



GABRIELLE MARTINS

**MUCILAGEM DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata*
MILLER) COMO NOVO MATERIAL PARA
ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE EM SISTEMA DE
PARTÍCULAS DE POLIELETRÓLITOS.**

**LAVRAS-MG
2023**

GABRIELLE MARTINS

**MUCILAGEM DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* MILLER) COMO NOVO
MATERIAL PARA ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE EM SISTEMA DE
PARTÍCULAS DE POLIELETRÓLITOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
curso de Engenharia de Alimentos, para
a obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Jaime Vilela de Resende
Orientador

Me. Larissa Carolina de Morais
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2023**

GABRIELLE MARTINS

MUCILAGEM DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* MILLER) COMO NOVO MATERIAL PARA ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE EM SISTEMA DE PARTÍCULAS DE POLIELETRÓLITOS.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Engenharia de Alimentos, para a obtenção do título de Bacharel.

BANCA EXAMINADORA

Jaime Vilela Resende (ORIENTADOR)
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

Larissa Carolina de Moraes (COORIENTADORA)
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

Isabelle Cristina Oliveira Neves
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

LAVRAS – MG
2023

À Deus, todo poderoso, pois dEle, por Ele e para Ele são todas as coisas
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Em especial a Deus, por todo sustento, compaixão e zelo desde o meu ingresso na universidade. Tuas mãos misericordiosas jamais me deixaram cair.

Aos meus pais, que além de serem meu refúgio, direção e alicerce, acreditaram em mim e nunca mediram esforços para que eu me realizasse. Vocês são a minha força e a principal motivação para eu chegar até aqui.

Ao meu noivo, pelo amor, auxílio e paciência em todos esses anos. Por me fazer acreditar que eu era capaz.

À minha avó, que a cada oração me tornava resistente, e hoje intercede por mim lá do céu.

Aos demais familiares que viveram esse sonho junto a mim.

Às minhas amigas, e aos meus colegas de curso, que tornaram o trajeto leve e feliz.

Ao professor Dr. Jaime Vilela de Resende, por me orientar e confiar em meu trabalho.

À Me. Larissa Carolina de Moraes, por toda disposição, amizade e instrução. Você se tornou minha referência e seus ensinamentos foram valiosos para vida pessoal e acadêmica.

A todos do Laboratório de Refrigeração de Alimentos, pelo acolhimento e vivência. Em especial a Me. Ana Cristina que esteve sempre em prontidão para me amparar.

A todos os funcionários da Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Ciência dos Alimentos.

Ao CNPq, CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro à pesquisa.

A minha gratidão.

RESUMO

O óleo de peixe é uma das mais importantes fontes naturais de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) ômega 3, que apesar de conferirem benefícios à saúde, são altamente suscetíveis à oxidação. A fim de retardar as reações de auto-oxidação lipídica e melhorar a estabilidade dos óleos ricos em PUFA, a encapsulação por gelificação iônica tem sido proposta como uma técnica simples, rápida e de fácil execução. O principal polímero empregado na gelificação iônica é o alginato de sódio, todavia, novos materiais como o ora-pro-nobis, revelam-se como fontes de hidrocolóides com potencial aplicação para encapsular substâncias devido à composição rica em polissacarídeos e proteínas e sua alta capacidade emulsificante. Diante do exposto, o objetivo deste estudo é encapsular óleo de peixe utilizando como material de parede alginato (ALG), mucilagem de ora-pro-nobis (MOPN) e quitosana. As partículas foram produzidas por gelificação iônica empregando 1,5% CaCl_2 (m/v), 1,5% (m/m) de alginato, 0, 0,50, 1,0 e 1,5% (m/m) de MOPN, 10% (m/m) de óleo de peixe e 2,0% (m/m) de quitosana para recobrimento. As emulsões foram caracterizadas quanto a viscosidade, estabilidade, microscopia e cor. Já as partículas foram submetidas à análises de atividade de água, morfologia, distribuição de óleo, eficiência de encapsulação, Índice de Peróxido e FTIR. Os resultados mostraram que a MOPN aumentou a viscosidade e melhorou a estabilidade das emulsões formadas. Além disso, melhorou as propriedades do material da parede, proporcionando maior retenção de óleo de peixe, maior eficiência de encapsulação, bem como maior proteção do princípio ativo contra a oxidação lipídica. Os melhores resultados foram encontrados para o tratamento D, com maior concentração de MOPN, indicando que a mucilagem é um material promissor para a encapsulação de óleos e demais princípios ativos para aplicação em alimentos.

Palavras-chave: Biopolímeros. Hidrocoloide. Ácidos graxos poliinsaturados. Emulsão.

ABSTRACT

Fish oil is one of the most important natural sources of omega 3 polyunsaturated fatty acids (PUFA), which despite conferring health benefits, are highly susceptible to oxidation. In order to delay lipid auto-oxidation reactions and improve the stability of oils rich in PUFA, encapsulation by ionic gelling has been proposed as a simple, fast and easy-to-perform technique. The main polymer used in ionic gelation is sodium alginate, however, new materials such as ora-pro-nobis, reveal themselves as sources of hydrocolloids with potential application to encapsulate substances due to their composition rich in polysaccharides and proteins and their high-capacity emulsifier. Given the above, the aim of this study is to encapsulate fish oil using alginate (ALG), ora-pro-nobis mucilage (MOPN) and chitosan as wall material. The particles were produced by ionic gelation using 1.5% CaCl₂ (w/v), 1.5% (m/m) alginate, 0, 0.50, 1.0 and 1.5% (m/m) of MOPN, 10% (m/m) of fish oil and 2.0% (m/m) of chitosan for coating. The emulsions were characterized for viscosity, stability, microscopy and color. The particles were submitted to analyzes of water activity, morphology, oil distribution, encapsulation efficiency, Peroxide Index and FTIR. The results showed that MOPN increased the viscosity and improved the stability of the formed emulsions. In addition, it improved the properties of the wall material, providing greater retention of fish oil, greater encapsulation efficiency, as well as greater protection of the active principle against lipid oxidation. The best results were found for treatment D, with a higher concentration of MOPN, indicating that mucilage is a promising material for encapsulating oils and other active ingredients for application in food.

Keywords: Biopolymers. Hydrocolloid. Polyunsaturated fatty acids. Emulsion.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS.....	11
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivos específicos	11
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
3.1	Acidos Graxos Poliinsaturados	11
3.2	Óleo de Peixe.....	14
3.2.1	Óleo de Salmão	15
3.3	Encapsulação	16
3.4	Gelificação iônica	17
3.5	Materiais poliméricos formadores de partículas.....	19
3.5.1	Hidrocoloides.....	20
3.5.1.1	Mucilagem de ora-pro-nobis (MOPN)	21
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1	Material.....	22
4.2	Obtenção da mucilagem de ora-pro-nóbis	23
4.3	Extração do óleo de peixe	24
4.4	Delineamento experimental.....	24
4.5	Preparo das emulsões.....	25
4.6	Caracterização das Emulsões.....	25
4.6.1.	Análise de viscosidade das emulsões.....	25
4.6.2.	Estabilidade das emulsões	25
4.6.3.	Microscopia das emulsões.....	26
	4.6.4. Cor	26
4.7	Síntese das Partículas.....	26
4.7.1.	Síntese das partículas de alginato e MOPN	26
4.7.2.	Recobrimento com quitosana.....	27
4.7.3.	Liofilização.....	27
4.8.	Caracterização das partículas	27
4.8.1.	Atividade de água.....	27
4.8.2.	Análise Morfológica	27
4.8.3.	Distribuição de óleo nas partículas.....	28
4.8.4.	Eficiência de encapsulação	28
4.8.5.	Estabilidade oxidativa – Índice de Peróxido.....	28
4.8.6.	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	29
4.8.7.	Análise Estatística	29
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
5.1.	Extração de MOPN e óleo de peixe	29

5.2. Caracterização das Emulsões.....	30
5.2.2.Estabilidade das emulsões	32
5.2.3.Microscopia das emulsões.....	33
5.2.4.Cor 35	
5.3. Caracterização das Partículas.....	36
5.3.1.Atividade de água.....	37
5.3.2.Microscopia da partícula.....	37
5.3.3.Distribuição de óleo na partícula	39
5.3.4.Eficiência de encapsulação	40
5.3.5.Estabilidade Oxidativa - Índice de Peróxido	41
5.3.6.Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR.....	42
6. CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

A encapsulação é um conjunto de técnicas que permitem aprisionar ou revestir princípios ativos (sólidos, líquidos ou gases) empregando diferentes materiais poliméricos para transformá-los em produtos mais convenientes. Seu principal objetivo é proteger o princípio ativo das condições adversas do ambiente externo e possibilitar sua liberação controlada em locais específicos por determinados estímulos (PAULO; SANTOS, 2017).

No geral, a encapsulação pode ocorrer por meio de métodos físicos, químicos e físico-químicos. Dentre os métodos físico-químicos, a gelificação iônica se destaca por ser uma técnica simples, rápida e de fácil execução na qual as partículas de gel são formadas a partir da interação entre polímeros e íons bivalentes (ETCHEPARE et al., 2015).

O principal polímero utilizado para géis iônicos é o alginato de sódio, composto por um heteropolissacarídeo natural, biocompatível e biodegradável, que forma gel imediatamente ao contato com íons cálcio. Todavia, tem se intensificado a busca por novos materiais poliméricos, como hidrocolóides, que possibilitem a formação de gel e conseqüentemente a encapsulação de princípios ativos (FUNAMI et al., 2009).

Pereskia aculeata Miller, comumente conhecida como ora-pro-nobis (OPN) no Brasil, é uma fonte de hidrocolóides com aplicação potencial como material encapsulante, devido aos seus constituintes ricos em polissacarídeos e proteínas, que, além do baixo custo de produção, também contêm altos teores de biopolímeros arabinogalactana permitindo a formação de géis (LIMA JUNIOR et al., 2013). Além disso, a mucilagem de ora-pro-nobis (MOPN) apresenta alta capacidade emulsificante (LAGO et al., 2019) o que a torna um hidrocoloide promissor para a encapsulação de óleos, como os óleos de peixe, uma vez que pode contribuir para as propriedades de retenção de óleo nas partículas, melhorando a estabilidade oxidativa desses lipídeos.

O óleo de peixe é uma das mais importantes fontes naturais de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) ômega 3, especialmente ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenoico. Os reconhecidos benefícios para a saúde associados à ingestão de PUFA têm promovido a introdução de óleo de peixe em muitas formulações alimentares. No entanto, uma das principais desvantagens na incorporação de óleos ricos em ômega 3 em matrizes alimentícias é sua alta suscetibilidade à oxidação lipídica, que não só reduz o seu valor nutricional, mas também envolve a síntese de produtos tóxicos, bem como a formação de odores e sabores desagradáveis. A fim de retardar as reações de auto-oxidação lipídica e melhorar a

estabilidade dos óleos ricos em PUFA, a encapsulação tem sido proposta como uma forma de proteção desses óleos contra umidade, oxigênio e luz (VASILE et al., 2016).

Diante do exposto, o presente trabalho tem por objetivo, encapsular óleo de salmão utilizando alginato de sódio, mucilagem de ora-pro-nobis e quitosana para obter partículas que ofereçam maior proteção e estabilidade oxidativa ao material lipídico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar partículas a base de alginato, mucilagem de ora-pro-nobis e quitosana para encapsular óleo de salmão, melhorando sua estabilidade oxidativa.

2.2 Objetivos específicos

- Produzir emulsões a partir de óleo de salmão, alginato e mucilagem de ora-pro-nobis
- Caracterizar as emulsões quanto à viscosidade, estabilidade, tamanho das gotículas de óleo e coloração
- Produzir, por gelificação iônica, diferentes partículas a partir dos polímeros naturais alginato de sódio, mucilagem de ora-pro-nobis e quitosana
- Encapsular óleo de salmão utilizando como material de parede alginato de sódio, mucilagem de ora-pro-nobis e quitosana;
- Avaliar a atividade de água, a coloração das partículas e a morfologia das partículas por meio de microscopia óptica;
- Avaliar a distribuição de óleo, a eficiência de encapsulação e a estabilidade oxidativa do óleo de peixe nas partículas;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Ácidos Graxos Poliinsaturados

Referindo-se a principal forma de armazenamento de energia na maioria dos organismos e, desempenhando diversas funções celulares, componentes lipídicos, sobretudo os ácidos graxos, estão presentes em diversas formas de vida. Dentre suas funções, atuam no transporte de vitaminas lipossolúveis, e como precursores de hormônios (CHEN et al., 2023).

A classificação dos ácidos graxos corresponde a presença de duplas ligações ou insaturações entre as cadeias de carbono, podendo ser denominados como ácidos graxos saturados na ausência de duplas ligações, ácidos graxos monoinsaturados quando apresenta uma única insaturação ou ácidos graxos poliinsaturados pela presença de duas ou mais insaturações. Os ácidos graxos poliinsaturados que dispõem de um número de átomos de carbono igual ou maior a dezesseis são denominados ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa e, os que apresentam número de átomos de carbono igual ou maior a vinte denominam-se ácidos graxos poliinsaturados de cadeia muito longa (CHEN et al., 2023).

Dentre os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), o ômega-3 (n-3) e ômega-6 (n-6) apresentam maior relevância quanto aos efeitos positivos à saúde humana. A denominação ômega, relaciona-se a posição em que se encontra a primeira dupla ligação, contando a partir do grupo metílico final da molécula de ácido graxo. Os ácidos graxos n-3 contêm a primeira dupla ligação entre o terceiro e o quarto átomo de carbono e, os ácidos graxos n-6 possuem a primeira dupla ligação entre o sexto e o sétimo átomo de carbono (BAKER et al., 2016).

Os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 são obtidos através da dieta ou sintetizados pelo organismo a partir dos ácidos linoleico e alfa-linolênico, pela ação de enzimas alongase e dessaturase. As alongases atuam adicionando dois átomos de carbono à fração principiante da cadeia, e as dessaturases agem oxidando dois carbonos da cadeia, dando origem a uma dupla ligação com a configuração *cis*. Os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 competem pelas enzimas envolvidas nas reações de dessaturação e alongamento da cadeia. Posto que, essas enzimas possuem maior afinidade pelos ácidos da família n-3, a conversão do ácido alfa-linolênico em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa é influenciada por níveis de ácido linoleico na dieta (INNES; CALDER, 2018).

Os PUFA n-3 atuam na inibição da proliferação de linfócitos, produção de anticorpos e citocinas. Todavia, os n-6 possuem efeitos tanto inibitório quanto estimulatório da resposta imune. Ambos são importantes para conservar em condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos. Também participam da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, síntese da hemoglobina e da divisão celular. Estudos ressaltam a relevância de sua ingestão na fase gestacional, nos primeiros meses após o

nascimento, na terceira idade e em diversas doenças, principalmente degenerativas (INNES; CALDER, 2018).

Excessos de ácidos graxos de uma série na dieta pode inibir a dessaturação de quantidades menores de um ácido graxo de outra série, ou seja, a razão entre a ingestão de ácidos graxos n-6 e n-3 é significativa, uma vez que, são metabolicamente e fisiologicamente diferentes e apresentam funções fisiológicas opostas. O exagero do ácido linoleico impede, por efeito de competição pela enzima delta 6 dessaturase, a transformação do ácido alfa-linolênico em seus derivados de cadeia longa, causando desbalanceamento dos ácidos graxos no organismo e incorporação dos ácidos graxos poliinsaturadas de cadeia longa nos tecidos, afetando o efeito destes em doenças crônicas (CHEN et al., 2023).

Espécies vegetais e animais empregados na alimentação humana, possuem ácidos linoléico e alfa-linolênico. Em vegetais, os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa são encontrados em plantas que se desenvolvem principalmente em ambientes aquáticos marinhos. Acerca de alimentos de origem animal estão presentes em peixes e aves, sendo as quantidades dependentes da dieta a que esses animais foram submetidos. O ácido alfa-linolênico é encontrado em maior quantidade em hortaliças com folhas de coloração verde-escura, por ser componente da fração dos lipídios polares presentes nos cloroplastos. Existem também ocorrências em alguns cereais e leguminosas, com concentração dependente da espécie e de fatores sazonais (BAKER et al., 2016)

A auto-oxidação é o processo mais comum que leva a deterioração oxidativa e consiste na reação espontânea do oxigênio atmosférico com os lipídios. Outro processo que desencadeia a deterioração oxidativa é a foto-oxidação, uma rota alternativa levando à formação de hidroperóxidos, ao invés dos mecanismos de radicais livres. A oxidação por via enzimática ocorre pela ação das lipoxigenases (linoleato: oxigênio oxidoreductase) que são dioxigenases que catalisam a adição do oxigênio molecular ao sistema *cis*, 1,4 - pentadieno dos ácidos graxos poliinsaturados, formando hidroperóxidos (KHADGE et al., 2018).

A reação espontânea do oxigênio atmosférico com os lipídios, conhecida como auto-oxidação, é o processo mais comum que leva à deterioração oxidativa. Os ácidos graxos poliinsaturados apresentam potencial de decomposição deste processo, estando presentes como ácidos graxos livres, como triglicérides ou como fosfolipídios. Quando a luz e um agente sensibilizante, como a clorofila, estão presentes, a ativação do oxigênio em oxigênio singlete pode desempenhar um papel importante na indução da deterioração oxidativa (KHADGE et al., 2018).

3.2 Óleo de Peixe

O óleo de peixe contém substâncias da família ômega-6 e principalmente da família ômega-3, como EPA (ácido eicosapentaenóico), DHA (ácido docosahexaenóico) e ALA (ácido alpha-linolênico), que possuem uma variedade de propriedades terapêuticas e preventivas, incluindo ações contra o colesterol, prevenção de doenças cardiovasculares, doença de Alzheimer, psoríase, artrite reumatóide, depressão, AIDS, e déficits de memória. O óleo é produzido por meio de uma técnica que utiliza produtos de peixes principalmente de águas frias, pressurizados a quente e, a qualidade do óleo está diretamente relacionada à qualidade do peixe que será utilizado no processo (KHADGE et al., 2018).

Ômega n-3 e n-6 são metabolizados para criar eicosanóides, que possuem variadas funções biológicas e estão envolvidos na proliferação celular. São sintetizados por diferentes tipos de células com funções biológicas específicas que produzem respostas a estímulos externos e internos, como a síntese de adrenalina e anticorpos. Quando comparados aos eicosanóides gerados da cascata do ácido araquidônico, aqueles produzidos de ácido eicosapentaenóico (EPA) possuem menor potência. O ácido araquidônico está ligado ao processo inflamatório, portanto, uma dieta balanceada é essencial para estabelecer proporção adequada de ômega-3 e ômega-6. Exageros no consumo de óleo de peixe pode causar diarreias, desconforto gástrico e hemorragias, enquanto a deficiência no consumo comprometem a ação desejada (KHADGE et al., 2018b).

De acordo com Moraes (2006), a obtenção de ômega-3 por meio apenas da alimentação é insuficiente para manter os níveis de consumo necessários para o alcance de benefícios terapêuticos, sendo a suplementação uma importante estratégia para atingir tal objetivo. A suplementação por meio do óleo encapsulado quando comparado a forma não encapsulada, apresenta vantagens com relação a estabilidade física, química e facilidade de ingestão. Um exemplo da suplementação diária deste produto é a utilização na velhice para promover o aumento da absorção de cálcio e nova formação óssea (WEISS, 2005; CHAIM, 2007).

Alimentos fortificados tornam-se interesse de consumidores gradativamente, muitos dos quais contêm micronutrientes como ômega-3. Contudo, o desafio na produção de alimentos fortificados tem sido significativo. A estabilidade e os sabores indesejáveis do óleo de peixe representam o principal desafio na produção desses alimentos. O uso de óleo de peixe altamente refinado, inodoro ou microencapsulado pode ser um método alternativo para mascarar

características sensoriais indesejáveis e proteger o óleo durante o processamento (MACHADO et al., 2018).

Uma quantidade significativa de resíduos orgânicos é gerada nas diferentes etapas da cadeia produtiva da piscicultura, principalmente devido à percentagem elevada dos resíduos após filetagem, que se apresenta como um problema para o produtor ou para o abatedouro. Tais resíduos, como por exemplo o de salmão do atlântico, contém cerca de 55% de seus lipídios totais, enquanto os outros 45% integram a parte comestível do peixe (LEMKE, 2012).

Como solução para o problema de produtores e abatedouros, os resíduos orgânicos podem ser utilizados para extração de óleo e posterior aplicação em alimentos.

3.2.1 Óleo de Salmão

O Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) é a principal espécie da família Salmonidae. Ocorre no Atlântico Norte, desde o norte da Europa até a costa leste do Canadá e Estados Unidos. A espécie vive os primeiros anos em água doce, migra para o mar, onde permanece até a fase adulta, e retorna à água doce na época de reprodução, completando o seu ciclo de vida (VALENZUELA, 2005).

Subprodutos de salmão representam cerca de 27% do peso total do peixe. O óleo nos subprodutos é encontrado em suas cabeças, que contêm de 10 a 18% de lipídios, sendo uma excelente fonte de ômega-3, ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA), que estão relacionados com o auxílio na prevenção de doenças cardiovasculares, além de colaborar na proteção do sistema imunológico, diminuição da pressão arterial, ação anti - Inflamatória auxilia na diminuição dos níveis de triglicerídeos e Colesterol Low Density Lipoprotein (LDL), enquanto pode favorecer o aumento do Colesterol High Density Lipoprotein (HDL) (SATHIVEL S, 2005).

O óleo de salmão é extraído de rejeitos do peixe, proveniente do processo de beneficiamento de peixes crus. Os peixes são levados para cozimento, em seguida passam por uma trituração, a torta é retirada e a parte líquida passa por decantação e centrifugação, extraíndo assim o óleo de peixe cru (SATHIVEL S, 2005).

Dentre as indústrias com grande interesse no óleo de salmão, destaca-se a de ração animal. Este segmento cresce expressivamente e encontra no óleo de salmão qualidade, aroma e paladar que agrada os mais exigentes animais. No Brasil, estes óleos são usados também nas fábricas de curtumes, na fabricação de tintas e vernizes, como lubrificantes, selantes ou comercializados como produtos de baixo valor acrescentado (LEMKE, 2012). O óleo pode

ainda ser utilizado para fortificação de alimentos pobres em ômega 3, beneficiando classes de pessoas que necessitam de tal suplementação.

3.3 Encapsulação

Encapsulação pode ser descrita como um método de empacotamento de partículas em cápsulas. Quanto as denominações, o material encapsulado pode ser descrito como recheio ou núcleo, e o material que forma a cápsula, encapsulante, cobertura ou parede. As cápsulas classificam-se em três categorias, por tamanho: macro ($>5000\mu\text{m}$), micro ($0,2-5000\mu\text{m}$) e nanocápsulas ($<0,2\mu\text{m}$). Na década de 1950 Green e Schleicher apresentaram a tecnologia de encapsulação pela primeira vez com um registro de patente para a formulação de cápsulas contendo corantes, desenvolvidas para fins de cópia quando incorporadas em papel (PAULO; SANTOS, 2017). A metodologia avançou desde então, sendo empregada para as mais diversas finalidades e setores como indústria alimentícia, química, farmacêutica, biomédica, agrícola, de energia, entre outras (AFZAAL et al., 2019; ETCHEPARE et al., 2015; GUILHERME et al., 2015; PAULO; SANTOS, 2017; TREENATE; MONVISADE, 2017).

A encapsulação de componentes alimentícios possui diversos objetivos, entre eles reduzir interações do núcleo com fatores ambientais, retardando alterações que podem decorrer em perda de aroma ou do valor nutricional, alteração de cor, separação de componentes reativos ou incompatíveis, redução da taxa de migração do material do núcleo para o ambiente externo, evitar reações prematuras de um substrato, mascarar compostos de sabor indesejável e promover melhor solubilidade do núcleo e incorporação em sistemas secos. Também permite a liberação controlada, ou seja, possibilita que a liberação do material do núcleo ocorra lentamente com o tempo, ou a partir da ocorrência de um certo evento, o que ajuda a evitar a utilização inefetiva e a perda de compostos durante o processamento (ETCHEPARE et al., 2015).

O método a ser utilizado para a encapsulação em uma aplicação específica varia de acordo com fatores, como, tamanho de partículas requerido, propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, aplicação do produto final, mecanismos desejados de liberação, escala de produção e custo. Dentre os métodos químicos as técnicas mais utilizadas são as de emulsão ou polimerização interfacial, inclusão molecular e cocristalização. Para métodos físicos é possível citar a técnica de atomização, spray dryer e liofilização. Existem ainda os métodos físico-químicos que incluem a coacervação, envolvimento lipossômico e gelificação iônica, sendo a

última muito empregada no setor alimentício por sua simplicidade e por utilizar condições amenas na produção das partículas (ETCHEPARE et al., 2015).

A natureza do material encapsulante é um dos principais fatores que influenciam a estabilidade de compostos encapsulados. De tal maneira, a escolha do material a ser aplicado deve considerar propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, compatibilidade, mecanismo de controle e fatores econômicos. O material de parede deve ser insolúvel e não reativo com o núcleo. Para atuar como emulsificante, um composto deve conter grupamentos hidrofílicos e hidrofóbicos; quanto maior a capacidade emulsificante do encapsulante, melhor a retenção de compostos. Os encapsulantes devem ainda conter boas propriedades de formação de filme, sabor e odor suaves, fácil reconstituição e baixo custo (PAULO; SANTOS, 2017).

Dentre as aplicações da encapsulação, destaca-se o de óleo de peixe, que pode ser facilmente prejudicado por oxidação ou interações com outros compostos, além de possuir sabor e odor desagradáveis. A encapsulação aumenta a estabilidade, evita a degradação e facilita sua aplicação em alimentos.

3.4 Gelificação iônica

A técnica de gelificação iônica se baseia na capacidade dos polieletrólitos realizarem ligações cruzadas na presença de contra-íons, o que resulta em uma estrutura em malha tridimensional. A solução polimérica carregada negativamente forma ligações cruzadas com cátions de baixo peso molecular, formando hidrogéis. Um alimento encapsulado em uma membrana de gel formada pela reação de um hidrocolóide com uma solução iônica, origina um produto com diferentes texturas e sabores (PAGANI et al., 2014). A encapsulação por gelificação iônica apresenta uma tecnologia bastante aplicável na área de alimentos, uma vez que possui baixo custo, fácil execução e não necessita de solventes orgânicos. Ademais, a técnica possui grande eficiência para aumentar a absorção *in vitro* e *in vivo* de numerosos compostos (HOLKEM; CODEVILLA; MENEZES, 2015).

Para a formação de partículas por meio dos mecanismos de gelificação iônica dois processos principais podem ser citados, sendo eles a gelificação iônica interna e externa. Também conhecida por emulsificação, a gelificação iônica interna ocorre em duas etapas, na primeira há a dispersão da fase aquosa, englobando o composto ativo diretamente na solução polimérica contendo material de recheio, e na segunda etapa essa mistura é dispersa em fase orgânica, o que resulta em uma emulsão de água em óleo. A redução do pH através da adição de uma solução ácida na emulsão de água em óleo é necessária para que aconteça a gelificação.

Tal adição tem por propósito liberar os íons cálcio e permitir a complexação do cálcio com os grupos carboxílicos (PAGANI et al., 2014).

Quanto à gelificação iônica externa, é popularmente mais empregada, por consequência do baixo custo e fácil execução, além de não utilizar altas temperaturas ou solventes orgânicos, apresentando grande potencial para aplicação em áreas como farmacêutica, biomédica e alimentícia (DE PRISCO et al., 2015; PEDROSO et al., 2012; RIBEIRO et al., 2014). O método utiliza uma solução de biopolímero que contém o material de interesse e através de um bocal de alta pressão, goteja sobre uma solução de cloreto de cálcio decorrendo a gelificação (LISERRE; RÉ; FRANCO, 2007; ETCHEPARE et al., 2016). Dessa forma, ao misturar duas soluções de macromoléculas de cargas opostas, os complexos de polieletrólitos são formados devido às interações eletrostática entre os íons (LI; DIOSADY; WESLEY et al., 2010).

Dentre muitas vantagens a gelificação iônica apresenta simplicidade e rapidez na síntese dos hidrogéis, baixo custo de reprodução, proteção e viabilidade para os agentes ativos frente as variações do meio como temperatura, oxigenação, luz e pH, o que justifica os inúmeros estudos empregando a técnica para encapsular enzimas, probióticos, antioxidantes, ácidos graxos poliinsaturados e demais compostos bioativos (PAGANI et al., 2014).

Entretanto existem desvantagens das partículas produzidas por esta técnica, como dificuldade em controlar a taxa de liberação do material encapsulado por um longo período e a formação de grandes poros na superfície de hidrogéis reticulados ionicamente, que contribuem para uma maior sensibilidade das partículas à pHs extremos, facilitando a perda de princípio ativo por lixiviação ou difusão (ETCHEPARE et al., 2016).

Estudos de autores como Iqbal et al. (2019), Krasaekoopt; Watcharapoka (2014) e Ng et al. (2019) sugerem que uma alternativa viável para melhorar a estabilidade e a porosidade dessas partículas é o recobrimento com polieletrólitos de cargas opostas. A interação eletrostática entre a superfície dos hidrogéis e os polietrólitos diminui o número e o diâmetro dos poros na rede do gel conferindo maior proteção ao material encapsulado (ETCHEPARE et al., 2015).

Partículas formadas por gelificação iônica podem ser preparadas por processos de atomização, extrusão ou deposição eletrostática. No processo de extrusão, a solução, com o material de parede e recheio, é gotejada em uma solução iônica por meio de uma agulha, com ou sem velocidade controlada. Na atomização, o ar comprimido mistura-se à solução a ser encapsulada, pressionando a passagem da solução por um orifício de tamanho específico. Uma variedade de biopolímeros tem sido investigada para a formação de material de parede, e dentre estes destacam-se os polímeros naturais alginato e quitosana (PATIL et al., 2010).

3.5 Materiais poliméricos formadores de partículas

Hidrogéis podem ser sintetizados a partir de polímeros naturais, sintéticos ou blendas, que são combinações simples de materiais com diferentes vantagens (ABREU et al., 2008). Ocorre atualmente a intensificação no uso de biopolímeros cujas principais características são biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, simplicidade e baixo custo de produção (ISCHAKOV et al., 2013; ULLAH et al., 2015). Entre os polímeros naturais e sintéticos mais utilizados, destacam-se os polissacarídeos, abundantes e obtidos a partir de fontes renováveis. Apresentam baixo custo de produção e propriedades peculiares, sendo capazes de a partir de derivação química, criar um polímero com novas propriedades (MATRICARDI et al., 2013).

Alginato é uma substância extraída de algas marrom, de fácil manipulação e inocuidade, com propriedades gelificantes, estabilizantes e espessantes e encontra-se entre os hidrocolóides mais utilizados e de grande interesse para a indústria de alimentos (PASIN; AZÓN; GARRIGA, 2012). Essa substância possui solubilidade em água e é considerado um copolímero de estrutura química formada por blocos β -1,4-D-manurônico (unidade repetitiva M) e α -1,4-L-gulurônico (unidade monomérica G), distribuídas de forma aleatória em sua estrutura (RINAUDO, 2014). Sua utilização é citada em diversos estudos principalmente pelo fato de a formação do gel ocorrer de forma rápida e sem a necessidade de alterações drásticas quanto à temperatura e pH, garantindo a viabilidade do princípio ativo (PILLAI et al., 2009). Além do uso comercial, o alginato também é destaque como fator promotor de saúde, reduzindo os níveis de açúcar e colesterol no sangue devido as suas fibras, bem como pela sua capacidade de prolongar a vida útil dos produtos (PASIN et al., 2012).

Outro polissacarídeo amplamente utilizado é a quitosana, oriundo da quitina proveniente da casca de crustáceos, exoesqueleto de insetos e parede celular de fungos. Apresenta cadeia linear catiônica composta por dois monômeros o β -(1-4) -D-glucosamina e β -(1-4) -N-acetil-D-glucosamina. Possui ações antimicrobiana e antioxidante, além de propriedade de mucoadesão como uma de suas particularidades (YANG et al., 2015). Dentre as aplicações, a matriz de partículas com o objetivo de proporcionar proteção e a liberação do ativo encapsulado em sítios específicos, tem sido amplamente abordada. Autores como Dash et al. (2011) apontaram que a quitosana possui boa retenção na corrente sanguínea e se acumula lentamente nos tecidos, característica importante no transporte de compostos que são excretados

rapidamente. Além disso, a quitosana pode ainda ser combinada com numerosas variedades de polissacarídeos aniônicos, incluído o alginato (DUBEY et al., 2016).

A associação de um ou mais polímeros complementares são denominados complexos poliméricos, que podem ser originados de forças eletrostáticas, interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, forças de van der Waals ou combinações dessas interações. Tal formação é capaz de alterar a solubilidade, reologia, condutividade elétrica e turbidez das soluções poliméricas (LEE et al., 1999). Estudos são executados utilizando diferentes concentrações de Alginato/Quitosana, com o intuito de formar partículas que retenham os compostos bioativos com maior eficiência e garantam a liberação controlada em locais específicos. Esse complexo é constituído a partir da forte interação eletrostática dos grupos amino da quitosana com os grupos carboxílicos do alginato (DUBEY et al., 2016).

Para a matriz, alginato de sódio é amplamente utilizado, uma vez que sofre uma gelificação rápida na presença de íons cálcio (LI, S. et al., 2002). A parede da micropartícula é reforçada por meio da utilização da quitosana, que também favorece a encapsulação do agente ativo, e impede a erosão rápida do gel de alginato. Vale ressaltar que o alginato possui tendência a apresentar poros em sua estrutura, assim, a formação de uma membrana de quitosana na superfície da microcápsula tende a diminuir a taxa de liberação da substância presente em seu interior (BHATTARAI et al., 2011). Todavia, tem se intensificado a busca por novos materiais polimérico, como hidrocolóides, que possibilitem a formação de gel e conseqüentemente a encapsulação de princípios ativos.

3.5.1 Hidrocolóides

De acordo com Reeves et al. (2002), hidrocolóides são polímeros heterogêneos de cadeia longa e alta massa molecular, constituídos de polissacarídeos e/ou proteínas que ao serem imersas em soluções, originam dispersões viscosas e/ou géis. Vistos como biopolímeros naturais, os hidrocolóides são altamente seguros, atóxicos, estáveis, biodegradáveis e biocompatíveis, além de possuírem baixo custo e fácil obtenção na natureza. São extraídos de algas (alginato de sódio), plantas (amido, celulose, pectina), microrganismos (dextrana, goma xantana e gelana) e animais (quitosana) e, na literatura, também são denominados como mucilagem, gomas, colóides hidrofílicos ou polissacarídeos solúveis em água (JAHANBIN et al., 2012).

Possuem vasta utilização nos setores industriais para modificar a viscosidade, textura e, conseqüentemente, a reologia dos produtos, modificam as propriedades físicas da solução para

criar géis ou permitem espessamento, emulsificação, revestimento e estabilização. Numerosos grupos hidroxila aumentam visivelmente sua afinidade por água, tornando-os hidrofílicos (PHILLIPS; WILLIAMS, 2009; SAHA; BHATTARAI, 2010. Além disso, Etchepare et al. (2015), afirmam que o uso de hidrocolóides para formação de partículas de géis tem apresentado crescente interesse principalmente na indústria de alimentos.

3.5.1.1 Mucilagem de ora-pro-nobis (MOPN)

De acordo com Lima Junior et al. (2013), hidrocoloides extraídos de vegetais têm uma vantagem sobre os de origem animal devido à sua imagem positiva aos olhos dos consumidores. Simultaneamente, a crescente demanda por gomas com funcionalidade específica e que interajam sinergicamente, melhorando as propriedades funcionais dos alimentos, fazem com que diversas pesquisas sejam realizadas a fim de encontrar fontes alternativas e economicamente viáveis para a extração de hidrocoloides (SALEHI et al., 2015).

Autores como Amaral et al. (2018), Conceição et al. (2014), Lima Junior et al. (2013) e Martin et al. (2017), desenvolveram estudos relacionados à extração, caracterização e aplicação de hidrocoloides das folhas de *Pereskia aculeata* Miller, uma cactácea popularmente conhecida no Brasil como ora-pro-nobis (TAKEITI et al., 2009). Tal planta é resistente à seca, própria de clima tropical e subtropical, encontrada nos trópicos americanos, como na região sul dos EUA e no Brasil (BRASIL, 2010; MARTINEVSKI et al., 2013).

As folhas de ora-pro-nobis são atóxicas, ricas em conteúdo nutricional, sobressaindo-se quanto ao elevado teor de proteínas (25,0% na matéria seca com 85% de digestibilidade) e elevados teores de aminoácidos essenciais, sendo o triptofano o aminoácido mais abundante, e lisina e metionina como os aminoácidos limitantes (ALMEIDA FILHO; CAMBRAIA, 1974; LIMA JUNIOR et al., 2013, MERCÊ et al., 2001, TAKEITI et al., 2009). Ademais, são ricas nos microelementos como manganês (46,4 mg/100 g), zinco (26,71 mg/100 g) e ferro (14,18 mg/100 g), possuindo também elevados teores de cálcio, fósforo, magnésio e vitaminas, A, C e ácido fólico (TAKEITI et al., 2009). Tal cactácea ainda, evidencia-se por apresentar alto teor do biopolímero arabinogalactana (MARTIN et al., 2017).

As arabinogalactanas são proteoglicanos complexos presentes na parede celular de plantas superiores (MERCÊ et al., 2001). Martin et al. (2017) e Mercê et al. (2001) realizaram estudos que caracterizaram a arabinogalactana das folhas de ora-pro-nobis como tipo I, em decorrência à associação covalente dos proteoglicanos. Segundo os autores, a arabinogalactana é composta por: arabinose : galactose : ramnose : ácido galacturônico na proporção de 5,4 : 8,3

: 1,8 : 1,0, respectivamente; sendo a cadeia principal deste biopolímero composta por β -D-galactopirranose ligadas (1 \rightarrow 4) e substituídas por unidades de arabinose e galactose (MARTIN et al., 2017). O arranjo exerce importante papel na determinação das propriedades estabilizantes e emulsificantes de hidrocoloides com alto valor comercial (ALMEIDA FILHO; CAMBRAIA, 1974).

A mucilagem de ora-pro-nobis (MOPN) é apontada como uma fonte alternativa viável para aplicação em produtos alimentícios segundo estudos, uma vez que apresenta perfil macromolecular heterogêneo, com comportamento de polieletrólito, e apresenta alta capacidade em formar géis e emulsão, em virtude de um aumento linear da viscosidade do meio em função da concentração da mucilagem e sua alta higroscopicidade, e da estabilidade térmica da emulsão formada em diferentes temperaturas (CONCEIÇÃO et al., 2014; LIMA JUNIOR et al., 2013).

Estudos realizados por Lago et al. (2018) analisaram que maiores concentrações de mucilagem (%) com menor quantidade de óleo de soja (%) favoreceram a formação de nanoemulsões do tipo óleo-em-água por meio da técnica de ultrassom. Junqueira et al. (2018) observaram que emulsões preparadas com maiores concentrações desta mucilagem apresentaram estrutura morfológica estável e aumento no número e maior uniformidade no tamanho das gotas. Morais (2019) avaliou a capacidade de formação de gel da MOPN empregando o hidrocoloide em associação com alginato para a síntese de hidrogéis/partículas pela técnica de geleificação iônica. Os resultados obtidos mostraram que a MOPN atuou juntamente com o alginato na reticulação das cadeias poliméricas. Porém uma redução na estabilidade física e térmica da partícula foi observada, o que pode ser solucionado com o recobrimento dos hidrogéis com quitosana ou proteínas por interação eletrostática.

Portanto, a exploração do potencial da MOPN na síntese de partículas de hidrogéis a fim de encapsular princípios ativos, como óleo de peixe, se faz viável quando consideradas suas características físico-químicas, sua propriedade emulsificante, sua abundância e seu baixo custo de produção.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

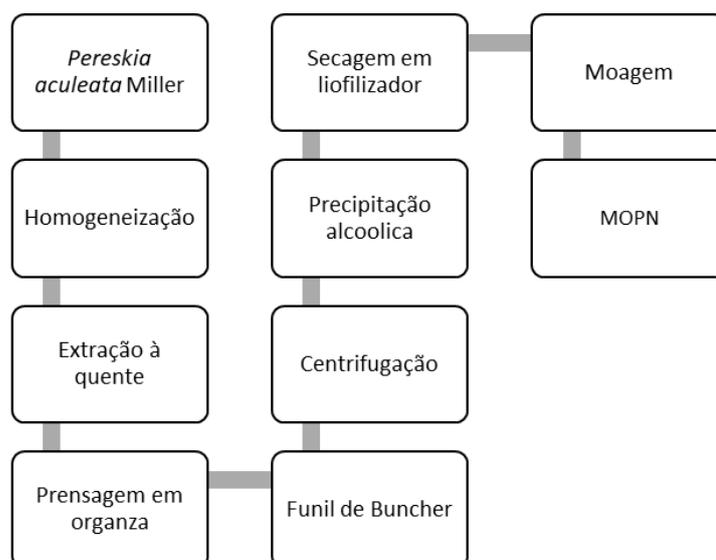
As folhas de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) foram colhidas no município de Lavras - MG, Brasil (21° 14' 42 sul, 44° 59' 59 oeste). Os resíduos da filetagem de salmões (cabeça) foram obtidos de uma empresa processadora de pescado local, Cia do Peixe (Lavras,

Brasil) e armazenados a -18 °C até a etapa de extração do óleo. Alginato de sódio, quitosana e cloreto de cálcio foram adquiridos, respectivamente, nas empresas Sigma Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) e Vetec. Os demais reagentes foram todos de grau analítico.

4.2 Obtenção da mucilagem de ora-pro-nóbis

A extração da MOPN foi realizada segundo o processo otimizado por (LIMA JUNIOR et al., 2013) com modificações, conforme ilustrado na Figura 1. Primeiramente, as folhas de ora-pro-nóbis foram trituradas e homogeneizadas em água, na proporção de 1 kg matéria-prima para 2,5 L de água, à temperatura de 100 °C por 10 min, utilizando-se um liquidificador industrial (Metvisa LG10, Brasil). Em seguida, as amostras foram acondicionadas em béqueres e permaneceram sob agitação em banho termostático (Quimis, q-215-2) a 65 °C por 6 h. O homogeinato resultante foi manualmente filtrado com tecido organza e posteriormente submetido a uma filtração à vácuo por meio de um funil de Buchner acoplado a uma bomba de vácuo (Primar MC 1284, Brasil), utilizando como meio filtrante três camadas de organza. Após a filtração o material foi centrifugado a 4680 x g. O líquido remanescente foi adicionado de etanol na proporção de 3:1 (etanol:solução) e o precipitado retirado, congelado, seco em liofilizador (marca Edwards, modelo: L4KR) e moído em moinho de bolas (marca: SP Labor, modelo SP-38) para obtenção da mucilagem de ora-pro-nobis em pó.

Figura 1 - Fluxograma do processo de extração da MOPN.



Fonte: Do Autor

4.3 Extração do óleo de salmão

Inicialmente, os resíduos da filetagem de salmão foram lavados em água tratada e moídos em moedor elétrico de carne (10I modelo, C.A.F., Rio Claro, Brasil). Adicionou-se 0,01 % m/m de hidroxitolueno butilado (BHT) por kg à massa. Posteriormente as porções de massa foram cozidas em banho-maria (MA 127 modelo, Marconi, Piracicaba, Brasil) à 60 °C durante 60 min. Ao fim do cozimento, a massa foi centrifugada por 20 min a 10.000 rpm (NT 815 modelo, Novatécnica, Piracicaba, Brasil). O óleo bruto sobrenadante foi pipetado e submetido ao refino segundo a adaptação da metodologia proposta por Moraes et al. (2001) para óleo de pescado. Sendo assim, o óleo foi colocado em um béquer e levado para o agitador magnético (DT3120H modelo, Diagtech, São Paulo, SP, Brasil), onde permaneceu sob agitação constante por 30 min, até que atingisse uma temperatura de 70 °C. Em seguida, foram adicionados ao óleo 3 % de água destilada a 70 °C mantendo a solução sob agitação por 30 min. Ao final desse período, a mistura em temperatura ambiente, foi centrifugada a 10.000 rpm por 5 min para a separação da fase aquosa e obtenção do óleo refinado.

A determinação do rendimento do óleo bruto foi feita por diferença entre a massa da amostra inicial e a massa do óleo após a extração. O rendimento do óleo refinado foi calculado baseado no volume total de óleo bruto em relação ao volume do óleo refinado obtido. Os resultados foram expressos em porcentagem (%), em relação ao peso da amostra inicial.

4.4 Delineamento experimental

As partículas foram sintetizadas por gelificação iônica com 1,5 % (m/m) de alginato de sódio, três diferentes concentrações (m/m) de MOPN (0, 0,50, 1,0 e 1,5 %) e 10 % m/m de óleo de peixe (Tabela 1). Para o recobrimento das esferas foram utilizados 2,0 % (m/m) de quitosana. Dessa forma, os experimentos foram realizados no Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com três repetições, totalizando 12 ensaios.

Tabela 1 – Delineamento experimental das partículas

Emulsão	Óleo de peixe (% m/m)	Alginato (% m/m)	MOPN (% m/m)	Água destilada (% m/m)
A	10	1,5	0	88,5
B	10	1,5	0,5	88,0
C	10	1,5	1,0	87,5

D	10	1,5	1,5	87,0
---	----	-----	-----	------

Fonte: Do autor.

4.5 Preparo das emulsões

Alginato de sódio (ALG) e mucilagem de ora-pro-nobis (MOPN) foram dispersos em água destilada nas proporções indicadas na Tabela 1 e deixados em repouso durante 12 h para completa hidratação dos biopolímeros à temperatura ambiente. Em seguida as soluções iniciais foram homogeneizadas a 14000 rpm por 5 min em turrax (marca: Turratec, modelo: TE-102, Tecnal). Para formar as emulsões, o óleo de peixe foi adicionado na proporção estabelecida (Tabela 1) e agitado a 20000 rpm durante 3 minutos. Finalmente cada emulsão foi imersa em banho ultrassônico (Testlab, Modelo TB010, Buenos Aires, Argentina) por 3 min.

4.6 Caracterização das Emulsões

4.6.1. Análise de viscosidade das emulsões

O comportamento reológico das emulsões foi analisado em triplicata a 25 °C. As viscosidades das emulsões foram determinadas usando um viscosímetro rotacional de cilindros concêntricos (Brookfield DVIII Ultra, Brookfield Engineering Laboratories, EUA). O spindle SC4-25 foi usado em uma rampa crescente com uma taxa de cisalhamento variando de 3,3 s⁻¹ a 55,0 s⁻¹. O modelo lei da Potência (Eq. 1) foi ajustado aos dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação para determinar o perfil de fluxo dos fluidos (Steffe, 1996).

$$\sigma = k\dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Onde σ é a tensão de cisalhamento (Pa), k é o índice de consistência (Pa.sⁿ), $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s⁻¹) e n é o índice de comportamento de fluxo (adimensional).

4.6.2. Estabilidade das emulsões

A estabilidade das emulsões (ES) foi verificada mantendo os tratamentos por 30 min à 30 e 80 °C em banho aquecido (Solab, mod. SL150, São Paulo, Brazil). Após este período as amostras foram centrifugadas em centrífuga Splabor (sp-701, Brasil) a 1271×g por 10 min, as

fases distintas foram separadas e pesadas. A ES foi determinada pela Eq. 2 (LIMA JUNIOR et al., 2013).

$$ES (\%) = \frac{\text{Massa da emulsão final (g)}}{\text{Massa total de fluido (g)}} \times 100 \quad (2)$$

4.6.3. Microscopia das emulsões

O tamanho e a distribuição das gotículas de óleo presentes nas emulsões foram avaliados por meio de microscopia óptica. Para isto, lâminas contendo alíquotas das emulsões foram observadas em um microscópio de luz polarizada modelo BX51 (Olympus, Tokyo, Japão). As imagens foram capturadas com uma câmera fotográfica modelo E330-ADU1.2X (Olympus, Tokyo, Japão). O tamanho médio das gotículas de óleo de peixe nas emulsões foi medido usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD).

4.6.4. Cor

As emulsões e as partículas de óleo de peixe foram caracterizadas quanto à coloração por meio de um colorímetro instrumental (Spectrophotometer CM-5, Konica Minolta, Japan). A escala de cores CIELab foi utilizada para medir os parâmetros a e b, além do grau de luminosidade (L^*), grau de saturação (C^*) e ângulo de matiz (h°) das amostras.

4.7 Síntese das Partículas

A síntese das partículas na forma de esferas foi realizada pelo método de gelificação iônica associado à interação eletrostática, que envolve primeiramente o desenvolvimento de ligações cruzadas entre dois polímeros solúveis em água com posterior formação de um complexo coacervado com biopolímero de cargas opostas.

4.7.1. Síntese das partículas de alginato e MOPN

A formação das partículas foi realizada com o auxílio de uma agulha de 0,45 mm de diâmetro acoplada a uma seringa de 10 mL. Dessa forma, as emulsões foram gotejadas em solução aquosa de CaCl_2 com concentração de 1,5 % (m/m) sob agitação magnética. Depois de

formadas, as esferas permaneceram sob agitação no banho de gelificação por 30 minutos para a completa estruturação do hidrogel. Em seguida foram lavadas com água deionizada e seguiram para o recobrimento com quitosana.

4.7.2. Recobrimento com quitosana

O revestimento das partículas de alginato e MOPN com quitosana foi realizado segundo o método de ZOU et al. (2011). Uma solução de quitosana com 2,0 % (m/m) foi preparada em soluções de ácido acético 2 % (v/v), mantida em agitação magnética por 24 horas ou até a completa dissolução do polímero em temperatura ambiente.

As esferas produzidas na etapa anterior (50 g) foram imersas em 200 mL de solução de quitosana permanecendo sob agitação magnética durante 40 minutos. Em seguida, foram lavadas com água deionizada e filtradas para posterior liofilização e caracterização.

4.7.3. Liofilização

Após o congelamento das partículas a -75 °C por 24 h em Ultra Freezer (Coldlab CL 120-86 V, Brasil), as partículas foram liofilizadas a -30 °C com pressão de vácuo de 0,998 mbar em um liofilizador Edwards (modelo L4KR, Brasil) por 72 h.

4.8. Caracterização das partículas

4.8.1. Atividade de água

A atividade de água (a_w) das partículas foi determinada em triplicata usando um higrômetro de ponto de orvalho (Aqualab Decagon Services 3TE, EUA), após as amostras serem estabilizadas a 25 °C por 30 min.

4.8.2. Análise Morfológica

A morfologia das partículas foi avaliada por meio de microscopia óptica. Para isto, lâminas contendo esferas secas foram observadas em um microscópio de luz polarizada modelo BX51 (Olympus, Tokyo, Japão). As imagens foram capturadas com uma câmera fotográfica modelo E330-ADU1.2X (Olympus, Tokyo, Japão).

4.8.3. Distribuição de óleo nas partículas

Para avaliar a distribuição do óleo nas partículas, foram quantificados óleo superficial, óleo interno e óleo total. O óleo superficial (OS) é definido como o óleo extraído após agitação em n-hexano sem ruptura da estrutura do hidrogel. Aproximadamente 0,25 g de partículas foram agitadas em um tubo Falcon com 1,25 mL de n-hexano durante 60 s. O sobrenadante foi transferido para um tubo previamente pesado e o OS foi determinado por diferença de massa após evaporação do solvente à temperatura ambiente. O óleo interno (OI) foi determinado pelo método de hidrólise ácida descrito em AOAC Official Method 14.019 (1984) com pequenas modificações. As esferas sem óleo na superfície (obtidas do ensaio descrito acima), foram adicionadas de 0,25 mL de etanol, 1,25 mL de HCl (37%) e aquecidas a 80 °C por 40 min com agitação constante. Em seguida, foram adicionados 2,5 ml de etanol e resfriadas à temperatura ambiente. Posteriormente, foram adicionados 3,12 mL de éter de petróleo e 3,12 mL de éter etílico e as partículas novamente foram agitadas por 60 s. A fase etérea superior foi separada e filtrada. O óleo na fase etérea foi quantificado por evaporação do solvente a 100 °C e resfriamento subsequente. Por fim, o óleo total (OT) foi calculado considerando o OS e o OI determinados para cada sistema. Todas as medições foram feitas em triplicata e expressas em g de óleo/100 g de grânulos.

4.8.4. Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação (EE) dos tratamentos foi determinada de acordo a Eq. 3, a partir da quantificação do óleo presente no interior da partícula (OI) e do óleo total (OT), calculado anteriormente.

$$EE (\%) = \frac{OI}{OT} \times 100 \quad (3)$$

4.8.5. Estabilidade oxidativa – Índice de Peróxido (IP)

O método de Vasile et al. (2016) com adaptações foi empregado para extrair lipídios totais para ensaios de estabilidade oxidativa. As partículas (0,75 g) foram rompidas na presença de 4,27 mL de metanol, 1,5 mL de água destilada e 1,76 mL de clorofórmio. Após a homogeneização, foram adicionados 2,25 mL de água destilada e 2,7 mL de clorofórmio. A fase inferior contendo óleo em clorofórmio foi coletada e dessorvida por evaporação do solvente à temperatura ambiente até peso constante.

Após a extração dos lipídeos totais, o índice de peróxido (IP) foi determinado pela titulação do iodo liberado do iodeto de potássio com solução de tiosulfato de sódio e expresso em miliequivalentes de oxigênio ativo contido em 1 kg de óleo, de acordo com o método AOCS Cd 8–53

4.8.6. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As partículas liofilizadas foram submetidas à espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) pela técnica de refletância total atenuada (ATR) em espectrofotômetro Bruker FTIR (Vertex 70, EUA). A região do infravermelho analisada foi de 4000 cm^{-1} a 500 cm^{-1} com 64 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} .

4.8.7. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de média Tukey ($p < 0,05$), empregando o pacote estatístico SAS University Edition (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Os gráficos foram plotados com o auxílio do SigmaPlot (versão 11).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Extração de MOPN e óleo de peixe

Observa-se, a partir da Tabela 2 que a extração da MOPN apresentou rendimento de aproximadamente 0,76 %, resultado inferior aos 1,6% e cerca de 1,0% registrados por Martin et al. (2017) e Lima Junior et al. (2013), respectivamente. Segundo Amaral et al. (2018) a variação no rendimento de extração da mucilagem pode ser justificada por mudanças da composição centesimal das folhas de ora-pro-nobis em função da nutrição do solo e das flutuações climáticas.

Tabela 2 - Rendimento de extração de MOPN e do óleo de salmão.

Material	Rendimento (%)
MOPN	0,76
Óleo de salmão bruto	20,54
Óleo de salmão refinado	18,36
Processo de refino	89,38

Fonte: Do autor

Quanto ao rendimento do óleo de salmão nota-se na Tabela 2 que o valor foi de aproximadamente 20,54% para o óleo bruto e 18,36% para o óleo refinado, resultado muito semelhante ao encontrado por Linder et al. (2005). Tais autores, ao estudar a extração proteolítica de óleo de salmão encontraram um rendimento de óleo bruto de aproximadamente 20%.

5.2. Caracterização das Emulsões

5.2.1. Viscosidade das emulsões

Os dados reológicos de tensão de cisalhamento e taxa de deformação das emulsões com diferentes concentrações de MOPN foram analisados, e verificou-se que o modelo Lei da Potência (Tabela 3) apresentou bom ajuste aos dados, uma vez que exibiu elevados coeficientes de determinação ($R^2 > 0,9741$) e valores reduzidos para a raiz quadrada do erro médio (RMSE $< 0,2024$).

A partir da Tabela 3 observa-se que as emulsões exibiram perfil de escoamento de um fluido não newtoniano pseudoplástico, já que os valores de índice de comportamento de fluxo foram inferiores a 1 ($n < 1$). O tratamento A apresentou o maior n ($0,8666 \pm 0,025$), enquanto os tratamentos B, C e D exibiram valores reduzidos para este parâmetro ($0,6734 \pm 0,022$, $0,5451 \pm 0,009$, $0,4759 \pm 0,004$, respectivamente), indicando que o comportamento pseudoplástico tende a se intensificar com o aumento da concentração de MOPN.

Os resultados para o índice de consistência do fluido (k) (Tabela 3) exibiram uma relação entre tal parâmetro e a concentração de MOPN, de modo que incrementos na concentração de mucilagem ocasionaram um aumento de k , possivelmente devido ao emaranhamento das cadeias poliméricas causado pelo maior teor de sólidos na emulsão.

Tabela 3 - Parâmetros reológicos das emulsões com diferentes concentrações de MOPN.

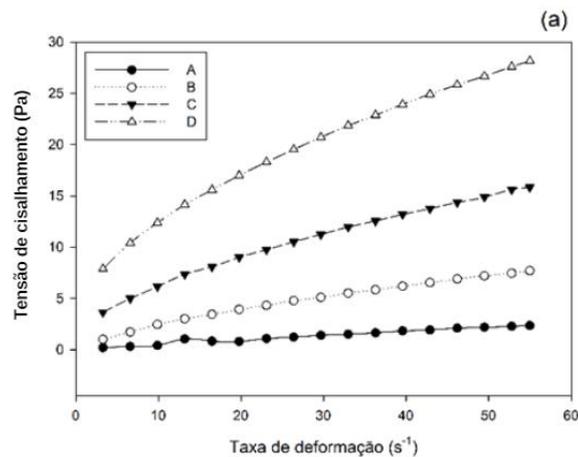
Tratamentos	Lei da potência			
	R^2	RMSE	K (Pa s ⁿ)	n
A	0,9741	0,1123	0,0741± 0,009 ^d	0,8666± 0,025 ^a
B	0,9991	0,0620	0,5208± 0,023 ^c	0,6734± 0,022 ^b
C	0,9993	0,0963	1,7774± 0,062 ^b	0,5451± 0,009 ^c
D	0,9989	0,2024	4,1549± 0,085 ^a	0,4759± 0,004 ^d

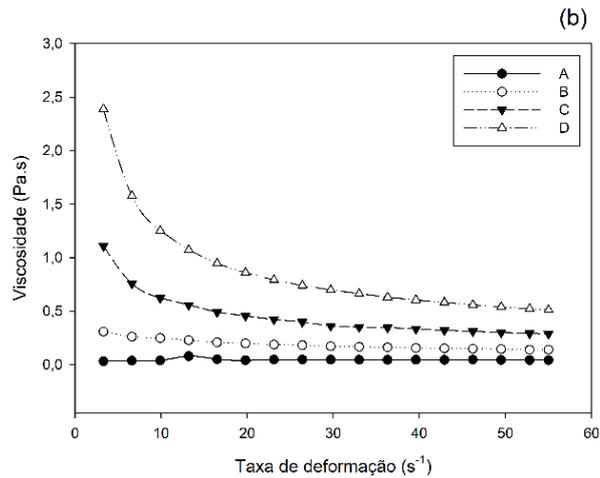
R^2 coeficiente de correlação, RMSE raiz quadrada do erro médio, k é o índice de consistência (Pa sⁿ) e n é o índice de comportamento de fluxo (adimensional). Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor

Comportamento semelhante ao encontrado no presente trabalho foi observado por Junqueira et al. (2018). Ao empregar diferentes concentrações (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0% m/m) de MOPN para formar emulsões, os autores observaram que todos os tratamentos apresentaram escoamento pseudoplástico, que se tornou mais evidente com o aumento da concentração do hidrocoloide. Segundo os autores, a redução de n ocorre devido a um acréscimo na concentração de proteínas e polissacarídeos na fase contínua da emulsão. Além disso, a MOPN também gerou um aumento nos valores de k , que foi justificado pelo incremento no teor de sólidos na emulsão gerando uma restrição do movimento molecular devido ao emaranhamento entre as cadeias poliméricas.

Figura 2 - Curvas de fluxo: (a) Relação entre a tensão de cisalhamento e taxa de deformação das diferentes emulsões, (b) Relação entre a viscosidade aparente e taxa de deformação das diferentes emulsões.





Fonte: Do autor.

A partir dos reogramas (Figura 2), nota-se que a relação entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação segue uma curva convexa, além disso, observa-se o decréscimo da viscosidade aparente com o aumento da taxa de deformação confirmando a conduta pseudoplástica deste tipo de emulsão. Segundo Steffe et al. (1996), fluidos pseudoplásticos em repouso apresentam moléculas desordenadas e maior viscosidade. No entanto, se determinada tensão for aplicada sobre o fluido, as moléculas tendem a se ordenar na direção da força aplicada reduzindo a resistência ao escoamento e conseqüentemente diminuindo a viscosidade aparente, sendo assim, quanto maior a tensão aplicada, maior é a ordenação e menor é a viscosidade aparente da solução.

Na Figura 2 (b) também verificou-se que incrementos na concentração de MOPN resultaram em maiores valores para a viscosidade da solução, o que se deve ao fato deste hidrocoloide possuir alta capacidade de retenção de água, aumentando as interações intermoleculares e ligações de hidrogênio em meio aquoso. O mesmo comportamento foi observado por Lago et al. (2018) e Oliveira et al. (2019) em estudos empregando a MOPN para obtenção de emulsões e filmes poliméricos. Os autores verificaram que acréscimos no teor de MOPN aumentaram substancialmente a viscosidade do sistema coloidal e das soluções filmogênicas.

5.2.2. Estabilidade das emulsões

Por meio da Tabela 4 é possível observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos para a estabilidade das emulsões tanto em 30 °C quanto em 80 °C. Nota-

se que a emulsão A foi a menos estável nas duas temperaturas analisadas, sendo a mesma isenta de MOPN. Além disso, observa-se que o aumento de MOPN nos tratamentos potencializou a estabilidade das emulsões, sendo que, para ambas as temperaturas o tratamento D, com maior porcentagem de MOPN, obteve a maior estabilidade.

Junqueira et al. (2018) e Silva et al. (2019) obtiveram resultados semelhantes ao avaliarem a estabilidade de emulsões formadas por mucilagem obtidas por folhas e frutos de ora-pro-nóbis, respectivamente. Tais autores notaram que a concentração de hidrocoloide teve uma influência significativa na estabilidade das emulsões e que o aumento da concentração de mucilagem aumentou a estabilidade das emulsões formadas.

Tabela 4 - Estabilidade das emulsões com diferentes concentrações de MOPN.

Tratamentos	Estabilidade (%)	
	30 °C	80 °C
A	17,08 ± 1,54 ^d	13,99 ± 1,76 ^c
B	23,76 ± 2,05 ^c	25,44 ± 2,35 ^b
C	26,31 ± 1,68 ^{bc}	26,17 ± 2,20 ^b
D	30,00 ± 3,22 ^a	35,40 ± 3,62 ^a

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor.

Segundo Silva et al. (2019) o aumento da estabilidade pode estar relacionado com a maior quantidade de proteínas presentes nas emulsões com mais MOPN. As moléculas de proteína são capazes de se difundir em solução e adsorver na interface, modificando sua estrutura tridimensional de forma a expor resíduos de aminoácidos hidrofílicos à porção aquosa e resíduos de aminoácidos hidrofóbicos à fase oleosa. Devido a isso, a tensão interfacial do sistema é reduzida e a formação de um sistema coloidal, como emulsões, é possível. Dessa forma, maior quantidade de proteínas presentes em solução e disponíveis para estabilizar a interface contribui para maior estabilidade das emulsões (LAM e NICKERSON, 2013). Além disso, aumentar a concentração de mucilagem no meio torna a fase contínua da emulsão mais viscosa, dificultando a movimentação das gotas de óleo e retardando os efeitos da floculação, coalescência e consequente separação de fases (SILVA et al. 2019).

5.2.3. Microscopia das emulsões

Os diâmetros médios das gotículas de óleo de salmão presentes nas emulsões foram obtidos por meio das micrografias de luz e estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5 – Diâmetro médio das gotículas de óleo das emulsões com diferentes concentrações de MOPN.

Tratamentos	Diâmetro (μm)
A	$2,97 \pm 0,03^a$
B	$1,84 \pm 0,06^b$
C	$1,32 \pm 0,02^c$
D	$0,86 \pm 0,02^d$

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor

Nota-se que todos os tratamentos foram estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$) e que o incremento da concentração de MOPN reduziu gradativamente o diâmetro médio das gotículas de óleo. Além disso, na Figura 3 (a) é possível perceber que o aumento da concentração de mucilagem da emulsão influenciou na formação de uma grande quantidade de gotas de óleo com diâmetro menores, confirmando maior estabilidade das emulsões ricas em MOPN.

Isto se deve ao fato de que maior quantidade de proteína (agente de superfície) fica disponível na solução quando mais mucilagem é utilizada, favorecendo a estabilização do sistema por reduzir a tensão superficial e formar gotículas de óleo com diâmetro menor (MCCLEMENTS, 2015). Conceição et al. (2014), usando uma técnica microscópica, mostraram que para emulsão com 2% de MOPN, o diâmetro das gotas variou entre 2 – 10 μm . Junqueira et al. (2018) relataram que a faixa de distribuição do diâmetro da gota de óleo para a emulsão preparada com uma concentração de 1% (m/m) de MOPN diminuiu consideravelmente em comparação com 0,5% (m/m) e que houve um aumento da frequência relativa dos diâmetros compreendidos entre 1 – 11 μm , resultando em emulsões mais homogênea e estáveis. Sendo assim, verifica-se que os resultados encontrados no presente trabalho corroboram com os disponíveis na literatura para MOPN, já que os diâmetros obtidos experimentalmente ($0,86 \pm 0,02$ a $2,97 \pm 0,03 \mu\text{m}$) compreendem-se dentro da faixa encontrada por Conceição et al. (2014) e Junqueira et al. (2018).

Figura 3 – Emulsões elaboradas com diferentes concentrações de MOPN (0 a 1,5% (m/m)). (a) Micrografia de luz das emulsões (400x); (b) Observação visual das emulsões após homogeneização; (c) Características visuais das partículas obtidos de cada emulsão.



Fonte: Do autor.

5.2.4. Cor

Os parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , C^* e h^* obtidos para as emulsões e para as partículas estão dispostos na Tabela 6. No espaço de cores, L^* indica translucidez que é definida como a propriedade dos materiais de transmitir e dispersar a luz, e varia de objetos totalmente transparentes a opacos (HUTCHINGS, 2011). A partir da Tabela 6 verifica-se que aumentando a concentração de MOPN, o parâmetro L apresentou uma diminuição correspondente ao escurecimento observado para emulsões. Tais amostras tornaram-se mais opacas, o que pode estar relacionado ao diâmetro das gotículas de óleo. De acordo com Chanamai e McClements (2000), o tamanho da gota de óleo em uma emulsão contribui para as propriedades macroscópicas, como cor e opacidade. Além disso, Rao e McClements (2012), em estudos de nanoemulsão, observaram uma diminuição da transparência e consequente opacidade da amostra, com o aumento da concentração de óleo e do diâmetro das gotas de óleo formadas. O aumento da opacidade também foi observado para as partículas com maiores concentrações de MOPN o que, segundo Lago et al. (2019) e Lima Junior et al. (2013) pode ser justificado pela coloração escura exibida por este hidrócoloide.

Tabela 6 – Parâmetros de cor para emulsões e partículas com diferentes concentrações de MOPN.

	Tratamentos	L*	a*	b*	C*	h*
Emulsões	A	74,39 ± 0,09 ^a	3,03 ± 0,02 ^c	19,35 ± 0,06 ^d	19,58 ± 0,06 ^c	81,08 ± 0,08 ^b
	B	64,76 ± 0,09 ^b	4,42 ± 0,03 ^b	22,60 ± 0,08 ^a	23,02 ± 0,09 ^a	78,93 ± 0,05 ^b
	C	60,30 ± 0,17 ^c	4,76 ± 0,07 ^a	22,02 ± 0,30 ^b	22,53 ± 0,31 ^a	77,81 ± 0,03 ^c
	D	59,14 ± 0,51 ^d	4,67 ± 0,04 ^a	21,40 ± 0,22 ^c	21,90 ± 0,23 ^b	77,68 ± 0,03 ^c
Partículas	A	55,78 ± 0,18 ^a	9,06 ± 0,03 ^a	32,23 ± 0,09 ^a	33,48 ± 0,09 ^a	74,30 ± 0,01 ^b
	B	40,29 ± 0,00 ^b	6,42 ± 0,03 ^b	24,61 ± 0,01 ^b	25,43 ± 0,00 ^b	75,41 ± 0,01 ^a
	C	26,58 ± 0,21 ^c	5,79 ± 0,05 ^c	19,33 ± 0,02 ^c	20,18 ± 0,01 ^a	73,32 ± 0,16 ^c
	D	24,71 ± 0,02 ^d	4,64 ± 0,06 ^d	16,78 ± 0,07 ^d	17,41 ± 0,06 ^a	74,57 ± 0,24 ^b

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna para emulsões ou partículas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor.

Ainda, na Tabela 6 nota-se que tanto as emulsões, quanto as partículas apresentaram coloração avermelhada e amarela, indicada pelos valores positivos de a^* e b^* e pelos valores de h^* próximos de 90° . Vale ressaltar que a^* aponta a variação de cor entre vermelho ($+a^*$) e verde ($-a^*$), b^* denota a variação entre amarelo ($+b^*$) e azul ($-b^*$), o ângulo Hue (h^*) assinala a tonalidade e demonstra que valores próximos de 90° estão relacionados a cores próximas do amarelo e por fim o parâmetro croma (C^*) indica a intensidade de uma determinada cor.

Os resultados encontrados no presente trabalho eram esperados, já que a coloração vermelha amarelada é característica de óleo de salmão devido ao alto teor de astaxantina (3,3'-dihidroxi-caroteno-4,4'-diona) que consiste em um carotenoide de cor rosa avermelhada (HAQ et al., 2017). Os valores médios dos parâmetros de cor do óleo de salmão analisado neste trabalho também confirmam a influência deste óleo na coloração das emulsões e partículas ($a^* = 6,22 \pm 0,02$; $b^* = 26,82 \pm 0,09$; $C^* = 27,53 \pm 0,09$; e $h^* = 76,94 \pm 0,03$).

Ademais, esta coloração vermelha amarelada também pode ter sofrido influência da MOPN, já que Lima Junior et al. (2013) mostrou em seus estudos que h^* dos extratos de MOPN indicava coloração vermelha e amarela, antes e após a filtração em coluna de carvão ativada e Silva et al. (2019) relataram um valor de ângulo Hue de $81,56 \pm 0,05$ para a mucilagem dos frutos de ora-pro-nóbis, valor muito próximo aos encontrados neste trabalho.

5.3. Caracterização das Partículas

5.3.1. Atividade de água

Como é bem conhecido, a oxidação lipídica de óleos ou alimentos oleosos é altamente afetada pela atividade de água (A_w). Em ambientes muito secos ou muito úmidos, a taxa de oxidação lipídica é acelerada. Porém em umidades intermediárias, próximas ao teor de água da monocamada, a oxidação lipídica atinge um mínimo (VASILE et al., 2016). Nesta condição, a água hidrata os íons metálicos diminuindo sua capacidade catalítica, liga-se aos hidroperóxidos interferindo na sua decomposição e bloqueia os poros e capilares para a difusão do oxigênio livre dificultando o progresso da oxidação lipídica (DOBARGANES et al., 2003).

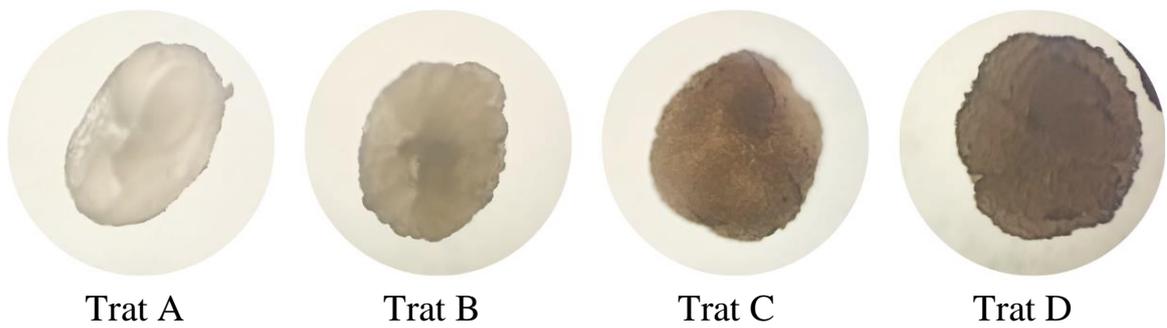
Os resultados para a A_w (Tabela 8) das partículas com óleo de salmão demonstra que não houve diferença significativa entre os tratamentos e, portanto, as amostras são igualmente susceptíveis a oxidação lipídica com base neste parâmetro. Segundo Velasco et al. (2009), a faixa máxima de A_w para proteção de lipídios em alimentos tem sido considerada entre 0,2 e 0,35, valores muito próximos aos obtidos neste trabalho ($0,348 \pm 0,012$ a $0,364 \pm 0,005$), indicando que as partículas conferem certa proteção ao óleo de salmão. Resultados semelhantes foram obtidos por Vasile et al. (2016) ao encapsular óleo de peixe utilizando alginato, quitosana e goma de *Prosopis alba*. Os autores observaram que as partículas de alginato de sódio e quitosana apresentaram A_w de 0,368, já as partículas adicionadas de goma de *Prosopis alba* mostraram uma A_w de 0,453.

5.3.2. Microscopia da partícula

A concentração de polímeros empregada influencia diretamente na morfologia das partículas, podendo alterar o formato, o tamanho e a regularidade superficial das partículas (SARKER et al., 2014).

A partir da Figura 4, percebe-se que as partículas apresentaram um formato esférico irregular, com superfície porosa, sendo que os tratamentos com maior teor de MOPN exibiram paredes mais rugosas. A maior rugosidade de partículas também foi observada por Sarker et al. (2014) empregando alginato de sódio e gelatina para síntese de microesferas. Os autores observaram que concentrações mais elevadas de gelatina em detrimento de alginato geraram micropartículas com estrutura irregular e mais rugosa, associada à interação entre os biopolímeros.

Figura 4 – Micrografia de luz das partículas.



Fonte: Do autor.

A partir da Tabela 7 nota-se que os diâmetros médios das partículas variaram de 1,04 a 1,53 mm e os maiores valores foram registrados para as partículas com maior concentração de MOPN, o que possivelmente ocorreu devido a elevada viscosidade dessas emulsões. Em seus estudos, Davarci et al. (2017) mostraram que o diâmetro das partículas analisadas aumentou à medida em que houveram acréscimos na concentração de biopolímero, bem como incrementos na viscosidade das soluções formadoras de partículas. Os autores ainda afirmaram que soluções com viscosidades muito altas (> 500 mPa.s) são difíceis de bombear e podem causar deformações nos grânulos, o que explica o formato esférico irregular dos tratamentos ricos em MOPN.

Vasile et al. (2016) encontraram resultados semelhantes quanto a morfologia de suas partículas. Suas esferas de alginato e quitosana com ausência ou presença de goma de *Prosopis alba* apresentaram forma esférica e tamanho uniforme com diâmetros de $1,13 \pm 0,07$ e $1,49 \pm 0,06$ mm, respectivamente. A partícula com goma de *Prosopis alba* exibiu características de material seco, enquanto os grânulos sem goma mostraram-se oleosos e pegajosos. Este comportamento também foi registrado no presente trabalho, no qual as partículas sem MOPN apresentaram excesso de óleo em sua superfície.

Por fim, verificou-se que as partículas com MOPN apresentaram uma estrutura mais densa que pode ser relacionada a presença de polissacarídeos em sua composição. Segundo Vasile, Judis e Mazzobre (2017) os polissacarídeos presentes em hidrocoloides podem atuar preenchendo vazios na rede polimérica, dando origem a uma estrutura mais densa e compacta. De acordo com esses autores, partículas formadas somente por alginato apresentam grandes poros, todavia, na presença de gomas as cavidades se tornam menores e uniformemente distribuídas o que pode ter relação com as propriedades emulsionantes do hidrocoloide. Sendo assim, emulsões mais estáveis dão origem a partículas com estrutura mais densa, o que corrobora com os resultados encontrados no presente trabalho.

Tabela 7 – Diâmetro médio das partículas com diferentes concentrações de MOPN.

Tratamentos	Diâmetro (mm)
A	1,04 ± 0,09 ^b
B	1,17 ± 0,07 ^b
C	1,42 ± 0,14 ^a
D	1,53 ± 0,10 ^a

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Do autor

5.3.3. Distribuição de óleo na partícula

O efeito da formulação na distribuição de óleo na partícula é um aspecto importante a ser estudado, pois foi constatado que a proporção de óleo de superfície tem um efeito significativo na estabilidade oxidativa global de um determinado produto, especialmente para óleos encapsulados altamente susceptíveis a oxidação (VELASCO et al., 2009). Ademais, Calvo et al. (2012) descobriram que a distribuição de óleo em grânulos depende principalmente das propriedades da matriz encapsulante.

No presente trabalho, o tratamento D, que possui a maior quantidade de MOPN, apresentou a menor fração de óleo livre: a quantidade de óleo na superfície foi de $14,21 \pm 0,89$ g/100 g partículas em comparação ao tratamento A que não apresentava MOPN em sua formulação e continha $21,55 \pm 2,21$ g/100 g partículas. A mucilagem promoveu a maior retenção de óleo durante a etapa de liofilização, resultando em quantidades de óleo interno de $65,08 \pm 1,52$, $64,36 \pm 1,40$ e $63,41 \pm 1,32$ g óleo encapsulado/100 g grânulos, para os tratamentos B, C e D, respectivamente. Tais tratamentos foram estatisticamente iguais, sendo diferentes apenas do tratamento A (sem adição de MOPN) que apresentou $52,96 \pm 4,39$ g óleo interno/100 g de partículas. Quanto ao óleo total, observa-se novamente que os tratamentos que continham MOPN apresentaram uma quantidade de óleo superior ao tratamento sem esse hidrocoloide, indicando novamente que a mucilagem auxiliou na encapsulação de uma maior quantidade de óleo nos hidrogéis e conseqüentemente, as partículas com MOPN foram menos oleosas e pegajosas durante o manuseio.

Tabela 8 – Caracterização das partículas com diferentes concentrações de MOPN.

Trat	OS (g/100 g)	OI (g/100 g)	OT (g/100 g)	EE (%)	IP (mEq/Kg)	Aw
------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------	----------------	----

A	21,55 ± 2,21 ^a	52,96 ± 4,39 ^b	74,51 ± 6,11 ^b	71,09 ± 1,61 ^c	9,12 ± 0,32 ^b	0,348 ± 0,012 ^a
B	18,36 ± 0,68 ^{ab}	65,08 ± 1,52 ^a	83,44 ± 2,18 ^a	78,00 ± 0,28 ^b	10,11 ± 2,76 ^b	0,364 ± 0,005 ^a
C	17,35 ± 1,09 ^{bc}	64,36 ± 1,40 ^a	81,71 ± 0,50 ^{ab}	78,77 ± 1,41 ^{ab}	6,11 ± 1,64 ^{bc}	0,363 ± 0,006 ^a
D	14,21 ± 0,89 ^c	63,41 ± 1,32 ^a	77,62 ± 1,69 ^{ab}	81,69 ± 0,95 ^a	2,47 ± 0,86 ^c	0,361 ± 0,007 ^a
Óleo	-	-	-	-	18,0 ± 3,46 ^a	-

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor.

Vasile et al. (2016) também verificaram que a presença do hidrocoloide de *Prosopis alba* diminuiu a quantidade de óleo superficial de $7,87 \pm 0,47$ para $1,68 \pm 0,04$ (g/100 g partículas) e aumentou a quantidade de óleo interno de $72,22 \pm 2,82$ para $76,42 \pm 1,75$ (g óleo encapsulado/100 g partículas) quando comparado ao tratamento sem a goma. Em um estudo posterior, tais autores reafirmaram que a utilização da goma de *Prosopis alba* permitiu a obtenção de partículas com menor teor de óleo superficial e maior percentual de óleo interno, o que foi justificado pelas propriedades emulsionantes desta goma (VASILE; JUDIS e MAZZOBRE, 2017)

Segundo Vasile, Judis e Mazzobre (2017) as propriedades das emulsões podem afetar a distribuição de óleo nas partículas de forma que emulsões mais estáveis, com tamanho de gota mínimo reduzem o óleo não encapsulado na superfície das partículas. Além disso, outros autores observaram que uma emulsão estabilizada evita a difusão de gotas de óleo para a superfície durante a formação da crosta de gel, aumentando a eficiência de encapsulação (AGHBASHLO et al., 2012) e reduzindo as perdas ativas durante a geração dos grânulos. Portanto, pode-se afirmar que o fato da MOPN formar emulsões estáveis com gotículas de óleo pequenas contribuiu para melhorar a capacidade de retenção de óleo na matriz de hidrogel, diminuindo o teor de óleo superficial nas partículas. Ainda, a mucilagem pode ter contribuído na etapa de liofilização reduzindo a contração do gel aumentando assim a retenção de óleo na estrutura interna das partículas secas, como foi relatado nos estudos de Chan (2011).

5.3.4. Eficiência de encapsulação

A partir da Tabela 8, é possível notar que a menor eficiência de encapsulação foi registrada para o tratamento A, enquanto o maior valor foi observado para o tratamento D, indicando que a presença e o aumento da concentração da MOPN contribuíram para uma maior retenção de óleo nos hidrogéis.

A retenção de óleo do interior da partícula e conseqüentemente a eficiência de encapsulação tem sido relacionada às características estruturais dos grânulos, bem como à efetividade do processo de gelificação (CHAN, 2011). A esse respeito a MOPN provavelmente promove a formação de uma barreira no hidrogel, melhorando a densidade de gelificação devido a interações entre alginato de sódio e mucilagem e também devido a presença de polissacarídeos em sua composição. Como mencionado anteriormente, os polissacarídeos presentes nos hidrocoloides podem atuar preenchendo os espaços vazios na rede polimérica favorecendo a formação de uma matriz mais compacta. Além disso, Pongjanyakul e Puttipipatkachorn (2007) afirmam que a adição de gomas à matriz de alginato aumenta a tortuosidade do material encapsulante limitando a difusão do princípio ativo. Assim, a MOPN também poderia estabelecer pontes de hidrogênio intermoleculares com outros polieletrólitos na matriz do hidrogel aumentando a tortuosidade e dificultando a saída do óleo. Ainda, as melhores propriedades emulsificantes das blendas compostas por ALG e MOPN provavelmente contribuem para a maior retenção, proporcionando uma barreira física na interface óleo/água que dificulta a difusão do óleo.

Estudos como os de Pongjanyakul e Puttipipatkachorn (2007) e Vasile, Judis e Mazzobre (2017) corroboram com os resultados encontrados neste trabalho. No primeiro estudo, os autores verificaram uma melhor capacidade de aprisionamento das partículas de alginato adicionadas de goma xantana como excipiente e o incremento na concentração deste hidrocoloide implicou em aumentos na eficiência de encapsulação dos hidrogéis. Da mesma forma, o segundo estudo observou uma melhor retenção de óleo de peixe em partículas contendo goma de *Prosopis alba*. A eficiência de encapsulação passou de $89,95 \pm 0,6\%$ para $98,63 \pm 0,0\%$ quando o hidrocoloide foi adicionado na composição dos grânulos.

5.3.5. Estabilidade Oxidativa - Índice de Peróxido

A estabilidade do óleo de peixe encapsulado foi avaliada através do índice de peróxido (IP) que indica a quantidade de produto resultante da oxidação primária. Assim, quanto maior o índice de peróxido maior a oxidação e, quanto menor o índice de peróxido maior a estabilidade oxidativa.

Observou-se na Tabela 8 que a encapsulação proporcionou a diminuição da oxidação do óleo de salmão, uma vez que o óleo livre apresentou um IP muito superior ($18,0 \pm 3,46$ mEq de O_2 /Kg de óleo) aos óleos encapsulados. Além disso, verificou-se que o aumento na concentração da MOPN também contribuiu para melhorar a estabilidade oxidativa do óleo de

salmão, sendo o tratamento com maior adição de MOPN (Trat D), o que obteve o menor IP ($2,47 \pm 0,86$ mEq de O_2 /Kg de óleo) e consequentemente a maior estabilidade oxidativa. Este resultado é justificado pela capacidade do material de parede reter o lipídio em sua estrutura interna, bem como seu papel como barreira à difusão de oxigênio. Como visto anteriormente, incrementos na concentração de MOPN contribuíram para uma estrutura mais densa que favoreceu a retenção de óleo no interior do hidrogel, protegendo o princípio ativo da oxidação lipídica. Além disso, a estrutura mais compacta pode atuar como uma barreira ao oxigênio, impedindo a difusão do mesmo para o interior das partículas. Gallardo et al. (2013) relataram que uma maior estabilidade oxidativa foi parcialmente explicada por uma menor permeabilidade ao oxigênio da matriz que pode ser modulada pela composição polimérica da matriz encapsulante.

Ainda, de acordo com Vasile et al (2016) a luz também pode ter um impacto significativo na formação dos produtos de oxidação primária. Os autores revelaram que os óleos de peixe encapsulados em matrizes de alginato, quitosana e goma de *Prosopis alba*, foram mais estáveis quanto a oxidação lipídica o que está relacionado a capacidade de retenção de óleo da goma, mas também está ligado à presença de pigmentos naturais, principalmente taninos e polifenóis, que podem desempenhar um papel importante como filtro de luz, evitando o efeito catalítico da luz na foto-oxidação lipídica e contribuindo para explicar a proteção lipídica observada. Resultados semelhantes foram relatados por Jiménez-Aguilar et al. (2011) que analisaram a proteção da cor em extrato de mirtilo encapsulado com goma alfarroba. Novamente a coloração do hidrocoloide influenciou na proteção do princípio ativo contra a oxidação. Partindo deste princípio, a coloração escura da MOPN pode ter contribuído para a maior estabilidade oxidativa do óleo de salmão e o aumento da MOPN, implicou em partículas mais escuras que auxiliaram para a obtenção de IP mais baixos.

5.3.6. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR

Os espectros de FTIR obtidos no presente trabalho (Figura 5) foram comparáveis aos relatados por Silva et (2019) e Vasile et al (2016). Verificou-se uma banda ampla de absorção próximo a 3300 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo OH, demonstrando a afinidade do ALG e da MOPN por moléculas de água, propriedade típica de componentes hidrofílicos (SAHA e BHATTACHARYA, 2010; SILVA et al., 2019). Em 3012 cm^{-1} observa-se o estiramento de $=\text{CH}$ *cis* presentes nas múltiplas ligações duplas dos ácidos graxos poliinsaturados, já nos picos

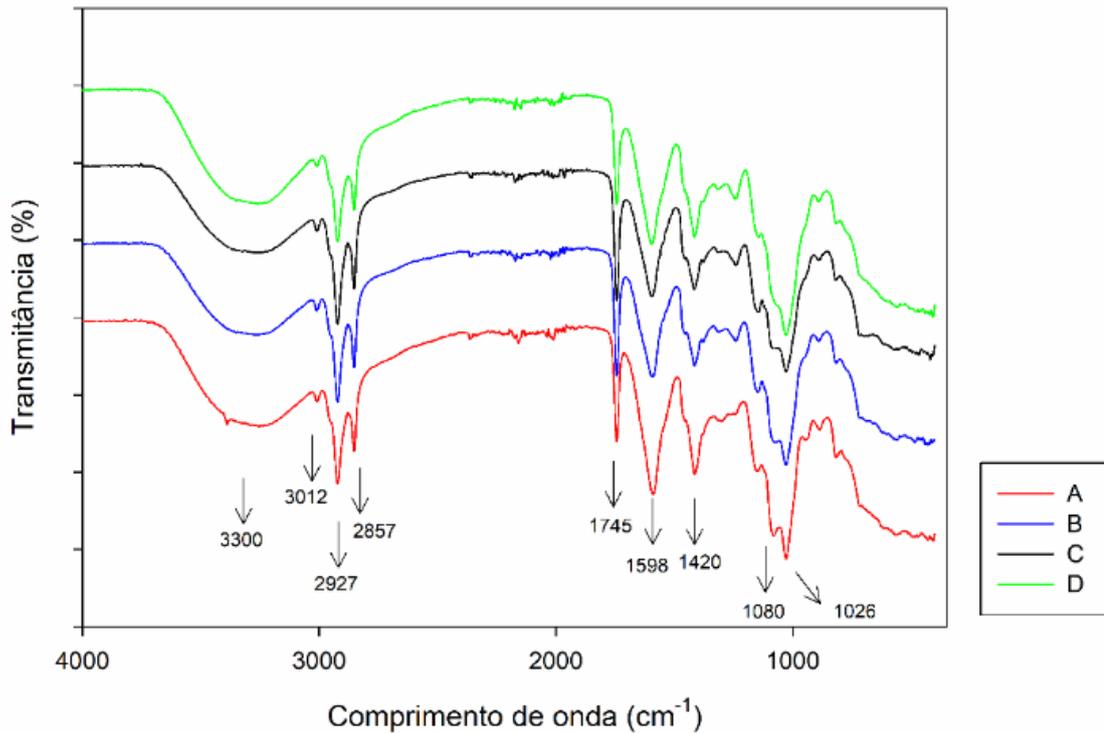
2927 e 2857 cm^{-1} verifica-se o estiramento das ligações CH dos esqueletos de metil e metileno presentes nos lipídeos, o que revela a presença do óleo de salmão nas partículas sintetizadas.

Em 1598 cm^{-1} vemos o alongamento de CO ou a vibração assimétrica de COO presentes no alginato e na MOPN. É possível notar que este pico é maior para o Tratamento A e sofre uma redução para os tratamentos B, C e D, que provavelmente está relacionado ao processo de gelificação de ALG e MOPN com o íon cálcio, indicando que a MOPN atua juntamente com o ALG na formação das partículas.

O pico em 1420 cm^{-1} está relacionado à deformação axial simétrica da ligação COO-característica de polissacarídeos como ALG e MOPN (NASTAJ et al., 2016). Também observou-se uma ligeira diminuição deste pico para os tratamentos acrescidos de MOPN o que pode acontecer devido a interações entre o alginato e a mucilagem. Em torno de 1250 cm^{-1} verificou-se uma banda referente a interação eletrostática entre os grupos amino protonados da quitosana e os grupos carboxilato dissociados do alginato de sódio e mucilagem de ora-pro-nóbis (VASILE et al., 2016). Próximo a 1080 cm^{-1} e 1026 cm^{-1} notou-se picos que demonstram a vibração do estiramento CO e C-O-C grupo presentes na MOPN e no ALG (SILVA et al., 2019; VASILE et al., 2016).

De uma forma geral, a mudança da intensidade de alguns picos, mostra que houve uma interação entre alginato e MOPN e as semelhanças nos espectros FTIR de todos os tratamentos não revelam interações entre óleo de peixe e materiais de parede. De acordo com Aghbashlo et al. (2012), isso poderia evidenciar que o óleo de peixe está fisicamente aprisionado em ambos os sistemas.

Figura 5 - Espectroscopia no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)



Fonte: Do autor.

6. CONCLUSÃO

Foi possível sintetizar hidrogéis utilizando mucilagem de *ora-pro-nobis*, alginato e quitosana. Os resultados indicaram que a mucilagem atuou juntamente com o alginato de sódio na reticulação das cadeias, confirmando sua capacidade de interagir com outros polímeros e com a água para formação de géis.

A análise reológica das emulsões precursoras dos hidrogéis mostrou que maiores teores de MOPN formaram emulsões com comportamento pseudoplástico, mais viscosas e mais estáveis. A presença da MOPN melhorou as propriedades do material de parede, proporcionando maior retenção de óleo de peixe nas partículas, bem como maior proteção do princípio ativo contra a oxidação lipídica.

O presente trabalho fornece informações úteis sobre as propriedades funcionais da mucilagem estudada, mostrando seu potencial de aplicação no desenvolvimento de novos sistemas de encapsulamento, com os benefícios adicionais que resultam do uso de um recurso pouco utilizado, renovável e economicamente viável.

Por fim, as propriedades das partículas sintetizadas evidenciam que as mesmas podem ser aplicadas na encapsulação de óleos, bem como para o encapsulamento de aditivos alimentares e compostos bioativos. Ademais a sua aplicação no enriquecimento de alimentos com baixos teores de ômega-3 faz-se de interesse principalmente para grupos da terceira idade, podendo ser empregado por exemplo em azeite, que possui pouco ômega-3 quando comparado a outros óleos vegetais.

REFERÊNCIAS

ABREU, F. O. M. S.; BIANCHINI, C.; FORTE, M. M. C.; KIST, T. B. L. Influence of the composition and preparation method on the morphology and swelling behavior of alginate–chitosan hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 283-289, 2008.

AGHBASHLO, M.; MOBLI, H.; MADADLOU, A.; RAFIEE, S. The correlation of wallmaterial composition with flow characteristics and encapsulation behavior of fish oil emulsion. **Food Research International**, 2012.

ALMEIDA-FILHO, J.; CAMBRAIA, J. Estudo do valor nutritivo do “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata* Mill.). **Ceres**, v. 21, p. 105-111, 1974.

AMARAL, T. N.; JUNQUEIRA, L. A.; PRADO, M. E. T.; CIRILLO, M. A.; ABREU, L. R.; COSTA, F. F.; RESENDE, J. V. Blends of *Pereskia aculeata* Miller mucilage, guar gum, and gum Arabic added to fermented milk beverages. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 331-342, 2018.

AOAC Official Method Cd 14.019. **Acid hydrolysis Method**. AOAC Official Methods of Analyses. 1984.

BAKER, R. **Controlled release of biologically active agents**. New York: John Wiley & Sons, 1986. p.206-214.

BAKER, ELLA J.; MILES, ELIZABETH A.; BURDGE, GRAHAM C.; YAQOOB, P.; CALDER, PHILIP C. Metabolism and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans. **Progress in Lipid Research**, p. 30-56, 2016.

BHATTARAI, N; GUNN, J; ZHANG, M. “Chitosan-based hydrogel from controlled, localized drug delivery”. **Advanced Drug Release Reviews**, v. 62, p. 83-99, 2010.

BHATTARAI, R.S.; DHANDAPANI, N.V.; SHRESTHA, A. Drug delivery using alginate and chitosan beads: An Overview. **Chronicles of Young Scientists**, v. 2(4), p. 192 – 196, 2011.

CALVO P. CASTAÑO; AL, LOZANE, M.; GONZALEZ GÓMEZ, D. Influence of the microencapsulation on the quality parameters and shelf-life of extra-virgin olive oil encapsulated in the presence of BHT and different capsule wall components. *Food Research International*, v. 45, n. 1, p. 256–261, 2012.

CHAN, E. S. Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. p. 1267-1275, 2011

CHANAMAI, R.; MCCLEMENTS, D. J. Dependence of Creaming and Rheology of Monodisperse Oil-In-Water Emulsions on Droplet Size and Concentration. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 172, p. 79 – 86, 2000.

CHEN, T.; SONG, L.; ZHONG, X.; ZHU, Q.; HUO, J.; CHEN, J.; TAN, S.; LIAN, X. Dietary polyunsaturated fatty acids intake, air pollution, and the risk of lung cancer: A prospective study in UK biobank. **Science of the Total Environment**, 2023.

CONCEIÇÃO, M. C.; JUNQUEIRA, L. A.; SILVA, K. C. G.; PRADO, M. E. T.; RESENDE J. V. Thermal and microstructural stability of a powdered gum derived from *Pereskia aculeata* Miller leaves. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p. 104–114, 2014.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R.M.; CHIELLINI, E. CHITOSAN - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical Applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 981-1014, 2011.

DAVARCI, F.; TURAN, D.; OZCELIK, B.; PONCELET, D. The influence of solution viscosities and surface tension on calcium alginate microbead formation using dripping technique. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 119 -127, 2017.

DE LUCCA, J.M. Cápsulas duras com enchimento líquido ou semi-sólido: uma revisão sobre sua produção e aplicação na liberação de fármacos. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, n. 3, p. 458-467, 2005.

DE PRISCO, A.; MARESCA, D.; ONGENG, D.; MAURIELLO, G. Microencapsulation by vibrating technology of the probiotic strain *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 to enhance its survival in foods and in gastrointestinal environment. **LWT- Food science and technology**, v. 61, n. 6, p. 452-462, 2015.

DUBEY, R.; BAJPAI, J.; BAJPAI, A. K. Chitosan-alginate nanoparticles (CANPs) as potential nanosorbent for removal of Hg(II) ions. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, 2016.

ETCHEPARE, M. D. A. Microencapsulation of probiotics by extrusion method associated with electrostatic interactions. **Food Technol.**, 2015.

ETCHEPARE, M. A.; RADDATZ, G. C.; FLORES, É. M. M.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPEZ, E.; BARIN J. S.; GROSSO, C. R. F.; MENEZES, C. R. Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. **LWT- Food Science and Technology**, v. 65, p. 511-517, 2016.

Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO). **Fats and Fatty Acids in Human Nutrition**; Report of an Expert Consultation; FAO/WHO: Rome, Italy, 2008.

FUNAMI, T. Rheological properties of sodium alginate in aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and binding. **Food Hydrocolloids**, 2009.

GIBBS, B.F. Encapsulation in the food industry: a review. **Int. J. Food Sci. Nutr.**, v.50, p.213-224, 1999.

HAQ, M.; AHMED, R.; CHO, Y. J.; CHUN, B. S. Quality Properties and Bio-potentiality of Edible Oils from Atlantic Salmon By-products Extracted by Supercritical Carbon Dioxide and Conventional Methods. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, p.1953–1967, 2017.

HOLKEM, A. T.; CODEVILLA, C. F.; MENEZES, C. R. Emulsificação/gelificação iônica interna: alternativa para microencapsulação de compostos bioativos. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 116-124, 2015.

HUTCHINGS, J. B. Food colour and appearance. **Springer Science & Business Media**. 2011.

INNES, JACQUELINE K.; CALDER, PHILIP C. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2018.

ISCHAKOV, R. "Peptide-based hydrogel nanoparticles as effective drug delivery agents". **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 3517-3522, 2013.

JAHANBIN, K. Isolation, purification and characterization of a new gum from *Acanthophyllum bracteatum* roots. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 14–21, 2012.

PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of hydrocolloids**. 2. ed. Cambridge: CRC Press, 2009.

JIMÉNEZ-AGUILAR, D. M.; ORTEGA-REGULES, A. E.; LOZADA-RAMÍREZ, J. D.; PÉREZ-PÉREZ, M. C.; VERNON-CARTER, E. J.; WELTI-CHANES, J. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 6, p. 889-894, 2011.

JUNQUEIRA, L. A. et al. Rheological behavior and stability of emulsions obtained from *Pereskia aculeata* Miller via different drying methods. **International Journal of Food Properties**, v. 21, n. 1, p. 109, 2018.

KHADGE, S.; SHARP, J.; THIELE, G. Dietary omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids modulate hepatic pathology. **Journal of Nutritional Biochemistry**, p. 92-102, 2018.

LAGO, A. M. T.; NEVES, I. C. O.; OLIVEIRA, N. L.; BOTREL, D. A.; MINIM, L. A.; DE RESENDE, J. V. Ultrasound-assisted oil-in-water nanoemulsion produced from *Pereskia aculeata* Miller mucilage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 50, p. 339-353, 2018.

LAM, R.S.H., NICKERSON, M.T. Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure-function approach. **Food Chemistry**, v. 141, p. 975–984. 2013

LEE, J. W.; KIM, S. Y.; KIM, S. S.; LEE, Y. M.; LEE, K. H.; KIM, S. J. Synthesis and characteristics of interpenetrating polymer network hydrogel composed of chitosan and poly(acrylic acid). **Journal of Applied Polymer Science**, v. 73, n. 1, p. 113–120, 1999.

LEMKE, S. Expressão gênica do PPAR α e alterações séricas e teciduais de triglicerídeos em ratos realimentados com frutose e tratados com óleo de salmão. **Journal of Applied Polymer Science**, 2012.

LI, S.; WANG, X.; ZHANG, X.; YANG, R.; ZHANG, H.; ZHU, L.; HOU, X. Studies on alginate–chitosan microcapsules and renal arterial embolization in rabbits. **Journal of Controlled Release**, v. 84, p. 87–98, 2002.

LI, Y. O.; DIOSADY, L. L.; WESLEY, A. S. Iodine stability in iodized salt dual fortified with microencapsulated ferrous fumarate made by an extrusion-based encapsulation process. **Journal Food Engineering**, v. 99, p. 232-238, 2010.

LIMA JUNIOR, F. A. et al. Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 38–47, 2013a.

LINDER, M.; FANNI, J.; PARMENTIER, M. Proteolytic Extraction of Salmon Oil and PUFA Concentration by Lipases. **Marine Biotechnology**, v. 15, p. 70-76, 2005.

LISERRE, A. M.; RÉ, M. I.; FRANCO, B. D. G. M. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* in modified alginate-chitosan beads and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. **Food Biotechnology**, v. 21, n.1, p. 1-16, 2007.

LÓPEZ, FRANCO Y. CORDOVA MORENO; R. GOYROOLEA, F. M.; VALDEZ, M. A.; JUAREZ ONAFRE; LIZARDI MENDOZA. Classification and physiochemical Characterization of mesquite gum (*Prosopis* spp.). **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 159-166, 2012.

MACHADO, W.; BARBOSA, L.; SOUZA, R. Fish oil associated to ascorbic acid in diluter for cryopreservation goat semen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, 2018.

MARTIN, A. Chemical structure and physical-chemical properties of mucilage from the leaves of *Pereskia aculeata*. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 20–28, 2017.

MARTINEVSKI, C. S. Utilização de Bertalha (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) e Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) na elaboração de pães. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, n. 3, p. 1–6, 2013.

MATRICARDI, P; MEO, C. D; COVIELLO, T; HENNINK, W. E; ALHAIQUE, F. “Interpenetrating polymer networks polysaccharide hydrogels for drug delivery and tissue engineering”. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.65, p. 1172-1187, 2013.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practice, and Techniques**. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2015.

MERCÊ, A. L. R.; LANDALUZE, J. S.; MANGRICH, A. S.; SZPOGANICZ, B.; SIERAKOWSKI, M. R. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , and Ni^{2+} . **Bioresource Technology**, v. 76, p. 29-37, 2001.

MILANI, J.; MALEKI, G. Hydrocolloids in Food Industry. In: **Food Industrial Processes - Methods and Equipment**. InTech Open, p. 17–38. 2012.

MORAIS, L. C.; NEVES, I. C. O.; BATISTA, G. A.; SILVA, M. L. M.; VALENTIM, T. T.; MOL, P. C. G.; RESENDE, J. V.; THOMASI, S. S; VERÍSSIMO, L. A. A. Protein recovery from Barbados gooseberry (*Pereskia aculeata* Miller) leaves by salting out and isoelectric precipitation. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**. v. 18, n. 2, p. 419-430, 2019.

MORAIS, M. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technol.**, v.42, n.4, p.136-151, 2001.

NASTAJ, J.; PRZEW, A.; RAJKOWSKA M. Biosorption of Ni(II), Pb(II) and Zn(II) on calcium alginate beads: equilibrium, kinetic and mechanism studies. **Polish Journal of Chemical Technology**, v. 18, p. 81-87, 2016.

OLIVEIRA, N. L.; RODRIGUES, A. A.; OLIVEIRA I. C. N.; LAGO, A. M. T.; BORGES, S. V. ; DE RESENDE, J. V. . Development and characterization of biodegradable films based on *Pereskia aculeata* Miller mucilage. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 499-510, 2019.

PAGANI, A. A. C.; OLIVEIRA, M. C.; XAVIER, A. C. R.; MORAIS, A. L. B.; NUNES, T. P.; SILVA, G. F. Study of the process of getting the drops of papaya (*carica papaya* L.) per basic spherification. **International Journal of Engineering and Innovative Technology (IJEIT)**, v. 4, n. 6, 2014.

PASIN, B. L., AZÓN, C. G., GARRIGA, A. M. Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, 3(1), 130-151, 2012.

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

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, n. 7, p. 641–678, 2009.

PONGJANYAKUL, T.; PUTTIPIATKHACHORN S. Xanthan–alginate composite gel beads: Molecular interaction and in vitro characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 331, n. 1, p. 61-71, 2007.

RAO, J.; MCCLEMENTS D.J. Food-grade microemulsions and nanoemulsions: role of oil phase composition on formation and stability. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 326-334, 2012.

REEVES, W. G.; DAMAY, E. C.; HAMILTON, W. L.; HANSEN, P. A.; LINDON, J. N.; SOREBO, H. A. Process for preparing superabsorbent-containing composites. Patente dos Estados Unidos 6376011, 2002.

RINAUDO, M. Biomaterials based on a natural polysaccharide: alginate. **TIP**, v. 17, n. 1, p. 92 – 96, 2014.

SAHA, D.; BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. **Journal Food Science and Technology**, v. 47, n. 6, p. 587–597, 2010.

SARKER, B.; PAPAGEORGIOU, D. G.; SILVA, R., ZEHNDER, T.; GUL-E-NOOR, F.; BERTMER, M.; KASCHTA, J.; CHRISAFIS, K.; DETSCH, R.; BOCCACCINI, A. R. Fabrication of alginate–gelatin crosslinked hydrogel microcapsules and evaluation of the microstructure and physico-chemical properties. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, p. 1470-1482, 2014.

SATHIVEL S. Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss and lipid oxidation of pink salmon fillets (*Oncorhynchus gorbuscha*) during frozen storage. **Carbohydrate Polymers**, 2005.

SILVA, S. H.; NEVES, I. C. O.; OLIVEIRA, N. L.; OLIVEIRA, A. C, F.; LAGO, A. M. T.; GIAROLA, T. M. O.; RESENDE. J. V. Extraction processes and characterization of the mucilage obtained from green fruits of *Pereskia aculeata* Miller. **Industrial Crops & Products**, v. 140, 2019.

STEFFE, J. F. et al. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. 2. ed. Michigan: Freeman, 1996.

TAKEITI, C. Y. et al. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, p. 148–160, 2009.

VALENZUELA, A. El salmon: um banquete de salud. **Rev. chil. nutr.**, v.32, n.1, 2005.

VASILE, F. E.; MARTINEZ, M. J.; RUIZ-HENESTROSA, V. M. P.; JUDIS, M. A.; MAZZOBRE, M. F. Physicochemical: interfacial and emulsifying properties of anon-

conventional exudate gum (*Prosopis alba*) in comparison with gumarabic. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 245–253, 2016.

VASILE, F. E.; JUDIS, M. A.; MAZZOBRE, M. F. *Prosopis alba* exudate gum as novel excipient for fish oil encapsulation in polyelectrolyte bead system. **Carbohydrate Polymers**, v. 166, p. 309-319, 2017.

VELASCO, J.; HOLGADO, F.; DOBARGANES, C.; MÁRQUEZ-RUIZ, G. Influence of relative humidity on oxidation of the free and encapsulated oil fractions in freeze-dried microencapsulated oils. **Food Research International**, v. 42, n. 10, p. 1492-1500, 2009.

WEISS, L.A.; CONNOR, E.B.; MÜHLER, D.V. Ratio of n-6 to n-3 fatty acids and bone mineral density in older adults: the Rancho Bernardo Study. **Am. J. Clin. Nutr**, 2005.

YANG, J. Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, 2015.

ZOU, Q. Microencapsulation of *Bifidobacterium bifidum* F-35 in reinforced alginate microspheres prepared by emulsification/internal gelation. **International Journal of Food Science and Technology**, 2011.