

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE  
ENCAPSULADO A BASE DE EXTRATO RICO EM  
CAROTENOIDES DE MELÃO CANTALOUPE  
(*Cucumis melo* L. *Cantalupensis*) E PROTEÍNA DO  
SORO DO LEITE**

MARY LOUIZE QUERINO DE ARAÚJO AMARAL

NATAL-RN

2018

MARY LOUIZE QUERINO DE ARAÚJO AMARAL

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE  
ENCAPSULADO A BASE DE EXTRATO RICO EM  
CAROTENOIDES DE MELÃO CANTALOUPE  
(*Cucumis melo* L. cantalupensis) E PROTEÍNA DO SORO  
DO LEITE**

*Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de graduação em  
Nutrição da Universidade Federal do  
Rio Grande do Norte como requisito  
final para obtenção do grau de  
Nutricionista.*

Orientadora: *Prof.<sup>a</sup> Dra. Thais Souza Passos*

NATAL-RN

2018

MARY LOUIZE QUERINO DE ARAÚJO AMARAL

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE  
ENCAPSULADO A BASE DE EXTRATO RICO EM  
CAROTENOIDES DE MELÃO CANTALOUPE  
(*Cucumis melo* L. *Cantalupensis*) E PROTEÍNA DO  
SORO DO LEITE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Thais Souza Passos

Orientador

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Bruna Leal Lima Maciel

2º membro

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Priscilla Moura Rolim Madeira

3º membro

Natal, 30 de maio de 2018

## DEDICATÓRIA

*Dedico carinhosamente à minha família especificamente Mãe, Pai e Esposo, que não mediram esforços para me auxiliar independente das situações durante toda minha graduação acadêmica, sempre me estimulando aos estudos, contribuindo para que esse momento um dia se concretizasse.*

*A vocês, todo meu amor!*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a Deus pela conquista de subir um degrau nessa vida em que o caminho é bastante longo e árduo. Ele com todo seu cuidado tem me sustentado a cada dia, e com continua prova do seu amor coloca em meu caminho pessoas incríveis para que os dias da nossa jornada se tornem bem mais leves. Obrigada Deus!

Sou grata pela vida de meus pais que em meio às dificuldades estavam sempre dispostos a me consolar com palavras de animo e conforto, que geravam em mim novas forças para enfrentar as adversidades. E estavam comigo não só nas dificuldades, mas também se alegravam comigo pelas mínimas conquistas.

Agradeço ainda a meu esposo, Daniel, que sempre esteve comigo durante toda minha graduação. Sempre acompanhou e ajudou de forma impar me incentivando a ir além do que eu achava que conseguiria.

Não posso deixar de agradecer aos amigos que conquistei durante essa graduação. Aprendemos, estudamos, tivemos duvidas e evoluímos juntos, mas no intervalo entre uma aula e outra também conversávamos, ríamos e “driblamos” os problemas de forma mais animada. Aqueles mais próximos, Nathalia, Angélica, Eduardo, Marina, Leticia e toda minha turma de nutrição 2014.1, muito obrigada.

A todo o corpo docente do Departamento de Nutrição, que foi crucial para minha formação acadêmica, tenho em vocês exemplo de profissional a ser seguido. A vocês meus sinceros agradecimentos.

Por fim, mas não menos importante, quero agradecer a minha orientadora Thais Passos, por ter dedicado parte do seu tempo para me auxiliar na elaboração desse trabalho, por sua paciência em repassar um pouco do seu conhecimento, sempre disponível e acessível, não só a mim como a tantas outras orientandas e também alunos. Obrigada, professora.

“Em tudo daí graças, porque esta é a vontade de Deus” (1 Ts 5:18)

## EPÍGRAFE

“Sim, coisas grandiosas fez o Senhor  
por nós, por isso estamos alegres.”

(Salmos 126:3)

AMARAL, M. L. Q. A **Obtenção e caracterização de encapsulado a base de extrato rico em carotenoides de melão Cantaloupe (*Cucumis melo* L. cantalupensis) e proteína do soro do leite**. 2018. f 44. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

## RESUMO

Carotenoides são pigmentos lipossolúveis, de coloração amarela, laranja e vermelha, presentes nos alimentos e, desempenham papéis fisiológicos importantes em humanos, animais e plantas. São altamente susceptíveis às reações oxidativas, sendo necessária a utilização de mecanismos eficientes, que funcionem como protetores dessas moléculas. O objetivo do presente trabalho foi obter e caracterizar o encapsulado contendo extrato rico em carotenoides oriundos do melão Cantaloupe (*Cucumis melo* L. cantalupensis). A extração dos carotenoides foi feita a partir da fruta *in natura* fracionada, seca em estufa ventilada (55°C/26h) e, triturada em liquidificador. Para obtenção do extrato, foi utilizado etanol 95% (1:4 p/v), e realizada sob proteção da luz. Em seguida, foi realizada partição com hexano (1:1 v/v) e solução de hidróxido de sódio 10% (1:10 v/v). O extrato obtido foi levado ao rotavapor e, em seguida ao fluxo de nitrogênio, para garantir a evaporação total do solvente. O extrato bruto foi caracterizado quanto ao teor de carotenoides totais por espectrofotometria UV-visível e  $\beta$ -caroteno por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência. O encapsulado foi obtido pela técnica de emulsificação, utilizando óleo de soja, proteína concentrada do soro do leite como agente encapsulante e, Tween 20 como tensoativo. Após a encapsulação foram realizadas diversas análises para caracterizar as partículas obtidas (Tamanho de partícula, Potencial Zeta, MEV, DRX e FTIR) e, avaliar a eficiência de incorporação (EI%). Os resultados da caracterização apontaram que o extrato bruto apresenta 46,2 (4,9)  $\mu\text{g}$  de carotenoides/g de polpa de melão Cantaloupe e 29,2 (2,93)  $\mu\text{g}$   $\beta$ -caroteno/g de polpa. Os resultados de caracterização físico e química do material encapsulado mostraram que o tamanho de partícula e índice de polidispersão foram, respectivamente, de 150,7 (37,45) nm e 0.56 (0.02). O Potencial Zeta obtido foi de 14,2 (0,25) mV, indicando que as partículas quando dispersas em água apresentam valor dentro da faixa de instabilidade, que pode gerar agregação, floculação e/ou precipitação. A MEV mostrou a presença de partículas esféricas com superfície lisa, garantindo que o núcleo está protegido. O DRX apontou a estrutura amorfa do material. Os resultados de FTIR mostraram que houve interações químicas entre o extrato bruto e o agente encapsulante

utilizado. A EI apresentou um resultado satisfatório de 80,5% (3,17). Portanto, foi possível observar que a técnica utilizada permitiu a encapsulação do extrato rico em carotenoides de melão Cantaloupe, o que pode ajudar a aumentar o potencial de utilização dessas substâncias em alimentos industrializados.

**PALAVRAS CHAVE:**  $\beta$ -caroteno. Encapsulação. Emulsificação. Proteína do soro do leite concentrada.



## ABSTRACT

Carotenoids are yellow, orange, and red liposoluble pigments present in food and play important physiological roles in humans, animals, and plants. They are highly susceptible to oxidative reactions, requiring the use of efficient mechanisms that act as protectors of these molecules. The objective of the present study was to obtain and characterize the encapsulate containing extract rich in carotenoids from Cantaloupe melon (*Cucumis melo L. cantalupensis*). The extraction of the carotenoids was made from the fresh fruit fractionated, dried in a ventilated oven (55°C/26h) and powdered in a blender. To obtain the extract, ethanol 95% (1:4 w/v) was used, under light protection. Partitioning was then performed with hexane (1:1 v/v) and 10% sodium hydroxide solution (1:10 v/v). The obtained extract was taken to the rotavapor and then to the nitrogen flow, to ensure the total evaporation of the solvent. The crude extract was characterized as the total carotenoid content by UV-visible spectrophotometry and  $\beta$ -carotene by Ultra High Performed Liquid Chromatography. The encapsulation was obtained by the emulsification technique using soybean oil, concentrated whey protein concentrate as encapsulating agent and Tween 20 as a surfactant. After the encapsulation, several analyzes were carried out to characterize the particles (Particle Size, Zeta Potential, SEM, XRD, and FTIR) and to evaluate the incorporation efficiency (EI%). The results of the characterization indicated that the crude extract presented 46.2 (4.9)  $\mu\text{g}$  of carotenoids/g of Cantaloupe melon pulp and 29.2 (2.93)  $\mu\text{g}$   $\beta$ -carotene/g of pulp. The results of the physical and chemical characterization of the encapsulated material showed that the particle size and polydispersity index were, respectively, 150,7 (37.45) nm and 0.56 (0.02). The Zeta Potential obtained was 14.2 (0.25) mV, indicating that the particles, when dispersed in water, have a value within the instability range, which can generate aggregation, flocculation and/or precipitation. SEM showed the presence of spherical particles with a smooth surface, ensuring that the nucleus is protected. The XRD showed to the amorphous structure of the material. The FTIR results showed that there were chemical interactions between the crude extract and the encapsulating agent used. The EI presented a satisfactory result of 80,5% (3,17) Therefore, it was possible to observe that the technique used allowed the encapsulation of the carotenoid-rich extract of Cantaloupe melon, which may help to increase the potential use of these substances in industrialized foods.

**KEYWORDS:**  $\beta$ -carotene. Encapsulation. Emulsification. Whey protein concentrate.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Cromatograma obtido por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência do extrato bruto rico em carotenoides de melão Cantaloupe: a – padrão de  $\beta$ -caroteno (Sigma®); b-  $\beta$ -caroteno presente no extrato da polpa de melão Cantaloupe..... 29
- Figura 2.** Micrografia obtida por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura das partículas em pó encapsuladas obtidas pela técnica emulsificação.....29
- Figura 3.** Distribuição de tamanho por Difração a Laser das partículas em pó encapsuladas obtidas pela técnica emulsificação.....30
- Figura 4.** Espectrofotometria no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR): a – material encapsulado; b – proteína do leite concentrada e; c – extrato rico em carotenoides do melão Cantaloupe.....30
- Figura 5.** Difratoformas de raio X das partículas em pó obtidas pela técnica de emulsificação e do agente encapsulante utilizado. A – Proteína concentrada do soro do leite; B – encapsulado em proteína concentrada do soro do leite.....31

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	12
<b>ARTIGO ORIGINAL</b> .....	13
<b>RESUMO</b> .....	14
<b>ABSTRACT</b> .....	14
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	15
<b>RESULTADOS</b> .....	19
<b>DISCUSSÃO</b> .....	21
<b>CONCLUSÕES</b> .....	25
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	25
<b>APÊNDICES</b> .....	29
<b>ANEXOS</b> .....	32

## APRESENTAÇÃO

A elaboração do presente trabalho surgiu por meio do projeto de pesquisa intitulado “Desenvolvimento de extrato microencapsulado contendo carotenoides de melão de polpa salmão: produção, caracterização e avaliação da estabilidade em iogurte” coordenado pela Professora Doutora Thaís Souza Passos, o qual tinha como objetivos Extrair e caracterizar os carotenoides da variedade de melão de polpa alaranjada; Obter o material encapsulado utilizando extrato rico em carotenoides, gelatina suína e/ou proteína do soro de leite, pela técnica de emulsificação e secagem por liofilização; Caracterizar as partículas obtidas por meio de difusão dinâmica da luz, infravermelho por transformada de Fourier, difração de raio-X, microscopia eletrônica de varredura e, eficiência de encapsulação e Produzir iogurte adicionado de extrato encapsulado, armazená-lo durante 60 dias e avaliar a estabilidade da cor por método instrumental.

Os objetivos foram definidos a partir da necessidade de ampliar os estudos visando promover o aumento do potencial de utilização dos carotenoides em alimentos industrializados, por meio da técnica de encapsulação que garantirá o aumento da estabilidade frente aos fatores de processamento e armazenamento e, da solubilidade em matriz alimentar. Nesse sentido, foi estabelecido o objetivo de obter e caracterizar o extrato rico em carotenoides, oriundos de melão Cantaloupe (*Cucumis melo L.*), encapsulado em proteína do soro do leite concentrada e, avaliar a eficiência de incorporação, visando promover o aumento do potencial de utilização dos carotenoides em alimentos industrializados.

Minha participação como aluna de iniciação científica nesse projeto ocorreu no período de agosto de 2016 até agosto de 2017, e consistiu na realização de análises para obtenção de extrato rico em carotenoides a partir da polpa de melão cantaloupe; produção e caracterização de material encapsulado (Tamanho de partícula, Potencial Zeta, MEV, DRX e FTIR) e, avaliar a eficiência de incorporação (EI%).

Os dados obtidos foram organizados para a defesa do TCC da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em formato de artigo, escrito para publicação no periódico da revista *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, com classificação de Qualis A2 para Nutrição.

## ARTIGO ORIGINAL

### **Obtenção e caracterização de encapsulado a base de extrato rico em carotenoides de melão Cantaloupe (*Cucumis melo* L. cantalupensis) e proteína do soro do leite.**

Mary Louize Q. de Araújo Amaral<sup>1</sup>, Anny K. O. C. Medeiros<sup>2</sup>, Camila C. Gomes<sup>3</sup>, Luciana Medeiros<sup>1</sup>, Dayane Lopes Porto<sup>4</sup>, Cícero Flávio S. Aragão<sup>4</sup>, Bruna Lima Maciel<sup>1,2</sup>, Ana H. A. Morais<sup>1,2,3</sup> e Thais S. Passos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 59078-970, Brazil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 59078-970, Brasil; [anny-cavalcanti@hotmail.com](mailto:anny-cavalcanti@hotmail.com) (A.K.O.C.M.); [thais\\_spassos@yahoo.com.br](mailto:thais_spassos@yahoo.com.br) (T.S.P.)

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 59078-970, Brazil; [camila.carvalhog@hotmail.com](mailto:camila.carvalhog@hotmail.com) (C.C.G)

<sup>4</sup>Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, CEP: 59012-570, Brazil

\*Correspondência: [thais\\_spassos@yahoo.com.br](mailto:thais_spassos@yahoo.com.br)

## RESUMO

Os carotenoides do melão Cantaloupe (*Cucumis melo* L. cantalupensis) foram encapsulados em proteína do soro do leite concentrada, pela técnica emulsificação. As partículas obtidas foram caracterizadas por técnicas físicas e químicas e avaliadas segundo a eficiência de incorporação (EI%). Os resultados apontaram que o extrato bruto apresenta 46.2 (4.9) µg de carotenoides/g de polpa de melão e 29.2 (2.93) µg β-caroteno/g de polpa. O tamanho de partícula e índice de polidispersão obtidos para o encapsulado foram de 150.7 (37.45) nm e 0.56 (0.02). O MEV mostrou partículas esféricas e com superfície lisa e, o DRX apontou estrutura amorfa no material. O FTIR indicou interação entre o extrato bruto e material de parede. A EI apresentou um resultado satisfatório de 80.5% (3.17). Com base nisso, foi possível observar que a técnica utilizada é promissora para ajudar a aumentar o potencial de aplicação de carotenoides em alimentos.

**PALAVRAS CHAVE:** β-caroteno. Encapsulação. Emulsificação. Proteína do soro do leite concentrada.

## ABSTRACT

Carotenoids of Cantaloupe melon (*Cucumis melo* L. cantalupensis) were encapsulated in whey protein concentrate by the emulsification technique. The obtained particles were characterized by physical and chemical techniques and evaluated according to the incorporation efficiency (EI%). The results showed that the crude extract presented 46.2 (4.9) µg of carotenoids/g of melon pulp and 29.2 (2.93) µg β-carotene/g of pulp. The particle size and polydispersity index obtained for the encapsulation were 150.7 (37.45) nm and 0.56 (0.02). The SEM showed spherical particles with a smooth surface, and the XRD indicated amorphous structure in the material. The FTIR indicated an interaction between the crude extract and wall material. The EI presented a satisfactory result of 80.5% (3.17). Based on this, it was possible to observe that the technique used is promising to help increase the potential of carotenoid application in foods.

**KEYWORDS:** β-carotene. Encapsulation. Emulsification. Whey Protein Concentrate.

## 1. INTRODUÇÃO

A cor possui três características distintas que são o tom, a intensidade e o brilho. Assim, cada produto apresenta aparência e cor esperadas que estão associadas às reações pessoais de aceitação<sup>1</sup>. A cor dos alimentos é o primeiro atributo que os consumidores avaliam quando determinam a qualidade de um produto, e, por conseguinte, as condições de sua aceitabilidade. Com base nisso, é utilizada para indicar se o produto está ou não próprio para o consumo<sup>2</sup>.

Alguns alimentos industrializados originalmente não apresentam cor e, em muitos casos, a coloração é alterada ou destruída durante o processamento e/ou estocagem. Sem valor nutritivo, os corantes são uma classe de aditivos introduzidos nestes alimentos com o intuito de conferir, intensificar, restaurar e/ou uniformizar sua cor, tornando estes mais atrativos<sup>3</sup>.

No Brasil, a regulamentação do uso de aditivos para alimentos, inclusive corantes, é de competência da ANVISA. Apesar deste órgão permitir o uso dos corantes artificiais<sup>4</sup> estes têm como matéria-prima substâncias químicas que apresentam grande potencial carcinogênico já estabelecido, sendo preocupante a utilização desses corantes no alimento. Uma vez que, a maioria dos alimentos coloridos é destinada as crianças sendo frequente o relato de reações alérgicas sofridas pelo consumo dessas substâncias<sup>5</sup>.

A preferência pelo uso de corantes artificiais é definida pelas vantagens apresentadas em relação aos naturais, pois estes são sensíveis à luz, ao calor e à presença de oxigênio. Além disso, os sintéticos propiciam muitas vezes cores intensas e, menores custos de obtenção<sup>6</sup>.

Contudo, é importante salientar que o sucesso no emprego de corantes naturais reside em controlar a matéria-prima (extração, purificação e formulação), de modo a gerar soluções simples e de baixo custo para a indústria alimentícia. Os corantes naturais podem apresentar alto poder de tingimento quando obtidos de forma adequada e manipulados corretamente. Além de propriedades funcionais atribuídas a alguns desses pigmentos<sup>7</sup>.

Como por exemplo, os carotenoides, que são pigmentos lipossolúveis, de coloração amarela, laranja e vermelha, presentes em muitas frutas, vegetais, gema de ovo, crustáceos e alguns peixes<sup>8</sup>. Esses compostos são notáveis por possuírem ampla distribuição na natureza, estruturas químicas diversas e, funções variadas. Estão entre os constituintes alimentícios mais importantes, por ser considerados substâncias bioativas, com efeitos benéficos à saúde<sup>8,9</sup>.

Esses compostos são altamente susceptíveis às reações oxidativas, em virtude das duplas ligações conjugadas que apresentam estabilidade dependente não só da concentração de oxigênio, mas também da temperatura, da presença de luz, e da acidez<sup>10</sup>. Sendo necessária a utilização de mecanismos eficientes, que funcionem como protetores dessa molécula.

A encapsulação é uma técnica que consiste em imobilizar e proteger o material encapsulado (núcleo, ativo) em um agente encapsulante (material de parede, matriz polimérica), gerando partículas, cujo tamanho pode variar de nanômetros a milímetros, capazes de aumentar a estabilidade do núcleo mesmo sob condições adversas do meio. E ainda, promovendo a liberação do material encapsulado de forma controlada, exercendo a função esperada<sup>11,12</sup>.

Diante disso, este trabalho visa obter e caracterizar o extrato rico em carotenoides, oriundos de melão Cantaloupe (*Cucumis melo* L.), encapsulado em proteína do soro do leite concentrada e, avaliar a eficiência de incorporação, visando promover o aumento do potencial de utilização dos carotenoides em alimentos industrializados.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 MATERIAIS**

Foram utilizados 11 Kg de melão tipo comercial Cantaloupe (7Kg de polpa), adquiridos no comércio da cidade de Natal no estado do Rio Grande do Norte. Para encapsulação foi utilizado a proteína concentrada do soro do leite (Alibra®), Tween 20 (Sigma), óleo de soja (Lizza®), água destilada e extrato bruto de carotenoides do melão Cantaloupe.

### **2.2 PROCESSAMENTO DA POLPA DE MELÃO E OBTENÇÃO DO EXTRATO DE CAROTENOIDES**

Os melões foram submetidos à lavagem em água corrente, higienização em hipoclorito de sódio, remoção das cascas e sementes e, corte em pedaços de 2 cm de espessura.

A polpa fracionada foi seca em estufa ventilada (55°C/26h) e, submetida à moagem em liquidificador. Para obtenção do extrato, foi realizada a maceração em dias alternados até a exaustão em etanol 95% (1:4 m/v), sob proteção da luz. O extrato etanólico obtido



sofreu partição com hexano (1:1 v/v) e solução de hidróxido de sódio 10% (1:10 v/v), até a fase hexânica apresentar-se incolor.

O extrato apolar foi levado ao rotavapor (Buchi) e, em seguida ao fluxo de nitrogênio, para garantir a evaporação total do solvente, sendo posteriormente mensurado para o cálculo do rendimento, por meio da fórmula: extrato seco de melão *Cantaloupe*/ polpa de melão *Cantaloupe* seca x 100.

## 2.3 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO RICO EM CAROTENOIDES

### 2.3.1 Espectrofotometria UV-visível

O extrato foi analisado por espectrofotometria de varredura no UV-vísivel (Bel photonics 1105) na faixa de 200 a 700 nm, utilizando hexano, para verificar o comprimento de onda de máxima absorção.

Para calcular a concentração média de carotenoides foi utilizada a seguinte equação baseada em Biehler et al<sup>13</sup> no comprimento de onda de máxima absorção obtido por meio da espectrofotometria de varredura:  $C \text{ (mol/L)} = A_{450} \cdot FD/2592$  ( $d= 1\text{cm}$ ), na qual  $A_{450}$  é a absorbância média obtida no comprimento de onda de máxima absorção,  $FD$  é o fator de diluição ajustado para as determinações de absorbâncias do extrato seco solubilizado em hexano e, 2592 é o coeficiente de absorvidade molar do  $\beta$ -caroteno ( $\epsilon$ ). Cabe ressaltar que, utilizando a massa molar média do  $\beta$ -caroteno, segundo Biehler<sup>13</sup> o resultado foi expresso em micrograma/g de polpa de melão in natura ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).

Essas determinações foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição da UFRN.

### 2.3.2 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência

Para essa análise foi utilizada a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya<sup>14</sup> com modificações. Foi utilizado um cromatógrafo líquido de ultra eficiência (Shimadzu) acoplado a detector de arranjo de diodos (SPD-M20A), para separação e determinação da concentração de  $\beta$ -caroteno. A coluna utilizada foi do tipo XR-ODS (Shim-Pak®), C18 (30 x 20 mm; 2,2  $\mu\text{m}$ ).

O extrato foi solubilizado em acetato de etila (0,4mg/mL) e, foram injetados 5  $\mu$ L. A fase móvel utilizada foi um gradiente de eluição com os solventes acetonitrila e água (900: 99 v/v - fase A) e acetato de etila (fase B) na seguinte composição: 0 min, 100% A, 0% B; 5 min, 75% A, 25% de B; 10 min, 30% A, 70% de B; 13 min, 0% A, 100% B; 14 min, 100% A, 0% B; 20 min, 100% A, 0% B.

O fluxo utilizado na coluna foi de 0,5 mL/min. Uma curva de calibração para o padrão  $\beta$ -caroteno (Sigma Aldrich) (450 nm) foi previamente construída, utilizando o extrato bruto de melão Cantaloupe nas seguintes concentrações: 0,05, 0,1, 0,025, 0,05, 0,1, 0,15 e 0,2 mg/mL. A determinação de  $\beta$ -caroteno no extrato foi realizada em triplicata.

#### 2.4 PRODUÇÃO DE PARTÍCULAS A BASE DE PROTEÍNA DO LEITE CONCENTRADA E EXTRATO DE CAROTENOIDES

A encapsulação foi realizada a partir de Qian, Decker, Xiao & McClements<sup>15</sup>, com modificações. As partículas foram produzidas pela técnica de emulsificação O/A, seguida de homogeneização da emulsão obtida em uma segunda fase aquosa contendo o agente encapsulante, com posterior secagem por liofilização. O encapsulado foi formulado utilizando proteína concentrada do soro de leite (Alibra®), Tween 20 (Sigma), óleo de soja, água destilada e extrato bruto de carotenoides do melão Cantaloupe, obtido conforme descrito no item 2.2.

Foram formuladas duas fases aquosas:

- *Fase aquosa 1 (90 mL)* – 1,5% de Tween 20 em água destilada (p/v);
- *Fase aquosa 2 (100 mL)* – 4% de proteína de soro de leite concentrada em água destilada (p/v) e, 1,5% de Tween 20 (p/v).

Para a fase oleosa (10 mL), foram utilizados 0,5% de extrato de carotenoides e óleo vegetal de soja (p/v).

Para promover a formação da emulsão, a fase oleosa foi homogeneizada juntamente com a fase aquosa 1, sob ação de ultradispersor (17.000 rpm/10 min) (Ultra-Turrax, IKA®T18 basic). Posteriormente, a fase aquosa 2 foi homogeneizada a emulsão obtida, utilizando as mesmas condições mencionadas acima. A emulsão resultante foi seca por liofilização (LioTop L101) a temperatura de -57°C e pressão de 43 $\mu$ Hg.

#### 2.5 CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS OBTIDAS

### **2.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Para avaliação da morfologia, as partículas em pó foram dispersas em acetona e, gotejada em placa de silício ficada em *stub* utilizando fita de carbono ambas foram analisadas em diversos aumentos, utilizando alto vácuo, tensão de 2- 3 kV e sem metalização, em microscópio tipo MEV-FEG ZEISS (AURIGA).

### **2.5.2 Difração a laser**

Para a mensuração do tamanho de partícula, foram utilizados 30 mg de encapsulado dispersos em 4 mL de acetona sob agitação magnética a temperatura ambiente por 2 minutos. Posteriormente, foi adicionado na proporção 2 ml de formaldeído PA:1 acetona (v/v) e, a dispersão foi agitada por 10 minutos, para promover a reticulação das partículas e facilitar a análise de tamanho de partícula, por promover a desaglomeração. Após esse tempo, a dispersão foi filtrada e, a massa de partículas retida no papel de filtro qualitativo foi coletada para a realização da mensuração do tamanho de partícula por Difração à Laser. Sendo o material redisperso em 5 mL de acetona.

Em seguida, a dispersão foi disposta em cubeta de vidro e lida a 5 corridas/1 minuto, para a mensuração do diâmetro médio e o índice de polidispersão, no NanoBrook ZetaPlus Zeta Potencial Analyzer, software Brookhaven Instruments – ZetaPALS Particle Sizing. O experimento e as mensurações foram realizados em triplicata.

### **2.5.3 Potencial Zeta**

Para a mensuração do Potencial Zeta, 20 mg de encapsulado disperso em 4 mL de água, sendo em seguida disposto em cubeta de acrílico com eletrodos laterais. Foram realizadas 10 corridas durante 1 minuto cada, no aparelho NanoBrook ZetaPlus Potencial Analyzer, acoplado ao software Brookhaven Instruments – PALS Zeta Potencial Analyzer. As mensurações foram realizadas em triplicata.

### **2.5.4 Espectrofotometria no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

O extrato bruto rico em carotenoides, proteína do leite concentrada e material encapsulado foram submetidas à análise de FTIR, utilizando aparelho (SHIMADZU, IR Tracer-100) com resolução de espectros de  $0,25\text{cm}^{-1}$  obtidos na faixa de 400 a  $4000\text{cm}^{-1}$ .

### 2.5.5 Difração de raio X (DRX)

A proteína do leite concentrada e o material encapsulado foram analisados em difratômetro de raios X de alta resolução (SHIMADZU, modelo XRD 7000). Para esta análise, as amostras de proteína concentrada do leite e do encapsulado foram colocadas no porta amostra cilíndrico e analisadas em ângulo de difração  $2\theta$  entre 0 e 100°.

### 2.5.6 Eficiência de incorporação

A eficiência de incorporação (EI) foi determinada de acordo com a fórmula descrita abaixo (HU et al., 2015).

$$EI (\%) = (\text{extrato rico em carotenoides nas partículas} / \text{total de extrato de carotenoides utilizado}) \times 100$$

Foram utilizados 150 mg do encapsulado diluídos em 1ml de hexano. Em seguida, as amostras foram sonicadas por 3 minutos e, centrifugadas a 947 xg/20 minutos, para separação do sobrenadante. O procedimento foi realizado em triplicata e, repetido até exaustão da cor. A análise foi realizada em triplicata.

A absorvância do sobrenadante foi mensurada no espectrofotômetro a 450 nm, para determinar a concentração de extrato de carotenoides incorporada nas partículas, utilizando a equação da reta previamente obtida. O extrato seco rico em carotenoides do melão Cantaloupe foi utilizado para a construção da curva de calibração, nas concentrações 0,015; 0,030; 0,060; 0,10; 0,20 e 0,25 mg/mL.

## 3. RESULTADOS

### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO RICO EM CAROTENOIDES

Por meio da espectrofotometria de varredura no UV-visível, observou se que o comprimento de onda de maior absorção foi 450 nm. O qual foi usado para calcular a concentração dos carotenoides totais no extrato de melão. O conteúdo de carotenoides totais encontrado no extrato foi de 46,2 (4,9)  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de polpa de melão *in natura*.

A equação da reta obtida a partir da curva de calibração com o padrão de  $\beta$ -caroteno foi  $y = 10^7x - 77163$  ( $R^2 = 0,998$ ), a qual foi utilizada para determinar o conteúdo do pigmento presente na polpa. Com isso, a CLAE indicou a presença de 28,2  $\mu\text{g}$  (2,93)

de  $\beta$ -caroteno/g de polpa de melão var Cantaloupe *in natura* (Figura 1), devido ao pico de retenção observado em tempo similar ao da substância padrão ( $\cong 8$  min) e, também ao perfil espectrofométrico detectado (bandas em 425 nm, 450 nm e 478 nm).

### 3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS OBTIDAS APÓS ENCAPSULAÇÃO

As micrografias obtidas a partir do MEV, revelaram que haviam regiões com aglomerados de partículas (Figura 2). Porém, ainda assim foi possível visualizar a presença de partículas isoladas com superfície lisa e uniforme e, formato esférico.

O tamanho médio de partícula e índice de polidispersão determinados (Figura 3) foram, respectivamente, de 150,7 (37,45) nm e 0,56 (0,02) e, a distribuição foi unimodal.

O Potencial Zeta mensurado para as partículas dispersas em água foi de -14,2 (0,25) mV.

No espectro do FTIR (Figura 4) obtido para o extrato bruto rico em carotenoides do melão Cantaloupe, há presença de grupos hidrocarbonetos, observada pela presença das bandas de  $1557\text{ cm}^{-1}$  (vibração de estiramento C=C), e na região entre  $1450$  e  $1080\text{ cm}^{-1}$  (ligação C-C). E para a proteína de soro concentrada, as bandas de absorção das amidas I e II, respectivamente, foram observadas a  $1634\text{ cm}^{-1}$  e  $1516\text{ cm}^{-1}$ .

Observa-se a formação de novas bandas nas regiões de absorção de 2363, 1522, 1100, 942 e  $841\text{ cm}^{-1}$ .

A Figura 5 mostra os difratômetros obtidos no DRX para a proteína concentrada do leite e o encapsulado. É possível observar que, tanto o agente encapsulante isolado (proteína concentrada do soro de leite), quanto o encapsulado apresentaram estrutura amorfa, devido aos ruídos observados nos difratogramas.

#### 3.2.6 Eficiência de incorporação (EI)

A equação da reta obtida a partir da curva de calibração do extrato bruto rico em carotenoides foi de  $y = 3,054x + 0,012$  ( $R^2 = 0,9999$ ), utilizada na quantificação do mesmo presente no encapsulado para determinação da eficiência de encapsulação.

A EI obtida para o encapsulado à base de proteína do soro do leite concentrada e extrato bruto rico em carotenoides de melão Cantaloupe foi de 80.5% (3.17).

#### 4. DISCUSSÃO

No presente estudo foi realizada a extração e encapsulação de carotenoides oriundos do melão Cantaloupe (*Cucumis melo* L. var *cantalupensis*). O material obtido foi caracterizado por diferentes técnicas físico-químicas e, apresentaram resultados satisfatórios mediante comparação com a literatura.

Diversos fatores exercem influência importante para os teores de carotenoides presentes nas frutas, tais como condições climáticas, o estágio de maturação, a variedade, a área geográfica e, a estação do ano<sup>16</sup>. Além disso, as condições de extração e purificação também influenciam fortemente (solvente de extração, partição, tipo de amostra, entre outros) no teor de carotenoides totais e  $\beta$ -caroteno obtidos.

Melo<sup>17</sup> avaliaram a concentração de carotenoides totais em diferentes frutas e vegetais *in natura*. O método consistia na extração com acetona, seguida de partição em éter de petróleo. O estudo obteve como resultados de concentração de carotenoides totais para melão japonês (Cantaloupe) de 23,27 (1,25)  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Portanto, apresentando conteúdo de carotenoides totais inferiores ao encontrado no presente trabalho, podendo estar relacionada ao solvente utilizado para extração, estado de maturação da fruta, época do ano (período de safra e entressafra). E, principalmente, ao fato de a fruta estar na forma *in natura* e, a parede celular integra dificultar o acesso do solvente aos carotenoides.

Segundo Rodriguez-Amaya<sup>8</sup>, apenas alimentos que contenham mais de 20  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de carotenoides são importantes para a saúde. Desta forma, de acordo com o teor de carotenoides totais determinado, o consumo de melão Cantaloupe pode contribuir para o aporte nutricional de carotenoides.

Dada à concentração de  $\beta$ -caroteno encontrada no presente estudo é importante salientar que essa substância é um carotenoide com atividade de pró-vitamina A. Está presente na dieta por meio de frutas e vegetais coloridos e, desempenha papéis fisiológicos importantes<sup>18</sup>. Tais como crescimento, na diferenciação celular, reprodução, sistema imunológico e no funcionamento e manutenção normal dos epitélios<sup>19</sup>. Além disso, apresentam habilidade de desativar moléculas reativas de oxigênio *singlet*, produzidas secundariamente ao processo de fagocitose, agindo também como antioxidantes<sup>9</sup>.

Sabe-se que esses compostos bioativos são altamente susceptíveis às reações oxidativas, em virtude das duplas ligações conjugadas que apresentam estabilidade dependente não só da concentração de oxigênio, mas também da temperatura, da presença de luz, e da acidez e, isso contribui para a perda da coloração natural de vários alimentos<sup>10</sup>.

Visando melhorar o potencial de aplicação dos carotenoides como corante natural em alimentos, faz-se necessário o uso da técnica de encapsulação, a qual tem-se mostrado de grande importância na indústria de alimentos, em particular no desenvolvimento de alimentos funcionais. O setor alimentício tem incentivado o desenvolvimento de novas formas de conservação dos pigmentos, sendo o encapsulamento e a adição de antioxidantes as mais importantes<sup>20</sup>.

Várias técnicas são utilizadas para caracterizar as partículas encapsuladas, dentre elas pode-se destacar a MEV que fornece informações sobre as características morfológicas das partículas, tais como a presença de fissuras e poros, permitindo uma análise rápida e direta da eficiência do processo de encapsulação. A presença de fissuras e rachaduras na superfície do material pode comprometer a proteção oferecida ao encapsulado. Pode-se também, verificar a partir da MEV, a homogeneidade do tamanho físico das partículas formadas<sup>21</sup>.

Levando em consideração as imagens obtidas a partir da MEV, é possível inferir que a superfície lisa e boa esfericidade observadas podem refletir uma maior eficiência de encapsulamento. Entretanto, é possível notar tamanhos de partícula em ampla faixa de tamanhos, o que refletem um material heterogêneo quanto a essa distribuição, o que pode influenciar diretamente na estabilidade e solubilidade em matriz alimentícia. Com o objetivo de melhorar esse resultado, uma maior concentração de tensoativo no sistema, poderia exercer efeito positivo no que diz respeito à homogeneização dos tamanhos das partículas obtidas. Isso poderia resultar em uma diminuição do tamanho das partículas uma vez que todas as gotículas da emulsão seriam totalmente cobertas pelos tensoativos<sup>22</sup>.

De acordo com o tamanho de partícula obtido no presente estudo, é possível perceber um diâmetro reduzido das partículas, muito próximo da escala nanométrica (<100 nm). É importante salientar que o tamanho das partículas e sua distribuição são muito importantes e, influenciam significativamente na aparência, textura, estabilidade e, até mesmo, no sabor dos alimentos<sup>23</sup>. Entretanto, o índice de polidispersão obtido corrobora com o MEV em relação à presença de ampla faixa de tamanhos de partículas, o que pode influenciar principalmente na solubilização das partículas em matriz alimentícia.

Dentre os estudos que investigaram o valor do Potencial Zeta das diferentes suspensões de partículas, Silva et al.<sup>24</sup> produziram encapsulado contendo carotenoides, utilizando como material de parede a poli-caprolactona  $\epsilon$ - polímero (PCL) ( $M_w = 80.000$ ), monoestearato de sorbitano (Span 60), triglicérides

caprílico/caprílico (CCTs), e o Tween 80 como tensoativo e obtiveram valor de potencial zeta de  $-22,66$  ( $0,52$ ) mV. Este valor indica resultado semelhante aos observados no presente estudo, indicando que as partículas estão na faixa de instabilidade. Quando o potencial zeta apresenta valores  $>30$  mV ou  $<-30$  mV, as partículas apresentam-se na zona de estabilidade o que garante que o material quando disperso em água não sofrerá floculação, aglomeração e sedimentação, permitindo uma aplicação mais promissora em matriz alimentícia<sup>25</sup>.

As alterações que ocorrem na estrutura química do material encapsulado podem ser observadas por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Assim, é possível detectar alterações significativas na forma e posição das bandas de absorvância dos diferentes grupos funcionais do encapsulado, ou das moléculas livres<sup>26</sup>.

No espectro de FTIR do encapsulado foi possível notar bandas vibracionais similares às presentes no agente encapsulante utilizados. Além de novas bandas que podem indicar a interação entre a proteína concentrada do leite (b) e o extrato rico em carotenoides (c). A banda  $1634\text{ cm}^{-1}$ , também aparece com um estiramento mais forte no encapsulado, sugerindo uma interação entre a proteína concentrada do leite e o extrato de carotenoides, pois reflete a presença de ligação do tipo C=N. A banda  $1350\text{ cm}^{-1}$ , presente somente no encapsulado, indica a presença de ligações C-N, que reforça a interação entre os materiais, em virtude da presença de ligações com nitrogênio, composto presente na proteína concentrada.

A Difração de raio X (DRX) é uma técnica utilizada para avaliar o estado cristalino ou amorfo de materiais encapsulados. De forma geral, o material cristalino apresenta uma série de picos bem definidos, enquanto o amorfo gera picos alargados, não definidos e com ruídos<sup>27</sup>. Portanto, os ruídos observados na proteína concentrada do leite e no encapsulado indicam materiais com estrutura amorfa.

A matriz vítrea deve manter a sua estrutura ao longo do tempo e dessa forma proteger as substâncias ativas. De acordo com Slade & Levine<sup>28</sup> uma matriz amorfa na temperatura abaixo da sua transição vítrea,  $t_g$ , possui grande viscosidade molecular e as mudanças conformacionais macromoleculares são extremamente lentas.

Segundo a revisão de Collares, Kieckbusch & Finzer<sup>29</sup>, o fenômeno de adesividade ocorre quando um produto desidratado é exposto à temperatura acima da sua  $t_g$  e umidade alta, provocando a transição do estado vítreo para o estado borrachoso. Em outras palavras, nesta transição, o polímero passa de um estado rígido (vítreo) para um estado



onde as cadeias poliméricas possuem uma mobilidade maior dando origem ao comportamento de elasticidade<sup>30</sup>. Portanto, isso mostra que o material encapsulado obtido deve ser armazenado de forma correta, para que isso garanta sua maior vida útil, já que a estrutura está amorfa.

Uma encapsulação eficiente é particularmente dependente do desempenho do agente encapsulante que deve apresentar as seguintes funções: proteger o componente ativo da oxidação, luz, umidade e do contato com outras substâncias no armazenamento; prolongar o tempo de vida útil; prevenir a perda dos componentes voláteis encapsulados; resultar em um produto final de rápida dispersão, de fácil manuseio e que se incorpore em alimentos<sup>31</sup>.

Gomez-Mascaraque et al.<sup>32</sup> realizaram um estudo de encapsulação utilizando a técnica de emulsificação O/A, para melhorar a bioacessibilidade do  $\beta$ -caroteno. Foram utilizadas duas proteínas diferentes como agentes encapsulantes, a zeína e proteína do soro do leite concentrada. A fase aquosa das emulsões foi constituída da dispersão da proteína em água. E o óleo de soja foi usado como fase oleosa contendo  $\beta$ -caroteno (5%). O Tween 20® (5%) foi utilizado como tensoativo para estabilizar as emulsões. O ultradispersor foi o equipamento usado promover a emulsificação. Foi obtida maior eficiência de encapsulação para a emulsão a base de zeína 33% (9,0), enquanto que com a proteína do soro de leite a eficiência foi de apenas 6% (8,0).

Thakur et al.<sup>33</sup> tiveram como objetivo a produção de partículas contendo  $\beta$ -caroteno, utilizando a técnica de coacervação complexa com mistura de caseína (CA) e goma de guar (GG). A emulsão O/A foi obtida utilizando um homogeneizador (Remi Elektrotechnik Limited, Índia) a 9000 rpm/30 min ( $40 \pm 1^\circ\text{C}$ ). A maior eficiência de encapsulamento obtida foi de 66% (5.33).

Ambos estudos obtiveram o percentual de eficiência de encapsulação inferiores aos resultados obtidos no presente trabalho, fator que pode ser justificado pela utilização da técnica emulsificação seguida de dispersão em fase contendo agente encapsulante e tensoativo. A produção do material encapsulado feita em duas etapas, o que pode ter contribuído para uma maior estabilidade do material, resultando em melhor eficiência da técnica.

O Tween 20 é um tensoativo não-iônico, que apresenta Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico em torno de 16.7, sendo, portanto, considerado o emulsionante mais hidrofílico entre os do grupo dos não- iônicos<sup>34</sup>. Yuan et al.<sup>22</sup> avaliaram quatros tensoativos, dentre

ele Tween 20, 40, 60 e 80, na produção de nanodispersões de  $\beta$ -caroteno por emulsificação. O Tween 20 foi o tensoativo que produziu as menores partículas formadas.

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que a técnica empregada, utilizando a proteína concentrada do soro do leite como agente encapsulante foi satisfatória no que diz respeito à encapsulação de carotenoides, o que pode corroborar com estudos futuros visando à aplicação desses carotenoides em matriz alimentícia para avaliação da solubilidade e estabilidade de cor.

## CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, é possível concluir que a extração de carotenoides da polpa de melão Cantaloupe, foi satisfatória, em virtude do teor de carotenoides encontrados, principalmente de  $\beta$ -caroteno. As técnicas utilizadas permitiram uma encapsulação eficiente, visando um melhor aproveitamento desses compostos.

É importante incentivar a continuidade de mais estudos, a fim de avaliar outros parâmetros como solubilidade e estabilidade em matriz alimentícia até a aplicação desse material encapsulado em alimentos, visando à substituição dos corantes artificiais por pigmentos naturais que se mantenham estáveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Teixeira LV. Análise sensorial na indústria de alimentos. Rev. Inst. Latic, 2009, 366. 12-21.
- 2 - Fernández-García E, Carvajal-Lérida I, Jarén-Galán M, Garrido-Fernández J. Food Research International, 2012, 46. 438–450
- 3- FIOCRUZ. Relatório Geral: Ensaio de Proficiência em Produtos sujeitos ao Regime de Vigilância Sanitária: determinação de Corantes Artificiais em Bebidas não Alcoólicas. Rio de Janeiro, 2005. 11.
- 4 - Brasil, Decreto 50.040, de 24 de janeiro de 1961 1º. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Agência de Vigilância Sanitária. Brasília, DF. 1961.
- 5- Cunha M.R. Identificação e Qualidade de Corantes Sintéticos em Vários tipos de Balas Importadas. 1998
- 6 – Chr. Hansen. Dossiê especial. Corantes. Revista fi, 2016, 39. 24-46.
- 7 – Constant PBL, Stringheta PC, Sandi D. Corantes alimentícios. B.CEPPA, Curitiba, 2002, 20. 203-220.

- 8 - Rodriguez-Amaya DB, Kimura M, Amaya-Farfan J. Fontes brasileiras de carotenóides – Tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos, Ministério do Meio Ambiente, 2008.
- 9 - Pelissari FM, Rona MSS, Mاتيoli G. O licopeno e suas contribuições na prevenção de doenças. *Arq Mudi*. 2008, 12. 5-11.
- 10 - Costa CSM. Reações oxidativas. In COSTA CSM *Princípios de secagem de alimentos*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. 30-45.
- 11 - Simeoni CP. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, [s.l.], 2014, 18. 66-75.
- 12 - Leimann FV. Microencapsulação de óleo essencial de capim-limão, utilizando o processo de coacervação simples. 2008. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- 13 – Biehler E, Mayer F, Hoffmann L, Krause E, Bohn T. Comparison of 3 Spectrophotometric Methods for Carotenoid Determination in Frequently Consumed Fruits and Vegetables. *Journal Of Food Science*, [s.l.], 2010, 75.55-61.
- 14 - Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. Life Sciences. (1th ed.). Washington: ILSI Press, (chapter 6).
- 15 - Qian C, Decker E.A, Xiao H, & McClements, D.J. (2012). Nanoemulsion delivery systems: influence of carrier oil on  $\beta$ -carotene bioaccessibility. *Food Chemistry*, 135 (3), 1440–1447
- 16 - Setiawan B, Sulaeman A, Giraud DW, Driskell JA Carotenoid conteúdo de frutas indonésias selecionadas. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2001, 14. 169-166.
- 17 – Melo EA, Lima VLAG, Maciel MIS. Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. *Braz. J. Food Technol*. 2006, 9. 89-94.
- 18 –Hannoufa A, Hossain Z. Regulation of carotenoid accumulation in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2012, 1. 198–202
- 19 - World Health Organization (WHO). The optima duration of exclusive breastfeeding. Results of a who systematic review. 2002. 36.
- 20 – Carmo EL, Fernandes RVB, Borges SV. Microencapsulação por spray drying, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos, *Journal of Chemical Engineering and Chemistry*, 2015, 1. 30-44.

- 21 – Mamani JB. Estrutura e propriedades de Nanopartículas preparadas via Sol-gel. 2009. 184 f. Tese (Doutorado em ciências) – Instituto de Física, São Paulo, 2009.
- 22 - Yuan Y, Gao Y, Zhao J, Mao C. Characterization and stability evaluation of  $\beta$ -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions, *Food Research International*, 2008, 41. 61-68.
- 23 - Goyal A, Sharma V, Upadhyay N, Singh AK, Arora S, Lal D. et al. Development of stable flaxseed oil emulsions as a potential delivery system of  $\omega$ -3 fatty acids. *J. Food Sci. Technol.* 2015, 52; 4256-4265
- 24 - Silva MM, Paese K, Guterres SS, Pohlmann AR, Rutz JK. Thermal and ultraviolet-visible light stability kinetics of co-nanoencapsulated carotenoids. *Food And Bioproducts Processing*, 2017, 105. 86-94.
- 25 - Parlak M, Östürk Ö, Temel ÜN, Yapici K, editors. Heat transfer performance of water based nanofluids containing various types of metal oxide nanoparticles in an air-cooled microchannel heat exchanger. *Thermal and Thermomechanical Phenomena in Electronic Systems*; 2017.
- 26 - Spricigo, R. , Botelho, KCA , Consiglieri, VO , Serra, CHR. Obtenção e avaliação de complexos de inclusão de furosemida com  $\beta$ -ciclodextrina e hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrim: efeitos nas propriedades de dissolução da droga. *Lat Am Pharm* 2008, 27. 645-653.
- 27 - Caparino OA, Tang J, Nindo CI, Sablani SS, Powers JR, Fellman JK. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine ‘Carabao’ var.) powder, 2012,111. 135-148.
- 28 - Slade L, Levine, H. Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1991, 30. 115-360.
- 29 - Collares FP, Kieckbusch TG, Finzer JR. Transição vítrea e a secagem de pastas alimentícias sobre a superfície de sólidos inertes. In: XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2000, Campinas.
- 30 - Souza PP, Silva G, Amaral LO. O cotidiano é meio amorfo: Transição vítrea. *Química Nova na escola*, 2004, 20. 21-25.
- 31– Zuanon LAC. Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma (*cúrcuma Longa l.*) Em matrizes de gelatina, goma arábica e colágeno hidrolisado. 2012. 99 f. Dissertação

(Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto. 2012.

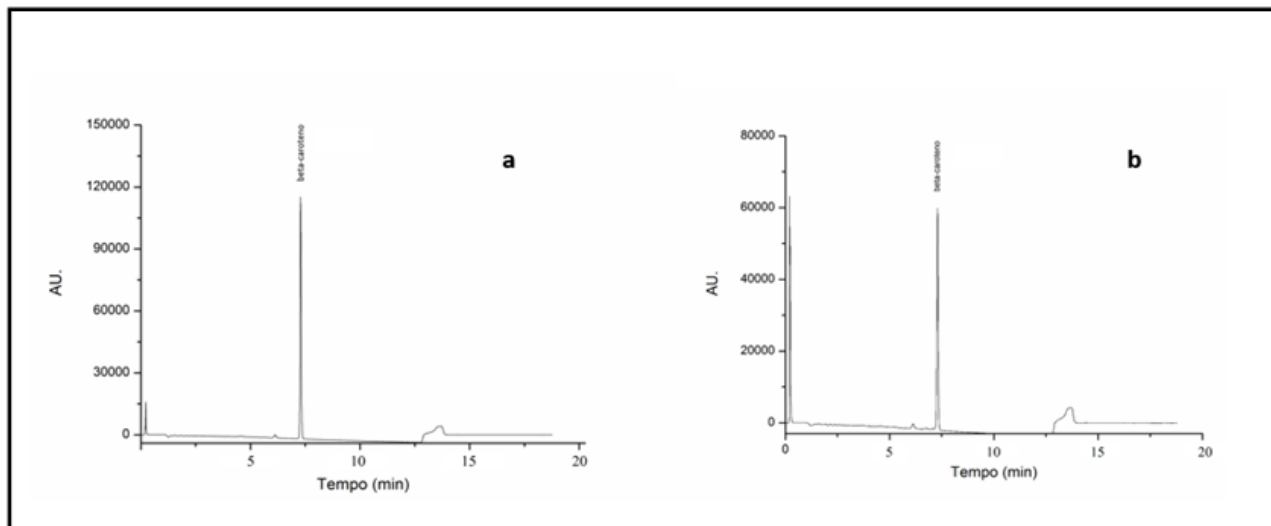
32 – Gómez-Mascaraque LG, Perez-Masiá R, González-Barrio R, Periago MJ, López-Rubio L. Potential of microencapsulation through emulsion-electrospraying to improve the bioaccessibility of  $\beta$ -carotene, *Food Hydrocolloids*, 2017, 8. 1-12.

33 - Thakur D, Jain A 1, Ghoshal G, Shivhare EUA, Katare OP. Microencapsulation of  $\beta$ -Carotene Based on Casein/Guar Gum Blend Using Zeta Potential-Yield Stress Phenomenon: an Approach to Enhance Photo-stability and Retention of Functionality. *Aaps Pharmscitech*, [s.l.], 2017, 18, 1447-1459.

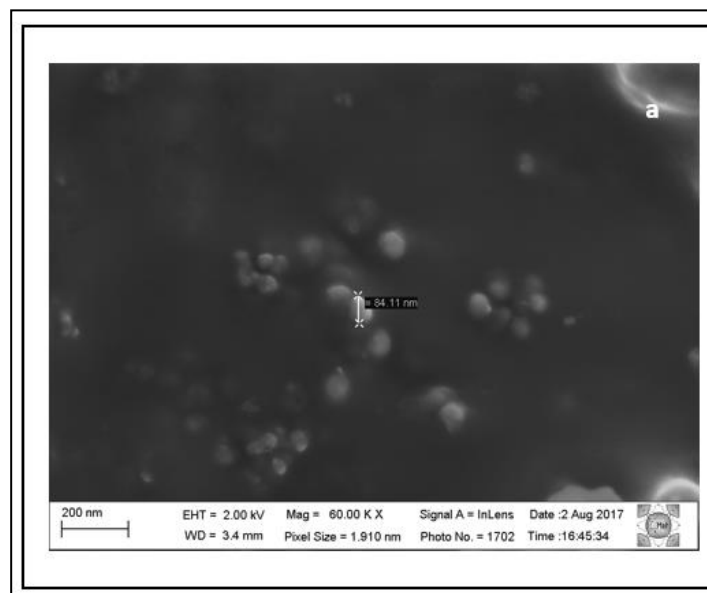
34 – Anarjan N, Tan CP. Effects of selected polysorbate and sucrose ester emulsifiers on the physicochemical properties of astaxanthin nanodispersion. *Molecules*, 2013,18. 768-777.

## APÊNDICES

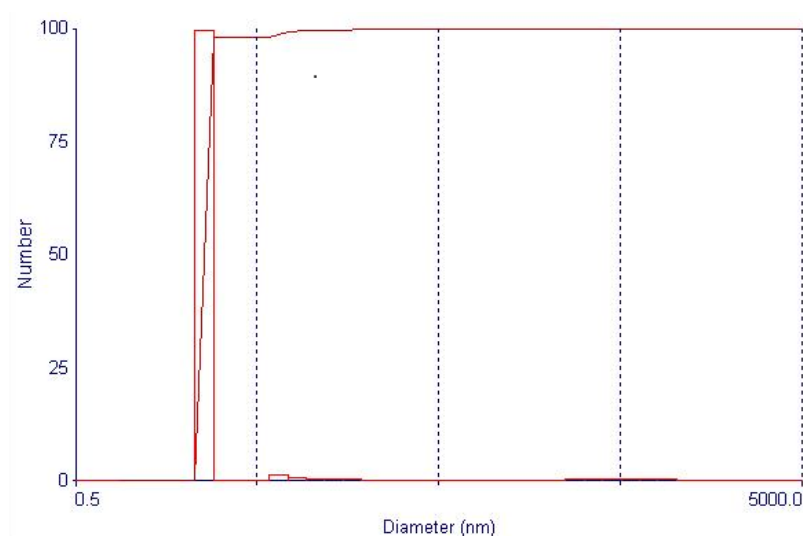
## APÊNDICE 1 – FIGURAS



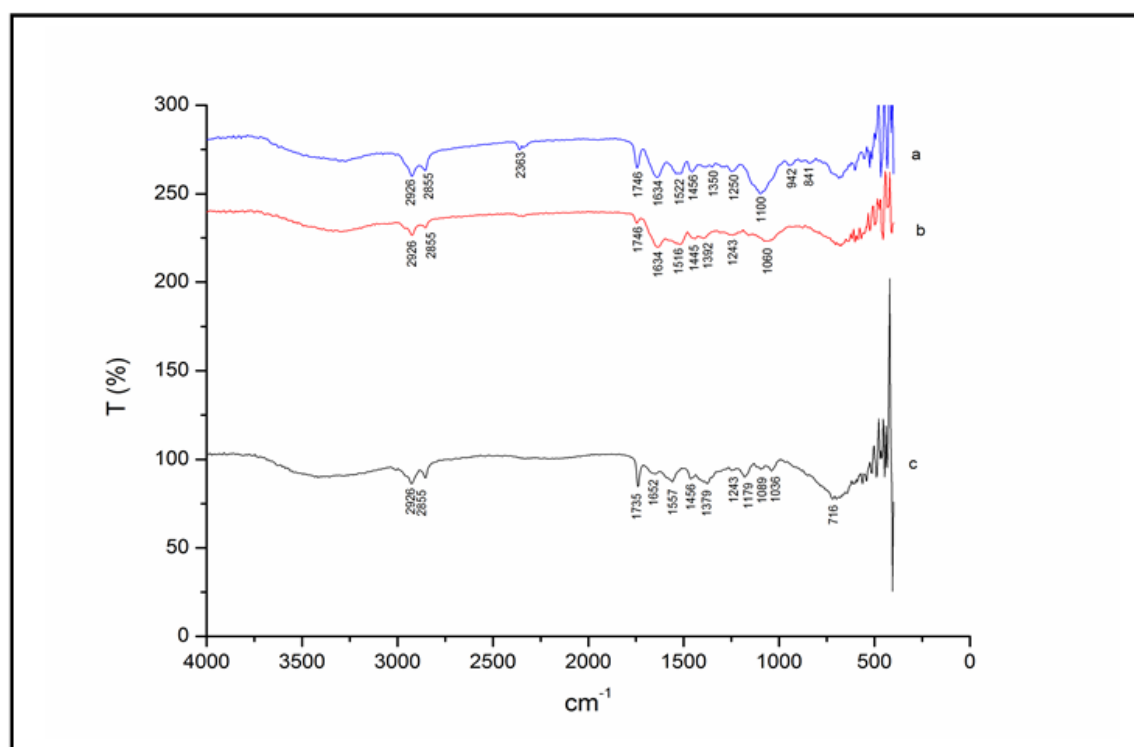
**Figura 1** - Cromatograma obtido por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência do extrato bruto rico em carotenoides de melão Cantaloupe: a – padrão de  $\beta$ -caroteno (Sigma®); b-  $\beta$ -caroteno presente no extrato da polpa de melão Cantaloupe.



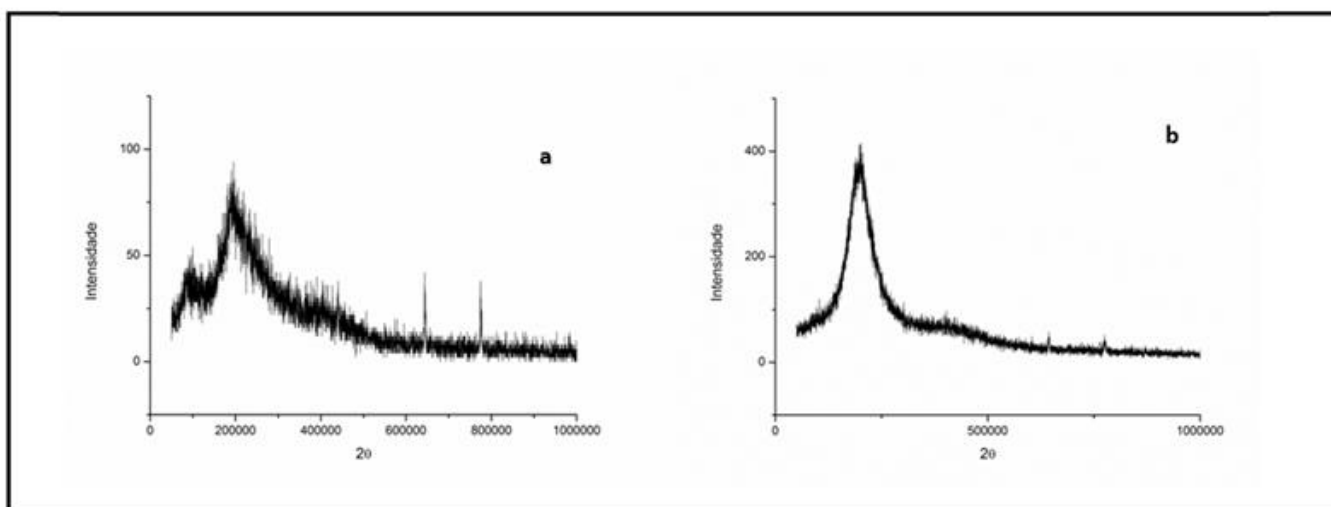
**Figura 2** – Micrografias obtidas por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura das partículas em pó encapsuladas obtidas pela técnica emulsificação



**Figura 3** – Distribuição de tamanho por Difração a Laser das partículas em pó encapsuladas obtidas pela técnica emulsificação



**Figura 4** – Espectrofotometria no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR): a – material encapsulado; b – proteína do leite concentrada e; c – extrato rico em carotenoides do melão Cantaloupe.



**Figura 5** – Difractogramas de raio X das partículas em pó obtidas pela técnica de emulsificação e do agente encapsulante utilizado. A – Proteína concentrada do soro do leite; B – encapsulado em proteína concentrada do soro do leite.



## ANEXOS

### ANEXO 1. Normas do periódico Journal of Agricultural and Food Chemistry



JOURNAL OF  
AGRICULTURAL AND  
FOOD CHEMISTRY

## Scope □ Policy □ Instructions for Authors

(Revised January 2018)

<p><b>Contents</b> (click on the topic)</p> <p>1. Important Manuscript Submission Requirements   2. Journal Scope   3. Journal Categories   4. Manuscript Types   5. Ethics and Conflict of Interest   6. Prior Publication Policy   7. Author List and ORCID iD   8. Editorial Peer Review Process   9. Manuscript Preparation – Title and Authorship – Abstract and Keywords – Introduction – Materials and Methods – Results and Discussion – Abbreviations and Nomenclature – Acknowledgment – References – Tables and Artwork – Table of Contents Graphics – Supporting Information – Currently Acceptable Word-Processing Packages – Word-Processing Details   10. Revisions and Resubmissions   11. Journal Publishing Agreement   12. Proofs and Reprints   13. Reporting Specific Data</p>
---

### 8. MANUSCRIPT PREPARATION

**Manuscript Format.** Manuscripts must be prepared using accepted word-processing software, and all parts must be **double-spaced**. All pages must be numbered consecutively starting with the title page and including tables and figures. **Lines in the abstract and text should be numbered consecutively from beginning to end in a separate column at the left. Do not put line numbers on pages with tables or figures.** A standard font, in a size of 12 points or greater, must be used. The *Journal* has a **20 typed page limit**, not including references, tables, and figures. Authors must request approval from the Editor-in-Chief to submit manuscripts exceeding 20 typed pages. Standard American English usage is required. Authors who are not familiar with standard American English are urged to seek assistance; deficiencies in grammar may be a serious hindrance during the review process.

**Assistance with English Language Editing.** Authors may want professional assistance with improving the English, figures, or formatting in their manuscript before submission. ACS ChemWorx Authoring Services can save you time and improve the communication of research in your manuscript. You can learn more about the services offered at <http://es.acschemworx.acs.org>.

*The ACS Style Guide* (3rd ed., 2006; ISBN 0-8412-3999-1), available from Oxford University Press, Order Department, 201 Evans Road, Cary, NC 27513, provides a detailed treatment of the fundamentals of manuscript preparation. Refer to a current issue of the *Journal* for general style.

The style guide is also available at the Journal's Web site and through ACS ChemWorx. The various sections of the manuscript should be assembled in the following sequence:

- Title and authorship (single page)
- Abstract and keywords (single page)
- Introduction
- Materials and Methods (including Safety information)
- Results/Discussion
- Abbreviations Used
- Acknowledgment
- Supporting Information description
- References
- Figure captions
- Tables
- Figure graphics
- Graphic for table of contents

## TITLE, AUTHORSHIP, AND KEYWORDS

The title, authorship, and institutional affiliations should be included on a single page.

**Title.** The title should be specific, informative, and concise. Keywords in the title assist in effective literature retrieval. If a plant is referred to in the title or elsewhere in the text by its common or trivial name, it should be identified by its scientific name in

parentheses immediately following its first occurrence. This term should also be provided as one of the keywords. If trade names are mentioned, give generic names in parentheses.

**Authorship.** Be consistent in authorship designation on the manuscript and on all correspondence. **First name, middle initial, and last name** are generally adequate for correct identification, but omit titles. Give the complete mailing address of all institutions where work was conducted and identify the affiliation of each author. If the current address of an author is different, include it in a footnote on the title page. The name of the author to whom inquiries about the paper should be addressed must be marked with an asterisk; provide the telephone number and e-mail address of this correspondent.

Many Funders and Institutions require that institutional affiliations are identified for all authors listed in the work being submitted. ACS facilitates this requirement by collecting institution information during manuscript submission under Step 2: Authors and Affiliations in ACS Paragon Plus.

**Keywords.** Provide significant keywords to aid the reader in literature retrieval. The keywords are published immediately before the text, following the abstract.

## ABSTRACT

Authors' abstracts are used directly for *Chemical Abstracts*. The abstract should be a clear, concise (100–150 words), one-paragraph summary, informative rather than descriptive, giving scope and purpose, experimental approach, significant results, and major conclusions. Write for literature searchers as well as journal readers.

## INTRODUCTION

Discuss relationships of the study to previously published work, but do not reiterate or attempt to provide a complete literature survey. Use of *Chemical Abstracts/Scifinder* and other appropriate databases is encouraged to ensure that important prior publications or patents are cited and that the manuscript does not duplicate previously published work. **The purpose or reason for the research being reported, and its significance, originality, or contribution to new knowledge in the field, should be clearly and concisely stated. Current findings should not be included or summarized in this section.**

## MATERIALS AND METHODS

Authors must emphasize any unexpected, new, and/or significant hazards or risks associated with the reported work. This information should be in the experimental details section of the full article or communication.

Apparatus, reagents, and biological materials used in the study should be incorporated into a general section. List devices of a specialized nature or instruments that may vary in performance, such that the model used may affect the quality of the data obtained (e.g., spectroscopic resolution).

List and describe preparation of special reagents only. Reagents normally found in the laboratory and preparations described in standard handbooks or texts should not be listed. Specify the source, vendor [city and state (or city and country if non-U.S.)], and availability of special equipment, reagents, kits, etc. Do not include catalog numbers.

Biological materials should be identified by scientific name (genus, species, authority, and family) and cultivar, if appropriate, together with the site from which the samples were obtained. Specimens obtained from a natural habitat should be preserved by deposit of samples in a herbarium for plants or in a culture collection for microorganisms, with a corresponding collection or strain number listed.

Manuscripts describing studies in which live animals or human subjects are used must include a statement that such experiments were performed in compliance with the appropriate laws and institutional guidelines and **also name the institutional committee that approved the experiments. Authors are encouraged to note the approval code or number or give the name of the approving office or official.** (See Reporting Specific Data: Animal or Human Studies.) Manuscripts reporting data from inhumane treatment of experimental animals will be rejected.

Specific experimental methods should be sufficiently detailed for others to repeat the experiments unequivocally. Omit details of procedures that are common knowledge to those in the field. Brief highlights of published procedures may be included, but details must be left to the References, and verbatim repeat of previously published methods, even if done by the authors, will not be permitted unless a quotation from a published work is included, and placed in quotation marks, with the reference to the source included at the end of the quotation. Describe pertinent and critical factors involved in reactions so

the method can be reproduced, but avoid excessive description. For information on the reporting of certain types of data see Reporting Specific Data.

Describe statistical design and methods in this section.

## RESULTS AND DISCUSSION

Results and discussion may be presented in separate sections or combined into a single section, whichever format conveys the results in the most lucid fashion without redundancy. Be complete but concise in discussing findings, comparing results with previous work and proposing explanations for the results observed.

**All data must be accompanied by appropriate statistical analyses, including complete information on sampling, replication, and how the statistical method employed was chosen.**

Avoid comparisons or contrasts that are not pertinent, and avoid speculation unsupported by the data obtained.

A separate summary or conclusion section is not to be used; any **concluding statements** are to be incorporated under Results and Discussion.

## ABBREVIATIONS AND NOMENCLATURE

Standard abbreviations, without periods, should be used throughout the manuscript.

Refer to [The ACS Style Guide](#) for the preferred forms of commonly used abbreviations. Specialized abbreviations may be used provided they are placed in parentheses after the word(s) for which they are to substitute at first point of use and are again defined in this section. Avoid trivial names and “code” abbreviations (e.g., NAR for naringenin) unless such codes are in common usage (e.g., MTBE for methyl *tert*-butyl ether).

If trade names are used, define at point of first use. If nomenclature is specialized, include a

“Nomenclature” section at the end of the paper, giving definitions and dimensions for all terms.

Use SI units insofar as possible. Refer to [The ACS Style Guide](#) for lists of SI units and a discussion of their use.

Write all equations and formulas clearly and number equations consecutively. Place superscripts and subscripts accurately; avoid superscripts that may be confused with

exponents. Identify typed letters and numbers that might be misinterpreted, such as “oh” for zero or “ell” for one. Chemistry numbering requiring primes should be identified as such (i.e., 3,3'-dihydroxy-), not by an apostrophe (e.g., 3,3'-dihydroxy- ).

It is the authors' responsibility to provide correct nomenclature. Structures should be included for uncommon chemicals, particularly when the systematic or common name is too complex or unclear to readily denote the structure. Such structures should be included as a figure or table. All nomenclature must be consistent and unambiguous and should conform to current American usage. Insofar as possible, authors should use systematic names similar to those used by Chemical Abstracts Service, the International Union of Pure and Applied Chemistry, and the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. *Chemical Abstracts* (CA) nomenclature rules are described in Appendix IV of the *Chemical Abstracts Index Guide*. For CA nomenclature advice, consult the Manager of Nomenclature Services, Chemical Abstracts Service, P.O. Box 3012, Columbus, OH 43210-0012. A name generation service is available for a fee through CAS Client Services, 2540 Olentangy River Road, P.O. Box 3343, Columbus, OH 43210-0334 [telephone (614) 447-3870; fax (614) 447-3747; e-mail [answers@cas.org](mailto:answers@cas.org)]. In addition, the ACS Web site has links to nomenclature recommendations at <http://chemistry.org>.

#### ACKNOWLEDGMENT

Include essential credits but hold to an absolute minimum. Omit academic and social titles. Meeting presentation data and acknowledgment of financial support of the work should not be included here; give these instead in a note following the References. It is the responsibility of the corresponding author to notify individuals named in the Acknowledgment prior to submission.

#### FUNDING SOURCES

Authors are required to report ALL funding sources and grant/award numbers relevant to the manuscript. Enter all sources of funding for ALL authors relevant to the manuscript BOTH in the Open Funder Registry tool in ACS Paragon Plus and in the manuscript to meet this requirement. See [http://pubs.acs.org/page/4authors/funder\\_options.html](http://pubs.acs.org/page/4authors/funder_options.html) for complete instructions.

Funding should be acknowledged in a separate statement (not in the Acknowledgment paragraph).

## REFERENCES

Consult [The ACS Style Guide](#) and current issues of the *Journal* for examples of reference format.

Authors should cite all prior published work directly pertinent to the manuscript. To demonstrate that the submitted manuscript meets sufficient interest of the readership of the journal, **it is expected that articles recently published on the respective topic in the *Journal of Agricultural and Food Chemistry* and other similar journals in the field are cited to a reasonable extent.** As a general guideline, authors should attempt to limit the literature cited to approximately 50 or fewer citations (except for Review manuscripts).

Authors are responsible for the accuracy of their references. References taken from a review or other secondary source should be checked for accuracy with the primary source.

References should be listed on a separate page and numbered in the order in which they are cited in the text.

References should be cited in the text by superscript numbers, for example, <sup>1,2-5</sup>, etc.

Give complete information, using the last name and initials of the author, patentee, or equivalent; do not use “Anonymous”.

Follow *Chemical Abstracts Service Source Index* for abbreviations of journal titles. Because subscribers to the Web edition of the *Journal* are now able to click on the “Chemport” or other tag following each reference to retrieve the corresponding abstract from various Web resources, reference accuracy is critical.

Typical references follow the styles given below.

For journals:

1. Brown, J.; Jones, M.; Green, D. Article title. *J. Agric. Food Chem.* **1980**, 28, 1–4. (Issue number must be used if each issue of the periodical begins with page 1.) For books:
2. Smith, L; Caldwell, A. Chapter title. In *Book Title*, edition no.; Keys, F., Park, G., Eds.; Publisher: City, State (or Country if non-U.S.), Year; Vol. no., pp.

For Web pages:

3. Black, A.; White, B. Page title. URL (<http://...>) (most recent access date).

Papers should not depend for their usefulness on unpublished material, and excessive reference to material “in press” is discouraged. Reference to the authors’ own unpublished work is permitted if the subject is of secondary importance to the manuscript in question, but any unpublished results of central importance must be described in sufficient detail within the manuscript. **If pertinent references are “in press” or unpublished for any reason, furnish copies to enable reviewers to evaluate the manuscript. An electronic copy of these materials should be uploaded according to the directions for review-only Supporting Information. “In press” references should include the Digital Object Identifier (DOI) assigned by the potential publisher.**

#### TABLES AND ARTWORK

The tables and graphics (illustrations) should be inserted in the manuscript file after the References section. Do not upload tables and graphics that are to be published with the manuscript as Supporting Information files.

**Tables and figures should be carefully designed to maximize presentation and comprehension of the experimental data with superfluous information excluded.**

Useful information not directly relevant to the discussion may be included under Supporting Information.

**Tables.** Tables may be created using a word processor’s text mode or table format feature. The table format feature is preferred. Ensure each data entry is in its own table cell. Lower case should be used for all table entries unless a capital letter is required. If the text mode is used, separate columns with a single tab and use a line feed (enter) at the end of each row.

Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals and should be grouped after the figure captions. Footnotes in tables should be given letter designations and be cited in the table by italic superscript letters. The sequence of letters should proceed by row rather than by column. Each table should be provided with a descriptive heading, which, together with the individual column headings, should make the table, as nearly as possible, self-explanatory. In setting up tabulations, authors are requested to keep in mind the type area of the journal page (17.8 × 25.4 cm), and the column width (8.5 cm), and to



make tables conform to the limitations of these dimensions. **Arrangements that leave many columns partially filled or that contain much blank space should be avoided.**

Conversely, arrangements that include >20 columns should be broken into two tables if possible. If *significance of values* is to be indicated, use a lower case letter, on line, one space after the value.

**Figures and Artwork.** The preferred submission procedure is to embed graphic files in a Word document. It may help to print the manuscript on a laser printer to ensure all artwork is clear and legible. Artwork should be sequentially numbered using Arabic numbers. Schemes and charts may have titles and footnotes; figures should have captions. Insert the captions following the References and the graphics after the Tables.

Additional acceptable file formats are TIFF, PDF, EPS (vector artwork), or CDX (ChemDraw file). If submitting individual graphic files in addition to their being embedded in a Word document, ensure the files are named according to graphic function (i.e., Scheme 1, Figure 2, Chart 3), not the scientific name. Labeling of all figure parts should be present, and the parts should be assembled into a single graphic. For EPX files, ensure that all fonts are converted to outlines or embedded in the graphic file. The document setting should be in RGB mode. **Note:**

Although EPS files are accepted, the vector-based graphics will be rasterized for production. Please see below for TIFF file production resolutions.

TIFF files (either embedded in a Word document or submitted as individual files) should have the following resolution requirements: black and white line art, 1200 dpi; grayscale art (a monochromatic image containing shades of gray), 600 dpi; color art (RGB color mode), 300 dpi.

The RGB and resolution requirements are essential for producing high-quality graphics within the published paper. Graphics submitted in CMYK or at lower resolution may be used; however, the colors may not be consistent. Graphics of poor quality may not be able to be improved.

Most graphic programs provide an option for changing the resolution when images are saved. Best practice is to save the graphic file at the final resolution and size using the program used to create the graphic.

For bar charts, bars with hatching patterns generally reproduce well. Bars that range in shading from light to dark gray to black can usually be reproduced successfully, although

we do not recommend any more than two shades of gray. A legend needs to be included within the figure itself rather than the patterns or shades included in the caption.

For manuscripts containing gel patterns, use of a high-resolution digital scanner is recommended. Only high-quality original, unaltered digital reproductions will allow reviewers to correctly verify the experimental results. For an example of gel patterns see *J. Agric. Food Chem.*, 2012, 60 (18), 4492–4499 (DOI: [10.1021/jf300563n](https://doi.org/10.1021/jf300563n)).

Only readable and accurately represented images are acceptable; the **Editors reserve the option to reject images that do not satisfactorily support points made in the manuscript or that are not of satisfactory quality for publication.**

The quality of the illustrations published in the *Journal* largely depends on the quality of the originals provided. Figures cannot be modified or enhanced by the journal production staff. Contrast is important. Each figure or photograph should be properly labeled.

Graphics should be sized at the final production size when possible. Single-column graphics are preferred and can be sized up to 240 points (3.33 in.). Double-column graphics must be sized between 300 and 504 points (4.167 in. and 7 in.). All graphics have a maximum depth of 660 points (9.167 in.) including the caption (please allow 12 points for each line of caption text). Consistently sizing letters and labels in graphics throughout the manuscript will help to ensure consistent graphic presentation for publication. Lettering should be no smaller than 4.5 points. (Helvetica or Arial type works well for lettering.) Lines should be no thinner than 0.5 point. Lettering and lines should be of uniform density. Avoid the use of very large and very small lettering within the same figure.

If artwork that must be reduced will be submitted, use larger lettering and thicker lines so that, when reduced, the artwork meets the above-mentioned parameters.

Avoid using complex textures and shading to achieve a three-dimensional effect. To show a pattern, choose a simple crosshatch design.

Color illustrations should be submitted **only** if they are essential for clarity of communication. Reproduction of color illustrations will be provided at no cost to the author. Do not submit color prints to be printed in black and white.

**Structural Formulas. Structural formulas should be included for all new chemicals and for existing chemicals for which chemical nomenclature and/or trivial names do not convey the structure adequately.** Structural formulas are valuable in expressing

concisely the precise nature of the compounds under discussion and revealing the essence of the subject to readers unfamiliar with the topic, without their necessary recourse to reference materials. The use of chemical names without accompanying structures may cause readers to overlook the significance of the paper.

Structures should be produced with the use of a drawing program such as ChemDraw. Structure drawing preferences (preset in the ACS Stylesheet in ChemDraw) are as follows:

as drawing settings select...

chain angle	120°
bond spacing	18% of width fixed length
points (0.508 cm, 0.2 in.) bold width	14.4
points (0.071 cm, 0.0278 in.) line width	2.0
point (0.021 cm, 0.0084 in.) margin width	0.6
points (0.056 cm, 0.0222 in.) hash spacing	1.6
points (0.088 cm, 0.0347 in.)	2.5

as text settings select...

Font	Arial or Helvetica
Size	10 points

under preferences choose...

Units	points
tolerances	3 pixels

under page setup choose...

Paper	US Letter
Scale	100%

Using the ChemDraw ruler or appropriate margin settings, create structure blocks, schemes, and equations having maximum widths of 11.3 cm (one-column format) or 23.6 cm (two-column format). Note: if the foregoing preferences are selected as cm values, the ChemDraw ruler is calibrated in cm. Also note that a standard sheet of paper is only 21.6 cm wide, so all graphics submitted in two-column format must be prepared and printed in landscape mode.

Use boldface type for compound numbers but not for atom labels or captions.

Authors using other drawing packages should, as far as possible, modify their program's parameters to reflect the above guidelines.

For more information, please visit <http://pubs.acs.org/page/4authors/submission/index.html>.

#### **TABLE OF CONTENTS GRAPHICS**

Authors of research articles, perspectives, and reviews are required to include a suitable graphic for publication in the **table of contents (TOC)** in the Web edition of the *Journal*. Submission of this graphic is mandatory. This graphic should capture the reader's attention and, in conjunction with the manuscript's title, give the reader a quick visual impression of the type of chemistry described. Structures should be constructed as specified under Structural Formulas above. The TOC graphic may be up to 3.25 in. (8.5 cm) wide and 1.75 in. (4.75 cm) tall. (See detailed instructions at the Paragon Plus Web site.) Text should be limited to labels for compounds, reaction arrows, and figures. The use of color to enhance the scientific value is encouraged. The TOC graphic should be inserted on a separate page at the end of the manuscript file. A guide to TOC graphics is available here:

([http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/toc\\_abstract\\_graphics\\_guidelines.pdf](http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/toc_abstract_graphics_guidelines.pdf)).

#### **Editor Contact Information:**

Thomas Hofmann, Editor  
*Journal of Agricultural and Food Chemistry*  
Chair of Food Chemistry and Molecular Sensory Science  
Technische Universität München  
Lise-Meitner-Straße 34  
D-85350 Freising-Weihenstephan Germany

E-mail [jafc@jafc.acs.org](mailto:jafc@jafc.acs.org)