras contendo AA livre. Os resultados obtidos permitem concluir que a xiloglucana extraída de sementes de *H. courbaril* var. *courbaril* mostrou-se adequada como agente encapsulante do ácido ascórbico, com a produção de micropartículas com boas características morfológicas, estabilidade e retenção da atividade antioxidante durante 60 dias de estudo, onde liberação do ácido ascórbico das micropartículas de xiloglucana apresentou-se de forma controlada no pH 6,5 e 7,0. Conclui-se também a incorporação de micropartículas de xiloglucana contendo ácido ascórbico na formulação de hambúrguer de peixe tilápia é uma alternativa viável para reduzir as reações de oxidação lipídica, demonstrando serem adequadas como aditivo para aplicações alimentares.

PALAVRAS-CHAVES: Ácido ascórbico. Hemicelulose. Microencapsulação. Peixe. *Spray drying*.

ABSTRACT

Hymenaea courbaril var. *courbaril* is a Brazilian tree belonging to the family Fabaceae and subfamily Caesalpiniaceae, popularly known as Jatobá. Recently, xyloglucan (X), the polysaccharide present in its seeds, has become a focus of interest for application in the area of food biotechnology due to its water solubility, non-toxicity and ability to form viscous solutions. In this way, it can be used in the food industry to form microstructured materials for the development of release systems. In the present work, the xyloglucan of *H. courbaril* was used as an ascorbic acid (AA) encapsulating agent by spray drying, and the obtained microparticles (XAA) were characterized and applied in hamburger of tilapia fish. The encapsulation efficiency was $96.34 \pm 1.6\%$ and the retention of the antioxidant activity was $89.48 \pm 0.88\%$ after 60 days at 25 °C. Scanning electron microscopy images showed microspheres with diameters varying from 4.4 to 34.0 μm . The FTIR spectrum confirmed the presence of AA in xyloglucan microparticles, which was corroborated by DSC and TGA. It was also found that the AA released was pH-dependent. The application of XAA microparticles in hamburgers of the tilapia fish did not change the pH after heating and the retention of the AA was greater when compared to its free form. In addition, the colour determination showed increased intensity of the parameter b^* (yellowish appearance) between the raw and roasted samples, being this intensity more pronounced in samples containing free AA. The results obtained allow us to conclude that xyloglucan extracted from seeds of *H. courbaril* var. *courbaril* was suitable as encapsulating agent of ascorbic acid, with the production of microparticles with good morphological characteristics, stability and retention of the antioxidant activity during 60 days of study, where release of the ascorbic acid of the xyloglucan microparticles presented in a controlled way in the pH 6.5 and 7.0. It is also concluded that the incorporation of xyloglucan microparticles containing ascorbic acid in the fish burger formulation tilapia is a viable alternative to reduce lipid oxidation reactions, proving to be suitable as an additive for food applications.

KEYWORDS: Ascorbic acid. Hemicellulose. Microencapsulation. Fish. Spray drying.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fundamentação Teórica

Figura 1	Frutos e folhas da <i>Hymenaea courbaril</i> var. <i>courbaril</i>	19
Figura 2	Modelos de Micropartículas: microcápsulas (A) e microesferas (B).....	25
Figura 3	<i>Spray dryer</i> de bancada.....	27
Figura 4	Fórmula Estrutural do L- Ácido Ascórbico e Ácido Deidroascórbico.....	29
Figura 5	Evolução da produção mundial da pesca e aquicultura de 1950 a 2014.....	39

Artigo

Figura 1-	SEM micrographs of XDS (A) and XAA (B).....	50
Figura 2-	FTIR of L-ascorbic acid (AA), XAA microparticles and xyloglucan.....	50
Figura 3-	Differential scanning calorimetry (DSC) analysis of XAA, XSD and xyloglucan samples.....	50
Figura 4-	Thermogravimetric analysis (TGA) of XAA, XSD and xyloglucan samples.....	51
Figura 5-	AA release profiles from XAA at pH 7.0, 6.5 and 2.0.....	51
Figura 6-	Appearance of the raw and baked fish Burger.....	51

LISTA DE TABELAS

Fundamentação Teórica

Tabela 1	Mecanismos de liberação das micropartículas e características de atuação.....	37
Tabela 2	Espécies utilizadas para o processamento de hambúrguer de peixe e objetivos de cada estudo.....	43

Artigo

Tabela 1	Retention and Inhibitory Concentration (IC50) of ascorbic acid of XAA.....	51
Tabela 2	pH and ascorbic acid analyzes in fish burgers.....	52
Tabela 3	Color measurements for raw and baked fish burgers.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS

A1	Hamburguer de peixe controle – Sem adição de AA, XAA ou X
A2	Hamburguer de peixe com adição de ácido ascórbico livre – 0,02g/100g de formulação
A3	Hamburguer de peixe com adição de 0,28g de XAA contendo 0,02 g AA/100g de formulação
A4	Hamburguer de peixe com adição de 0,28g de X/100g de formulação
AA	L-ascórbico
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
CI50	Concentração Inibitória do antioxidante que reduz 50% do DPPH
DCFI	2,6-diclorofenol-indofenol
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazil
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EE	Eficiência de Encapsulação
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho transformada de <i>Fourier</i>
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PI	Porcentagem de inibição
SD	<i>Spray Drying</i>
T_g	Temperatura vítrea
TGA	Análise Termogravimétrica
T_m	Ponto de fusão
X	Xilogucana
XAA	Xilogucana com ácido ascórbico
XSD	Xilogucana depois do processo SD
ΔH	Entalpia de fusão

SUMÁRIO

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 GERAL	17
2.2 ESPECÍFICOS	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 <i>HYMENAEA COURBARIL</i> VAR. <i>COURBARIL</i>	18
3.2 POLÍMEROS	19
3.3 XILOGLUCANA	20
3.3.1 Aplicações da xiloglucana na indústria alimentícia	23
3.4 MICROESTRUTURADOS: PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS	24
3.4.1 Microencapsulação	24
3.4.2 Microencapsulação por <i>spray drying</i>	26
3.4.3 Microencapsulação do Ácido Ascórbico	29
3.5 CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS	32
3.6 QUANTIFICAÇÃO E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO	35
3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	35
3.8 ANÁLISE DE LIBERTAÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO	37
3.9 PESCADOS	38
3.9.1 Indústrias Pesqueiras	38
3.9.2 Tilápia (<i>Oreochromis spp.</i>)	40
3.9.3 Processamento do hambúrguer de peixe	41
4 RESULTADOS	45
Artigo- Xyloglucan from <i>Hymenaea courbaril</i> var. <i>courbaril</i> seeds as encapsulating agent of L-ascorbic acid	46
Patente Depositada- Produção de micropartículas de xiloglucana das sementes de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> var. <i>courbaril</i>) com ácido ascórbico para aplicação em hambúrguer de peixe.	55
5 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68
ANEXO A- Comprovante da Plataforma Sucupira que emite o Qualis A2 para a Revista <i>International Journal of Biological Macromolecules</i>	84

ANEXO B- Comprovante de Aceite na Revista <i>International Journal of Biological Macromolecules</i>	85
ANEXO C- Comprovante de tramitação do pedido da patente emitido pelo INPI	86
ANEXO D- Trabalho apresentado no II Simpósio Internacional de Moléculas Bioativas e Bioprocessos de Organismos Aquáticos-Natal, 2017	87
ANEXO E- Certificado da apresentação no II Simpósio Internacional de Moléculas Bioativas e Bioprocessos de Organismos Aquáticos-Natal, 2017	88
ANEXO F- Trabalho apresentado no II Congresso Internacional de Gastronomia e Ciência de Alimentos e publicado no Ebook Gastronomia: da tradição à inovação	89
ANEXO G- Certificado da apresentação no II Congresso Internacional de Gastronomia e Ciência de Alimentos	91
ANEXO H- Trabalho apresentado e publicado nos Anais do XX Encontro Nacional e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos- ENNAL 2017, em Bélem/PA	92
ANEXO I- Certificado do Trabalho apresentado no XX Encontro Nacional e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos- ENNAL 2017, em Bélem/PA	96
ANEXO J- Diploma de Honra ao Mérito dado ao Trabalho apresentado no XX Encontro Nacional e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos- ENNAL 2017, em Bélem/PA	97

Fundamentação teórica

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos, estudos com diversos materiais poliméricos de origem vegetal, como os polissacarídeos, vêm atraindo a atenção de pesquisadores, por serem fontes naturais e renováveis.

A xiloglucana é um destes polissacarídeos que apresenta função estrutural e de armazenamento de energia em sementes, tais como a da espécie *H. courbaril* var. *courbaril*, conhecida como Jatobá, que é pertencente à família Caesalpiniaceae, e de ocorrência abundante em toda a floresta brasileira. A xiloglucana apresenta uma estrutura ramificada constituída por glucose (40%), xilose (34%), galactose (20%) e arabinose (6%) (ARRUDA et al., 2015).

Na área de farmacologia, a xiloglucana é utilizada em sistemas carreadores de fármacos devido à sua solubilidade em água, por ser um polímero natural biodegradável e não antigênico (CAO et al., 2010; JÓ et al., 2010).

Na indústria alimentícia, as xiloglucanas são aplicadas como espessantes, estabilizantes, agente antimicrobiano, inibidora da cristalização, entre outras propriedades (KUMAR; BHATTACHARYA, 2008), não havendo registros de atuação como encapsulante de aditivos alimentares.

Um dos métodos utilizados para a encapsulação de aditivos é a microencapsulação pela técnica de *spray drying*, que é a operação unitária da qual um produto líquido é atomizado e seco instantaneamente através de uma corrente de ar quente, obtendo-se um pó (PEIGHAMBARDOUST; TAFTI; HESARI, 2011). Trata-se de um processo econômico em relação às outras técnicas de microencapsulação, e que produz micropartículas relativamente uniformes, esféricas e com boa estabilidade.

A microencapsulação é uma técnica bastante utilizada na proteção de compostos ativos contra fatores que podem causar a sua degradação, tais como reações adversas do ambiente e perda de voláteis, melhorando assim a estabilidade e contribuindo para liberação controlada de substâncias ativas (AGNIHOTRI et al., 2012). Um dos compostos ativos que já foi encapsulado com diferentes polímeros é o ácido ascórbico (AA) (ALISHAHI et al., 2011; ALVIM et al., 2016).

O AA é utilizado pela indústria alimentícia como aditivo e é considerado uma entre as melhores alternativas como antioxidante, aumentando também o conteúdo

de AA nestes produtos, protegendo as características sensoriais e nutricionais dos alimentos, no entanto apresenta alta instabilidade e reatividade (COMUNIAN et al., 2013; SARTORI et al., 2016, MATOS et al., 2017).

Devido à sua natureza ácida, o AA pode interagir com outros componentes alimentares, resultando em compostos como furano, um carcinogênico cuja formação se dará durante o tempo de aquecimento do produto alimentício. Desta maneira, a microencapsulação com liberação controlada de aditivos como o AA para determinadas formulações alimentares, é interessante para manter as características adequadas durante todo o processamento, armazenamento e aquecimento do produto alimentício.

Entre as formulações alimentares têm-se os hambúrgueres, o qual, de acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 2017) é o produto cárneo obtido de carne moída das diferentes espécies animais, com adição ou não de ingredientes, moldado na forma de disco ou na forma oval e submetido a processo tecnológico específico.

A carne de peixe pode ser utilizada como a base para o hambúrguer, com intuito de agregação de valor, mas existem poucos estudos na literatura sobre produtos a base de peixe e, apesar do conhecimento das propriedades nutricionais deste pescado, não há informações suficientes sobre o uso potencial de sua carne, como a do peixe tilápia (*Oreochromis niloticus*) para produzir essas formulações alimentares.

Uma das características nutricionais da carne do peixe é o alto conteúdo de ácidos graxos polinsaturados, que ocasiona um maior grau de deterioração principalmente devido à oxidação lipídica. Portanto, a adoção de tecnologias e aditivos que preservem e aumentem a vida de prateleira é de extrema importância.

No presente trabalho, a xiloglucana da *H. courbaril* var. *courbaril* foi utilizada como agente encapsulante de ácido ascórbico por *spray drying*, e as micropartículas obtidas foram caracterizadas e aplicadas em hambúrguer do peixe tilápia com intuito de avaliar a liberação controlada do composto ativo durante a fase de beneficiamento e cozimento.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo produzir microestruturados de xiloglucana das sementes de jatobá (*H.courbaril* var. *courbaril*), como agente encapsulante de ácido ascórbico e sua aplicação em produtos cárneos.

2.2 Objetivos Específicos

- Obter e caracterizar as micropartículas de xiloglucana com ácido ascórbico (XAA) através das análises de Microscopia, Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier e Análises térmicas;
- Avaliar a estabilidade do ácido ascórbico nas micropartículas de XAA durante 60 dias;
- Avaliar a liberação do ácido ascórbico das micropartículas de XAA em diferentes pH;
- Incorporar micropartículas de XAA em hambúrgueres de tilápia (*Oreochromis niloticus*);
- Avaliar os hambúrgueres de tilápia acrescidos das micropartículas de XAA antes e depois da cocção através das análises de pH, ácido ascórbico e cor.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *HYMENAEA COURBARIL* VAR. *COURBARIL*

A origem da *H. courbaril* var. *courbaril* se inicia pela família Fabaceae, que compreende um grande número de espécies e de relevante potencial econômico. Segundo Lewis et al. (2005) ela engloba um arsenal de aproximadamente 19.325 espécies distribuídas em 727 gêneros, 36 tribos e suas subfamílias são Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae, e já foram registradas no Brasil aproximadamente 2.807 espécies e 222 gêneros (15 endêmicos), abundantes em diferentes biomas e ecossistemas (LIMA et al., 2015).

Caesalpinioideae é composta de quatro tribos entre elas Cercideae, Detarieae, Cassieae e Caesalpinieae (LEWIS et al., 2005). O gênero *Hymenaea* que é considerada em Detarieae (MACKINDER, 2005) é caracterizado pelas folhas bifolioladas, folíolos assimétricos com nervura primária próxima à margem distal, e estípulas inseridas lateralmente (FOUGÉRE-DANEZAN et al., 2010). No Brasil, está representada nas Regiões Norte, Centro-Oeste, Nordeste, Sul e Sudeste e entre as 15 espécies tem-se: *H. altissima*, *H. aurea*, *H. courbaril*, *H. eriogyne*, *H. fariana*, *H. intermedia*, *H. longifolia*, *H. maranhensis*, *H. martiana*, *H. oblongifolia*, *H. parvifolia*, *H. reticulata*, *H. rubriflora*, *H. stigonocarpa*, *H. velutina* (LIMA; PINTO, 2015).

A *H. courbaril* é amplamente distribuída, desde o México, passando pela América Central e Antilhas, até a América do Sul (LEE; LANGENHEIM, 1975). A *H. courbaril* var. *courbaril* é reconhecida pelo hábito sempre arbóreo, com copa frondosa, tronco ereto e periderme não descamante, folíolos normalmente elípticos, com ápice agudo, ligeiramente falcados e glabros, flores de tamanho médio (24–31 mm comprimento), hipanto campanulado e ovário glabro, com estípite (2–4 mm comprimento) (SOUZA; FUNCH; QUEIROZ, 2016).

Entre as partes da *Hymenaea courbaril* var. *courbaril*, o fruto (Figura 1) contém uma casca dura e sementes, revestidas por uma polpa amarelada e farinácea (FERNANDES et al., 2015). As sementes são compostas por um polissacarídeo denominado xiloglucana, encontrado na parede celular de plantas dicotiledôneas como material de reserva (BUSATO; VARGAS-RECHIA; REICHER, 2001; ROSÁRIO et al., 2011).

Figura 1- Frutos e folhas da *Hymenaea courbaril* var. *courbaril*



FONTE: Autor (2014).

3.2 POLÍMEROS NATURAIS

Os polímeros são grandes moléculas compostas por muitas subunidades repetidas chamados monômeros, podendo ser classificados como naturais e sintéticos (AWUZIE, 2017; KULKARNI et al., 2017).

Os polímeros naturais estão recebendo uma imensa importância atualmente, devido à sua capacidade de reduzir o fluxo de resíduo tóxico e porque suas propriedades mecânicas e físicas podem ser viavelmente modificadas (BALAJI et al, 2018).

O potencial de biodegradabilidade e biocompatibilidade, além da economia, disponibilidade, renovação e estabilidade dos polímeros naturais, são características que determinam sua relevância quando comparados com os polímeros sintéticos, que são de alto custo, e podem apresentar toxicidade e longos tempos de decomposição, provocando problemas ao meio ambiente (KULKARNI et al., 2017).

Dentre os polímeros naturais estão os polissacarídeos, que são bem distribuídos na natureza e disponíveis a partir de plantas e microrganismos, onde nas plantas apresentam-se como os principais constituintes químicos, isto porque formam a parede celular, que é o suporte estrutural das células vegetais (MKEDDER et al., 2013).

A utilização industrial de polissacarídeos abre oportunidade tecnológica para a produção em grande escala a partir de fontes renováveis e com baixo impacto ecológico (SANTOS, 2017).

Entre os polissacarídeos obtidos de plantas e que foram utilizados para diferentes aplicações estão o amido, quitosana, galactomanana e xiloglucana (COSTA et al., 2017; CRIZEL et al., 2018; VILARÓ et al., 2017; ARRUDA et al., 2015).

3.3 XILOGLUCANA

A parede celular vegetal é uma estrutura complexa formada por polissacarídeos de alta massa molar, proteínas e compostos fenólicos (SOMERVILLE et al., 2004).

As hemiceluloses são polissacarídeos que contêm outros açúcares além da glicose e são consideradas um dos principais componentes da parede celular vegetal primária, dentre as hemiceluloses, podemos citar as xiloglucanas, glucoarabinoxilanas e xilanas que são heteropolissacarídeos que se encontram associados às microfibrilas de celulosas (CARPITA et al., 2001).

A xiloglucana é uma das principais hemiceluloses que apresentam funções distintas no vegetal com duas atuações, como estrutural e de reserva (ROSÁRIO et al., 2011). Esta hemicelulose aparece nas fanerógamas como polissacarídeo de estocagem de muitas dicotiledôneas, especialmente as leguminosas (BUSATO; VARGAS-RECHIA; REICHER, 2001; LIMA; BUCKERIDGE; TINÉ, 2001; REITER, 2002; ROSÁRIO et al., 2011).

Os padrões de ramificação das xiloglucanas dependem das espécies da planta. Esta variação da estrutura está diretamente ligada à funcionalidade e às propriedades físico-químicas do polissacarídeo (ARRUDA et al., 2015).

Entre as sementes de diferentes espécies que contêm xiloglucana estão *Linum usitatissimum L.*, *Copaifera langsdorffii*, *Tamarindus indica*, *Mucuna sloanei* e *H. courbaril* variando em suas estruturas químicas (DING et al., 2016; ROSÁRIO et al., 2011; TEIXEIRA-SÁ et al., 2009).

A xiloglucana presente na semente de tamarindo é um biopolímero de alta massa molar, com excelente propriedade mecânica e de barreira de oxigênio muito

superior aos atuais polímeros à base de petróleo de uso industrial (KOCHUMALAYIL et al., 2013).

A xiloglucana presente nas sementes de linhaça (*Linum usitatissimum L.*) pode ser aplicada como fibra dietética na indústria de alimentos, devido as suas propriedades físico-químicas e perfis de fermentação *in vitro* (DING et al., 2016).

Kooiman (1960) foi o primeiro a sugerir a presença de xiloglucana nas sementes de *H. courbaril*, com base na coloração obtida com iodo/iodeto, a qual ficou restrita às paredes espessas do cotilédono.

Buckeridge et al. (1997) descreveram que a xiloglucana das sementes de jatobá apresentavam características estruturais únicas com base na composição de diferentes blocos oligossacarídicos, implicando em mudanças nas propriedades moleculares, como a solubilidade em água, interações entre essas moléculas ou entre elas e a celulose.

A xiloglucana é constituída de resíduos de glicose ligados através de ligações β (1-4), com cadeias laterais formadas por resíduos de xilose com ligações α (1-6) ou galactose β (1-2) ligada à xilose α (1-6), resultando em um dissacarídeo na ramificação (BUCKERIDGE; TINÉ, 2001). A composição monossacarídea da xiloglucana obtida da *H. courbaril* var. *courbaril* é de 40% de glicose, 34% de xilose, 20% de galactose e aproximadamente 6% de arabinose (ARRUDA et al, 2015).

Freitas et al. (2005) caracterizaram a xiloglucana de sementes de *H. courbaril* e de *T. indica* e observaram que há diferença quando compara-se as duas xiloglucanas, devido à presença de uma série de oligossacarídeos únicos presentes nas amostras de *H. courbaril*, dando origem a uma molécula mais rígida quando comparada com a xiloglucana de *T. indica*, onde as possíveis consequências de tal variação podem ser importantes para aplicações biológicas e industriais.

As xiloglucanas destacam-se entre as pesquisas aplicadas na área de biotecnologia, onde nas duas últimas décadas houve uma extensa investigação com a utilização deste polissacarídeo para transporte de substâncias devido à disponibilidade de informações sobre as propriedades físico-químicas e estruturais (KULKARNI et al., 2017).

Na área de farmacologia, a xiloglucana foi utilizada como base na preparação de géis como veículos de liberação para o fornecimento ocular de cloridrato de pilocarpina (MIYAZAKI et al., 2001), timolol (BURGALASSI et al., 2000) e ciprofloxacina (MAHAJAN; DESHMUKH, 2015), como também em formulações de

géis juntamente com a pectina para administração oral e liberação de fármaco (ITOH et al., 2008).

Entre outras pesquisas estão a formação de géis de xiloglucana com a doxorubicina (agente quimioterápico) e galactosamina, conferindo maior efeito terapêutico ao fármaco quando este está na forma de gel e quando comparado com a sua forma livre (CAO et al., 2010).

Jó et al. (2010) visaram uma aplicação para transporte de drogas e avaliaram a capacidade da formação de nano-agregados com a xiloglucana obtida das sementes de *T. indica* utilizada para encapsular a camptotecina (um fármaco anti-cancêr), com eficiência de 42% de encapsulação.

Outros importantes trabalhos foram publicados na área médica, como a pesquisa de Lubambo et al. (2011) que utilizaram a xiloglucana agregada com poliestireno na formação de filmes contendo mica.

Xiloglucana de sementes de *Copaifera langsdorffii*, *H. courbaril* e *Mucuna sloanei* foi avaliada em relação aos efeitos imunomoduladores nos macrófagos peritoneais, onde os resultados indicam que a xiloglucana das diferentes espécies pode ser classificada como modificador de resposta biológica, promovendo a ativação de macrófagos (ROSÁRIO et al., 2011).

Bhalekar et al. (2016) avaliaram as propriedades mucoadesivas da xiloglucana obtida das sementes de *T. indica*, modificando-a e convertendo à tiômero, e com este preparou comprimidos de sinvastatina que demonstraram um retardamento linear na liberação *in vitro* com aumento da quantidade de tiômero retido.

Lucyszyn et al. (2016) incorporaram arabinogalactano extraído de folhas de *Pereskia aculeata* e xiloglucana de sementes de *Guibourtia hymenifolia* a um filme a partir de membranas de celulose bacterianas residuais mecanicamente desfibriladas, sugerindo a utilização do filme para diferentes fins biotecnológicos. Outros filmes de hidrogel à base de xiloglucana foram sintetizados e caracterizados, demonstrando ausência de citotoxicidade, sugerindo assim estudos posteriores com a integração de sensores para monitorar o processo de cicatrização de feridas (AJOVALASIT et al., 2018).

3.3.1 Aplicações da xiloglucana na indústria alimentícia

Diferentes propriedades exibidas pelas xiloglucanas atraem estas moléculas para a utilização na indústria alimentícia. Kumar e Bhattacharya (2008) relataram que está disponível para comercialização a xiloglucana da *T. indica* como aditivo alimentar, tendo como funcionalidade a melhoria da textura e viscosidade nos alimentos processados. Isto se deve ao fato de que, sob condições específicas, as xiloglucanas podem formar soluções viscosas e, ao interagir com compostos como tetraborato, água, álcool e quitosana, resultam na formação de gel ou aumento da viscosidade da solução (MARTIN et al., 2003; YUGUCHI et al., 2004; SIMI; ABRAHAM, 2010). Existem também outras aplicações como agente antimicrobiano e inibidor da cristalização de sobremesa (KUMAR & BHATTACHARYA, 2008).

Existem patentes que relatam o uso da xiloglucana como emulsificante de alimentos ácidos (JP 2000060481, 2000), estabilizante de preparações à base de leite (JP 01157365, 1989) e de preparações com óleo e água (JP2003113323, 2003), assim como estabilizante em tempero (JP 2000139399, 2000), agente antimicrobiano (JP20040902, 2004), inibidor de cristalização em sobremesas (JP 2005013099, 2005) e como formadora de filme (BR 1120120071254A2, 2012).

Na Índia e no Japão a xiloglucana é utilizada para uma gama de produtos de confeitaria, bem como aditivos com a função de agente gelificante para diferentes produtos alimentícios (NITTA & NISHINARI, 2005; PICOUT et al., 2003).

A xiloglucana também pode apresentar função regulatória, pois seus oligossacarídeos não são digeridos pelas enzimas digestivas humanas, atuando como fibra dietética (PICOUT et al., 2003).

Rodrigues et al. (2017) produziram e avaliaram filmes à base de xiloglucana extraída de semente de tamarindo, incorporando óleo de semente de sésamo, visando posteriormente o uso como revestimentos ativos para prolongar a vida útil dos alimentos como queijos, nozes e frutas.

Poucas pesquisas relatam a aplicação das xiloglucanas extraídas de sementes de *H. courbaril* na indústria de alimentos. Existe uma patente publicada relatando a presença deste polissacarídeo na espécie em questão, ressaltando sua aplicação na área de alimentos e farmacêutica (US5488105 (A), 1996).

Freitas et al. (2015) estudaram este polissacarídeo da semente de jatobá, avaliando as propriedades viscoelásticas de soluções aquosas, confirmando a

presença de uma rede transitória, quase permanente e semelhante ao de outros polissacarídeos, em particular a goma guar, propriedade importante que pode ser explorada com a utilização da mesma na indústria alimentícia.

3.4 MICROESTRUTURADOS: PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS

3.4.1 Microencapsulação

A microencapsulação é um processo em que substâncias ativas são revestidas por cápsulas extremamente pequenas (SILVA et al., 2014). Trata-se de aprisionamento de um agente ativo dentro de uma substância designada como agente encapsulante (NEDOVIC et al., 2011).

É definida ainda, como uma tecnologia de embalagem ou empacotamento através de polímeros finos, de substâncias sólidas, líquidas ou gasosas, que darão como resultado as micropartículas (GHARSALLAOUI et al., 2007; PAULO; SANTOS, 2017).

Existem diferentes métodos de microencapsular, entre eles secagem por pulverização ou *spray drying*, *spray chilling*, liofilização, extrusão, coacervação e técnica microfluídica (AZEREDO, 2005).

O *spray drying* é caracterizado pelo processo onde uma emulsão contendo o material encapsulante e o material ativo, é atomizada dentro do secador, ocorrendo a evaporação do líquido da solução do agente encapsulante, com a formação da membrana ao redor do material ativo (GUERIN et al., 2017; MEDINA-TORRES et al., 2013; ROCHA; FAVÁRO-TRINDADE; GROSSO, 2012; RAJABI et al., 2015; SOUZA et al., 2013; SOUZA et al., 2015). Outro método é o *spray chilling* que consiste na atomização em uma câmara resfriada, de uma dispersão ou emulsão que contém o agente ativo, para a produção de micropartículas lipídicas sólidas (MATOS et al., 2017; SARTORI et al., 2015). Já a liofilização é um método baseado na desidratação por sublimação de um produto congelado (JAFARI; MAHDAVI-KHAZAEI, HEMMATI-KAKHKI, 2016).

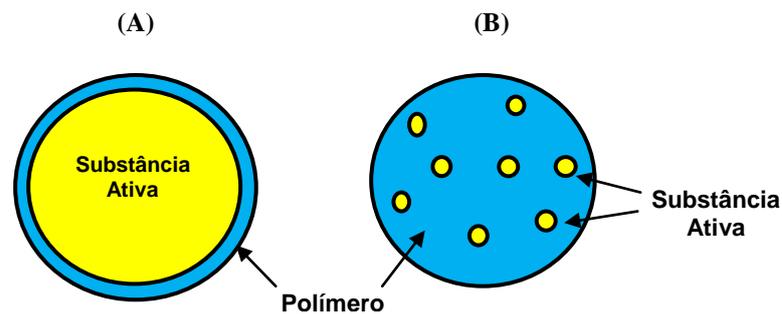
A extrusão é outro método de microencapsulação que envolve a dispersão do material do núcleo em um carboidrato, onde a mistura é forçada através de moldes, em direção a um líquido desidratante, para em seguida, o material extrusado ser quebrado em fragmentos menores para serem separados e secos (AZEREDO,

2005; CHANG et al., 2010). Já a coacervação é um fenômeno coloidal referente a uma separação de fases, em que uma fase líquida rica em um colóide, separa-se de uma solução macromolecular, como resultado de uma redução da solubilidade por meios químicos ou físicos (ex: alteração de temperatura ou de pH e adição de uma solução iônica concentrada) (COMUNIAN et al., 2013).

A técnica microfluídica é outro método de microencapsulação caracterizado pela utilização de dispositivos microfluídicos, para a fabricação de gotas monodispersas com propriedades mecânicas uniformes, permitindo um maior controle na liberação dos agentes ativos (COMUNIAN et al., 2014b).

Segundo Herrero-vanrell et al. (2014), as micropartículas podem ser distinguidas em microesferas ou microcápsulas, apresentando características de estruturas internas e morfologia específicas (Figura 2).

Figura 2- Modelos de Micropartículas: microcápsulas (A) e microesferas (B)



FONTE: Adaptado de Herrero-vanrell et al. (2014).

As microcápsulas contêm um núcleo interno e centralizado pela substância ativa recoberta pelo polímero e as microesferas contêm uma estrutura agregada em que o núcleo está uniformemente disperso e/ou dissolvido numa rede polimérica (AZEREDO, 2005; DESAI; PARK, 2005b).

Silva et al. (2014) relatam que existe uma ampla variedade de aplicação das micropartículas em produtos de diferentes áreas como indústria de cosméticos, farmacêutica, agrotóxicos e alimentícia, demonstrando um enorme potencial para gerar produtos de qualidade superior.

Na indústria alimentar, esta tecnologia é utilizada com êxito assegurando a proteção de aditivos sensíveis à temperatura, à luz, ao oxigênio e à umidade, para reduzir a taxa de transferência do núcleo para o meio que se localiza (AZEREDO,

2005; DESAI; PARK, 2005b). Entre os aditivos microencapsulados estão os agentes aromatizantes, edulcorantes, corantes e vitaminas, além de células vivas como probióticos (FANG; BHANDARI, 2010).

Ao realizar a microencapsulação destes ingredientes ou de células vivas, a indústria alimentar deverá considerar os fatores tecnológicos como propriedades de fabricação e armazenamento, viabilidade econômica e satisfação dos consumidores (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016).

3.4.2 Microencapsulação por *spray drying*

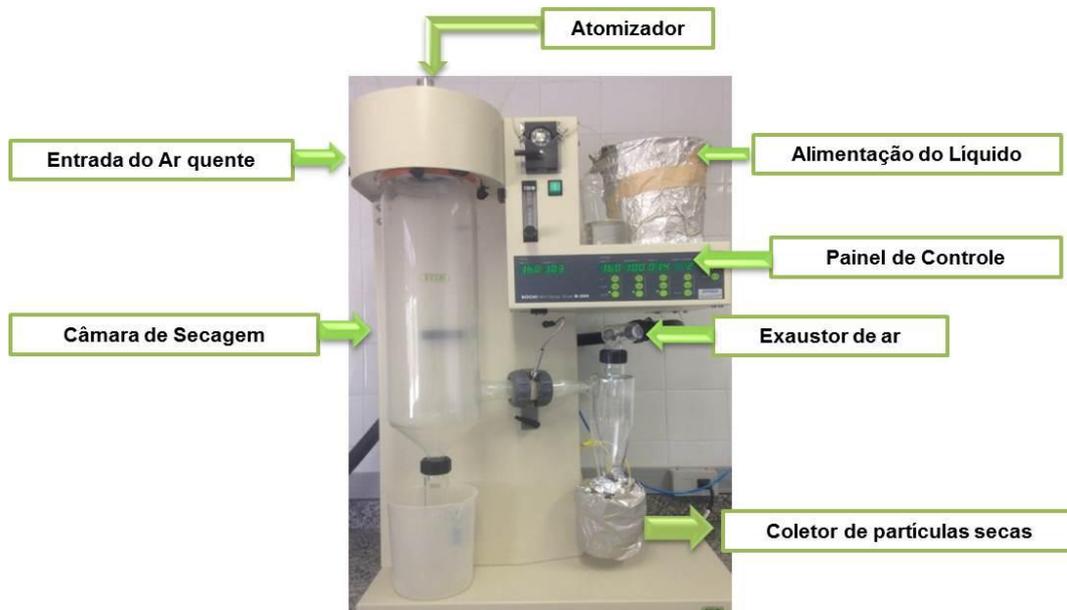
A secagem por pulverização ou *spray drying* é uma metodologia de êxito na indústria alimentar por várias décadas para a produção de alimentos em pó e aglomerados (GOUIN, 2004; SHISHIR; CHEN, 2017).

É uma técnica excelente de microencapsulação para a remoção rápida de solvente de um sistema, ou seja, o produto líquido é atomizado em uma corrente de gás quente para instantaneamente obter-se um pó (DAVIS, 2018; GHARSALLAOUI et al., 2007). Assim, a substância ativa é dissolvida ou suspensa em um material de parede ou polímero que resultará em partículas secas (AGNIHOTRI et al., 2012).

O equipamento chamado de *spray dryer* (Figura 3) contém um aquecedor de ar, atomizador, câmara de pulverização principal, soprador ou ventilador, ciclone e coletor de produto (AGNIHOTRI et al., 2012), que darão sequência às sub-etapas do processo como a atomização, contato com o ar quente, evaporação da água e separação de ar seco do produto úmido, e o recolhimento do produto em pó para um recipiente (DAVIS, 2018).

Entre as vantagens de se utilizar o *spray dryer* estão a disponibilidade de versões do equipamento em grandes dimensões, que dará uma produção em grande escala com economia operacional, além da produção de partículas com alta solubilidade, estabilidade, arredondadas e com tamanho, distribuição, morfologia e composição controláveis (MADENE et al., 2006; STUNDA-ZUJEVA; IRBE; BERZINA-CIMDINA, 2017). Outro benefício é o curto tempo de contato de secagem (5 a 100s), o que tende a preservar atributos de materiais sensíveis ao calor (SHISHIR; CHEN, 2017).

Figura 3- *Spray dryer* de bancada.



FONTE: Autor (2016)

Entre os materiais encapsulantes utilizados para microencapsular compostos ativos estão carboidratos, lipídeos, materiais inorgânicos e proteínas (SILVA et al., 2014). Dentre os carboidratos destacam-se os polissacarídeos e gomas que foram utilizados para microencapsular diferentes substâncias ativas, resultando em micropartículas com alta estabilidade (BERNUCCI et al., 2017; DONHOWE et al., 2014; ROCHA; FAVÁRO-TRINDADE; GROSSO, 2012).

Existem quatro etapas no uso do *spray dryer* para microencapsular agentes bioativos entre elas estão a preparação da dispersão ou emulsão; homogeneização da dispersão; atomização da emulsão; e desidratação do material para obtenção das partículas (GHARSALLAOUI et al., 2007).

Com o objetivo de proteger pigmentos, a secagem por pulverização tem sido utilizada por diferentes autores com desempenho positivo. A produção de micropartículas de licopeno encapsuladas por amido modificado (Capsul®) foram demonstradas por Rocha, Faváro-Trindade e Grosso (2012) com um perfil de liberação e coloração homogêneo, podendo ser aplicado em produtos alimentícios. Donhowe et al. (2014) determinaram o efeito da microencapsulação por *spray drying* de β -caroteno com três tipos de encapsulantes (maltodextrina, quitosana e alginato) obtendo sucesso com a maltodextrina, que posteriormente foi aplicada em água e

em matrizes alimentares como pudim e iogurte apresentando no ensaio de digestão *in vitro* uma biodisponibilidade maior quando dispersiva em água.

Para resguardar probióticos, a microencapsulação através do *spray drying* tem sido utilizada para diferentes espécies de microrganismos. Entre eles tem-se o *Bifidobacterium longum* 5^{1A} que foi microencapsulado por emulsificação do alginato com amido e quitosana e por secagem por pulverização usando leite desnatado como carreador, apresentando êxito na proteção e integridade nas condições simuladas no trato gastrointestinal (BERNUCCI et al., 2017). *Lactobacilos rhamnosus* GG foram microencapsulados com misturas de caseínas micelares e soluções de proteínas de soro de leite desnaturado com adição de quimosina antes da secagem, resultando em micropartículas viáveis para serem aplicadas em alimentos líquidos (GUERIN et al., 2017).

A encapsulação do óleo essencial isoeugenol em emulsões secas por pulverização, para ter uma ação antibacteriana mais eficaz foi descrita por Nielsen et al. (2016), que comprovaram um aumento na atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* K12 e *Listeria monocytogenes* em suco de cenoura.

Vários antioxidantes como ácido gálico, extratos de plantas que contém compostos ativos e também o ácido ascórbico já foram microencapsulados pelo processo de *spray drying*. Medina Torres et al. (2013) microencapsularam o ácido gálico com mucilagem de *Opuntia ficus indica*, apresentando resultados promissores para aplicação em alimentos.

Os compostos ativos do açafão foram microencapsulados através do *spray drying*, utilizando a maltodextrina, juntamente com a goma arábica e gelatina como agentes encapsulantes, demonstrando que a mistura dos três materiais de parede foram eficientes para o encapsulamento do extrato de açafão, preservando seus compostos ativos (RAJABI et al., 2015).

Os extratos hidroalcoólicos de *Suillus luteus* e *Coprinopsis atramentaria* foram microencapsulados por *spray drying*, utilizando a maltodextrina, e testados quando incorporados em queijo cottage, demonstrando a preservação da atividade antioxidante dos extratos (RIBEIRO et al., 2015).

Com o objetivo de encontrar uma correlação entre a tecnologia de microencapsulação aplicada a vinhos e a sua composição volátil e perfil fenólico, Avellone et al. (2018) avaliaram os vinhos previamente submetidos à secagem por

pulverização, apontando que não houveram influências no quantitativo dos compostos fenólicos e pigmentos derivados de antocianina.

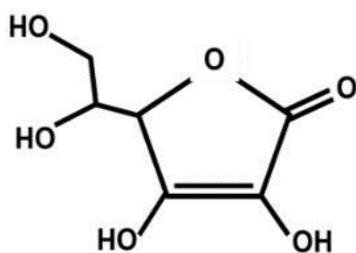
Amostras em pó de *cranberry* foram obtidas por diferentes métodos de secagem e avaliadas em relação ao perfil polifenólico, onde os maiores conteúdos polifenólicos foram observados após o processo de *spray drying*, ressaltando a praticidade e economia operacional desta técnica de secagem, quando se pretende resguardar os compostos ativos do *cranberry* (MICHALSKA et al., 2018).

3.4.3 Microencapsulação do Ácido Ascórbico

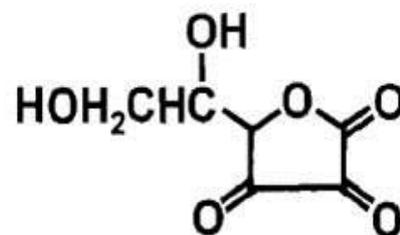
O ácido ascórbico (AA) conhecido como vitamina C, é hidrossolúvel e termolábil, encontrado na natureza sob duas formas: reduzida ou oxidada (ácido deidroascórbico), que são igualmente ativas (Figura 4), porém a forma oxidada está muito menos difundida nas substâncias naturais (MANELA-AZULAY et al., 2003). A forma reduzida é a mais comum e denominada L-ácido ascórbico, que é altamente polar, onde as propriedades redutoras e ácidas são dadas na porção 2,3-enediol (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Os seres humanos e outros primatas são os únicos mamíferos incapazes de sintetizá-lo (MANELA-AZULAY et al., 2003).

Figura 4- Fórmula Estrutural do L- Ácido Ascórbico e Ácido Deidroascórbico

L- Ácido Ascórbico (Reduzida)



Ácido Deidroascórbico (Oxidada)



FONTE: Autor (2017).

Ácido ascórbico é um aditivo usado em alimentos pela virtude das suas propriedades vitamínicas e antioxidantes (COMUNIAN et al., 2014b). Os antioxidantes são aditivos alimentares que atuam no mecanismo oxidativo que levam à deterioração de alimentos, eliminando os radicais livres ou oxigênio, ou pela inibição de enzimas que facilitam a oxidação (SCHYVENS, 2014).

Uma das suas características específicas é a instabilidade, que pode ser influenciada por diferentes fatores como calor, luz, alta concentração de oxigênio e altos valores de atividade da água (COMUNIAN et al., 2014a). Portanto, ele pode ser facilmente degradado durante o processamento de alimentos e, por isso, a microencapsulação seria importante para retê-lo, permitindo a entrega ao local de destino no tempo necessário (NIZORI; BUI; SMALL, 2012), evitando a formação de compostos indesejáveis, entre eles o furano, um possível carcinogêneo obtido a partir do ácido ascórbico que está incorporado em alimentos produzidos por processamento térmico (ÖZDEMİR; GÖKMEN, 2015). Duas vias podem ser descritas como formadores de furano através do ácido ascórbico, onde a primeira se inicia pela oxidação do mesmo em ácido desidroascórbico, e a segunda através da hidrólise e β -eliminação seguida por descarboxilação do ácido ascórbico para produzir 3-desoxipentosulose, para em seguida formar o furano (LOCAS; YAYLAYAN, 2004).

O AA é um dos antioxidantes que já foi encapsulado. De acordo com Chang et al (2010), o encapsulamento de AA representa um desafio devido à sua instabilidade, elevada reatividade em baixo pH e à indisponibilidade de um polímero de qualidade. Diante disto, alguns autores postularam diferentes meios e mecanismos de microencapsulação do AA, como *spray drying*, *spray chilling*, coacervação, extrusão, tecnologia microfluídica e mecanismo de gelificação iônica com tripolifosfato de sódio (ALVIM et. al., 2016; ALISHAHI et al., 2011; COMUNIAN et al. 2013; 2014b; CHANG et al., 2010; DESAI; PARK, 2005a).

Utilizando a metodologia do *spray drying*, vários autores microencapsularam AA com êxito para diferentes aplicações. Desai e Park (2005a; 2006) prepararam carreadores de AA utilizando quitosana reticulada por tripolifosfato de sódio, e o processo resultou em micropartículas de formas esféricas com uma superfície lisa que variaram com o volume de solução de agente de reticulação adicionado e que, em diferentes condições de fabricação mudaram significativamente as características das mesmas.

Nizori, Bui e Small (2012) relataram a influência da temperatura do ar de entrada durante a microencapsulação por *spray drying*, de AA com alginato, pectina e amido de arroz, sendo esta mais positiva quando a temperatura encontrava-se mais elevada.

A galactomanana foi utilizada para carrear ácido ascórbico pelo método de *spray drying*, mostrando-se eficiente quanto a estabilidade do composto, podendo ser viável para aplicação nas indústrias de alimentos como agente protetor da oxidação e como antioxidante na dieta humana (SOUZA et al., 2015).

Microcápsulas foram preparadas por *spray drying*, com amido de milho oxidado e gelatina, para resguardar ácido ascórbico, e demonstraram resultados adequados para libertação deste fármaco (DANG et al., 2017).

Outras técnicas foram desenvolvidas com o intuito de resguardar e impedir a perda de AA durante o processamento de alimentos. A técnica de *spray chilling* foi avaliada como metodologia de encapsulação para sintetizar micropartículas lipídicas sólidas (misturas de ácido láurico e ácido oléico) contendo AA, revelando uma excelente alternativa para entrega do composto bioativo (SARTORI et al., 2016). Alvim et al. (2016) encapsularam AA em goma arábica por *spray drying* e *spray chilling* obtendo micropartículas de proteção como veículos potenciais na aplicação de substâncias sensíveis em produtos de panificação como biscoitos.

Micropartículas lipídicas de gordura interesterificada carregada com ácido ascórbico, foram obtidas por *spray chilling* e caracterizadas de acordo com a distribuição de tamanho de partícula e morfologia, comportamento térmico e eficiência de encapsulamento, resultando na liberação controlada de AA e um potencial para mascarar o seu sabor ácido (MATOS et al., 2017).

Comunian et al. (2013; 2014b) microencapsularam o AA com a técnica de coacervação (utilizando gelatina e goma arábica como agentes encapsulantes, óleo de milho e poliglicerolato de poliglicerol como surfactante) e tecnologia microfluídica, revelando que as mesmas apresentaram um enorme potencial para garantir a estabilidade e um poder de mascarar o ácido ascórbico.

Nanopartículas obtidas por mecanismo de gelificação iônica com tripolifosfato de sódio contendo AA foram utilizadas na alimentação da espécie de peixe *O. mykiss*, revelando que a vida de prateleira do AA encapsulado aumentou em comparação com o não encapsulado (ALISHAHI et al., 2011).

O AA foi encapsulado em uma matriz de maltodextrina pelo processo de extrusão, demonstrando que os extrusados produzidos, podem ser utilizados para transmitir ou modificar as propriedades dos nutrientes sem ser afetado pelos outros ingredientes, ou pelas condições típicas do processo de produção dos alimentos (CHANG et al., 2010).

O processo de produção de micropartículas de pectina contendo ácido ascórbico foi publicado como patente no Brasil, onde as micropartículas obtidas na forma de pó pelo processo de granulação em leito fluidizado, apresentaram uma estabilidade de cor bastante acentuada (PI 0006230-8, 2000).

3.5 CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS

A caracterização das micropartículas tem sido realizada em diferentes pesquisas através de métodos analíticos como Microscopia Eletrônica de Varredura, Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier, Análises térmicas e Análise de liberação da substância encapsulada (ALVIM et. al., 2016; COMUNIAN et al. 2013; DANG et al., 2017; SOUZA et. al., 2015).

A atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH e a quantificação do ácido ascórbico são análises aplicadas comumente para micropartículas contendo AA (SOUZA et. al., 2015; MATOS et al., 2017).

A microscopia eletrônica de varredura é definida como ferramenta ou instrumento versátil em atividades de pesquisa, sua resolução é de 10 nanômetros, obtendo-se informações topográficas de amostras biológicas ou não (CASTRO, 2002).

Para a visualização de micropartículas, o MEV representa uma metodologia para descrever as morfologias superficiais do material de parede quando aprisionam o material do núcleo, diante disto, diferentes autores utilizaram-na em suas pesquisas quando encapsularam o AA através de *spray dryer* (ALVIM et al., 2016; DESAI; PARK, 2006; NIZORI; BUI; SMALL, 2012; SOUZA et. al., 2015) e também próbióticos (DONHOWE et al., 2014; GUERIN et al., 2017; MEDINA TORRES et al., 2013; RAJABI et al., 2015; ROCHA; FAVÁRO-TRINDADE; GROSSO, 2012; RIBEIRO et al, 2015; SOUZA et al, 2013).

A espectroscopia de infravermelho transformada de Fourier é uma técnica que se baseia na análise de picos de absorção em determinados comprimentos de onda (expressos em cm^{-1}), tornando-se uma ferramenta importante na identificação de carboidratos na indústria alimentar, farmacêutica e de cosmético (GÓMEZ-ORDÓÑEZ; RUPÉREZ, 2011; PEREIRA; GUEDA; RIBEIRO-CLARO, 2013). Uma das vantagens, além da metodologia não ser destrutiva perante a amostra, é a

necessidade de uma quantidade mínima de amostra podendo ser seca ou úmida (MAURICIO-IGLESIAS et al., 2009).

Mathlouthi e Koenig (1987) postularam cinco regiões identificadas em carboidratos através do FTIR. Elas estão no espectro normal entre 4000 e 650cm^{-1} e são caracterizadas como região de estiramentos OH e CH (3600 e 2800cm^{-1}), região de simetria local (1500 e 1200cm^{-1}), região de estiramentos CO (1200 e 950cm^{-1}), impressão digital ou região anomérica (950 e 700cm^{-1}) e região esquelética (abaixo de 700cm^{-1}).

Diversas pesquisas caracterizaram a xiloglucana através das bandas de absorção de 3420 e 2900cm^{-1} (região de estiramentos OH e CH), 1600cm^{-1} (efeito da água absorvida pelo polímero), 1300cm^{-1} (deformação do CH) e 940cm^{-1} (ligações glicosídicas) (MISHRA; MALHOTA, 2012; SONAWANE; BLALEKAR; SHIMPI, 2014; SUN et. al., 2005).

O FTIR tem sido utilizado para caracterizar micropartículas obtidas por *spray drying*. Gharsallaoui et al. (2012) utilizaram duas camadas de proteína isolada de ervilha com pectina para encapsular compostos aromatizantes de morango, onde os resultados obtidos pela análise de FTIR demonstraram que a pectina foi capaz de preservar a estrutura secundária da proteína da ervilha.

Souza et al. (2013) utilizaram a pectina e quitosana para encapsular mangiferina, confirmando a presença do composto ativo através de um pico de alta intensidade ao redor 1560cm^{-1} , que não está presente nos espectros de pectina e ou quitosana.

As análises térmicas são definidas como um grupo de técnicas onde uma propriedade física de uma substância é medida em função de uma temperatura controlada (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2005).

Entre as análises térmicas tem-se a Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Na TGA mede-se a perda ou ganho de massa em função do tempo e temperatura (DENARI; CAVALHEIRO, 2012). Em estudos com polissacarídeos existem picos que são atribuídos a evaporação de água, à desidratação, despolimerização e decomposição do esqueleto do polissacarídeo até se ter a decomposição da amostra (SIMI; ABRANHAM, 2010; CERQUEIRA et al., 2014). Nesta análise a degradação de materiais poliméricos começa freqüentemente com mudanças de entalpia (GOLEBIEWSKI; GALESKI, 2007).

Na DSC determina-se as variações de entalpia da amostra comparando-se em relação a um material inerte utilizado como referência, enquanto são expostas a uma temperatura controlada (DENARI; CAVALHEIRO, 2012). O objetivo é medir as diferenças de energia. Existem duas modalidades de DSC: a de compensação de potência e a de fluxo de calor (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2005). Na de compensação de potência tanto a amostra como a referência são resfriados ou aquecidos em condições isotérmicas, em fornos idênticos mas separados, de modo que os termopares detectam os eventos. Já no fluxo de calor a amostra e a referência são aquecidas pela mesma fonte de calor, e a variação de temperatura, em um dado momento é proporcional a entalpia (CANEVAROLO JR, 2004).

As técnicas térmicas já foram amplamente utilizadas na caracterização de polissacarídeos (BERGSTROM, et al., 2012; MISHRA; MALHOTA, 2012), assim como na caracterização de micropartículas com AA obtidas por *spray drying* e por outros meios. Souza et al. (2015) avaliaram as micropartículas de galactomanana com AA pela DSC e TGA, demonstrando pequenas diferenças na estabilidade térmica da galactomanana antes e depois da incorporação de AA.

A DSC foi utilizada para determinar a temperatura vítrea (T_g) do produto extrusado contendo AA, resultando na diminuição da T_g , devido ao fato do AA se estabelecerem entre as cadeias do polímero diminuindo a interação entre suas moléculas (CHANG et al., 2010). A DSC também foi utilizada para determinar a temperatura vítrea de micropartículas de proteína isolada de ervilha com variações da quantidade de pectina e contendo compostos aromatizantes de morango, sugerindo que a quantidade baixa de pectina adicionada ao sistema polimérico não afetaram nos valores da T_g (GHARSALLAOUI et al., 2012).

As micropartículas do ácido gálico com mucilagem de *Opuntia ficus indica*, foram caracterizadas através da DSC, onde os resultados demonstraram que a mucilagem, representa um aditivo alimentar promissor para incorporação em alimentos (MEDINA TORRES et al., 2013).

A análise de TGA foi utilizada para avaliar a estabilidade térmica das micropartículas de amido de milho oxidado e gelatina, contendo AA, apresentando uma alta estabilidade térmica após a reação entre os materiais encapsulantes utilizados na produção destas micropartículas (DANG et al., 2017).

3.6 QUANTIFICAÇÃO E EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO

Atualmente existem dois métodos de identificação e quantificação de AA, entre eles os métodos biológicos que foram os primeiros a serem desenvolvidos, mas se tornam inviáveis pelo custo, tempo e por serem pouco repetitivos, tornando os métodos químicos mais empregados atualmente (OLIVEIRA; GODOY; PRADO, 2010).

O método de *Tillmans*, de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008), é utilizado para amostras com baixo teor de AA. Nesta metodologia, a amostra que contém o AA é adicionada a uma solução de ácido metafosfórico com ácido acético e submetida a uma titulação utilizando o indicador 2,6-diclorofenol-indofenol (DCFI), reduzindo-o a uma solução incolor. Quando se dá o excesso do indicador não reduzido, confere-se à solução ácida uma coloração rosa, facilitando a observação do ponto de viragem a olho nu. Esta é uma técnica de fácil aplicação e econômica, principalmente quando comparada à técnica cromatográfica (OLIVEIRA; GODOY; PRADO, 2010). Esta metodologia é ainda indicada pela *Association of Official Analytical Chemists – A.O.A.C* (1984).

Benassi e Antunes (1988) postularam que o ácido metafosfórico e ácido acético indicados para esta análise poderá ser substituído por ácido oxálico, quando testaram na determinação de vitamina C em brócolis, pimenta verde, batata, couve-flor, repolho e couve verde. Recentemente, outros trabalhos adotaram a mesma metodologia utilizando o ácido oxálico na análise de AA (CARAMÊS et al., 2017; MARTÍNEZ-ORTIZ et al., 2017; TANG; LEE, 2016) por ele ser mais barato e menos tóxico do que o ácido metafosfórico (HERNÁNDEZ; LOBO; GONZÁLEZ, 2006).

Perante estes fatos, vários autores utilizaram esta metodologia com ácido oxálico para quantificar o conteúdo de AA em micropartículas e posteriormente utilizar este resultado para determinar a Eficiência de Encapsulação (EE), que pode ser definida como a percentagem de substância ativa, medida nas micropartículas após processamento, em relação à quantidade de substância ativa inicialmente utilizada (ALVIM et al., 2016; COMUNIAN et al., 2013; MATOS et al., 2017).

3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é um método químico, aplicado para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres, desta maneira é uma das metodologias mais utilizadas, por ser considerada um método rápido, prático e com boa estabilidade (SUCUPIRA et al., 2015). O DPPH é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de cor violeta, que possui absorção máxima em 517nm, e sua redução é caracterizada pelo decréscimo da absorbância durante a reação (DENG; CHENG; YANG, 2011).

Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) propuseram o método envolvendo a utilização do 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH●), no qual compostos antioxidantes reagem com o radical estável em uma solução de metanol ou etanol. Eles relatam que, na presença de um doador de hidrogênio ou elétron, a intensidade de absorção diminui e a solução com o radical perde a cor violeta, tornando-se amarela. Isto é, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH recebe um átomo de hidrogênio proveniente de compostos antioxidantes, ocorre a mudança de cor (GÜLÇIN, 2012).

A mudança de cor deverá ser medida por um espectrofotômetro e a absorbância encontrada deverá ser plotada contra a concentração. Para expressar o resultado utiliza-se o EC50 ou CI50, ou seja, a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% o DPPH inicial da reação (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995; LEE et.al., 2003). O valor da CI50 é calculado por regressão linear a partir da porcentagem de inibição (PI) do radical DPPH• em função de diferentes concentrações do antioxidante, onde as absorbâncias obtidas das diferentes diluições, são plotadas no eixo Y e diluição (mg/L) no eixo X, determinando a equação da reta. Para calcular a PI, deve-se substituir a absorbância equivalente a 50% da concentração do DPPH pelo y, e encontrar o resultado que corresponde à amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (CI50) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995).

Estudos anteriores utilizaram esta técnica para analisar a atividade antioxidante de compostos bioativos encapsulados em uma matriz polimérica, entre eles Souza et. al. (2015), que afirmaram que as amostras de AA encapsulado na galactomanana tiveram a sua capacidade antioxidante reduzida quando comparadas com o composto não encapsulado.

3.8 ANÁLISE DE LIBERTAÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO

A encapsulação permite que o núcleo seja isolado do ambiente externo até que a liberação seja desejada (AZEREDO, 2005). Desta maneira torna-se uma metodologia importante quando se trata de alguns compostos como os antioxidantes. Desai e Park (2005b) destacaram os mecanismos envolvidos na liberação controlada e entre eles estão a difusão, degradação, utilização de solvente, pH, temperatura e pressão. A Tabela 1 descreve os diferentes mecanismos de liberação e suas características de atuação.

Tabela 1- Mecanismos de liberação das micropartículas e características de atuação

Mecanismos	Características da Atuação	Referências
Difusão	<ul style="list-style-type: none"> • A parede é uma membrana semipermeável e ela deve estar íntegra; • A taxa é governada pelas propriedades químicas de ambos participantes e as propriedades físicas da parede, dimensões dos poros e aqueles no estado vítreo são mais permeáveis que o estado gomoso; 	SHAHIDI; HAN 1993 WHORTON, 1995
Degradação	<ul style="list-style-type: none"> • Degradação de proteínas ou lipídios pela ação de proteases e lipases, respectivamente. 	DEPYPERE et al., 2003
Solvente	<ul style="list-style-type: none"> • Quando em contato com solvente, o carreador pode se dissolver completamente ou parcialmente com a expansão. 	AZEREDO, 2005
pH	<ul style="list-style-type: none"> • Com a mudança de pH há interferência na solubilidade do material. 	SILVA et al., 2014
Temperatura	<ul style="list-style-type: none"> • Sensibilidade do material à temperatura; • Ativação da liberação por fusão. 	AZEREDO, 2005 DEPYPERE et al., 2003
Pressão	<ul style="list-style-type: none"> • Quando se aplica uma pressão na parede da microcápsula. 	SILVA et al., 2014

FONTE: Elaborada pela autora.

Entre os fatores que afetam este mecanismo estão as interações entre o material da parede e o núcleo, a volatilidade do núcleo, proporção entre núcleo e

material de revestimento, tamanho das partículas e grau de viscosidade do carreador (ROBERTS; TAYLOR, 2000).

Desai e Park (2005a) afirmam que a libertação controlada é um sistema que, quando aplicado em uma matriz alimentar, torna-se uma fonte de ingredientes totalmente novos com propriedades únicas. O material de parede dissolve-se através de um estímulo específico, liberando o núcleo no local ou no momento ideal (SUAVE, 2006).

Na microencapsulação de ácido ascórbico, vários autores utilizaram a análise de libertação *in vitro* para explicar o mecanismo e entender sua funcionalidade quando aplicadas nas matrizes alimentares (DANG et al., 2017; DESAI; PARK, 2005a; 2006; ALISHAHI et al., 2011).

Um dos modelos utilizados para analisar a libertação *in vitro* baseia-se na libertação do composto ativo através de uma membrana de diálise para o meio constituído de uma solução tampão. Esta metodologia foi realizada com êxito em diferentes trabalhos com microencapsulação (BEIRÃO-DA-COSTA et al, 2013; DANG et al., 2017; PINHEIRO et al., 2015).

3.9 PESCADOS

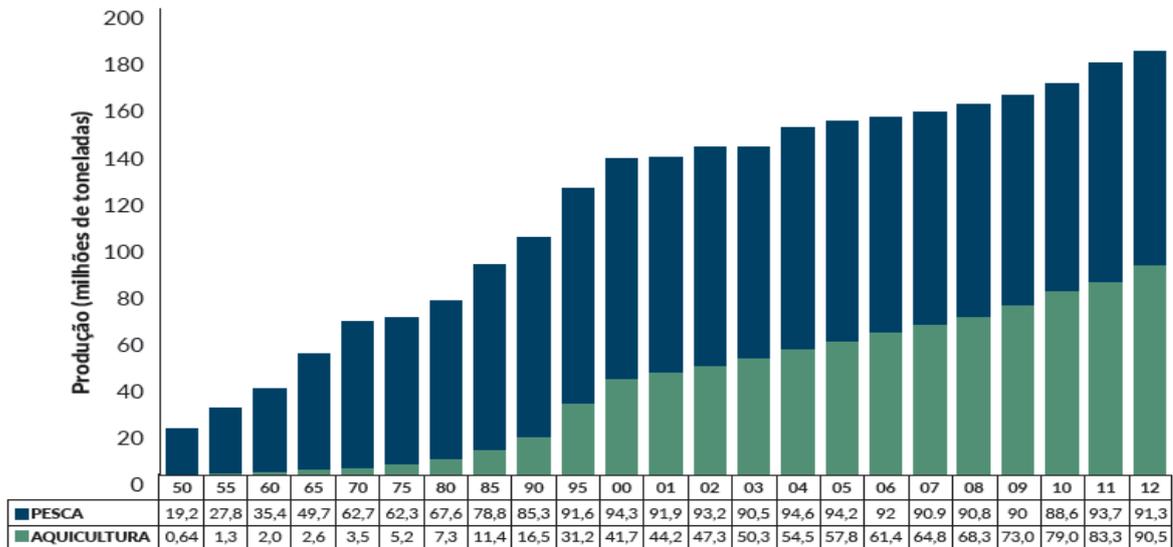
3.9.1 Indústrias Pesqueiras

Globalmente, o comércio de peixe e produtos da pesca tem aumentado de forma constante, com crescimento significativo principalmente no setor de Aquicultura (HAMILTON-HART; STRINGER, 2016). Na figura 5 pode-se observar a evolução da aquicultura mundial e a estabilização da pesca extrativa (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2016).

Segundo a Comissão Econômica para a América Latina e o Caribe (2017), em conjunto com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e o Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura (IICA), as perspectivas para 2018 é que a produção aquícola na América Latina mantenha um ritmo de crescimento superior em relação a outras regiões do mundo, impulsionada principalmente pela aquicultura. De acordo com o 1º Anuário Brasileiro da Pesca e Aquicultura (ASSOCIAÇÃO CULTURAL E EDUCACIONAL BRASIL, 2014), a atividade pesqueira brasileira gerou em 2011 um PIB nacional de R\$ 5

bilhões, mobilizando 800 mil profissionais e proporcionando 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos.

Figura 5- Evolução da produção mundial da pesca e aquicultura de 1950 a 2014.



FONTE: FAO – Food and agriculture Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fishstat, 2016.

O crescimento impressionante da indústria pesqueira tem importante implicação em termos econômicos, assim como a garantia da responsabilidade e a sustentabilidade nas práticas da pesca (HAMILTON-HART; STRINGER, 2016).

Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations (2016) a produção da pesca e da aquicultura é muito heterogênea em termos de espécies e formas de produtos, onde as muitas espécies podem ser preparadas de diferentes maneiras (frescos, congelados, salgados e curados) tornando o peixe um alimento muito versátil. Assim, peixes e produtos da pesca estão entre os alimentos mais comercializados no mundo (SUMAILA; BELLMANN; TIPPING, 2016), representando cerca de 10% das exportações aquícolas totais e 1% comércio mundial de mercadorias em termos de valor (US \$ 102 bilhões) (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2016).

3.9.2 Tilápia (*Oreochromis spp.*)

A tilápia é uma das três espécies de peixe mais cultivadas no planeta e uma das mais consumidas nos Estados Unidos (ASSOCIAÇÃO CULTURAL E EDUCACIONAL BRASIL, 2014). Pertencente à família *Cichlidae*, a tilápia compõe o grupo de peixes mais cultivado no Brasil, tendo apresentado uma produção de 239,09 mil toneladas, ou 47,1% do total da piscicultura em 2016 (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2016).

Os maiores volumes de produção brasileira da tilápia estão nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul, e polos de produção mais expressivos no Ceará, Bahia, Pernambuco, São Paulo, Minas Gerais e Paraná, onde seu cultivo se dá principalmente em tanques-redes e em viveiros (BARBOSA, 2011).

A ampla utilização da tilápia como espécie aquícola deve-se a adaptabilidade em diversas condições ambientais, excelente conversão alimentar, pouca susceptibilidade a doenças parasitárias e elevada resistência a baixas concentrações de oxigênio (FITZSIMMONS; MARTINEZ-GARCIA; GONZALES-ALANIS, 2011).

A parte nobre da tilápia é o filé que possui um alto conteúdo de umidade (78 a 81%), proteínas (14 a 19%), lipídios (1,3 a 3,3%), colesterol (28,4 mg/100 g de carne), ácidos graxos da família do ômega 3, vitamina D e minerais como ferro, magnésio, potássio, zinco e selênio (MENEGASSI, 2011). Pesquisas com o filé da tilápia foram realizadas com a finalidade de avaliar estratégias para prolongar a vida de prateleira e o desenvolvimento de novos produtos a partir da carne desta espécie de peixe. Entre elas está o uso de embalagem de atmosfera modificada e inibidores de oxidação protéica do filé de tilápia durante o armazenamento em gelo (HE et al., 2018).

Priyadarshini et al. (2017) utilizaram a carne de tilápia para a produção de surimi com uma única lavagem com tratamento salino alcalino, resultando em um produto de características adequadas e de boa qualidade. Através do método de ultra-sonografia preparou-se nanofibras de quitina que foram posteriormente utilizadas em uma solução de cura para aumentar a percepção de salinidade em filés de tilapia curados, com o objetivo de diminuir a porcentagem de sal adicionada normalmente neste método de preservação de alimentos (HSUEH; TSAI; LIU, 2017).

3.9.3 Processamento do hambúrguer de peixe

A filetagem é a principal forma de processamento de pescado no Brasil, portanto faz-se necessário o incremento neste setor para agregação de valores a esta matéria prima de origem animal (GONÇALVES, 2011).

Os produtos de origem animal em território brasileiro devem seguir o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) elaborado e aprovado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) através do Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017. Neste mesmo documento existe a definição de pescado (Artigo 205) que compreende os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, répteis, equinodermos e outros animais aquáticos usados na alimentação humana (BRASIL, 2017).

Neste sentido há também a definição dos produtos e derivados de pescado (Artigo 332) como os produtos comestíveis que são elaborados a partir de pescado inteiro ou de parte dele, aptos para o consumo humano (BRASIL, 2017). O inciso 1º do Artigo 332 esclarece que, para ser considerado um produto de pescado, deve-se possuir mais de cinquenta por cento (50%) de pescado dentro do referido produto, respeitando as particularidades definidas no regulamento técnico específico (BRASIL, 2017).

Alguns países como o Japão utilizam espécies de diferentes peixes para a produção de alimentos não convencionais entre eles pastas de peixe, pudins, croquetes, salsichas e presuntos (MELGAREJO; MAURY, 2002).

Portanto, o aproveitamento de espécies e a utilização de partes comestíveis como matéria prima para o desenvolvimento de novos produtos abrem a possibilidade de agregação de valor na área de pescado (GONÇALVES, 2011) e, desta maneira, surge o hambúrguer de peixe. Nesta preparação, além da carne do peixe, adicionam-se condimentos e aromas (MELGAREJO; MAURY, 2002), e a massa formulada e homogeneizada é mantida à temperatura de 5°C, para formação do gel protéico que liga os ingredientes e assim segue para a pesagem e enformagem na forma de disco, para posteriormente ser armazenada sob congelamento (GONÇALVES, 2011).

O processo de produção de hambúrguer de peixe cavala (*Decapterus*) foi patenteado na Europa, descrevendo entre os ingredientes o molho de soja, pimenta, cebola e amido de milho (US PH22016000715 (U1), 2016).

Não existe uma legislação específica para hambúrguer de peixe no Brasil, mas o Art. 349 do RIISPOA esclarece que a elaboração de produtos comestíveis de pescado deve ser seguida, naquilo que lhes for aplicável, as exigências referentes a produtos cárneos previstas neste mesmo Decreto e o disposto em legislação específica (BRASIL, 2017). Desta maneira, tanto o RIISPOA como a Instrução Normativa nº 20 de 31 de julho de 2000 do MAPA que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Hambúrguer, descrevem que ele é o produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado na forma de disco ou na forma oval e submetido a processo tecnológico específico (BRASIL, 2000; 2017).

Segundo a Instrução Normativa nº 20, os ingredientes obrigatórios são carne de diferentes espécies de animais de açougue, e os opcionais são gordura animal, gordura vegetal, água, sal, proteínas de origem animal e/ou vegetal, leite em pó, açúcares, maltodextrina, aditivos intencionais, condimentos, aromas e especiarias, sendo ainda permitido a adição de no máximo 4,0% de proteína não cárnica (BRASIL, 2000).

O pescado, quando “*in natura*”, tem um alto grau de deterioração, principalmente quando exposto a condições inadequadas de armazenamento, onde existem os processos autolíticos (enzimas), oxidação lipídica e atividade da flora microbiana deteriorante (BONACINA; QUEIROZ, 2007). Como o hambúrguer se trata de um produto manipulado e, em processamentos realizados com a carne do peixe, poderá haver interferências nas membranas celulares que promovem a oxidação lipídica, a adição de antioxidantes se faz necessária para evitar reações indesejáveis de rancificação (SAMPELS, 2015). Diferentes espécies de peixes foram utilizadas como matéria prima para a produção de hambúrguer de peixe e estão descritos na Tabela 2.

Alguns estudos foram realizados com o objetivo de desenvolver alimentos funcionais fortificados com compostos bioativos microencapsulados. O extrato de laranja microencapsulado por *spray drying* foi adicionado a hambúrgueres de peixe fresco com objetivo de enriquecê-los e avaliar a bioacessibilidade dos compostos ativos, demonstrando que o extrato microencapsulado possuiu uma alta concentração de compostos bioativos e apresentaram uma bioacessibilidade adequada (SPINELLI et al., 2017). O hambúrguer de peixe Robalo (*Dicentrarchus labrax*) foi enriquecido com micropartículas contendo extrato do bagaço do malte, resultando em

hambúrgueres ricos em polifenóis e flavonóides e com uma melhor atividade antioxidante do que a amostra controle (SPINELLI; CONTE; DEL NOBILE, 2016).

Tabela 2- Espécies utilizadas para o processamento de hambúrguer de peixe e objetivos de cada estudo

Espécie	Objetivos do Estudo	Referências
Boquichico (<i>Prochylodus nigricans</i>)	Avaliação físico-química e microbiológica.	MELGAREJO; MAURY, 2002
Peixe-gato de prata (<i>Rhamdia quelen</i>).	Hambúrguer de peixe com resíduo de filetagem de peixe-gato de prata.	BOCHI et al., 2008
Cavala (<i>Scomber japonicus</i>) e pescada (<i>Merluccius merluccius</i>)	Efeitos de óleos essenciais e atmosfera modificada sobre a retenção de qualidade.	DEL NOBILE et al., 2009
Cachama blanca (<i>Piaractus brachypomus</i>)	Avaliação Física.	GARCÍA et al, 2009
Catfish (<i>Clarias spp</i>)	Estudo dos efeitos de diferentes métodos de cozimento.	HASSABALLA et al., 2009
Badejo (<i>M. merlangus</i> , L. 1758)	Efeitos dos diferentes métodos de picagem na qualidade durante o armazenamento.	KÖSE et al., 2009.
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Estudo do ponto de congelamento.	BAINY; CORAZZA; LENZI, 2015.
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Estudo do efeito de grelhamento do cozimento sobre as propriedades físico-químicas e de textura.	BAINY et al., 2015.
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Avaliação de hambúrgueres de peixes de tilapia com diferentes níveis de purê de abóbora ou purê de batata.	ALI et al, 2017
Serra cavala (<i>S. brasiliensis</i>)	Estudo da redução do teor de sódio.	QUADROS et al.,2015
Catla (<i>Catla catla</i>)	Estudo de armazenamento refrigerado.	VANITHA; DHANAPAL; REDDY, 2015.
Atum (<i>Atum trance</i>)	Enriquecimento com subprodutos industriais do azeite.	CEDOLA et al, 2017

FONTE: Elaborada pela autora.

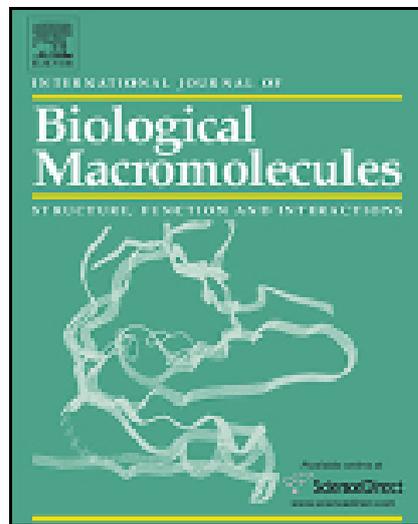
A própolis microencapsulada através de *spray drying* foi aplicada em hambúrgueres de peixe Robalo (*Dicentrarchus labrax*) com objetivo de melhorar as propriedades antioxidantes e demonstrando um aumento efetivo de conteúdo fenólico no produto desenvolvido (SPINELLI et al., 2015).

Desta forma, o hambúrguer de peixe apresenta-se como um produto interessante para a agregação de micropartículas com substâncias ativas, pois conforme apontado por Spinelli et al. (2017), o hambúrguer de peixe são considerados uma boa fonte de nutrientes, embora não tenham compostos antioxidantes, oferecendo a oportunidade de novos desenvolvimentos tecnológicos com o aumento da vida de prateleira, incluindo a possibilidade de transformá-lo em um alimento enriquecido de compostos ativos.

4 RESULTADOS

Artigo

Xyloglucan from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds as encapsulating agent of L-ascorbic acid



Artigo aceito na Revista *International Journal of Biological Macromolecules* (107:1559–1566, 2018).

Fator de Impacto 3.671

Qualis A2



Xyloglucan from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds as encapsulating agent of L-ascorbic acid

Mirla D.P. Farias^{a,b}, Priscilla B.S. Albuquerque^a, Paulo A.G. Soares^c, Daniele M.A.T. de Sá^b, Antônio A. Vicente^d, Maria G. Carneiro-da-Cunha^{a,*}

^a Biochemistry Department/Laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco- UFPE, Av. Prof. Moraes Rego s/n, CEP: 50.670-420, Recife, PE, Brazil

^b Eixo de Produção Alimentícia, Instituto Federal de Educação do Ceará- IFCE, Av. Dr. Guarant, 317, Derby Clube, CEP: 62.042-030, Sobral, CE, Brazil

^c Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis and Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Programa de Glicobiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CEP: 21941-903, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^d Centre of Biological Engineering (CEB), Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 471 0-057, Braga, Portugal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 June 2017

Received in revised form

30 September 2017

Accepted 4 October 2017

Available online 5 October 2017

Keywords:

Additive

Antioxidant

Encapsulation

Hemicellulose

Microencapsulation

Spray drying

ABSTRACT

This study evaluated the L-ascorbic acid (AA) encapsulation in microparticles of xyloglucan (XAA) extracted from *Hymenaea courbaril* seeds by spray drying (SD) and its application in tilapia fish burgers. The encapsulation efficiency was $96.34 \pm 1.6\%$ and the retention of the antioxidant activity was of $89.48 \pm 0.88\%$ after 60 days at 25 °C. SEM images showed microspheres with diameters ranging from 4.4 to 34.0 μm. FTIR spectrum confirmed the presence of AA in xyloglucan microparticles, which was corroborated by DSC and TGA. The release of ascorbic acid was found to be pH-dependent. The application of XAA in tilapia fish burger did not change the pH after heating and the ascorbic acid retention was greater compared to its free form. The results indicate that xyloglucan can be used to encapsulate AA by SD and suggest that XAA was able to reduce undesirable organoleptic changes in fish burgers.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Over the last years, encapsulation studies with several polymeric materials from vegetal origin are attracting the attention of researchers because they are natural sources and cheaper than synthetic polymers [1]. Xyloglucan is a polysaccharide with specific functions in the plant and plays an important structural role, while also acting as a storage material in seeds of certain species such as *Hymenaea courbaril* var. *courbaril*, known as Jatoba, abundant native leguminous in the Brazilian forests, from North to South. Xyloglucan is composed by glucose (40%), xylose (34%), galactose (20%) and arabinose (6%) [2].

In pharmacology xyloglucan is used in drug carrier systems due to its solubility in water, being a natural biodegradable non-antigenic polymer [3,4]. In the food industry, for instance, xyloglucan is used as a thickener, stabilizer, anti-microbicide agent

and crystallization inhibitor [5], there being no reports of its actuation as an encapsulating agent for additives.

Microencapsulation by spray drying (SD) is one of the standard methods for encapsulation, in which a liquid product is atomized and dried instantaneously by a hot air stream, resulting in a powder [6]. Microencapsulation is widely used in the protection of active components against factors that can cause degradation, such as chemical substances, environmental adverse reactions and loss of volatiles, improving the stability and contributing to a controlled release [7]. One of the active compounds that have been encapsulated with different polymers is ascorbic acid [8,9]. It is used by the food industry and is considered one of the best alternatives as antioxidant, protecting the sensory and nutritional characteristics of the food, while also increasing the content of vitamin C in products; however, this additive is highly unstable and reactive [10–12]. Also due to its acidic nature, ascorbic acid can interact with other food components [13]. This interaction may result in compounds such as furan, the formation of which will occur during the warm-up time [14]. Microencapsulation with controlled release of additives such as ascorbic acid for certain food formulations is

* Corresponding author.

E-mail addresses: mgcc@ufpe.br, mgcc1954@gmail.com (M.G. Carneiro-da-Cunha).

interesting to maintain the appropriate characteristics throughout the processing and heating of the food product [15].

In the present study the xyloglucan from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds was used as an ascorbic acid encapsulating agent by SD, and the microparticles obtained were characterized and applied to fish burgers for the controlled release of the active compound during the beneficiation phase and protection during baking.

2. Experimental

2.1. Materials

The seeds of *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* were collected in September 2015 in the city of Carnaubal, Ibiapaba Sierra region in the Ceará State, Brazil. The L-ascorbic acid (99.7%), 2,6-dichlorophenolindophenol sodium salt dihydrate (DCIP; 97%, Vetec, Duque de Caxias, Brazil) and methyl alcohol (99.8%) were obtained from VETEC (Brazil). Absolute ethanol (96°GL) was obtained from Santa Cruz (Brazil), acetone PA from Dynamics (Brazil), oxalic acid from Cromoline Fine Chemicals Ltd. (Brazil) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was obtained from Sigma-Aldrich (Germany).

2.2. Extraction and purification of xyloglucan

The xyloglucan (X) from the seeds of *H. courbaril* was extracted with 0.1 M NaCl [5% (w/v)], precipitated with 46% ethanol [1:3 (v/v)] for 18 h, filtered on screen printing cloth (110 thread type), washed with 100% ethanol [1:3 (w/v)] for 30 min and two times with acetone PA [1:3 (w/v)] for 30 min [16]. The precipitated xyloglucan obtained was dried at 60 °C until constant weight, powdered and stored in amber glass bottles in dry place until further use.

2.3. Preparation of xyloglucan microparticle with L-ascorbic acid

The 1% (w/v) xyloglucan solution was prepared dissolving 10 g in 1000 mL of distilled water under magnetic stirring (200 rpm) at 25 °C for 24 h. Afterwards, were added 0.4 g of L-ascorbic acid (AA) and the solution was maintained under the same condition for more 1 h. After that, the solution was atomized in a spray dryer device (Buchi Mini Spray Dryer B-290) under the following operating conditions: inlet air temperature at 160 °C, outlet air temperature at 103–107 °C, an air flow (at standard temperature and pressure) of 538 l/h and pump speed of 233 mL/h [17]. The obtained microparticles of xyloglucan containing AA (XAA) and xyloglucan after the SD process (XSD) were collected and stored in amber glass bottles at room temperature (25 °C) for 60 days. The experiments were carried out in quintuplicate.

2.4. Morphology of microparticles

The surface micrographs of microparticles of XAA and XSD were carried out in a scanning electron microscope (SEM) model EVO/LS15 (Zeiss, USA) at an accelerating voltage of 10 kV under vacuum conditions. Samples were prepared on stubs with carbon double-sided tape (8 mm × 20 mm) and subjected to a gold coating in a Q150T ES coater (Quorum Technologies, UK).

2.5. Fourier transform Infrared (FTIR) spectroscopy

The FTIR spectra were obtained with a Cary 630 FTIR spectrometer (Agilent Technologies, USA) within the range 4000–700 cm⁻¹. Powdered samples of XAA microparticles, X and AA were placed in

contact with the previously clean crystal to then display the spectra [18].

2.6. Thermal analysis

The thermal properties of xyloglucan after the SD process (XSD), without the process (X) and of the microparticles XAA were determined by differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA). DSC measurements were carried out with a PerkinElmer DSC 6000 (PerkinElmer, Massachusetts, EUA) calibrated with Indium as standard. Approximately 3 mg of the sample was placed in aluminum DSC pans (Perkin-Elmer pans 30 µL BO143016) sealed with DSC covers (Perkin-Elmer Al cover BO143003). The measurements were taken following the temperature ramp, heating from 20 °C to 120 °C, then cooling to -45 °C and finally heating at 300 °C, at a rate of 10 °C min⁻¹ under a nitrogen atmosphere. The melting enthalpy (ΔH_m), melting peak (T_m) and glass transition temperature (T_g) were determined in the second heating scan. TGA was completed with a PerkinElmer TGA 4000 (PerkinElmer, Massachusetts, EUA). Samples were placed in the balance system and heated from 20 °C to 450 °C at a heating rate of 10 °C min⁻¹ under a nitrogen atmosphere.

2.7. Encapsulation efficiency of L-Ascorbic acid

Ascorbic acid content in the microparticles was determined according to Tillmans method based on the titration principle, as described previously [9]. Briefly, a volume of 10 mL of 0.05% (w/v) microparticle solution in 1% (w/v) oxalic acid was added in Erlenmeyer flask containing 50 mL of 1% (w/v) oxalic acid and titrated with 0.2% (w/v) DCIP solution until persistent pink color for 15 s. The amount of ascorbic acid was calculated according to the following equation [19]: AA (%) = $(V \times F) / A \times 100$, where V = Volume spent in the titration; F = volume of DCIP in mL spent on standardization; A = mass (g) of the sample used in the titration. The encapsulation efficiency (EE) was calculated according to the equation [20]: EE (%) = $(QD/QA) \times 100$, where QD is the total amount of ascorbic acid determined in the system and QA the amount of ascorbic acid added to the system. The encapsulation experiments were carried out in quintuplicate and for each one of the five samples, ascorbic acid was determined in triplicate. Consequently, ascorbic acid results are expressed as an average ± standard deviation of the 15 values found.

2.8. Evaluation of stability of XAA microparticles

The evaluation of the stability of the XAA microparticles, was carried out at time intervals of 0, 7, 15, 30 and 60 days, through ascorbic acid analysis mentioned in the section 2.7, taking the result of the total ascorbic acid at time 0 as the value of 100%. It was also measured the antioxidant activity using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical method [20], in which the methanolic solution of the XAA sample, with the concentration of 10 mg mL⁻¹, was initially subjected to ultrasonic bath (UNIQUE-Ultrasonic Cleaner) for solubilization and release of AA from the nucleus. From this solution different concentrations (from 0.1 to 7.5 mg mL⁻¹) were obtained with dilution with methanol. In parallel, a methanolic solution of DPPH (0.026 mg mL⁻¹) was prepared. The reaction media consisted of 0.1 mL of each one of the concentrations together with 3.9 mL of the free radical methanolic solution DPPH. As control, 0.1 mL of methanol were used with 3.9 mL of methanolic solution of DPPH. The analysis was carried out in triplicate and after 1 h the absorbance was measured in a spectrophotometer (HACH-DR 6000) at 515 nm. The inhibition percentage (PI%) of samples from each concentration was calculated by the equation $PI (\%) = [(Absorbance Control - Absorbance$

Sample)/Absorbance Control] X 100. The PI% results of each concentration were plotted and through linear regression the 50% Inhibitory Concentration (IC50) of the DPPH radical was calculated in relation to the amount of antioxidant present in the polymer matrix.

2.9. Analysis of ascorbic acid release from microparticles

The ascorbic acid release profiles were obtained by dialysis [21]. Samples of 100 mg XAA (with 5 mg of AA) were solubilized in 5 mL of different buffers, according to their pK_a value (Clark and Lubs pH 2.0 and phosphate pH 6.5 and 7.0), and after that added to a dialysis membrane (MAP 33 mm, 1.3 in., Dialysis Pipe Cellulose membrane, Sigma-Aldrich, USA). The membrane was subsequently placed in 95 mL of each buffer solution with magnetic stirring. At certain time intervals (from 0 to 4320 min), 1.0 mL of samples were taken from the dialysis buffers and added to the system of 1.0 mL of fresh buffer to keep the volume of release medium constant. The amount of AA released from the microparticles was evaluated by measuring the absorbance at 260 nm [22] in a spectrophotometer (HACH-DR 6000, USA). All release tests were carried out in triplicate, and to calculate the results, ascorbic acid calibration curves were constructed in the concentration ranges from 20 to 200 $\mu\text{g/mL}$.

2.10. Application of XAA microparticles in fish burger

2.10.1. Formulation of fish burger

Fresh tilapia fillets (*Oreochromis niloticus*) were obtained from the local market of Sobral city (Ceará, Brazil) on the same day of slaughter and transported to the laboratory in polystyrene boxes along with an appropriate quantity of flaked ice. The fillets were then washed with water at 4 °C containing 5 ppm of chlorine for 15 min prior to processing. Fish burgers were processed as described previously with some modifications [23]. Four formulations of fish burger were produced. For each batch containing 1000 g of chopped tilapia, the following ingredients were incorporated (w/w): 1.5% of sodium chloride, 0.2% of monosodium glutamate, 0.1% of onion powder, 0.1% of garlic powder, 0.2% of coriander powder, 0.1% of white pepper powder, 5% of wheat flour, 10% of water at 4 °C, and the resultant mass was homogenized on a cutter (Metvisa, Brazil) and kept at low temperature (ice water bath) for partial formation of protein gel for 20 min. The mass obtained from each batch of 1000 g were divided into 4 portions of 250 g to create 4 formulations: A1 (control – without any addition of free AA, XAA or X); A2 (with free ascorbic acid addition – 0.02 g/100 g of formulation); A3 (with addition of 0.28 g of XAA containing 0.02 g AA/100 g of formulation) and A4 (with addition of 0.28 g of X/100 g of formulation). Three batches of each formulation were prepared resulting in five units of fish burger (50 g each) in each batch, which were molded with a manual hamburger mold with 7.6 cm diameter. The fifteen fish burgers of each formulation were individually packed in high density polyethylene bags and stored at 4 °C. All fish burgers were submitted immediately to physicochemical analyzes after preparation (raw samples) and after baking (baked samples) in a conventional electric oven (Cook, Suggar, Brazil) at 200 °C for 15 min.

2.10.2. Physicochemical analysis of fish burger

2.10.2.1. pH. The pH was measured in a suspension resulting from the homogenization of 10 g of each sample of fish burger with 100 mL of distilled water for 2 min, using a pH meter (PHS-3E, Inolab®, Brazil) previously calibrated [19]. The determinations were carried out in triplicate.

2.10.2.2. Ascorbic acid. The amount of ascorbic acid in the fish burgers before and after baking was determined according to

the Tillmans method [19] with modifications [24]. Samples were ground in a cutter (Metvisa, Brasil). Then, 5 g of sample was added to an Erlenmeyer flask, and 50 mL of oxalic acid solution (1 g/100 mL) was added. The mixture was kept under mild stirring for 5 min and then placed in an ultrasound bath for 2 min. Samples were titrated with DCFI solution (0.2 g/100 mL). Determinations were carried out in triplicate.

2.10.2.3. Color. The surface color of fish burger samples, raw and cooked, was determined with a portable colorimeter (Colorium, Delta color, Brazil), previously calibrated. The parameters determined were L^* ($L^*=0$ [black] and $L^*=100$ [white]), a^* ($-a^*$ =greenness and $+a^*$ =redness) and b^* ($-b^*$ =blueness and $+b^*$ =yellowness), $C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{0.5}$ and hue angle $[h^\circ=\arctg(b^*/a^*)]$. These parameters are the ones recommended by the International Commission on Illumination. Four readings were made on randomly chosen reading positions for each sample in triplicate.

2.11. Statistical analyzes

Statistical analysis was carried out using the analysis of variance (ANOVA). The comparison between samples was analyzed using the Tukey test. The statistical significance was established at $p < 0.05$ (GraphPad Prism, version 6, 2012, USA).

3. Results and discussion

Xyloglucan was efficiently extracted with the same extraction yield ($72 \pm 5\%$), monosaccharide composition and structure as shown in the NMR spectra reported by Arruda et al [2].

3.1. Morphology of microparticles

The SEM micrograph of the surface morphology of the microparticles of xyloglucan (XSD) and xyloglucan samples containing L-ascorbic acid (XAA), spray dried, presented imperfect spherical shapes and smooth surfaces.

The xyloglucan microparticles (Fig. 1A) exhibited a collapsed appearance, i.e., highly crimped, kneaded, while in the xyloglucan microparticles containing L-ascorbic acid (Fig. 1B) more defined spherical shapes of different sizes were observed. In this case, the values varied from 4.4 to 34.0 μm due to the presence of L-ascorbic acid in the interior of the microparticles, leading to filled nuclei. The absence of crystals of cubic form characteristic of ascorbic acid [2] could be related to the efficient antioxidant encapsulation.

These spherical structures are typical of materials subjected to SD and dented surfaces with remarkable indentation is commonly observed in encapsulation agents consisting of polysaccharides [25–27], which can be attributed to the effects of the drying rate on the structure of the polysaccharide, leading to a rapid solidification of the wall and, therefore, indentation shape [28].

3.2. Fourier transform Infrared (FTIR) spectroscopy

Fig. 2 shows the infrared spectrum of L-ascorbic acid samples, XAA microparticles and xyloglucan. The L-ascorbic acid displayed a FTIR spectrum similar to the result obtained other authors [29,30]. In xyloglucan sample are very similar peaks with those reported in the literature [31,32], as the 3280 cm^{-1} peak that shows the corresponding functional groups to hydroxyl (OH) and the stretch C–H (2852–2922 cm^{-1}). The 1637 cm^{-1} peak can be attributed to the effect of water absorbed, and the peak of 1374 cm^{-1} for the designation C–H. At the peak of 1016 cm^{-1} was observed similarity with xylans and 870 cm^{-1} is attributed to the β -glycosidic linkages (1 → 4) between xylose units in hemicelluloses [33].

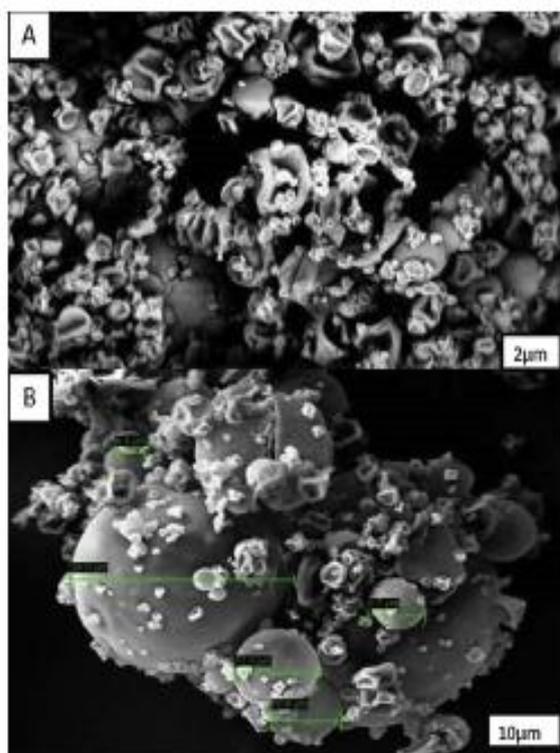


Fig. 1. SEM micrographs of XDS (A) and XAA (B).

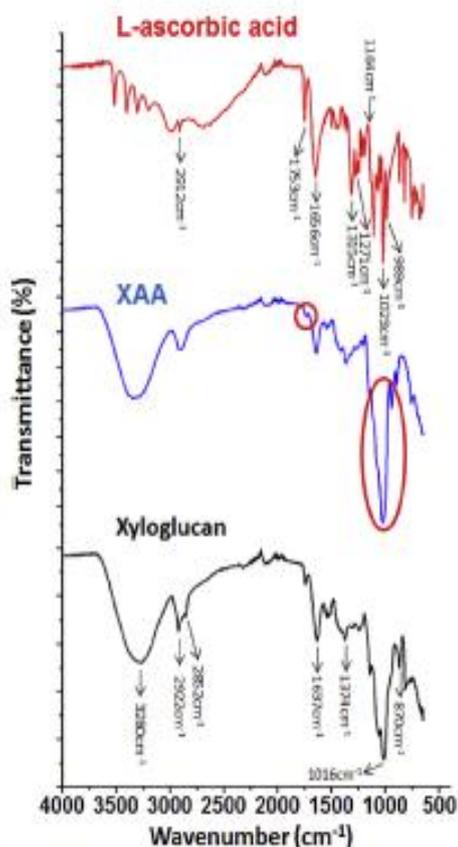


Fig. 2. FTIR of L-ascorbic acid (AA), XAA microparticles and xyloglucan.

Many of the chemical bonds shown in XAA microparticles have similarities not only for xyloglucan but also for L-ascorbic acid, with only minor shifts in the peaks of the chemical bonds that have been reported for both biomolecules.

The presence of the peaks of the lactone ring (1020–989 cm⁻¹) confirm the presence of ascorbic acid in the microparticles. A decrease in the intensity of the C–O stretch (1753 cm⁻¹) was observed in XAA in comparison with L-ascorbic acid, suggesting that this carbonyl group is covalently interacting with the free–OH of xyloglucan.

3.3. Thermal analysis

In order to thermally stabilize the sample and remove any moisture, preliminary heating was carried out until the temperature of 120 °C. Afterwards, the experimental temperature was increased up to 300 °C. According to peaks observed in the thermogram (Fig. 3), the glassy temperature (T_g) and crystallization temperature were not observed, but only the melting point (T_m) and melting enthalpy (ΔH). The hemicelluloses usually have lower thermal stability than the cellulose, due to lack of crystallinity [34]. For the xyloglucan sample subjected to the atomization process (XSD), the melt peak occurred at 176.47 °C with ΔH of 116.91 J/g. For xyloglucan which was not subjected to atomization process (X) occurred at 173.64 °C with ΔH of 115.99 J/g. Other authors observed in the DSC thermal event the low-melting point (78 °C) [35] and at temperatures above 200 °C have been reported in the literature for xyloglucan from another species [32,34], thus demonstrating that the peaks of the XSD and X showed thermal average intensity, despite to be amorphous polymers. The XAA endothermic peak was 164.55 °C associated with the melting point and ΔH of 125.55 J/g, thus demonstrating that the presence of L-ascorbic acid decreased the T_m and increased the ΔH in relation with the controls. Furthermore, with the absence of the strong endothermic peak (190 °C) of L-ascorbic acid [30] in the thermogram of XAA, it should be considered, the change from the crystalline state to the soluble when it was incorporated into the polysaccharide, suggesting so the incorporation of the active compound by xyloglucan.

In the samples subjected to TGA they were found two weight loss events (Fig. 4). In xyloglucan control the first and second mass loss event occurred at temperatures of 75.33 ± 4.5 °C ($\Delta Y = 8.20\%$) and 297 ± 6.22 °C ($\Delta Y = 56.45\%$), respectively, and in xyloglucan subjected to SD, at 63.06 ± 1.03 °C ($\Delta Y = 8.56\%$) and 289.66 ± 1.38 °C ($\Delta Y = 63.97\%$), respectively. For the microparticles the first peak of

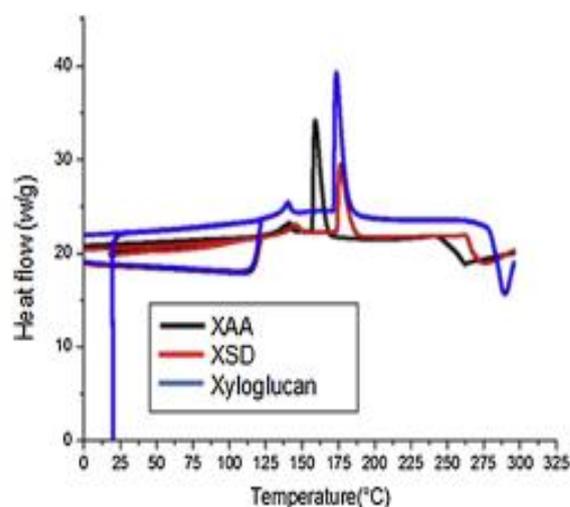


Fig. 3. Differential scanning calorimetry (DSC) analysis of XAA, XSD and xyloglucan samples.

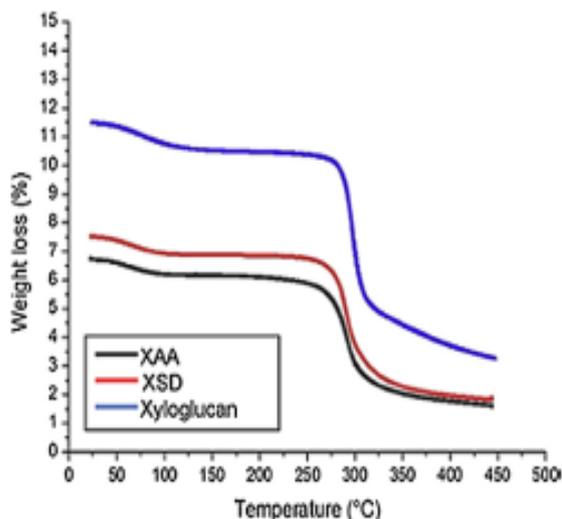


Fig. 4. Thermogravimetric analysis (TGA) of XAA, XSD and xyloglucan samples. Each data point is an average of 3 determinations.

temperature was at $60.09^{\circ}\text{C} \pm 6.1$ ($\Delta Y = 8.05\%$) and the second at $289.41 \pm 2.53^{\circ}\text{C}$ ($\Delta Y = 61.54\%$).

The first peak is associated with the loss of water adsorbed by the molecules that should be between 35 and 100°C [35] and presented lower values in the XSD and XAA in comparison with xyloglucan, being due to the fact that the first two ones were already with a lesser amount of water, because they were subjected to an atomization process, differing statistically from the control at the level of 0.05%. The second mass loss event occurred as a result of sample degradation and are similar in XSD and XAA, not differing between them and the control at the level of 0.05%, showing so that the L-ascorbic acid present in the XAA sample did not affected the sample degradation. The second peak of temperature of xyloglucan is consistent with the literature [35,36]. The weight loss of xyloglucan occurs at the maximum point of 250°C , ending the total degradation at 300°C [34].

3.4. Encapsulation efficiency of ascorbic acid

The encapsulation efficiency (EE) was found to be $96.34 \pm 1.6\%$, indicating that the xyloglucan and the conditions used in SD process did not cause significant damage to the active compound. The EE value found here is similar to the other polysaccharides used for the encapsulation of ascorbic acid, such as galactomannan that varied from 95.40 to 97.92% in different environmental conditions [20] and arabic gum that presented 100.80% [9].

3.5. Evaluation of the stability of ascorbic acid in the microparticles

The retention of ascorbic acid and antioxidant activity of the xyloglucan microparticles containing ascorbic acid over 60 days are shown in Table 1. A slight decay of about 9.00% occurred on the seventh day, remaining practically constant, and on the sixtieth day of the experimental period was found to be $89.48 \pm 0.88\%$ of retention (Table 1). Various microencapsulation studies of ascorbic acid in different polysaccharides by SD have shown high retentions, among them the one obtained 85.20% retention stability of rice starch microparticles and 100% with arabic gum for 60 days [37] and using chitosan as the encapsulating of ascorbic acid in which they found about 92% after 20 days of the study [8].

The activity of ascorbic acid in XAA expressed as IC₅₀, which is the concentration in mg mL^{-1} of microparticles necessary to

Table 1
Retention and Inhibitory Concentration (IC₅₀) of ascorbic acid of XAA.

Time (Days)	AA Retention (%)	IC ₅₀ (mg mL ⁻¹)
0	100.00 ^a	4.92 ± 0.66^a
7	91.01 ± 0.95^b	4.72 ± 0.60^a
14	90.83 ± 0.33^b	4.50 ± 0.88^a
21	90.46 ± 0.92^b	4.19 ± 0.54^a
30	90.46 ± 0.13^b	4.01 ± 0.70^a
60	89.48 ± 0.88^b	4.05 ± 0.16^a

Equal superscript letters in the same column indicate the absence of statistically significant differences ($p > 0.05$).

inhibit 50% of the DPPH radicals [38], is shown also in Table 1. It was observed that there was no statistically significant difference ($p > 0.05$) of the antioxidant power of the microparticles containing ascorbic acid, over 60 days, which allows to state that the xyloglucan microparticles obtained by SD have proved to be efficient in the encapsulation of ascorbic acid.

3.6. Ascorbic acid release from xyloglucan microparticles

The release standard of a compound may be pH dependent [39]. In Fig. 5 it can be seen that the ascorbic acid release from xyloglucan microparticles is characterized by different phases in the experiments. At pH 2.0 an increasing of AA release was observed from 0 to 180 min. After that, began a decline and at the end of 1440 min (24 h) totalized about 93.68% of AA released during the analysis time.

At pH 6.5 condition, a rapid release was firstly observed in the first 10 min, which can be described as a bursting effect, and thereafter became constant until the end of analysis time, totalizing a release of 37.17%. Finally, at pH 7.0, the release was lower than the other two conditions, that is, AA was released at more controlled rate, mainly after 120 min, a phase that is characterized as a latency time, totalizing only 11.08% of ascorbic acid released in relation to the value added to the system. These initial burst effects followed by reduction in the rate of ascorbic acid release, approaching a steady state, was similar to that observed by another author [22] in gelatin microcapsules with oxidized corn starch tested at pH 7.4. The effect of rupture may be due to the volume expansion of the polymer when immersed in liquid environment [21]. The extended release period is possibly due to the existence of diffusion pathways, where the active ingredient is released by this effect or by pre-existing pores in the polymer [40,41]. Both the rupture and latency mechanisms were observed in studies with different polysaccharides [21,39,42,43]. Controlled release by microcapsule

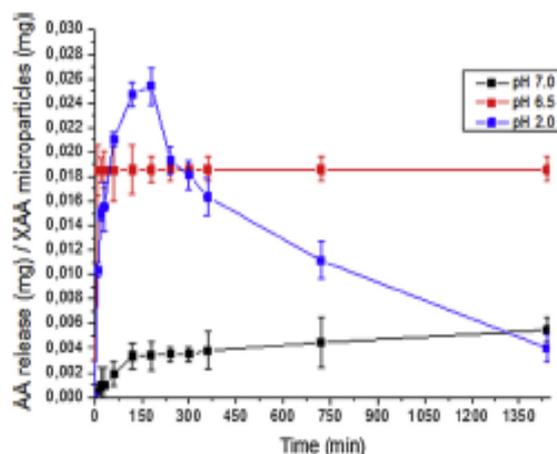


Fig. 5. AA release profiles from XAA at pH 7.0, 6.5 and 2.0. Each data point is an average of 3 determinations.

Table 2
pH and ascorbic acid analyzes in fish burgers.

Sample type	pH		AA Amount g/100 g fish burger
	Raw	Baked	Baked
A1	6.16 ± 0.05 ^{ab}	6.33 ± 0.11 ^{ab}	0.00
A2	6.16 ± 0.05 ^{ab}	6.30 ± 0.10 ^{ab}	0.0086 ± 0.0005 ^b
A3	6.16 ± 0.05 ^{ab}	6.26 ± 0.11 ^{ab}	0.0120 ± 0.0017 ^a
A4	6.16 ± 0.05 ^{ab}	6.26 ± 0.05 ^{ab}	0.00

The results are averages ± standard deviation. The same lowercase letters in the same column and same uppercase letters in the same line indicate the absence of significant differences ($p > 0.05$). A1 (control – without any addition of free AA, XAA or X); A2 (with free ascorbic acid addition – 0.02 g/100 g of formulation); A3 (with addition of 0.28 g of XAA containing 0.02 g AA/100 g of formulation) and A4 (with addition of 0.28 g of X/100 g of formulation).

is used to increase the efficiency of many additives that are introduced into food and release the compound under the influence of a specific stimulus [44]. Depending on the application, a slower release rate may be required, and for ascorbic acid to be used as a feed additive it must be present throughout the entire shelf-life of the food, so the importance of controlled release would be the reduction of additives loss during processing, storage and cooking [45].

3.7. Analysis of pH, ascorbic acid and color of fish burgers

Regarding pH, it is observed (Table 2) that there is no significant difference at the 5% level among the samples when the hamburger is raw. Soon after baking there was a discrete increase, but only the control sample presented a significant difference. Similar values were observed in the production of fish burgers of tilapia [23] and *Catla catla* [46].

The remaining ascorbic acid values in the fish burger samples containing free ascorbic acid (A2) and ascorbic acid encapsulated in xyloglucan (A3) after the baking are presented in Table 2. It can be seen that A2 samples containing free ascorbic acid showed a retention of ascorbic acid of 43% and A3 samples containing ascorbic acid encapsulated in xyloglucan a retention of 60%, i.e., A3 was able to reduce the loss of ascorbic acid by 17%. This result demonstrates the efficiency of microencapsulation by SD in preservation of active substance content. Similar results were obtained by another author [9] which applied microparticles of gum arabic with ascorbic acid in biscuits and found that microencapsulation by SD protected the active substance during cooking, with a reduction of about half of the loss observed for the free active substance after baking. Therefore, the microencapsulation showed to be effective in the release of ascorbic acid reducing its reactivity and consequently the formation of furan during heating [15].

Table 3
Color measurements for raw and baked fish burgers.

Formulations	L*	a*	b*	c*	h*
Raw					
A1	49.35 ± 1.12 ^a	4.60 ± 0.12 ^a	5.18 ± 0.31 ^a	6.93 ± 0.32 ^a	48.35 ± 0.96 ^c
A2	50.07 ± 0.19 ^a	3.35 ± 0.82 ^b	3.85 ± 1.02 ^b	5.10 ± 1.31 ^b	48.93 ± 0.81 ^c
A3	49.89 ± 1.32 ^a	4.74 ± 0.36 ^a	5.72 ± 0.63 ^a	7.43 ± 0.71 ^a	50.22 ± 1.04 ^b
A4	50.43 ± 0.60 ^a	1.51 ± 0.02 ^c	5.20 ± 0.00 ^a	5.41 ± 0.00 ^b	73.70 ± 0.22 ^a
Baked					
A1	40.83 ± 0.67 ^c	2.74 ± 0.24 ^a	8.62 ± 0.67 ^{ab}	9.05 ± 0.71 ^{ab}	72.34 ± 0.63 ^b
A2	42.11 ± 0.30 ^a	2.12 ± 0.09 ^a	8.76 ± 0.97 ^a	9.01 ± 0.97 ^{ab}	76.26 ± 0.93 ^a
A3	41.31 ± 0.09 ^b	2.38 ± 0.18 ^b	9.57 ± 1.27 ^a	9.85 ± 1.29 ^a	76.15 ± 0.63 ^a
A4	41.66 ± 0.25 ^{ab}	1.95 ± 0.07 ^c	8.33 ± 0.42 ^b	8.56 ± 0.43 ^b	76.79 ± 0.26 ^a

The results are averages ± standard deviation. The same lowercase letters in the same column indicate the absence of significant differences ($p > 0.05$). A1 (control – without any addition of free AA, XAA or X); A2 (with free ascorbic acid addition – 0.02 g/100 g of formulation); A3 (with addition of 0.28 g of XAA containing 0.02 g AA/100 g of formulation) and A4 (with addition of 0.28 g of X/100 g of formulation).

The color evaluation of fish burgers, before and after baking process, is an important parameter and should be explored, especially due to the occurrence of changes during heating, which may mask undesirable color changes in the final product induced by the formulation [47]. Table 3 shows the color measurements of the raw and baked samples, showing that there are no significant differences ($p > 0.05$) among the raw samples for the L* parameter; however, for baked samples (A2, A3 and A4) the behavior was different in comparison with control (A1). It is also possible to observe significant differences between A2 and A3, whose brightness was statistically lower for A3. In relation to the a* parameter and among raw samples, only A3 did not present statistical difference in relation to the control (A1) and that, the addition of free ascorbic acid (A2) and of xyloglucan without ascorbic acid (A4), led the raw samples with less redness appearance ($p > 0.05$) in comparison with control (A1).

After the baking process, all samples presented statistical difference in relation to the control (A1) but, A2 and A4 showed the same pattern of decrease in the appearance of redness in comparison with the control (A1). All samples presented positive values for the b* parameter, i.e., the yellowing appearance is evident for both raw and baked samples. It is important to point out that the addition of free ascorbic acid (A2) decreased the value of b* parameter compared to other raw samples. After the baking process, there was no significant difference among the samples in comparison with control (A1). It is also possible to observe that the intensity increase in the b* parameter among raw and baked samples was more evident in A2 sample. This suggests that AA encapsulation was able to reduce undesirable reactions in fish burger. The values of c* and h* confirmed the yellowing tendency for the raw and baked samples however, the baking process increased the color intensity (higher chroma and higher hue angle) for all samples in comparison with control (A1).

These results are in accordance with the appearance of the formulations observed in Fig. 6. Similar behavior for the color parameters were reported by another author [23] for tilapia fish hamburgers containing hydrated textured soy protein (TSP). These authors reported that the raw hamburger was brighter (higher L* value), had a less intense yellow color (lower b* and lower chroma) and closer to the red axis (lower hue angle) than baked fish hamburgers. This behavior may be due to the various reactions occurring during heating, including the Maillard reaction, which are responsible for the color change on the surface of the fish burgers.

4. Conclusion

Atomization by spray drying led to the production of xyloglucan microparticles, extracted from *Hymenaea courbaril* var. *Courbaril* seeds, with great encapsulation capacity of L-ascorbic acid (AA),

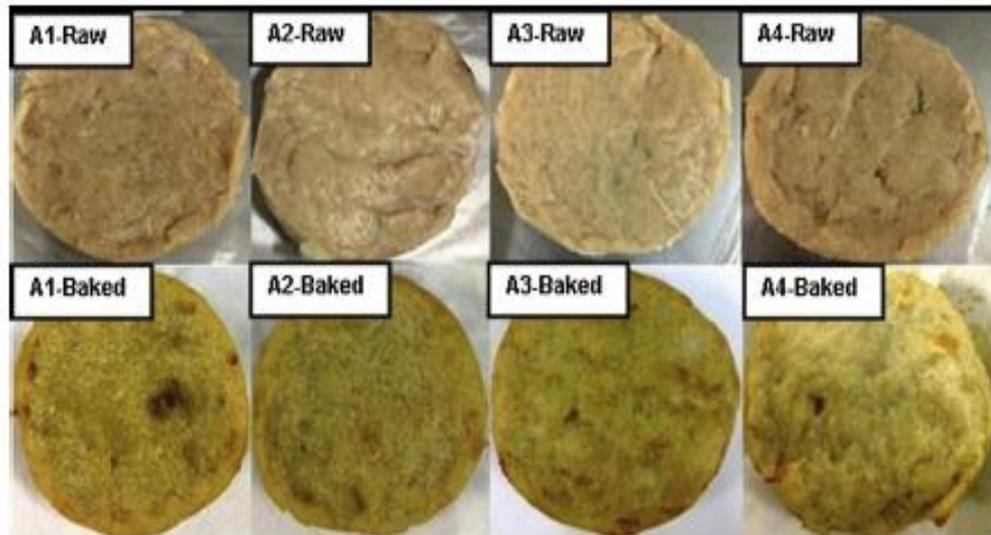


Fig. 6. Appearance of the raw and baked fish burger: A1 (control – without any addition of free AA, XAA or X); A2 (with free ascorbic acid addition – 0.02 g/100 g of formulation); A3 (with addition of 0.28 g of XAA containing 0.02 g AA/100 g of formulation) and A4 (with addition of 0.28 g of X/100 g of formulation).

good morphological characteristic and stability. The incorporation of xyloglucan microparticles containing ascorbic acid in the tilapia fish burger resulted in the retention of a greater amount of ascorbic acid, leading to a lower variation in the color parameter b^* between raw and baked samples, when compared to samples containing free ascorbic acid. The results suggest that the incorporation of xyloglucan microparticles containing ascorbic acid in tilapia fish burger formulation appears to be a viable alternative to avoid undesirable organoleptic changes after baking.

Conflicts of interest

The authors declare no competing financial interests.

Acknowledgements

The authors are grateful to the Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Caprinos e Ovinos of Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento for technical assistance and to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support. Maria G. Carneiro-da-Cunha expresses her gratitude to the CNPq for a research grant.

References

- [1] T. Coviello, P. Matricardi, C. Marianetti, F. Alhaique, Polysaccharide hydrogels for modified release formulations, *J. Control. Release* 119 (2007) 5–24.
- [2] L.R.S. Arruda, P.B.S. Albuquerque, G.R.C. Santos, A.G. Silva, P.A.S. Mourão, M.T.S. Correia, A.A. Vicente, M.G. Carneiro da Cunha, Structure and rheological properties of a xyloglucan extracted from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds, *Int. J. Biol. Macromol.* 76 (2015) 31–38.
- [3] Y. Cao, Y. Gu, H. Ma, J. Bai, L. Liu, P. Zhao, H. He, Self-assembled nanoparticle drug delivery systems from galactosylated polysaccharide-doxorubicin conjugate loaded doxorubicin, *Int. J. Biol. Macromol.* 46 (2010) 245–249.
- [4] T.A. Jó, D.F.S. Petri, L.M. Beltrami, N. Lucyszyn, M.R. Sierakowski, Xyloglucan nano-aggregates: physico-chemical characterisation in buffer solution and potential application as a carrier for camptothecin an anti-cancer drug, *Carbohydr. Polym.* 82 (2010) 355–362.
- [5] C.S. Kumar, S. Bhattacharya, Tamarind Seed: properties, processing and utilization, *Crit. Rev. Food Sci.* 48 (2008) 1–20.
- [6] S.H. Peighambari, A.G. Taftia, J. Hesari, Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review, *Trends Food Sci. Tech.* 22 (2011) 215–224.
- [7] N. Agnihotri, R. Mishra, C. Goda, M. Arora, Microencapsulation – A novel approach in drug delivery: a review, *J. Pharm Sci.* 2 (2012) 1–20.
- [8] A. Alishahi, A. Mirvaghefi, M.R. Tehrani, H. Farahmand, S.A. Shojaosadati, F.A. Dorkoosh, M.Z. Elabee, Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles, *Food Chem.* 126 (2011) 935–940.
- [9] L.D. Alvim, M.A. Stein, I.P. Koury, F.B.H. Dantas, C.L.C.V. Cruz, Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application, *Food Sci. Technol.* 65 (2016) 689–694.
- [10] T.A. Comunian, M. Thomazini, A.J.G. Alves, F.E. Matos Junior, J.C.C. Balleiro, C.S. Favaro-Trindade, Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: protection and controlled release, *Food Res. Int.* 52 (2013) 373–379.
- [11] F.E. Matos-Jr, T.A. Comunian, M. Thomazini, C.S. Favaro-Trindade, Effect of feed preparation on the properties and stability of ascorbic acid microparticles produced by spray chilling, *LWT – Food Sci. Technol.* 75 (2017) 251–260.
- [12] T. Sartori, L. Consoli, M.D. Hubinger, F.C. Menegalli, Ascorbic acid microencapsulation by spray chilling: production and characterization, *LWT – Food Sci. Technol.* 63 (2015) 353–360.
- [13] T.A. Comunian, A. Abbaspourad, C.S. Favaro-Trindade, D.A. Weitz, Fabrication of solid lipid microcapsules containing ascorbic acid using a microfluidic technique, *Food Chem.* 152 (2014) 271–275.
- [14] M. Shen, F. Zhang, T. Hong, J. Xie, Y. Wang, S. Nie, M. Xie, Comparative study of the effects of antioxidants on furan formation during thermal processing in model systems, *LWT – Food Sci. Technol.* 75 (2017) 286–292.
- [15] K.S. Özdemir, V. Gökmen, Effect of microencapsulation on the reactivity of ascorbic acid, sodium chloride and vanillin during heating, *J. Food Eng.* 167 (2015) 204–209.
- [16] P.B.S. Albuquerque, W. Barros Jr., G.R.C. Santos, M.T.S. Correia, P.A.S. Mourão, J.A. Teixeira, M.G. Carneiro-da-Cunha, Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*, *Carbohydr. Polym.* 104 (2014) 127–134.
- [17] F.C.A. Burti, S.C. Freitas, A.S. Egito, K.M.O. dos Santos, Effects of tropical fruit pulps and partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds on the dietary fibre content probiotic viability, texture and sensory features of goat dairy beverages, *LWT – Food Science and Technology* 59 (2014) 196–203.
- [18] A. Shah, A. Gani, M. Ahmad, B.A. Ashwar, F.A. Masoodi, β -Glucan as an encapsulating agent: effect on probiotic survival in simulated gastrointestinal tract, *Int. J. Biol. Macromol.* 82 (2016) 217–222.
- [19] Analytical Norms of the Adolfo Lutz Institute, Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2008: 4^{ed.}, [1^a ed. digital].
- [20] C.A.G. Souza, S.M.C. Siqueira, A.F.V. Amorim, S.M. Morais, T. Gonçalves, R.N. Gomes, A.P. Cunha, N.M.P.S. Ricardo, Encapsulation of L-ascorbic acid in natural biopolymer galactomannan by spray drying: preparation, characterization and antioxidant activity, *Quim. Nova* 38 (2015) 877–883.
- [21] S. Beirão-da-Costa, C. Duarte, A.J. Bourbon, A.C. Pinheiro, M.L.N. Januário, A.A. Vicente, I. Delgado, Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of oregano essential oil, *Food Hydrocoll.* 33 (2013) 199–206.
- [22] X. Dang, M. Yang, Z. Shah, S. Mansour, B.K. May, X. Chen, H. Chen, M.W. Woo, On spray drying of oxidized corn starch cross-linked gelatin microcapsules for drug release, *Mat. Sci. Eng. C* 74 (2017) 403–500.
- [23] E.M. Baitty, L.C. Bertan, M.L. Corazza, M.K. Leng, Effect of grilling and baking on physicochemical and textural properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish burger, *J. Food Sci. Tech.* 52 (8) (2015) 5111–5119.
- [24] M.D.T. Benassi, A.J. Antunes, A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables, *Arq. de Bio. e Tec.* 31 (1988) 507–513.
- [25] H.S. Mahajan, S.A. Gundare, Preparation, characterization and pulmonary pharmacokinetics of xyloglucan microspheres as dry powder inhalation, *Carbohydr. Polym.* 102 (2014) 529–536.

- [26] P.M. Outiki, L.M.B. Francisco, J. Hirschfeld, K.L. Bonifacio, D.S. Barbosa, M.L.C. Cardoso, Development of arabic and xanthan gum microparticles loaded with an extract of *Eschweilera nana* Miens leaves with antioxidant capacity, *Colloids Surf. A* 499 (2016) 103–112.
- [27] L. Peres, S. Rocha, J. Gomes, S. Morais, M.C. Pereira, M. Coelho, Preservation of catechin antioxidant properties loaded in carbohydrate nanoparticles, *Carbohydr. Polym.* 86 (2011) 147–153.
- [28] T.-Y. Sheu, M. Rosenberg, Microstructure of microcapsules consisting of whey proteins and carbohydrates, *J. Food Sci.* 63 (3) (1998) 491–494.
- [29] K.G.H. Desai, H.J. Park, Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying, *J. Microencapsul.* 22 (2005) 179–192.
- [30] C. Garnero, M. Longhi, Study of ascorbic acid interaction with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and triethanolamine, separately and in combination, *J. Pharmaceut. Biomed.* 45 (2007) 536–545.
- [31] S. Sonawane, M. Bhalekar, S. Shimpi, Preparation and evaluation of microspheres of xyloglucan and its thiolated xyloglucan derivative, *Int. J. Biol. Macromol.* 60 (2014) 499–505.
- [32] A. Mishra, A.V. Malhotra, Graft copolymers of xyloglucan and methyl methacrylate, *Carbohydr. Polym.* 87 (2012) 1899–1904.
- [33] X.F. Sun, R.C. Sun, P. Fowler, M.S. Baird, Extraction and characterization of original lignin and hemicelluloses from wheat straw, *J. Agr. Food Chem.* 53 (2005) 860–870.
- [34] E.M. Bergstrom, L. Salmén, J. Kochumalayil, L. Berglund, Plasticized xyloglucan for improved toughness-thermal and mechanical behaviour, *Carbohydr. Polym.* 87 (2012) 2532–2537.
- [35] C.K. Simi, T.E. Abraham, Physico chemical properties of aminated tamarind xyloglucan, *Colloid. Surface B.* 81 (2010) 513–520.
- [36] K. Werner, L. Pommer, M. Brostrom, Thermal decomposition of hemicelluloses, *J. Anal. Appl. Pyrol.* 110 (2014) 130–137.
- [37] M.A. Trindade, C.R.F. Grosso, The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic, *J. Microencapsul.* 17 (2) (2000) 169–176.
- [38] S.E. Lee, H.J. Hwang, J.-S. Ha, H.-S. Jeong, J.H. Kim, Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity, *Life Sci.* 73 (2003) 167–179.
- [39] A.C. Pinheiro, A.I. Bourbon, M.A. Cerqueira, É. Maricato, C. Nunes, M.A. Coimbra, A.A. Vicente, Chitosan/fucoidan multilayer nanocapsules as a vehicle for controlled release of bioactive compounds, *Carbohydr. Polym.* 115 (2015) 1–9.
- [40] L. Brannon-Peppas, Controlled release in the food and cosmetics industries, in: M.A. El-Nokaly, D.M. Platt, B.A. Charpentier (Eds.), *Polymeric Delivery Systems: Properties and Applications*, ACS Symposium Series, American Chemical Society Washington, DC, 1993 42–52, 1993.
- [41] N. Faisant, J. Siepmann, J. Richard, J.P. Benoit, Mathematical modeling of drug release from bioerodible microparticles: effect of gamma-irradiation, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 56 (2003) 271–279.
- [42] K.C. Gupta, M.N.V. Ravi Kumar, Drug release behavior of beads and microgranules of chitosan, *Biomaterials* 21 (2000) 1115–1119.
- [43] A. Ilie, C. Ghijulică, E. Andronescu, A. Cucuruz, A. Fical, New composite materials based on alginate and hydroxyapatite as potential carriers for ascorbic acid, *Int. J. Pharm.* 510 (2) (2016) 501–507.
- [44] U.R. Pothakamury, G.V. Barbosa-Canovas, Fundamental aspects of controlled release in foods, *Trends Food Sci. Tech.* 6 (1995) 397–406.
- [45] S. Abbas, C.D. Wei, K. Hayat, Z. Xiaoming, Ascorbic acid: microencapsulation techniques and trends – a review, *Food Rev Int.* 28 (4) (2012) 343–374.
- [46] M. Vanitha, K. Dhanapal, G.V.S. Reddy, Quality changes in fish burger from Catla (*Catla catla*) during refrigerated storage, *J. Food Sci. Tech.* 52 (3) (2015) 1766–1771.
- [47] V.C. Bochi, J. Weber, C.P. Ribeiro, A. de, M. Victório, T. Emanuelli, Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting residue, *Bioresour. Technol.* 99 (2008) 8844–8849.

Patente Depositada

Produção de micropartículas de xiloglucana das sementes de jatobá (*Hymenaea courbaril* var. *courbaril*) com ácido ascórbico para aplicação em hambúrguer de peixe.

Nº do Processo depositado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI): BR 10 2017 025897 1

RELATÓRIO DESCRITIVO DA PATENTE DE INVENÇÃO

PRODUÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE XILOGLUCANA DAS SEMENTES DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* var. *courbaril*) COM ÁCIDO ASCÓRBICO PARA APLICAÇÃO EM HAMBÚRGUER DE PEIXE

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção envolve processos de obtenção de micropartículas de xiloglucana (*Hymenaea courbaril* var. *courbaril*) com ácido ascórbico, bem como produção de hambúrguer de peixe com estas micropartículas incorporadas.

RESUMO

A presente invenção refere-se a um processo de obtenção de micropartículas de xiloglucana (*H. courbaril* var. *courbaril*) com ácido ascórbico, bem como, a aplicação destas micropartículas na produção de hambúrguer de peixe. Mais particularmente, a presente invenção compreende: um processo de obtenção de micropartículas utilizando como agente encapsulante a xiloglucana da semente de *H. courbaril* var. *courbaril*, a utilização da xiloglucana para encapsular ácido ascórbico através do processo de *spray drying* que é econômico e que resulta em micropartículas de boa qualidade. Além disso envolve um processo de produção de hambúrguer de peixe com as micropartículas incorporadas, para garantir que o ácido ascórbico não se oxide facilmente e o produto elaborado não sofra alteração organoléptica inadequada durante o armazenamento e minimize a formação de compostos indesejáveis durante a cocção.

DESCRIÇÃO DO ESTADO DA TÉCNICA

Nos últimos tempos, estudos com diversos materiais poliméricos de origem vegetal, como os polissacarídeos, vêm atraindo a atenção de pesquisadores, por serem fontes naturais e renováveis.

A xiloglucana é um destes polissacarídeos com estrutura ramificada constituída por glucose (40%), xilose (34%), galactose (20%) e arabinose (6%), que

apresenta funções distintas no vegetal e possui um importante papel estrutural, além de atuar como material de reserva em sementes, por exemplo, da espécie *H. courbaril* var. *courbaril*, conhecida como Jatobá, pertencente à família Caesalpiniaceae de ocorrência abundante em toda a floresta brasileira (ARRUDA et al., 2015).

A xiloglucana das sementes da espécie *H. courbaril* var. *courbaril* ainda não foi explorada como a da semente da *Tamarindus indica* L., sendo uma das mais aplicadas na indústria alimentícia, segundo Kumar & Bhattacharya (2008), os quais relataram patentes com o uso da mesma como emulsificante (JP2000060481, 2000), estabilizante em diferentes alimentos (JP 01157365, 1989; JP2003113323, 2003; JP2002233362, 2002; JP2000139399, 2000) agente antimicrobiano (JP20040902, 2004; JP 2003144071, 2003) e inibidor de cristalização em sobremesas (JP 2002253126, 2002; JP 2005013099, 2005).

Existem patentes envolvendo o uso da espécie *H. courbaril* referente a um processo de obtenção do polissacarídeo xiloglucana, de sementes de jatobá (*H. courbaril* L., *H. stilbocarpa*, entre outras espécies), que foi aplicado em composições cosméticas, de preferência composições antienvhecimento (US 2012/0040926 A1, 2012); polissacarídeos obtidos a partir de sementes de plantas de *Hymenaea* têm sido utilizados como espessante, gelatinizante e estabilizante para suspensão ou emulsão na área de alimentos, produtos químicos e medicamentos (US5488105A, 1996); composição de higiene pessoal utilizada para limpeza de pele humana ou animal, que pode ser revestida em uma toalha, compreendendo um adstringente, um humectante e um extrato botânico selecionado do grupo de espécies de *Hydrastis canadensis*, *Tabebuia impetiginosa*, *Hymenaea courbaril*, *Ptychopetalum olacoides*, *Juniperus brasiliensis*, *Hamamelis virginiana* e suas misturas (US20080260806A1, 2008); inibidora da enzima conversora da angiotensina e um alimento anti-hipertensão com efeitos leves permitindo a ingestão contínua (JP2004189662A, 2004); inibidor de liberação de hialuronidase e histamina, útil como matéria-prima para cosméticos e produtos alimentares com ação anti-inflamatória ou antialérgica, compreendendo como ingrediente ativo o extrato de *H. courbaril* (JPH0853360A, 1996); composição medicinal de ovo de galinha, em estado quente, cozido ou morno, que associado à polpa do fruto jatobá "*H. courbaril*", propicia a elaboração de um composto para cura e alívio de dores, comumente conhecidas como "bicos de papagaio". Raspando as sementes do fruto, obtêm-se a polpa, que é um pó de cor

amarelada para se juntar ao ovo cozido que, ao ser misturado, proporcionará uma pasta homogênea, já própria para ser consumida (BR 1020120170450 A2), assim como inibidor de alongamento dendrítico para melanócitos compreendendo como ingrediente ativo na forma de extrato (JP2014133708A, 2014).

Dentre as patentes mundiais com aplicação da xiloglucana para área de alimentos pode se destacar os seguintes processos e produtos: filmes compreendendo uma xiloglucana que compreende não mais de 11mol% de resíduos de galactose, bem como um método para produzir tais películas e a sua utilização como uma barreira de oxigênio (US2016251488 A1, 2016); composição de gel contendo xiloglucana, composto por mistura de amido e xiloglucana usado em gêneros alimentícios, incluindo molhos, massa, produtos refrigerados, produtos de farinha de trigo, pré-misturas, picles e vermicelli de arroz, maionese, produtos fermentados incluindo iogurte e produtos de farinha de trigo, pão e macarrão (JP2014047179A, 2014). Também patente que relata a obtenção de microcápsula contendo um agente benéfico dentro de um invólucro de poliureia, caracterizado pela poliureia possuir um polímero de deposição de polissacarídeo não iônico ligado covalentemente ao mesmo. A invenção também se refere a um método de fabricação da referida microcápsula e composições que as contêm (WO2016177607A1, 2016); compreendendo uma película útil para revestir a composição farmacêutica, nutracêutica ou nutricional ou revestir o núcleo, formando grânulos, microesferas, microcápsulas, mini-comprimidos, comprimidos e cápsulas (todos reivindicados). A composição também é útil como material de embalagem degradável para microencapsulação de diferentes produtos alimentares (WO2017145143-A1); e também utilizada para filme (BR 112012 0071254A2, 2010), não havendo registros de atuação como encapsulante, especificamente com xiloglucana para o aditivo alimentar ácido ascórbico.

Um dos métodos utilizados para a encapsulação de aditivos é a microencapsulação pelo *spray drying* que é a operação unitária da qual um produto líquido é atomizado e seco instantaneamente através de uma corrente de ar quente, obtendo-se um pó (PEIGHAMBARDOUST; TAFTI; HESARI, 2011).

A microencapsulação é uma técnica bastante utilizada na proteção de compostos ativos contra fatores que podem causar a sua degradação, tais como: reações adversas do ambiente, perda de voláteis, melhorando a estabilidade e contribuindo para liberação controlada (AGNIHOTRI et al., 2012).

Um dos compostos ativos que já foi encapsulado com diferentes polímeros é o ácido ascórbico (ALISHAHI et al., 2011; ALVIM et al., 2016). Ele é utilizado pela indústria alimentícia como coadjuvante de tecnologia sendo considerado como antioxidante na proteção das características sensoriais e nutricionais dos alimentos, no entanto apresenta alta instabilidade e reatividade (COMUNIAN et al., 2013; SARTORI et al., 2016, MATOS et al., 2017).

A microencapsulação com liberação controlada de aditivos como o ácido ascórbico para determinadas formulações alimentares é interessante para manter as características adequadas durante todo o processamento, armazenamento e aquecimento do produto alimentício (ÖZDEMIR; GÖKMEN, 2015).

Entre as formulações alimentares têm-se os hambúrgueres que, de acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 2017), é o produto cárneo obtido de carne moída das diferentes espécies animais com adição ou não de ingredientes, moldado na forma de disco ou na forma oval e submetido a processo tecnológico específico.

A carne de peixe pode ser utilizada como base para o hambúrguer com o intuito de agregação de valor, mas existem poucos estudos na literatura sobre produtos à base de peixe e, apesar do conhecimento das propriedades nutricionais deste pescado, não há informações suficientes sobre o uso potencial da carne, para produzir essas formulações alimentares (BAINY et al., 2015).

Existem patentes nacionais e internacionais relacionadas com processo e produção de micropartículas de pectina contendo ácido ascórbico (PI 0006230-8, 2000), produção de hambúrguer cozido (PI 0401192-9 A2, 2004), de diferentes tipos de hambúrgueres como o de shiitake (BR 102015031975-4 A2, 2015), o de fígado bovino (BR 10 2014 032678 2 A2, 2014), o de palmito (PI 1000785-7 A2, 2010), o de feijão (BR 102015027674-5 A2, 2015), o de arroz (PI 0504004-3 A2, 2005), e o adicionado de ômega 3 (PI 0802542-8 B1, 2008). Entre as patentes existe também a de produção de hambúrguer de peixe cavala (PH 22016000715 U1, 2016). No entanto, não está contemplado nas patentes a produção de micropartículas de ácido ascórbico revestidas com a xiloglucana da semente de *H. courbaril* var. *courbaril*, e nem a aplicação destas micropartículas em hambúrguer de peixe com o objetivo de aumentar a estabilidade dos hambúrgueres e a sua vida de prateleira.

APRESENTAÇÃO DOS PROBLEMAS EXISTENTES

O ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel, termolábil e uma das suas características específicas é a instabilidade, que pode ser influenciada por diferentes fatores como calor, luz, alta concentração de oxigênio e altos valores de atividade da água (COMUNIAN et al., 2014).

Devido à sua natureza ácida, o ácido ascórbico pode interagir com outros componentes alimentares e essa interação poderá resultar em compostos como furano, um carcinogênico cuja formação se dará durante o tempo de aquecimento dos alimentos (SHEN et al., 2017).

Apesar do ácido ascórbico já ter sido microencapsulado por diferentes polímeros como quitosana, alginato, galactomanana, amido, goma arábica e pectina, este procedimento ainda é um desafio devido à elevada reatividade do mesmo em baixo pH e a indisponibilidade de um polímero de qualidade (CHANG et al, 2010).

Alimentos à base de carne de peixe como o hambúrguer apresentam pH entre 6 e 7 e uma das características nutricionais é o alto conteúdo de ácidos graxos polinsaturados, os quais ocasionam um maior grau de deterioração, principalmente a oxidação lipídica.

Portanto, existe uma preocupação em aplicar aditivos coadjuvantes de tecnologia para que os produtos tenham características sensoriais adequadas, evitando principalmente a rancificação, necessitando assim da incorporação de um antioxidante como o ácido ascórbico capaz de manter o produto com seu sabor natural, coloração adequada e mais atrativa para o consumidor. No entanto, se o ácido ascórbico estiver na forma livre poderá levar a formação de substâncias indesejáveis a partir do processo de cocção do hambúrguer.

APRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO EM LINHAS GERAIS

A presente invenção vem solucionar alguns problemas mencionados, quando propõe não só a produção de micropartículas de ácido ascórbico, que libera o composto ativo de maneira controlada para o meio em que se encontra, mas também a aplicação em preparações alimentícias cujo pH seja pouco ácido, como o hambúrguer de peixe. Além disso, para se obter as micropartículas, utiliza-se equipamento que é caracterizado pela simplicidade e economia operacional.

A técnica, objeto do presente pedido de patente, utiliza como agente encapsulante a xiloglucana, que é um polímero natural, renovável, estável, hidrofílico e facilmente modificável.

Outra vantagem da técnica ora exposta é a utilização do *spray drier*, que é um equipamento disponível em versões de grandes dimensões, que dará uma produção em grande escala com economia operacional, além da produção de micropartículas com alta solubilidade, estabilidade, arredondada e com tamanho, distribuição, morfologia e composição controlável (MADENE et al., 2006; STUNDA-ZUJEVA; IRBE; BERZINA-CIMDINA, 2017). Outro benefício está no curto tempo de contato de secagem (5 a 100s) o que portanto, tende a preservar atributos de materiais sensíveis ao calor, como o ácido ascórbico, que pode ser microencapsulado, permitindo a liberação no tempo necessário, evitando a formação de compostos indesejáveis durante o processamento térmico de alimentos (ÖZDEMIR; GÖKMEN, 2015).

As micropartículas produzidas a partir da xiloglucana de *H. courbaril* var. *courbaril* apresentam melhores comportamentos de liberação de ácido ascórbico em alimentos com pH entre 6 e 7.

Desta maneira, a presente invenção também irá incorporar as micropartículas de xiloglucana e ácido ascórbico no hambúrguer de peixe, para garantir que o composto ativo não se oxide facilmente e o produto elaborado não sofra alteração organoléptica inadequada durante o armazenamento e minimize a formação de compostos indesejáveis durante a cocção.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Sistemas de entrega de compostos ativos, como aditivos alimentares vêm sendo discutidos. Neste sentido, o objetivo do presente invento foi produzir micropartículas utilizando como agente encapsulante a xiloglucana da semente de *H. courbaril* var. *courbaril*, para encapsular ácido ascórbico, através do processo de *spray drying* que é econômico e que resulta em micropartículas de boa qualidade.

A primeira fase trata-se do processo de produção das micropartículas da presente invenção. Esta etapa é caracterizada pela microencapsulação do ácido ascórbico, utilizando a xiloglucana como agente encapsulante, através do *spray*

dryer (Buchi Mini *Spray Dryer* B-290), evidenciando um processo econômico, além da produção de micropartículas com alta estabilidade, arredondada e com tamanho, morfologia e composição controlável. Esta fase inclui avaliações da eficiência de encapsulação, retenção da atividade antioxidante e métodos analíticos que caracterizaram a micropartícula confirmando a presença de ácido ascórbico nas mesmas.

Outro aspecto da presente invenção inclui a aplicação das micropartículas em hambúrguer de peixe - uma preparação alimentícia feita do filé de peixe e ingredientes. O método compreende a higienização dos filés de peixe, seguida de trituração e homogeneização com todos os ingredientes e manutenção da massa à baixa temperatura, seguida da mistura das micropartículas à massa, moldagem, embalagem e armazenamento sob congelamento.

Outro aspecto desta última etapa descrita inclui o controle e avaliação dos parâmetros físico-químicos do produto desta invenção, determinando assim a viabilidade da aplicação das micropartículas no hambúrguer de peixe assim como em outros produtos alimentício.

DESCRIÇÃO DETALHADA DO INVENTO

Esta descrição detalhada da invenção é dividida em duas partes. A Parte I descreve o método de produção das micropartículas de xiloglucana com ácido ascórbico. A Parte II descreve a metodologia para a aplicação das micropartículas em hambúrguer de peixe.

Parte I - A presente invenção refere-se à produção de micropartículas utilizando como agente encapsulante a xiloglucana da semente de *H. courbaril* var. *courbaril*, para encapsular ácido ascórbico. Os aspectos da realização da metodologia são descritas em duas etapas a seguir em maior detalhe. A primeira etapa do método inclui o processo de obtenção da solução de xiloglucana a 1% (p/v), preparada dissolvendo 10 g de xiloglucana em 1000 mL de água destilada sob agitação magnética (200 rpm), a temperatura de 25°C durante 24h. Posteriormente, são adicionados 0,4 g de ácido ascórbico, mantendo-se a solução sob as mesmas condições por mais 1 h.

Após a primeira etapa a solução é transferida para a segunda etapa, onde é realizada a microencapsulação em aparelho de *spray dryer* (Buchi Mini *Spray Dryer*

B-290) sob as seguintes condições de operação: temperatura do ar de entrada a 160°C, temperatura do ar de saída a 103-107°C, fluxo de ar (a temperatura e pressão padrão) de 538 L/h e velocidade da bomba de 233 mL/h. As micropartículas obtidas de xiloglucana contendo ácido ascórbico são coletadas e armazenadas em frascos de vidro âmbar à temperatura ambiente (25°C).

Parte II- O outro aspecto da presente invenção contempla a aplicação das micropartículas em hambúrguer de peixe. No processo inicial, os filés de peixe são higienizados com água a 4°C contendo 5ppm de cloro durante 15 minutos. Os filés de peixe são triturados e homogeneizados com ingredientes como cloreto de sódio (1,5%), glutamato monossódico (0,2%), cebola em pó (0,1%), alho em pó (0,1%), coentro de pó (0,2%), pimenta branca (0,1 %), farinha de trigo (5%) e água a 4°C (10%) e mantidos a baixa temperatura (banho de gelo) para formação parcial de gel proteico por 20 min. As micropartículas são incorporadas à massa (adição de 0,28g de micropartículas que continha 0,02g de ácido ascórbico). A etapa de moldagem é realizada através de um molde manual de hambúrguer com diâmetro de 7,6 cm, embalados individualmente em sacos de polietileno de alta densidade e armazenados sob congelamento.

Outra consideração é que o ácido ascórbico livre pode ser facilmente degradado durante o processamento de alimentos e por isso a microencapsulação seria importante para retê-lo, permitindo a entrega ao local de destino no tempo necessário.

O presente invento demonstra que a xiloglucana é viável para ser utilizada como agente encapsulante de ácido ascórbico. Outro aspecto de fundamental importância para esta invenção é que a xiloglucana das sementes da *H. courbaril* var. *courbaril* é um polímero natural, abundante, renovável, estável, hidrofílico e não tóxico.

REIVINDICAÇÃO

1. Processos de obtenção de micropartículas com ácido ascórbico utilizando a xiloglucana obtida das sementes de *H. courbaril* var. *courbaril*, bem como produção de hambúrguer de peixe com estas micropartículas incorporadas.
2. O processo da reivindicação 1 apresenta reivindicações caracterizadas por:
 - 2.1. Um processo de obtenção de micropartículas de xiloglucana (*H. courbaril* var. *courbaril*) com ácido ascórbico, realizado em etapas de obtenção da solução de xiloglucana com ácido ascórbico e secagem por *spray drying*;
 - 2.2. Um processo de produção de hambúrguer de peixe com aplicação das micropartículas de xiloglucana com ácido ascórbico.
3. O processo da reivindicação 2.1, que envolve a produção de micropartículas utilizando a xiloglucana obtida das sementes de *H. courbaril* var. *courbaril*, assim como a utilização de outras espécies que contêm este polissacarídeo.

O processo da reivindicação 2.1 é caracterizado ainda pela utilização da xiloglucana para encapsular o ácido ascórbico por *spray drying* sob as condições de temperatura do ar de entrada 160°C, temperatura do ar de saída a 103-107°C, um fluxo de ar (a temperatura e pressão padrão) de 538 L/h e velocidade da bomba de 233 mL/h, assim como pequenas variações em torno destes parâmetros, além da produção de micropartículas com alta estabilidade, arredondadas e com tamanho, morfologia e composição controláveis para retenção do aditivo e liberação por meio de difusão ou por poros pré-existentes no polímero.
4. O processo da reivindicação 2.2 é caracterizado pela aplicação das micropartículas em hambúrguer de peixe durante o beneficiamento, na quantidade de 0,28g de micropartículas que contêm 0,02g de ácido ascórbico, bem como de variações destas quantidades.
5. O processo da reivindicação 2.2 refere-se ao método caracterizado pela liberação de ácido ascórbico das micropartículas de xiloglucana durante o armazenamento do hambúrguer de peixe à temperatura de 4°C e proteção do

antioxidante quando o hambúrguer é submetido à cocção em um forno elétrico convencional a 200°C durante 15 min, com variações.

6. Os processos da reivindicação de 1 a 5 são caracterizados pela aplicação, controle e avaliação dos parâmetros físico-químicos do produto desta invenção, determinando, assim, a viabilidade da aplicação das micropartículas no hambúrguer de peixe, assim como em outros produtos alimentícios.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- A xiloglucana extraída de sementes de *H. courbaril* var. *courbaril* mostrou-se adequada como agente encapsulante do ácido ascórbico;
- A atomização por *spray drying* levou à produção de micropartículas com boas características morfológicas e com grande capacidade de encapsulação do AA, estabilidade e retenção da atividade antioxidante durante 60 dias de estudo;
- O FTIR confirmou a presença de AA nas micropartículas de xiloglucana, que foi corroborado pelos resultados de DSC e TGA;
- A liberação do ácido ascórbico das micropartículas de xiloglucana, foi dependente do pH, podendo-se observar que o pH 6,5 e 7,0 foram os que apresentaram uma liberação controlada de AA durante o tempo de análise;
- A incorporação de micropartículas de xiloglucana contendo ácido ascórbico no hambúrguer de peixe tilápia, não alterou o pH após o aquecimento e resultou na retenção de maior quantidade de ácido ascórbico, levando a uma menor variação no parâmetro de cor b^* entre as amostras cruas e assadas, quando comparadas às amostras contendo ácido ascórbico livre.

E finalmente, a incorporação de micropartículas de xiloglucana contendo ácido ascórbico na formulação de hambúrguer de peixe é uma alternativa viável para evitar alterações organolépticas indesejáveis após o cozimento.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO CULTURAL E EDUCACIONAL BRASIL. **1º Anuário Brasileiro da Pesca e Aquicultura**. Rio de Janeiro, 2014.
- AGNIHOTRI, N.; MISHRA, R.; GODA, C.; ARORA, M. Microencapsulation—a novel approach in drug delivery: a review. **Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2012.
- AGUIAR, J.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Microencapsulation of natural antioxidants for food application—The specific case of coffee antioxidants – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 58, p. 21-39, 2016.
- AJOVALASIT, A.; SABATINO, M. A.; TODARO, S.; ALESSI, S.; GIACOMAZZA, D.; PICONE, P.; CARLO, M. D.; DISPENZA, C. Xyloglucan-based hydrogel films for wound dressing: Structure-property relationships. **Carbohydrate Polymers**, v. 179, p. 262-272, 2018.
- ALI, H. A.; MANSOUR, E. H.; E-LBEDAWAY, A. E. F. A.; OSHEBA, A. S. Evaluation of tilapia fish burgers as affected by different replacement levels of mashed pumpkin or mashed potato. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2017.01.003>.
- ALISHAHI, A.; MIRVAGHEFI, A.; TEHRANI, M. R.; FARAHMAND, H.; SHOJAOSADATI, S. A.; DORKOOSH, F. A.; ELSABEE, M. Z. Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 935-940, 2011.
- ALVIM, I. D.; STEIN, M. A.; KOURY, I. P.; DANTAS, F. B. H.; CRUZ, C. L. D. C. V. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. **LWT-Food Science and Technology**, v. 65, p. 689-694, 2016.
- ARRUDA, I. R. S.; ALBUQUERQUE, P. B. S.; SANTOS, G. R. C.; SILVA, A. G.; MOURÃO, P. A. S.; CORREIA, M. T. S.; VICENTE, A. A.; CARNEIRO DA CUNHA, M. G. Structure and rheological properties of a xyloglucan extracted from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds. **International journal of biological macromolecules**, v. 73, p. 31-38, 2015.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. Official Methods of Analysis of AOAC International. **Washington: D. C.**, 1984. p. 844-845.

- AVELLONE, G.; SALVO, A.; COSTA, R.; SAIJA, E.; BONGIORNO, D.; DI STEFANO, V.; CALABRESED, G.; DUGO, G. Investigation on the influence of spray-drying technology on the quality of Sicilian Nero d'Avola wines. **Food chemistry**, v. 240, p. 222-230, 2018.
- AWUZIE, C. I. Conducting Polymers. **Materials Today: Proceedings**, v. 4, n. 4, p. 5721-5726, 2017.
- AZEREDO, Henriette Monteiro Cordeiro. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, p. 89-97, 2005.
- BAINY, E. M.; BERTAN, L. C.; CORAZZA, M. L.; LENZI, M. K. Effect of grilling and baking on physicochemical and textural properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish burger. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 8, p. 5111-5119, 2015.
- BAINY, E. M.; CORAZZA, M. L.; LENZI, Marcelo K. Measurement of freezing point of tilapia fish burger using differential scanning calorimetry (DSC) and cooling curve method. **Journal of Food Engineering**, v. 161, p. 82-86, 2015.
- BALAJI, A. B.; PAKALAPATI, H.; KHALID, M.; WALVEKAR, R.; SIDDIQUI, H. Natural and synthetic biocompatible and biodegradable polymers. **Biodegradable and Biocompatible Polymer Composites: processing, proprieties and applications**, p. 3-32, 2018.
- BARBOSA, J. M. Principais espécies de peixes por estado do Brasil. IN: GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p. 533-572.
- BEIRÃO-DA-COSTA, S.; DUARTE, C.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; JANUÁRIO, M. I. N.; VICENTE, A. A.; BEIRÃO-DA-COSTA, M. L.; DELGADILLO, I. Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 199-206, 2013.
- BENASSI, Marta de Toledo; ANTUNES, Aloisio José. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arq. biol. tecnol**, v. 31, n. 4, p. 507-13, 1988.
- BERNUCCI, B. S. P.; LOURES, C. M. G.; LOPES, S. C. A.; OLIVEIRA, M. C.; SABINO, A. P.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; LACERDA, I. C.; NICOLIE, J. R.; OLIVEIRA, E. S. Effect of microencapsulation conditions on the viability and functionality of *Bifidobacterium longum* 5^{1A}. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 341-347, 2017.

- BHALEKAR, M. R.; BARGAJE, R. V.; UPADHAYA, P. G.; MADGULKAR, A. R.; KSHIRSAGAR, S. J. Formulation of mucoadhesive gastric retentive drug delivery using thiolated xyloglucan. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 537-542, 2016.
- BOCHI, V. C.; WEBER, J.; RIBEIRO, C. P.; VICTÓRIO, A. D. M.; EMANUELLI, T. Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting residue. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8844-8849, 2008.
- BONACINA, M.; QUEIROZ, M. I. Elaboração de empanado a partir da corvina (*Micropogonias furnieri*). **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2007.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017** – Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Brasília, D.F., 29 de março de 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 20 de 31 de julho de 2000** – Anexo IV Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer. Brasília, D.F., 31 de julho de 2000.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim da pesca e aquicultura 2011**. Brasília, D.F., 2011. Disponível em: <www.mpa.gov.br/>. Acessado em 22 de fevereiro de 2017.
- BUCKERIDGE, M. S.; CROMBIE, H. J.; MENDES, C. J. M.; REID, J. S. G.; GIDLEY, M. J.; VIEIRA, C. C. J. A new family of oligosaccharides from the xyloglucan of *Hymenaea courbaril* L.(Leguminosae) cotyledons. **Carbohydrate research**, v. 303, n. 2, p. 233-237, 1997.
- BUCKERIDGE, M. S.; TINÉ, M. A. S. Composição polissacarídica: estrutura da parede celular e fibra alimentar. **Fibra dietética in Iberoamérica: tecnologia y salud**. São Paulo: Sarvier, p. 27-38, 2001.
- BUSATO, A. P.; VARGAS-RECHIA, C. G.; GORIN, P. A. J.; PETKOWICZ, C. L.; TISCHER, C. A.; BOCHICCHIO, R.; REICHER, F. New 4-O-substituted xylosyl units in the xyloglucan from leaves of *Hymenaea courbaril*. **Biological Macromolecules**. v.35, p.277-282, 2005.
- BURGALASSI, S.; CHETONI, P.; PANICHI, L.; BOLDRINI, E.; SAETTONE, M. F. Xyloglucan as a novel vehicle for timolol: pharmacokinetics and pressure lowering

- activity in rabbits. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 16, n. 6, p. 497-509, 2000.
- BUSATO, A. P.; VARGAS-RECHIA, C. G.; REICHER, F. Xyloglucan from the leaves of *Hymenaea courbaril*. **Phytochemistry**, v.58, p. 525–531, 2001.
- CANEVAROLO JR, Sebastião V. Técnicas de caracterização de polímeros. **Artliber, São Paulo**, v. 430, 2004.
- CAO, Y.; GU, Y.; MA, H.; BAI, J.; LIU, L.; ZHAO, P.; HE, H. Self-assembled nanoparticle drug delivery systems from galactosylated polysaccharide–doxorubicin conjugate loaded doxorubicin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.46, n. 2, p. 245-249, 2010.
- CARAMÊS, E. T.; ALAMAR, P. D.; POPPI, R. J.; PALLONE, J. A. L. Quality control of cashew apple and guava nectar by near infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 56, p. 41-46, 2017.
- CARPITA, N. C.; DEFERNEZ, M; FINDLAY, K.; WELLS, B.; SHOUE, D. A.; CATCHPOLE, G.; WILSON, R. H.; MCCANN, M. C. Cell wall architecture of the elongating maize coleoptile. **Plant Physiology**, v.127, n. 2, p. 551-565, 2001.
- CASTRO, L. A. S. **Processamento de amostras para microscopia eletrônica de varredura**. Embrapa, Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, 2002.
- CEDOLA, A.; CARDINALI, A.; DEL NOBILE, M. A.; CONTE, A. Fish burger enriched by olive oil industrial by-product. **Food Science & Nutrition**, p.1–8, 2017.
- CERQUEIRA, M. A.; COSTA, M. J.; FUCIÑOS, C.; PASTRANA, L. M.; VICENTE, A. A. Development of active and nanotechnology-based smart edible packaging systems: physical–chemical characterization. **Food and bioprocess technology**, v. 7, n. 5, p. 1472-1482, 2014.
- CHANG, D.; ABBAS, S.; HAYAT, K.; XIA, S.; ZHANG, X.; XIE, M.; KIM, J. M. Encapsulation of ascorbic acid in amorphous maltodextrin employing extrusion as affected by matrix/core ratio and water content. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 9, p. 1895-1901, 2010.
- COMUNIAN, A.; THOMAZINI, M.; GAMBAGORTE, V. F.; TRINDADE, M. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Effect of incorporating free or encapsulated ascorbic acid in chicken frankfurters on physicochemical and sensory stability. **Journal of Food Science and Engineering**, p. 167-175, 2014 a.

- COMUNIAN, T. A.; ABBASPOURRAD, A.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; WEITZ, D. A. Fabrication of solid lipid microcapsules containing ascorbic acid using a microfluidic technique. **Food chemistry**, v. 152, p. 271-275, 2014 b.
- COMUNIAN, T. A.; THOMAZINI, M.; ALVES, A. J. G.; MATOS JUNIOR, F. E.; CARVALHO BALIEIRO, J. C.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 373-379, 2013.
- COSTA, L. C.; SANTOS, L. D. R.; FRANÇA, R.; DAVINI, G.; SHIRAI, M. A. Aplicação de diferentes revestimentos comestíveis na conservação pós-colheita de goiabas (*Psidium guajava* L.). **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 2, p. 16-31, 2017.
- CRIZEL, T. M.; RIOS, A. O.; ALVES, V. D.; BANDARRA, N.; MOLDÃO-MARTINS, M.; FLÔRES, S. H. Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 139-150, 2018.
- DAINIPPON PHARMACEUTICAL CO.LTD. Uno Yoichiro, Takeno Fumio, Yamatoya Kazuhiko, Ohtsu Keiji. **Polysaccharides of hymenaea seeds**. US5488105 (A), 30 janeiro 1996.
- DANG, X.; YANG, M.; SHAN, Z.; MANSOURI, S.; MAY, B. K.; CHEN, X.; CHEN, H.; WOO, M. W. On spray drying of oxidized corn starch cross-linked gelatin microcapsules for drug release. **Materials Science and Engineering C**, v. 74, p. 493-500, 2017.
- DAVIS, Mark. Recent strategies in spray drying for the enhanced bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society**, v. 269, p. 110-127, 2017.
- DEL NOBILE, M. A.; CORBO, M. R.; SPERANZA, B.; SINIGAGLIA, M.; CONTE, A.; CAROPRESE, M. Combined effect of MAP and active compounds on fresh blue fish burger. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, n. 3, p. 281-287, 2009.
- DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Princípios e aplicações de análise térmica. **Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos São Carlos-SP**, 2012.
- DENG, J.; CHENG, W.; YANG, G. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1430-1435, 2011.

- DEPYPERE, F.; DEWETTINCK, K.; RONSSE, F.; PIETERS, J. Food powder microencapsulation: principles, problems and opportunities. *Applied Biotechnology, Food Science and Policy*, v.1, n.2, p. 75-94, 2003.
- DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Effect of manufacturing parameters on the characteristics of vitamin C encapsulated tripolyphosphate-chitosan microspheres prepared by spray-drying. *Journal of microencapsulation*, v. 23, n. 1, p. 91-103, 2006.
- DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, v. 22, n. 2, p. 179-192, 2005a.
- DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005b.
- DING, H. H.; CUI, S. W.; GOFF, H. D.; CHEN, J.; GUO, Q.; WANG, Q. Xyloglucans from flaxseed kernel cell wall: Structural and conformational characterisation. *Carbohydrate Polymers*, v. 151, p. 538-545, 2016.
- DONHOWE, E. G.; FLORES, F. P.; KERR, W. L.; WICKER, L.; KONG, F. Characterization and in vitro bioavailability of β -carotene: Effects of microencapsulation method and food matrix. *LWT-Food Science and Technology*, v. 57, n. 1, p. 42-48, 2014.
- F. HOFFMANN-LA ROCHE (CH). Chyi-Cheng Chen, Bruno Leuenberger, Denise Voelki. Composição compreendendo ácido ascórbico e pectina. PI 0006230-8, 21 Dezembro 2000, 27 Novembro 2001.
- FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 21, n. 10, p. 510-523, 2010.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS- FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. **Contributing to food security and nutrition for all**. Rome. 200 pp. 2016.
- FENNEMA, O. R.; DAMODARAN. S.; PARKIN, K. L. **Química dos Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 4, p 366-374, 2010.
- FERNANDES, H. P.; SINHORIN, A. P.; SINHORIN, V. D. G.; JUNIOR, G. M. V.; SILVA, V. C.; CARVALHO, M. G. New glycosylated biscoumarins from *Hymenaea coubaril* L. seeds. *Phytochemistry Letters*, v. 13, p. 413-416, 2015.
- FITZSIMMONS, K.; MARTINEZ-GARCIA, R.; GONZALEZ-ALANIS, P. Why tilapia is

becoming the most important food fish on the planet. **Better Science, Better Fish, Better Life**, p. 8, 2011.

FOUGÉRE-DANEZAN, M.; HERENDEEN, P. S.; MAUMONT, S.; BRUNEAU, A. Morphological evolution in the variable resin-producing Detarieae (Fabaceae): do morphological characters retain a phylogenetic signal? **Annals of Botany**, v. 105, n. 2, p. 311-325, 2010.

FREITAS, R. A.; MARTIN, S.; SANTOS, G. L.; VALENGA, F.; BUCKERIDGE, M. S.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M. R. Physico-chemical properties of seed xyloglucans from different sources. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n. 4, p. 507-514, 2005.

FREITAS, R. A.; SPIER, V. C.; SIERAKOWSKI, M. R.; NICOLAI, T.; BENYAHIA, L.; CHASSENIEUX, C. Transient and quasi-permanent networks in xyloglucan solutions. **Carbohydrate polymers**, v. 129, p. 216-223, 2015.

GARCÍA, O.; PONS, I. A.; MORA, J. A.; SÁNCHEZ, A.; RODRÍGUEZ, H. Evaluación física y proximal de la carne para hamburguesas elaborada a partir de pulpa de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) con harina de soya texturizada. **Revista Científica UDO Agrícola**, v. 9, n. 4, p. 951-962, 2009.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; BENEY, L.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Properties of spray-dried food flavours microencapsulated with two-layered membranes: Roles of interfacial interactions and water. **Food Chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1713-1720, 2012.

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

GOLEBIEWSKI, J.; GALESKI, A. Thermal stability of nanoclay polypropylene composites by simultaneous DSC and TGA. **Composites Science and Technology**, v. 67, n. 15, p. 3442-3447, 2007.

GÓMEZ-ORDÓÑEZ, E.; RUPÉREZ, P. FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1514-1520, 2011.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. 608 p.

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

- GUERIN, J.; PETIT, J.; BURGAIN, J.; BORGES, F.; BHANDARI, B.; PERROUD, C.; DESOBRYA, S.; SCHERA, J.; GAIANI, C. Lactobacillus rhamnosus GG encapsulation by spray-drying: Milk proteins clotting control to produce innovative matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 193, p. 10-19, 2017.
- GÜLÇİN, İlhami. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of toxicology**, v. 86, n. 3, p. 345-391, 2012.
- HAMILTON-HART, N.; STRINGER, C. Upgrading and exploitation in the fishing industry: Contributions of value chain analysis. **Marine Policy**, v. 63, p. 166-171, 2016.
- HASSABALLA, A. Z.; MOHAMED, G. F.; IBRAHIM, H. M.; ABDELMAGEED, M. A. Frozen cooked catfish burger: effect of different cooking methods and storage on its quality. **Global Veterinaria**, v. 3, n. 3, p. 216-226, 2009.
- HE, Y.; HUANG, H.; LI, L.; YANG, X.; HAO, S.; CHEN, S.; DENG, J. The effects of modified atmosphere packaging and enzyme inhibitors on protein oxidation of tilapia muscle during iced storage. **LWT-Food Science and Technology**, v. 87, p. 186-193, 2018.
- HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**, v. 96, n. 4, p. 654-664, 2006.
- HERRERO-VANRELL, R.; BRAVO-OSUNA, I.; ANDRÉS-GUERRERO, V.; VICARIO-DE-LA-TORRE, M.; MOLINA-MARTÍNEZ, I. T. The potential of using biodegradable microspheres in retinal diseases and other intraocular pathologies. **Progress in retinal and eye research**, v. 42, p. 27-43, 2014.
- HSUEH, CHIH-YUAN; TSAI, MIN-LANG; LIU, Tristan. Enhancing saltiness perception using chitin nanofibers when curing tilapia fillets. **LWT-Food Science and Technology**, v. 86, p. 93-98, 2017.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro, 2016. 44 v.
- IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; GOMES, D. J. C. Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial. **São Paulo: Giz**, v. 1, p. 80, 2005.
- ITOH, K.; YAHABA, M.; TAKAHASHI, A.; TSURUYA, R.; MIYAZAKI, S.; DAIRAKU, M.; TOGASHIB, M.; MIKAMIB, R.; ATTWOOD, D. In situ gelling xyloglucan/pectin

formulations for oral sustained drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 356, n. 1, p. 95-101, 2008.

JAFARI, S. M.; MAHDAVI-KHAZAEI, K.; HEMMATI-KAKHKI, A. Microencapsulation of saffron petal anthocyanins with cress seed gum compared with Arabic gum through freeze drying. **Carbohydrate Polymers**, v. 140, p. 20-25, 2016.

JÓ, T. A.; PETRI, D. F.; BELTRAMINI, L. M.; LUCYSZYN, N.; SIERAKOWSKI, M. R. Xyloglucan nano-aggregates: Physico-chemical characterisation in buffer solution and potential application as a carrier for camptothecin, an anti-cancer drug. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 355-362, 2010.

KAZUMI, A.; MASAOKI, K. Antimicrobial agent. JP n. 20040902, 2004.

KOCHUMALAYIL, J. J.; ZHOU, Q.; KASAI, W.; BERGLUND, L. A. Regioselective modification of a xyloglucan hemicellulose for high-performance biopolymer barrier films. **Carbohydrate polymers**, v. 93, n. 2, p. 466-472, 2013.

KOOIMAN, P. On the occurrence of amyloids in plant seeds. **Acta botanica neerlandica**, v. 9, n. 2, p. 208-219, 1960.

KÖSE, S.; BALABAN, M. O.; BORAN, M.; BORAN, G. The effect of mincing method on the quality of refrigerated whiting burgers. **International journal of food science & technology**, v. 44, n. 8, p. 1649-1660, 2009.

KTH HOLDING AB (SE). Filmes de xiloglucana. BR 11 2012 007125 4 A2, 28 Setembro 2010, 06 Novembro 2012.

KULKARNI, A. D.; JOSHI, A. A.; PATIL, C. L.; AMALE, P. D.; PATEL, H. M.; SURANA, S. J.; BELGAMWAR, V. S.; CHAUDHARI, K. S.; PARDESHI, C. V. Xyloglucan: A functional biomacromolecule for drug delivery applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 799-812, 2017.

KUMAR, C. S.; BHATTACHARYA, S. Tamarind seed: properties, processing and utilization. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 1, p. 1-20, 2008.

LEE, J. S.; KIM, J. W.; HAN, S. H.; CHANG, I. S.; KANG, H. H.; LEE, O. S.; OH, S. G.; SUH, K. D. The stabilization of L-ascorbic acid in aqueous solution and water-in-oil-in-water double emulsion by controlling pH and electrolyte concentration. **Journal of Cosmetic Science**, v. 55, n. 1, p. 1-12, 2004.

- LEE, S. E.; HWANG, H. J.; HA, J. S.; JEONG H. S.; KIM, J. H. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. **Life sciences**, v. 73, n. 2, p. 167-179, 2003.
- LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. (Ed.). **Legumes of the World**. Richmond, UK: Royal Botanic Gardens, Kew, 2005.
- LIMA, D. U.; BUCKERIDGE, M. S. Interaction between cellulose and storage xyloglucans: the influence of the degree of galactosylation. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, n. 2, p. 157-163, 2001.
- LOCAS, C. P.; YAYLAYAN, V. A. Origin and mechanistic pathways of formation of the parent furan a food toxicant. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 22, p. 6830-6836, 2004.
- LUBAMBO, A. F.; LUCYSZYN, N.; PETZHOLD, C. L.; CAMARGO, P. C.; SIERAKOWSKI, M. R.; SCHREINER, W. H.; SAUL, C. K. Self-assembled polystyrene/xyloglucan nanospheres from spin coating evaporating mixtures. **Carbohydrate polymers**, v. 84, n. 1, p. 126-132, 2011.
- LUCYSZYN, N.; ONO, L.; LUBAMBO, A. F.; WOEHL, M. A.; SENS, C. V.; SOUZA, C. F.; SIERAKOWSKI, M. R. Physicochemical and in vitro biocompatibility of films combining reconstituted bacterial cellulose with arabinogalactan and xyloglucan. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 889-898, 2016.
- MACKINDER, B. Detarieae. In: G. Lewis, B. Schrire, B. MacKinder & M. Lock (eds), **Legumes of the World**. The Royal Botanical Gardens, Kew, p. 69–71, 2005.
- MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release—a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 41, n. 1, p. 1-21, 2006.
- MAHAJAN, H. S.; DESHMUKH, S. R. Development and evaluation of gel-forming ocular films based on xyloglucan. **Carbohydrate polymers**, v. 122, p. 243-247, 2015.
- MANELA-AZULAY, M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; PEREZ, M. D. A.; FILGUEIRA, A. L.; CUZZI, T. Vitamina C. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 78, n.3, p.265-272, June 2003.
- MARTIN, S.; FREITAS, R.A.; OBAYASHI, E.; SIERAKOWSKI, M.R. Physico-chemical aspects of galactoxyloglucan from the seeds of *Hymenaea courbaril* and its tetraborate complex. **Carbohydrate polymers**, v. 54, n. 3, p. 287-295, 2003.

- MARTÍNEZ-ORTIZ, M. A.; VARGAS-TORRES, A.; ROMÁN-GUTIÉRREZ, A. D.; CHAVARRÍA-HERNÁNDEZ, N.; ZAMUDIO-FLORES, P. B.; MEZA-NIETO, M.; PALMA-RODRÍGUEZ, H. M. Partial characterization of chayotextle starch-based films added with ascorbic acid encapsulated in resistant starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 341-347, 2017.
- MATHLOUTHI, M.; KOENIG, J. L. Vibrational spectra of carbohydrates. **Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry**, v. 44, p. 7-89, 1987.
- MATOS, F. E.; COMUNIAN, T. A.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Effect of feed preparation on the properties and stability of ascorbic acid microparticles produced by spray chilling. **LWT-Food Science and Technology**, v. 75, p. 251-260, 2017.
- MAURICIO-IGLESIAS, M.; GUILLARD, V.; GONTARD, N.; PEYRON, S. Application of FTIR and Raman microspectroscopy to the study of food/packaging interactions. **Food Additives and Contaminants**, v. 26, n. 11, p. 1515-1523, 2009.
- MAYUKO, T. **Frozen dessert which becomes gel state after thawing**. JP n. 2005013099, 2005.
- MAYUMI, S.; HIROYUKI, Y. **Seasoning**. JP n. 2000139399, 2000.
- MEDINA-TORRES, L.; GARCÍA-CRUZ, E. E.; CALDERAS, F.; LAREDO, R. G.; SÁNCHEZ-OLIVARES, G.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; ROCHA-GUZMÁN, N. E.; RODRIGUEZ-RAMIREZ, J. Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus indica*). **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 642-650, 2013.
- MELGAREJO, I; MAURY, M. ELABORACIÓN DE HAMBURGUESA A PARTIR DE *Prochyloodus nigricans* BOQUICHICO. **Revista Amazónica de Investigación**, v. 2, n. 1, p. 79-87, 2002.
- MENEGASSI, M. Aspectos Nutricionais do Pescado. IN: GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p. 43-60.
- MICHALSKA, A.; WOJDYŁO, A.; HONKE, J., CISKA, E.; ANDLAUER, W. Drying-induced physico-chemical changes in cranberry products. **Food chemistry**, v. 240, p. 448-455, 2018.
- MKEDDER, I.; TRAVELET, C.; DURAND-TERRASSON, A.; HALILA, S.; DUBREUIL, F.; BORSALI, R. Preparation and enzymatic hydrolysis of nanoparticles made from

single xyloglucan polysaccharide chain. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, p. 934–939, 2013.

MISHRA, A.; MALHOTRA, A. V. Graft copolymers of xyloglucan and methyl methacrylate. **Carbohydrate polymers**, v. 87, n. 3, p. 1899-1904, 2012.

MIYAZAKI, S.; SUZUKI, S.; KAWASAKI, N.; ENDO, K.; TAKAHASHI, A.; ATTWOOD, D. L. In situ gelling xyloglucan formulations for sustained release ocular delivery of pilocarpine hydrochloride. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 229, n. 1, p. 29-36, 2001.

NEDOVIC, V.; KALUSEVIC, A.; MANOJLOVIC, V.; LEVIC, S.; BUGARSKI, B. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806-1815, 2011.

NIELSEN, C. K.; KJEMS, J.; MYGIND, T.; SNABE, T.; SCHWARZ, K.; SERFERT, Y.; MEYER, R. L. Enhancing the antibacterial efficacy of isoeugenol by emulsion encapsulation. **International journal of food microbiology**, v. 229, p. 7-14, 2016.

NITTA, Y.; NISHINARI, K.. Gelation and gel properties of polysaccharides gellan gum and tamarind xyloglucan. **J Biol Macromol**, v. 5, n. 3, p. 47-52, 2005.

NIZORI, A.; BUI, L. T.T.; SMALL, D. M. Microencapsulation of ascorbic acid by spray drying: influence of process conditions. In: **Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology**. World Academy of Science, Engineering and Technology (WASET), 2012. p. 453.

NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **São Paulo: Instituto Adolfo Lutz**, 2008.

OLIVEIRA, R. G.; GODOY, H. T.; PRADO, M. A. Determinação de ácido ascórbico em geleias de frutas. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 30, n. 1, p. 244-249, 2010.

ÖZDEMİR, K. S.; GÖKMEN, V. Effect of microencapsulation on the reactivity of ascorbic acid, sodium chloride and vanillin during heating. **Journal of Food Engineering**, v. 167, p. 204-209, 2015.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering: C**, 2017.

PEIGHAMBARDUST, S. H.; TAFTI, A. G.; HESARI, J. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 5, p. 215-224, 2011.

PEREIRA, L.; GHEDA, S. F.; RIBEIRO-CLARO, P. J. A. Analysis by vibrational spectroscopy of seaweed polysaccharides with potential use in food, pharmaceutical,

and cosmetic industries. **International Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 2013, 2013.

PICOUT, D. R.; ROSS-MURPHY, S. B.; ERRINGTON, N.; HARDING, S. E. Pressure cell assisted solubilization of xyloglucans: Tamarind seed polysaccharide and detarium gum. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 3, p. 799-807, 2003.

PINHEIRO, A. C.; BOURBON, A. I.; CERQUEIRA, M. A.; MARICATO, É.; NUNES, C.; COIMBRA, M. A.; VICENTE, A. A. Chitosan/fucoidan multilayer nanocapsules as a vehicle for controlled release of bioactive compounds. **Carbohydrate polymers**, v. 115, p. 1-9, 2015.

PRIYADARSHINI, B.; XAVIER, K. M.; NAYAK, B. B.; DHANAPAL, K.; BALANGE, A. K. Instrumental quality attributes of single washed surimi gels of tilapia: Effect of different washing media. **LWT-Food Science and Technology**, v. 86, p. 385-392, 2017.

QUADROS, D. A.; ROCHA, I. F. O.; FERREIRA, S. M. R.; BOLINI, H. M. A. Low-sodium fish burgers: Sensory profile and drivers of liking. **LWT-Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 236-242, 2015.

RAJABI, H.; GHORBANI, M.; JAFARI, S. M.; MAHOONAK, A. S.; RAJABZADEH, G. Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 327-337, 2015.

REITER, Wolf-Dieter. Biosynthesis and properties of the plant cell wall. **Current opinion in plant biology**, v. 5, n. 6, p. 536-542, 2002.

RIBEIRO, A.; RUPHUY, G.; LOPES, J. C.; DIAS, M. M.; BARROS, L.; BARREIRO, F.; FERREIRA, I. C. Spray-drying microencapsulation of synergistic antioxidant mushroom extracts and their use as functional food ingredients. **Food Chemistry**, v. 188, p. 612-618, 2015.

ROBERTS, D.D.; TAYLOR, A.J. **Flavor release**. Washington: American Chemical Society, p.496, 2000.

ROCHA, G. A.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 1, p. 37-42, 2012.

RODRIGUES, D. C.; CUNHA, A. P.; SILVA, L. M. A.; RODRIGUES, T. H. S.; GALLÃO, M. I.; AZEREDO, H. M. C. Emulsion films from tamarind kernel xyloglucan

and sesame seed oil by different emulsification techniques. **Food Hydrocolloids**, 2017.

ROSÁRIO, M. M. T.; KANGUSSU-MARCOLINO, M. M.; AMARAL, A. E.; NOLETO, G. R.; PETKOWICZ, C. L. O. Storage xyloglucans: potent macrophages activators. **Chemico-biological interactions**, v. 189, n. 1, p. 127-133, 2011.

SAMPELS, Sabine. The effects of processing technologies and preparation on the final quality of fish products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 44, n. 2, p. 131-146, 2015.

SANTOS, L. A. L. Natural Polymeric Biomaterials: Processing and Properties. **Reference Module in Materials Science and Materials Engineering**, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.02253-0>.

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

SCHYVENS, C. Food Additives: Antioxidants. **Encyclopedia of Food Safety**, v. 2, 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00227-4>.

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

SHEN, M.; ZHANG, F.; HONG, T.; XIE, J.; WANG, Y.; NIE, S.; XIE, M. Comparative study of the effects of antioxidants on furan formation during thermal processing in model systems. **LWT-Food Science and Technology**, v. 75, p. 286-292, 2017.

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, 2017.

SILVA, P. T. D.; FRIES, L. L. M.; MENEZES, C. R. D.; HOLKEM, A. T.; SCHWAN, C. L.; WIGMANN, É. F.; BASTOS, J. O.; SILVA, C. D. B. D. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p.1304-1311, 2014.

SIMI, C. K.; ABRAHAM, T. E.. Transparent xyloglucan–chitosan complex hydrogels for different applications. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 1, p. 72-80, 2010.

SOMERVILLE, C.; BAUER, S.; BRININSTOOL, G.; FACETTE, M.; HAMANN, T.; MILNE, J.; OSBORNE, E.; PAREDEZ, A; PERSSON, S.; RAAB, T.; VORWERK, S.; YOUNGS, H. Toward a systems approach to understanding plant cell walls. **Science**, v. 306, n. 5705, p. 2206-2211, 2004.

- SONAWANE, S.; BHALEKAR, M.; SHIMPI, S. Preparation and evaluation of microspheres of xyloglucan and its thiolated xyloglucan derivative. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 69, p. 499-505, 2014.
- SOUZA, C. A.; SIQUEIRA, S. M.; AMORIM, A. F.; MORAIS, S. M.; GONÇALVES, T.; GOMES, R. N.; CUNHA, A. P.; RICARDO, N. M. Encapsulação do ácido l-ascórbico no biopolímero natural galactomanana por spray- drying: preparação, caracterização e atividade antioxidante. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. S1, 2015.
- SOUZA, I. M.; FUNCH, L. S.; QUEIROZ, L. P. Flora da Bahia: Leguminosae–*Hymenaea* (*Caesalpinioideae: Detarieae*). **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 16, 2016.
- SOUZA, J. R. R.; FEITOSA, J. P.; RICARDO, N. M.; TREVISAN, M. T. S.; PAULA, H. C. B.; ULRICH, C. M.; OWEN, R. W. Spray-drying encapsulation of mangiferin using natural polymers. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 10-18, 2013.
- SPINELLI, S.; CONTE, A.; LECCE, L.; INCORONATO, A. L.; DEL NOBILE, M. A. Microencapsulated propolis to enhance the antioxidant properties of fresh fish burgers. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, n. 6, p. 527-535, 2015.
- SPINELLI, S.; LECCE, L.; LIKYOVA, D.; DEL NOBILE, M. A.; CONTE, A. Bioactive compounds from orange epicarp to enrich fish burgers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2017.
- SPINELLI, S.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. Microencapsulation of extracted bioactive compounds from brewer's spent grain to enrich fish-burgers. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 450-456, 2016.
- STUNDA-ZUJEVA, A.; IRBE, Z.; BERZINA-CIMDINA, L. Controlling the morphology of ceramic and composite powders obtained via spray drying-A review. **Ceramics International**, v.43, p.11543–11551, 2017.
- SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal**, v. 7, n. 2, p. 12-20, 2006.
- SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Journal of Health Sciences**, v. 14, n. 4, 2015.
- SUMAILA, U. R.; BELLMANN, C.; TIPPING, A. Fishing for the future: An overview of challenges and opportunities. **Marine Policy**, v. 69, p. 173-180, 2016.

- SUN, X. F.; SUN, R.; FOWLER, P.; BAIRD, M. S. Extraction and characterization of original lignin and hemicelluloses from wheat straw. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 860-870, 2005.
- SUSUMU, M. **Water in oil in water type emulsified composition**. JP n. 2003113323, 2003..
- TANG, S.; LEE, H. K. Syringe needle-based sampling coupled with liquid-phase extraction for determination of the three-dimensional distribution of l-ascorbic acid in apples. **Food chemistry**, v. 199, p. 533-540, 2016.
- TEIXEIRA-SÁ, D. M.; REICHER, F.; BRAGA, R. C.; BELTRAMINI, L. M.; MOREIRA, R. A. Isolation of a lectin and a galactoxyloglucan from *Mucuna sloanei* seeds. *Phytochemistry*, v. 70, n. 17, p. 1965-1972, 2009.
- UNIV.- UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA CEBU. M. Proserpina T. Dionaldo, Maria Amparo M. Sambrana. Um processo de produção de hambúrguer de peixes redondos (*Decapterus*). US PH22016000715 (U1), 02 Dezembro 2016.
- VANITHA, M.; DHANAPAL, K.; REDDY, G. Vidya Sagar. Quality changes in fish burger from *Catla (Catla catla)* during refrigerated storage. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 3, p. 1766-1771, 2015.
- VILARÓ, P.; BENNADJI, Z.; BUDELLI, E.; MOYNA, G.; PANIZZOLO, L.; FERREIRA, F. Isolation and Characterization of Galactomannans from *Prosopis affinis* as Potential Gum Substitutes. **Food Hydrocolloids**, 2017.
- WHORTON, C. Factors influencing volatile release from encapsulation matrices. In: RISCHE, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. Washington, DC: ACS (ACS Symposium Series, 590), p.134-142, 1995.
- YUGUCHI, Y.; KUMAGAI, T.; WU, M.; HIROTSU, T. HOSOKAWA, J. Gelation of xyloglucan ID water/alcohol systems. **Cellulose**, v. 11, n. 2, p. 203-208, 2004
- YUJI, S.; SOICHIRO, K. Heat resistant acidic O/W type emulsion food. JP n. 2000060481, 2000.

ANEXO A

Comprovante da Plataforma Sucupira que emite o Qualis A2 para a Revista International Journal of Biological Macromolecules

28/11/2017

Plataforma Sucupira



/sucupira/portais/menu_portal.jsf
ACESSE A PLATAFORMA

INÍCIO (/SUCUPIRA/PUBLIC/INDEX.JSF) >> Qualis >> Qualis Periódicos

Qualis Periódicos

*** Evento de Classificação:**

CLASSIFICAÇÕES DE PERIÓDICOS QUADRIÊNIO 2013-2016 ▾

Área de Avaliação:

BIOTECNOLOGIA ▾ +

ISSN:

0141-8130

Título:

International Journal of Biological Macromolecules

Classificação:

A2 ▾

Periódicos

ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
0141-8130	INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES	BIOTECNOLOGIA	A2

1 ▾

1 a 1 de 1 registro(s)

(/sucupira/public/index.xhtml)

(http://www.ufrn.br)

(http://www.capes.gov.br) (http://www.mec.gov.br) (http://www.brasil.gov)

Compatibilidade

(http://www.google.com/intl/pt-BR/chrome/) (http://br.mozdev.org/firefox/download/) (http://www.apple.com/safari/download/)

Versão do sistema: 3.3.3 | Copyright 2016 Capes. Todos os direitos reservados.

ANEXO B
**Comprovante de Aceite na Revista International Journal of Biological
Macromolecules**

Ref: IJBIOMAC_2017_1813_R1

Title: Xyloglucan from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds as encapsulating agent of L-ascorbic acid

Journal: International Journal of Biological Macromolecules

Dear Dr. Carneiro-da-Cunha,

I am pleased to inform you that your paper has been accepted for publication. My own comments as well as any reviewer comments are appended to the end of this letter. Now that your manuscript has been accepted for publication it will proceed to copy-editing and production.

Thank you for submitting your work to International Journal of Biological Macromolecules. We hope you consider us again for future submissions.

Kind regards,

Yangchao Luo

Editor

International Journal of Biological Macromolecules

Comments from the editors and reviewers:

Have questions or need assistance?

For further assistance, please visit our Customer Support site. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about EVISE® via interactive tutorials. You can also talk 24/5 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

Copyright © 2017 Elsevier B.V. | Privacy Policy

Elsevier B.V., Radarweg 29, 1043 NX Amsterdam, The Netherlands, Reg. No. 33156677.

ANEXO C
Comprovante de tramitação do pedido da patente emitido pelo INPI



01/12/2017 870170093338
 00:19

 29409161711003246

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de
 Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2017 025897 1

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: MARIA DAS GRAÇAS CARNEIRO DA CUNHA

Tipo de Pessoa: Pessoa Física

CPF/CNPJ: 16706935468

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Pastor José Amaro da Silva, 70/401, Boa Viagem

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 51021230

País: Brasil

Telefone: 81 999637000

Fax:

Email: mgcc1954@gmail.com

**PETICIONAMENTO
 ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 01/12/2017 às 00:19, Petição 870170093338

ANEXO D

Trabalho apresentado no II Simpósio Internacional de Moléculas Bioativas e Biotecnologias de Organismos Aquáticos- Natal, 2017.

L-ascorbic acid encapsulation in xyloglucan and its application in tilapia fish burgers

Farias, M. D. P.^{1,2}, Albuquerque, P. B. S.¹, Soares, P. A. G. ³, Sá, D. M. A. T. ², Vicente, A. A. ⁴, Carneiro-da-Cunha, M. G. ¹.

¹Departamento de Bioquímica/Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, CEP 50.670-420, Recife, PE, Brazil

²Eixo de Produção Alimentícia, Instituto Federal de Educação do Ceará- IFCE, CEP 62.042-030, Sobral, CE, Brazil

³Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis and Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Programa de Glicobiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CEP 21941-913, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

⁴Centre of Biological Engineering (CEB), Universidade do Minho, CEP 4710-057, Campus de Gualtar, Braga, Portugal

Introduction: Tilapia (*Oreochromis niloticus*) is the most important exotic fish specie in Brazilian aquaculture. L-ascorbic acid (AA) is widely used by the food industry as antioxidant, however is highly unstable and reactive, once can interacting with other food components during the warm-up, resulting in compounds such as furan, a well-known carcinogenic, hence the importance of encapsulating AA. **Objectives:** Produce of xyloglucan microparticles extracted from seeds of *Hymenaea courbaril* as an AA encapsulating agent by spray drying (SD) and its application in tilapia burgers. **Material and Methods:** Xyloglucan [1%(w/v) containing 0,04g AA] was atomized by SD and the obtained microparticles (XAA) were applied in fish burgers. Fresh tilapia fillets were obtained from the local market of Sobral city (Ceará, Brazil) on day of slaughter and transported to the laboratory in boxes with ice. Fillets were then sanitized and the fish burgers were prepared with condiments and manually modeled (Bainy et al., 2015). The mass obtained was divided: A1 (control - with free AA-0.02 g/100 g of formulation) and A2 (with 0.28 g of XAA containing 0.02 g AA/100 g of formulation). Fish burgers before and after baking in a conventional electric oven were submitted to analysis: pH, AA content (Adolph Lutz Institute, 2008) and surface color, according to International Commission of Lighting. **Results and Discussion:** The encapsulation efficiency was 96.34±1.6% and the retention of the ascorbic acid was of 89.48±0.88% after 60 days. After application in burgers the samples A2 did not change the pH after baking and the ascorbic acid retention was greater compared to' A1. Besides that, the intensity increase in b* parameter between raw and baked samples, revealed the yellowish appearance more pronounced in samples A1. **Conclusions:** XAA may reduce undesirable organoleptic changes in fish burgers besides enriching with vitamin C, making it a functional food.

Keywords: *Oreochromis niloticus*; vitamin C; antioxidant; microencapsulation; spray drying.

ANEXO E

Certificado da apresentação no II Simpósio Internacional de Moléculas Bioativas e Bioprocessos de Organismos Aquáticos- Natal, 2017.

**CERTIFICADO**

Certificamos que o trabalho intitulado "L-ascorbic acid encapsulation in xiloglucan and its application in tilapia fish burgers" de autoria de Farias, M.D., Albuquerque, P.B.S., Soares, P.A.G., Sá, D.M.A.T., Vicente, A.A., Carneiro-da-Cunha, M.G. foi apresentado sob forma ORAL no Simpósio Internacional de Moléculas Bioativas e Bioprocessos de Organismos Aquáticos – SIMBOA 2017, que ocorreu de 6 a 9 de junho na sede da Federação das Indústrias do Estado do Rio Grande do Norte - FIERN na cidade de Natal/RN.

Karina Ribeiro
Coordenadora do Evento



Ministério da
Ciência e Tecnologia



ANEXO F

Trabalho apresentado no II Congresso Internacional de Gastronomia e Ciência de Alimentos.



Gastronomia: da tradição à inovação

05412 Características Físico-Químicas, Sensoriais e Microbiológicas de Néctar Misto de Cajá e Acerola Acrescido de Xiloglucana de Sementes do Jatobá (*Hymenaea courbaril*)Mirla Farias¹, Lays França², Thais Sousa³, Daniele de Sá³, Francisca Andrade¹, Maria Carneiro da Cunha¹.¹Rede Nordeste de Biotecnologia-RENORDEO ajc@ufes.br²Curso de Tecnologia em Alimentos, Instituto Federal do Ceará.³Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal do Ceará.**Palavras-Chaves:** estabilizante natural, frutas tropicais, hemidulçose, bebidas.**INTRODUÇÃO**

A demanda crescente dos consumidores por uma maior variedade de frutas e suas derivados como sucos, sucos e néctares, em sua dieta é motivada por uma série de fatores que levam às modificações nos hábitos alimentares. O termo néctar é usado pela legislação para designar a bebida não fermentada, obtida da diluição em água potável da parte comestível do vegetal e açúcares ou de extratos vegetais e açúcares, podendo ser adicionada de ácido, e destinada ao consumo direto (1).

No Brasil, a cajazeira (*Spondias acida* L.), espécie frutífera da família Anacardiaceae, é encontrada principalmente nos estados do Norte e Nordeste. Seus frutos, conhecidos como cajá, cajá verdejato, cajá-irintim ou taperebá são muito utilizados na confecção de polpas, sucos, picolés, sorvetes, néctares e geleias de excelente qualidade e valor comercial (2). Já a acerola é uma frutífera nativa das ilhas do Caribe, América Central e Norte da América do Sul e foi introduzida no Brasil no estado de Pernambuco, pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em 1955. Atualmente é cultivada em quase todos os estados brasileiros. Sua fruta, a acerola, é conhecida por possuir altas concentrações de vitamina C, assim como também por ser uma fonte rica de antocianinas e carotenóides, pigmentos antioxidantes que, quando combinados, são os responsáveis pela sua coloração (3).

Durante a industrialização de néctares de frutas é comum a utilização de estabilizantes/espessantes. A busca por espessantes de fontes naturais, como os polissacarídeos, vem se intensificando nos últimos anos. Assim, o presente trabalho objetiva a extração de xiloglucanas de sementes de *Hymenaea courbaril* e sua aplicação em néctar misto de cajá com acerola e a avaliação do néctar obtido quanto às análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

METODOLOGIA:**Extração de xiloglucana**

As vagens do jatobá (*Hymenaea courbaril*) (Figura 1) foram coletadas nas cidades de Carnaúba, pertencentes a Serra da Disputa no estado do Ceará.

A extração da xiloglucana das sementes foi realizada por precipitação etanólica de acordo com Arruda et al. 2015 (4).

Figura 1: Imagem das vagens do *Hymenaea courbaril* (PCHTE: Anax).**Obtenção das polpas e desenvolvimento dos néctares**

As formulações dos néctares mistos de cajá e acerola foram elaboradas nos laboratórios de processamento de alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFCE do Campus Sobral. As

frutas cajá e acerola foram obtidas de mercado local no estado de maturação adequada e submetidas à seleção, classificação e higienização por imersão. As polpas a serem utilizadas na produção dos néctares foram obtidas por intumescimento em liquidificador industrial e filtração em peneira de uso doméstico. Foram realizadas 3 formulações de néctares mistos: 1) 50% da polpa de cajá e 50% de polpa de acerola; 2) 70% de polpa de cajá e 30% de polpa de acerola e; 3) 30% de polpa de cajá e 70% de polpa de acerola, sendo cada formulação foi acrescida de 1% de solução de xiloglucana à 1,5% obtida anteriormente sob agitação. Os néctares processados foram submetidos a tratamento térmico (pasteurização 90°C/1min) e acondicionados em embalagem de vidro (500ml) por 60 dias a 4°C. Durante o tempo de armazenamento (0, 30 e 60) foram determinados o pH (potenciômetro), acidez total e ácidos solúveis (Titriz) (5), análises microbiológicas para *Coliformes totais* e *fúcis*, *Bolores* e *Leveduras* (6). Foram realizadas análise sensorial para escolha da melhor formulação (teste de ordenação) no dia 0 e para estudo de vida de prateleira com 120 provadores, utilizando o teste de aceitação com escala hedônica de 9 pontos (7). Os provadores avaliaram o tempo de consentimento livre e esclarecido.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando a análise de variância (ANOVA) pelo programa estatístico Autstat. O teste t-Student também foi empregado. Os valores de $p > 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADO E DISCUSSÕES:**Extração da Xiloglucana:**

O rendimento de extração da xiloglucana a partir das sementes de *Hymenaea courbaril* foi de 31,32± 8,7%. Valor similar foi reportado por Loayez et al. (2009) (3) (38%) e acima do valor mencionado por Freitas et al. (2011) (9) (13,5%).

Análise Sensorial para escolha da melhor formulação do Néctar de Acerola e Cajá

O resultado do teste de Ordenação-Preferência mostra-se na tabela 1, onde observa-se que não houve diferença significativa no nível de 5%, entre as diferentes formulações dos néctares mistos de cajá e acerola. Porém, o critério de seleção foi o teste sensorial, e como o cajá tem um elevado preço em relação à acerola, a formulação escolhida foi a constituída por 30% de cajá e 70% de acerola para a continuidade as análises de vida de prateleira.

Tabela 1: Resultado do teste sensorial de teste de ordenação-preferência.

TRATAMENTOS	MÉDIA DAS NOTAS
70% de cajá e 30% de acerola	55,0*
30% de cajá e 70% de acerola	55,0*
50% de cajá e 50% de acerola	55,0*

As médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Estudo de Vida de Prolongamento do Produto:**Análise microbiológica**

As análises microbiológicas (*coliformes fúcis*, *bolores* e *leveduras*) do néctar adicionado realizadas ao longo do tempo de armazenamento, não apresentaram crescimento microbiano, o que

demonstra que o néctar se encontra adequado para o consumo humano, de acordo com a ANVISA (5).

• **Análises físico-químicas**

As análises físico-químicas do néctar nos tempos 0, 30 e 60 dias de armazenagem encontram-se na Figura 2.

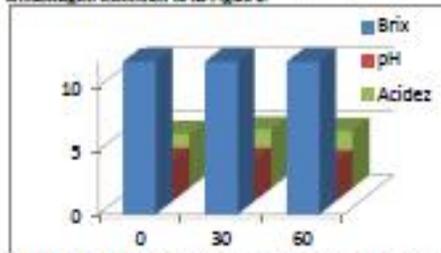


Figura 2- Comportamento do pH, Acidez e sólidos solúveis totais durante o período de armazenamento.

É observado que não houve variação nos valores de pH (3,13 a 0,11), acidez (4,45 a 0,11%) e sólidos solúveis totais (12,05 a 0,05°Brix) ao longo dos 60 dias de armazenagem. Esses resultados corroboram com o microbiológico, uma vez que não houve crescimento microbiano. Mattietto et al. (9) desenvolveram um néctar misto de cajá e umbu, cujos valores obtidos para pH e acidez total foram de 3,07 e 0,62%, respectivamente, valores estes superiores aos encontrados para o néctar do nosso trabalho.

• **Análise Sensorial:**

De acordo a tabela 2 que descrevem os resultados das análises sensoriais com o teste de escala hedônica, as amostras não diferenciam entre si nos diferentes atributos em relação ao tempo 0 e 30 dias ao nível de 5% de significância. Contudo, no tempo de 60 dias, o parâmetro de sabor diferenciou-se estatisticamente ao nível de 5% em relação aos demais.

Tabela 2- Resultado das análises sensoriais do estudo de vida de prateleira do néctar de cajá com acerola.

PARÂMETROS	0 DIAS (Méd. ± DE)	30 DIAS (Méd. ± DE)	60 DIAS (Méd. ± DE)
COR	7,5083 ^a	7,6583 ^a	7,2166 ^a
AROMA	7,5916 ^a	7,6583 ^a	7,3000 ^a
TEXTURA	7,5916 ^a	7,3833 ^a	6,9666 ^a
SABOR	7,3083 ^a	7,2083 ^a	6,6916 ^b
IMPRESSÃO GLOBAL	7,4750 ^a	7,4916 ^a	7,2133 ^a

As médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES:

Os resultados apresentados demonstram que as diferentes formulações não apresentaram diferenças significativas entre dias. Por critério de custo, a formulação escolhida foi a de 70% de acerola e 30% de cajá, acrescida de 1% de xiloglicana e que se mostrou-se adequada para consumo mesmo após 60 dias. Conclui-se ainda que a incorporação da xiloglicana obtida das sementes do *Jatropha* apresentou-se como um possível espessante para néctares, uma vez que não afetou os parâmetros sensoriais nem microbiológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- (1) BRASIL. Leis, Decretos, etc. Decreto n.2314 de 5 de setembro de 1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamenta a Lei n.8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. 1997.
- (2) SACRAMENTO, C. K. de; SOUZA, F. X.; *Cajá* (*Spondias mombin* L.), Jaboticabal: Funep, 2000. 42 p. (Série Frutas Nativas, 4).
- (3) LIMA, V. L. A. O. et al. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. *Food Chemistry*, v. 90, n. 4, p. 565-568, 2005.
- (4) ARRUDA, L.R.S.; ALBUQUERQUE, P.R.S; SANTOS, G.R.C.; SILVA, A.G.; MOURÃO, P.A.S.; CORRÊA, M.T.S.; VICENTE, A. A.; CUNHA M. G. C. Extraction and physicochemical characterization of the xyloglucan extracted from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 73, 31-38, 2015.
- (5) INSTITUTO ADOLFO LUTZ (SÃO PAULO) Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3ª ed. V.1. São Paulo, 1985.
- (6) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Dispõe sobre os princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União.
- (7) DUTCOSKY, S.D. *Análise Sensorial de Alimentos*. Curitiba: Champagnat, 1996.
- (8) FRUTAS, R. A., et al. Degalactosylation of xyloglucan: Effect on aggregation and conformation, as determined by time dependent static light scattering, HPSEC-MALLS and viscosimetry. *Carbohydrate Polymers*, v. 83, p.1636-1642, 2011.
- (9) MATTIETTO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C. Estabilidade do néctar misto de cajá e umbu. *Ciência Tecnol. Aliment.*, v. 27, n.3, p.456-463, 2007.

ANEXO G

Certificado da apresentação no II Congresso Internacional de Gastronomia e Ciência de Alimentos e publicado no Ebook Gastronomia: da tradição à inovação.



ANEXO H
Trabalho apresentado e publicado nos Anais do XX Encontro Nacional e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos- ENNAL 2017, em B élem/PA

**ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DO
POLPA DE CAJU EM PÓ (*Anacardium occidentale L.*)**

Vieira, R. M.¹; Barcelos, S. C. ¹; Moraes, G. M. D.²; Andrade, F. J. E. T.²; Sá, D. M. T.²; Cavalcante, C. E. B.²; Carneiro da Cunha, M.G.³; Farias, M. D. P. ²

¹Discente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - Campus Sobral; ² Docente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - Campus Sobral; ³Docente Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

Introdução

O Brasil vem se destacando como um dos maiores produtores mundiais de frutas (Vasques et al., 2006), por conta da sua considerável biodiversidade de fruteiras, onde os frutos das regiões Norte, Sul e Nordeste apresentam composição em aroma e compostos funcionais de grande valor particularmente em antioxidantes naturais como carotenoides e ácido ascórbico (Camargo et al., 2007).

Segundo Contreras-Calderón et al. (2011) o caju possui cerca de cinco vezes mais conteúdo de ácido ascórbico (228 mg x 100 g⁻¹) do que laranjas. Na presença de sais de cobre e de ferro, a vitamina C oxida-se até perder a sua atividade vitamínica. A exposição à luz e a cocção interferem na quantidade de ácido ascórbico (Silva & Gonçalves, 2007).

A secagem por *spray drying* é um método muito utilizado na indústria de alimentos, tendo como intuito a transformação de polpa em pó, permitindo um armazenamento prolongado e estabilidade do produto, de modo a ter uma maior vida útil, podendo ter acesso ao produto durante o ano e não apenas no período de safra (Anselmo et al, 2006). Portanto o presente trabalho teve como objetivo a obtenção de um produto rico em vitamina C, propondo-se a elaboração de um suco em pó incorporando-se a goma xantana para resguardar os compostos bioativos.

Material e Métodos

Obtenção e preparação da matéria prima a ser desidratado

O caju utilizado nas formulações do suco foram selecionados, classificados e obtidos no comércio da cidade de Sobral-Ce.

Todos os procedimentos foram realizados na planta piloto de processamento de frutos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia- IFCE do Campus Sobral, onde inicialmente os frutos passaram por uma higienização, submetidos à trituração e peneiramento obtendo-se assim a polpa do caju.

Para a realização do processo de atomização, a polpa foi diluída em água na proporção de 1:7 (v/v) e homogeneizada novamente no liquidificador. Em seguida adicionou-se a goma xantana (5g/1000ml) realizando uma nova homogeneização para posterior envase em embalagem de vidro (500ml) e tratamento térmico de 90°C por 60 segundos.

A secagem por atomização foi realizada em aparelho de *spray dryer* (Buch Mini *Spray dryer* B-290) nas seguintes condições operacionais: temperatura do ar de entrada 160°C, temperatura de saída de 112°C, eficiência do exaustor de 100% e fluxo de bomba de 14%. O pó obtido foi coletados e armazenados em vidro âmbar a temperatura ambiente para evitar uma possível oxidação sob ação da luz.

Estudo da estabilidade

O estudo de estabilidade do ácido ascórbico no pó obtido da polpa de caju foi realizado de acordo o método da AOAC (1984) modificada por Benassi e Antunes (1990) em triplicata, nos tempos 0, 7, 15, 30 e 60 dias cujo o resultado do ácido ascórbico total no tempo 0 foi utilizado como valor de 100% do antioxidante e foi o parâmetro para o cálculo de porcentagem de retenção do ácido ascórbico no sistema polimérico nos demais tempos analisados.

Resultados e Discussão

Estabilidade do ácido ascórbico no pó da polpa de caju

Os resultados da estabilidade do ácido ascórbico no pó da polpa de caju encontra-se na tabela 1.

Tabela 1- Resultados da análise de estabilidade de ácido ascórbico (média \pm desvio padrão).

DIAS	ÁCIDO ASCÓRBICO (% ± DP)
0	100 ± 0 ^a
7	91,42 ± 0,41 ^b
15	81,85 ± 0,01 ^c
30	72,76 ± 0,007 ^d
60	63,66 ± 0,001 ^e

As letras sobrescritas iguais na mesma coluna indicam a ausência de diferenças significativas ($p > 0,05$).

Na estabilidade de ácido ascórbico houve perdas significativas em todos os tempos analisados, demonstrando que a goma xantana libera o ácido ascórbico mediante o tempo de armazenamento do pó da polpa de caju. Vários estudos de microencapsulação de ácido ascórbico em diferentes polissacarídeos por secagem por pulverização têm mostrado retenções elevadas, como a realizada por Trinidad & Grosso (2000), que obteve 85,20% de estabilidade de retenção de micropartículas de amido de arroz e 100% de goma árabica por 60 dias.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a produção do pó da polpa de caju atomizado por meio de *spray drying*, utilizando como agente carreador a goma xantana, mostra-se viável, apresentando uma forma de preservação de ácido ascórbico que será liberado controladamente para o meio em que for introduzido, resultando assim em perdas significativas. Sugere-se a aplicação do mesmo para diferentes preparações que se deseja incorporar e enriquecer com vitamina C.

REFERÊNCIAS

- 1- Vasques AR; Bertoli SL; Valle RCSC; Valle JAB. Avaliação sensorial e determinação de vida-de-prateleira de maçãs desidratadas. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2006; 26(4): 759-765.
- 2- Camargo GA; Consoli L; Lellis ICS.; Mieli J; Sasaki EK. Bebidas naturais de frutas: Perspectivas de mercado, componentes funcionais e nutricionais/natural fruits beverages: Market outlook, functional and nutritional components. *Rev bras eng agríc Ambient.* 2007; 1(2): 179-205.
- 3- Contreras-calderón J, Calderón-jaimés L, Guerra-hernández E, García-villanova B. Antioxidant capacity, phenolics content and vitamin C in pulp, peel

and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Res Int.* 2011; 44(7): 2047-2053.

4- Silva CAB; Gonçalves DS. Comparação dos constituintes do suco de acerola com outros sucos de frutas comercializados na cidade de Barra Mansa, RJ. *Rev Cientif.* 2007; 9(17): 63.

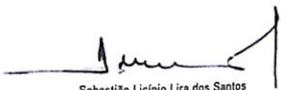
5- Anselmo GCS; Cavalcanti-Mata MERM; Arruda PC; Sousa MC. Determinação da higroscopicidade do cajá em pó por meio da secagem por atomização. *Revista de Biologia e Ciências da Terra.* 2006; 6(2).

6- AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, Arlington, 16th ed, v. 2, p. 3-5, 1984.

7- Benassi MDT; Antunes AJ. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. *Arq. de Bio. e Tec.* 1988, 31(4), 507-513.

8- Trindade MA; Grosso CRF. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum Arabic. *Journal of microencapsulations.* 2000; 17(2): 169-176.

ANEXO I
Certificado do Trabalho apresentado no XX Encontro Nacional e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos- ENNAL 2017, em Belém/PA

 <p>XX ENCONTRO NACIONAL E VI CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ANALISTAS DE ALIMENTOS ENNAL 2017</p>	<p>SEGURANÇA ALIMENTAR E BIODIVERSIDADE</p>	<p>13 a 16 de Agosto</p>	
CERTIFICADO			
<p>Certificamos que o trabalho científico, 3014 - ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE CAJU EM PÓ (Anacardium occidentale L.), foi apresentado como Pôster no XX Encontro Nacional e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos, realizado no Hangar Centro de Convenções em Belém do Pará, no período de 13 a 16 de agosto de 2017, tendo como autores: RAYANE MARTINS VIEIRA, SAMUEL CARNEIRO DE BARCELOS, GEORGIA MACIEL DIAS DE MORAES, FRANCISCA JOYCE ELMIRO TIMBO ANDRADE, DANIELE MARIA ALVES TEIXEIRA SA, CARLOS ELIARDO BARROS CAALCANTE, MARIA DAS GRAÇAS CARNEIRO-DACUNHA, MIRLA DAYANNY PINTO FARIAS.</p>			
<p>Belém, Pará, 16 de agosto de 2017.</p>			
<p>Realização</p>  <p>Secretaria de Saúde Pública</p>  <p>GOVERNO DO PARÁ www.pa.gov.br</p> 	 <p>Deise Ap. Pinatti Marsiglia Presidente da SBAAL Sociedade Brasileira de Analistas de Alimentos</p>	 <p>Sebastião Licínio Lira dos Santos Presidente do XX ENNAL e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos</p>	
			

ANEXO J

Diploma de Honra ao Mérito dado ao Trabalho apresentado no XX Encontro Nacional e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos- ENNAL 2017, em Belém/PA



XX ENCONTRO NACIONAL E VI CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ANALISTAS DE ALIMENTOS
ENAAL 2017

SEGURANÇA ALIMENTAR E BIODIVERSIDADE

13 a 16 de Agosto

SBAAL

CERTIFICADO

DIPLOMA - HONRA AO MÉRITO

A sociedade Brasileira de Analistas de Alimentos concede o diploma de Honra ao mérito ao trabalho na área de **FQ – FÍSICO-QUÍMICA:**

ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE CAJU EM PÓ (*Anacardium occidentale* L.) de autoria de Rayane Martins Vieira, Samuel Carneiro Barcelos, Georgia Maciel Dias de Moraes, Francisca Joyce Elmiro Timbó Andrade, Daniele Maria Alves Teixeira Sá, Carlos Eliardo Barros Cavalcante, Maria das Graças Carneiro da Cunha, Mirla Dayanny Pinto Farias

apresentado durante o XX Encontro Nacional e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos realizado no Hangar – Centro de Convenções e Feiras da Amazônia, em Belém/PA, de 13 a 16 de agosto de 2017


Deise Ap. Pinatti Marsiglia
Presidente da SBAAL
Sociedade Brasileira de Analistas de Alimentos


Sebastião Licínio Lira dos Santos
Presidente do XX ENAAL e
VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos



