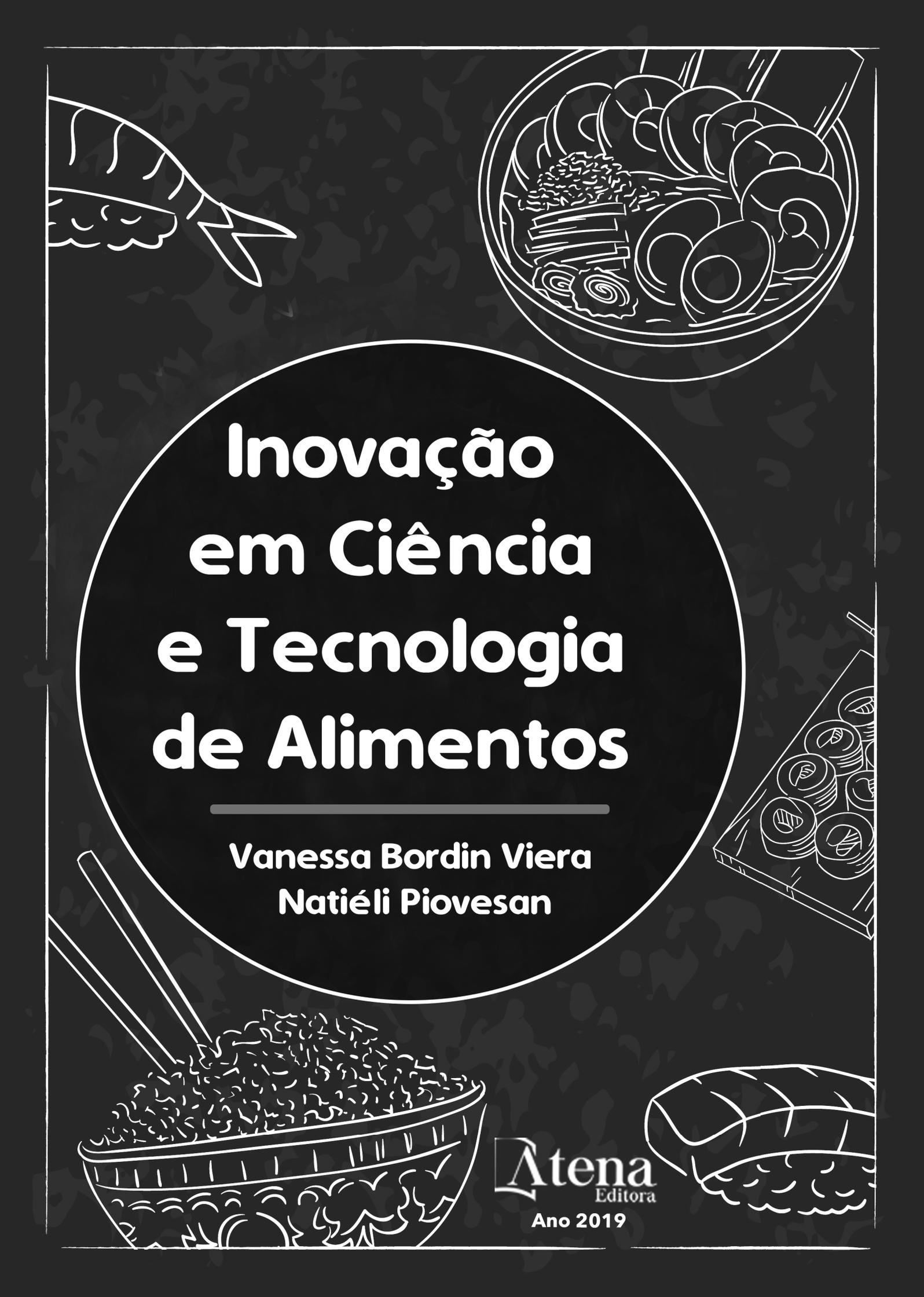


# Inovação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

**Vanessa Bordin Viera**  
**Natiéli Piovesan**

**Atena**  
Editora  
Ano 2019



# Inovação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Vanessa Bordin Viera  
Natiéli Piovesan

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Natália Sandrini  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Faria – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
158	<p>Inovação em ciência e tecnologia de alimentos [recurso eletrônico] / Organizadoras Vanessa Bordin Viera, Natiéli Piovesan. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Inovação em Ciência e Tecnologia de Alimentos; v. 1)</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia. ISBN 978-85-7247-700-0 DOI 10.22533/at.ed.000190910</p> <p>1. Alimentos – Análise. 2. Alimentos – Indústria. 3. Tecnologia de alimentos. I. Viera, Vanessa Bordin. II. Piovesan, Natiéli. III. Série.</p> <p style="text-align: right;">CDD 664.07</p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

O *e-book* Inovação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Vol 1, 2 e 3, traz um olhar integrado da Ciência e Tecnologia de Alimentos. A presente obra é composta por 86 artigos científicos que abordam assuntos de extrema importância relacionados às inovações na área de Ciência e Tecnologia de alimentos.

No volume 1 o leitor irá encontrar 28 artigos com assuntos que abordam a inovação no desenvolvimento de novos produtos como sucos, cerveja, pães, *nibs*, doce de leite, produtos desenvolvidos a partir de resíduos, entre outros. O volume 2 é composto por 34 artigos desenvolvidos a partir de análises físico-químicas, sensoriais, microbiológicas de produtos, os quais tratam de diversos temas importantes para a comunidade científica. Já o volume 3, é composto por 24 artigos científicos que expõem temas como biotecnologia, nutrição e revisões bibliográficas sobre toxinfecções alimentares, probióticos em produtos cárneos, entre outros.

Diante da importância em discutir as inovações na Ciência e Tecnologia de Alimentos, os artigos relacionados neste e-book (Vol. 1, 2 e 3) visam disseminar o conhecimento e promover reflexões sobre os temas. Por fim, desejamos a todos uma excelente leitura!

Vanessa Bordin Viera  
Natiéli Piovesan

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
APLICAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS E USO DE AGENTES DE CRESCIMENTO SOBRE A ESTRUTURA DE BROWNIES	
Adriana de Oliveira Lyra	
Leonardo Pereira de Siqueira	
Luciana Leite de Andrade Lima	
Ana Carolina dos Santos Costa	
Amanda de Moraes Oliveira Siqueira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0001909101</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>13</b>
APROVEITAMENTO DE COPRODUTO DO SUCO DE BETERRABA NA ELABORAÇÃO DE DOCES CREMOSOS (CONVENCIONAL E REDUZIDO VALOR CALÓRICO)	
Andressa Carolina Jacques	
Josiane Freitas Chim	
Rosane da Silva Rodrigues	
Mirian Ribeiro Galvão Machado	
Eliane Lemke Figueiredo	
Guilherme da Silva Menegazzi	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0001909102</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>25</b>
AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE PÃES COM DIFERENTES PROPORÇÕES DE FARINHA DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR COMO FONTE DE FIBRA	
Maurício Rigo	
Luiz Fernando Carli	
José Raniere Mazile Vidal Bezerra	
Ângela Moraes Teixeira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0001909103</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>37</b>
BEBIDA ALCOÓLICA DE MEL DE CACAU FERMENTADA POR LEVEDURA <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : TECNOLOGIA DE APROVEITAMENTO DE RESÍDUO ALIMENTÍCIO	
Karina Teixeira Magalhães-Guedes	
Paula Bacelar Leite	
Talita Andrade da Anunciação	
Alaíse Gil Guimarães	
Janice Izabel Druzian	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0001909104</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>46</b>
CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ADIÇÃO DE CASCA DE UVA EM CEREAL MATINAL EXTRUSADO	
Denise de Moraes Batista da Silva	
Carla Adriana Ferrari Artilha	
Luciana Alves da Silva Tavone	
Tamires Barlati Vieira da Silva	
Thaysa Fernandes Moya Moreira	
Maiara Pereira Mendes	
Grasiele Scaramal Madrona	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0001909105</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 58**

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DA ERVA CIDREIRA (*LIPPIA ALBA Mill.*)  
OBTIDO POR HIDRODESTILAÇÃO

Marcilene Paiva da Silva  
Vânia Maria Borges Cunha  
Eloísa Helena de Aguiar Andrade  
Raul Nunes de Carvalho Junior

**DOI 10.22533/at.ed.0001909106**

**CAPÍTULO 7 ..... 65**

CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL E FÍSICO-QUÍMICA DE SUCOS MISTOS DE FRUTAS  
TROPICAIS

Emanuele Araújo dos Anjos  
Larissa Mendes da Silva  
Pedro Paulo Lordelo Guimarães Tavares  
Renata Quartieri Nascimento  
Maria Eugênia de Oliveira Mamede

**DOI 10.22533/at.ed.0001909107**

**CAPÍTULO 8 ..... 75**

COMPORTAMENTO REOLÓGICO DO SUCO VERDE NA PRESENÇA DO YIBIO E A MUCILAGEM  
DE CHIA LIOFILIZADA (*SALVIA HISPÂNICA*)

Jully Lacerda Fraga  
Adejanildo Silva Pereira  
Kelly Alencar Silva  
Priscilla Filomena Fonseca Amaral

**DOI 10.22533/at.ed.0001909108**

**CAPÍTULO 9 ..... 82**

DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGEM ATIVA PARA QUEIJO MINAS FRESCAL

Maria Aparecida Senra Rezende  
Cleuber Antonio de Sá Silva  
Daniela Cristina Faria Vieira  
Eliane de Castro Silva  
Diego Rodrigo Silva

**DOI 10.22533/at.ed.0001909109**

**CAPÍTULO 10 ..... 89**

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE BOLOS SEM GLÚTEN SABOR CHOCOLATE  
UTILIZANDO DIFERENTES PROPORÇÕES DE FARINHA DE SORGO

Thaynan Cruvinel Maciel Toledo  
Fernanda Barbosa Borges Jardim  
Elisa Norberto Ferreira Santos  
Luciene Lacerda Costa  
Daniela Peres Miguel

**DOI 10.22533/at.ed.00019091010**

**CAPÍTULO 11 ..... 100**

DESENVOLVIMENTO DE PÃO DE FORMA ELABORADO COM RESÍDUO DO EXTRATO DE INHAME (*Dioscorea spp*)

Maria Hellena Reis da Costa  
Antonio Marques dos Santos  
Laryssa Gabrielle Pires Lemos  
Nathalia Cavalcanti dos Santos  
Caio Monteiro Veríssimo  
Leonardo Pereira de Siqueira  
Ana Carolina dos Santos Costa

**DOI 10.22533/at.ed.00019091011**

**CAPÍTULO 12 ..... 110**

DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO TIPO “NUGGETS” À BASE DE COUVE

Ana Clara Nascimento Antunes  
Suslin Raatz Thiel  
Taiane Mota Camargo  
Mírian Ribeiro Galvão Machado  
Rosane da Silva Rodrigues

**DOI 10.22533/at.ed.00019091012**

**CAPÍTULO 13 ..... 121**

DESENVOLVIMENTO DO FERMENTADO ALCOÓLICO DO FRUTO GOIABA BRANCA (*Psidium guajava*) cv. Kumagai – Myrtaceae

Ângela Maria Batista  
Edson José Fragiorge  
Pedro Henrique Ferreira Tomé

**DOI 10.22533/at.ed.00019091013**

**CAPÍTULO 14 ..... 133**

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA PREFERÊNCIA DE BARRA DE CEREAL FORMULADA COM BARU E CHIA

Dayane Sandri Stellato  
Débora Cristina Pastro  
Patrícia Aparecida Testa  
Aline Silva Pietro  
Márcia Helena Scabora

**DOI 10.22533/at.ed.00019091014**

**CAPÍTULO 15 ..... 139**

DESENVOLVIMENTO, ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE PÃO DE QUEIJO ENRIQUECIDO COM SETE GRÃOS

Vinícius Lopes Lessa  
Christiano Vieira Pires  
Maria Clara Coutinho Macedo  
Aline Cristina Arruda Gonçalves  
Washington Azevêdo da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.00019091015**

**CAPÍTULO 16 ..... 150**

ELABORAÇÃO DE NIBS USANDO AMÊNDOAS DE CACAU JACARÉ (*Herrania mariae* Mart. Decne. ex Goudot)

Márlia Barbosa Pires  
Adrielle Vitória dos Santos Manfredo  
Hevelyn kamila Portal Lima

**DOI 10.22533/at.ed.00019091016**

**CAPÍTULO 17 ..... 160**

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NÉCTAR DE MARACUJÁ ADICIONADO DE SORO DE LEITE E FRUTOOLIGOSSACARÍDEO

Auriana de Assis Regis  
Pahlevi Augusto de Sousa  
Hirllen Nara Bessa Rodrigues Beserra  
Ariosvana Fernandes Lima  
Denise Josino Soares  
Zulene Lima de Oliveira  
Antônio Belfort Dantas Cavalcante  
Renata Chastinet Braga  
Elisabeth Mariano Batista

**DOI 10.22533/at.ed.00019091017**

**CAPÍTULO 18 ..... 172**

ENRIQUECIMENTO DE PÃO TIPO AUSTRALIANO COM FARINHA DE MALTE

Adriana Crispim de Freitas  
Iago Hudson da Silva Souza  
Maria Rita Fidelis da Costa  
Juliete Pedreira Nogueira  
Marinuzia Silva Barbosa

**DOI 10.22533/at.ed.00019091018**

**CAPÍTULO 19 ..... 179**

INFLUÊNCIA DA COR E DO ODOR NA DISCRIMINAÇÃO DO SABOR DE UM PRODUTO

Tiago Sartorelli Prato  
Mariana Góes do Nascimento

**DOI 10.22533/at.ed.00019091019**

**CAPÍTULO 20 ..... 187**

INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Salmonella spp.* E *Escherichia Coli* EM UVAS PÓS-COLHEITA ATRAVÉS DO USO DE COBERTURA COMESTÍVEL DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA FÚNGICA

Natália Ferrão Castelo Branco Melo  
José Henrique da Costa Tavares Filho  
Fernanda Luizy Aguiar da Silva  
Miguel Angel Pelágio Flores  
André Galembeck  
Tânia Lúcia Montenegro Stamford  
Thatiana Montenegro Stamford-Arnaud  
Thayza Christina Montenegro Stamford

**DOI 10.22533/at.ed.00019091020**

<b>CAPÍTULO 21</b> .....	<b>200</b>
MICROENCAPSULAÇÃO POR LIOFILIZAÇÃO DE CAROTENOIDES PRODUZIDOS POR <i>Phaffia rhodozyma</i> UTILIZANDO GOMA XANTANA COMO AGENTE ENCAPSULANTE	
Michelle Barboza Nogueira Janaina Fernandes de Medeiros Burkert	
<b>DOI 10.22533/at.ed.00019091021</b>	
<b>CAPÍTULO 22</b> .....	<b>209</b>
OBTENÇÃO DE SORO DE LEITE EM PÓ PELO PROCESSO FOAM-MAT DRYING	
Robson Rogério Pessoa Coelho Ana Paula Costa Câmara Joana D´arc Paz de Matos Sâmara Monique da Silva Oliveira Tiago José da Silva Coelho Solange de Sousa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.00019091022</b>	
<b>CAPÍTULO 23</b> .....	<b>216</b>
OBTENÇÃO DE UM ISOLADO PROTÉICO EXTRAÍDO DE SUBPRODUTOS DE PESCADA AMARELA ( <i>Cynoscion acoupa</i> )	
Márlia Barbosa Pires Fernanda de Sousa Magno José Leandro Leal de Araújo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.00019091023</b>	
<b>CAPÍTULO 24</b> .....	<b>228</b>
OTIMIZAÇÃO DA DESIDRATAÇÃO OSMÓTICA E CINÉTICA DE SECAGEM DE CUBIU ( <i>Solanun sessiliflorum Dunal</i> ) PARA OBTENÇÃO DE CHIPS	
Luciana Alves da Silva Tavone Suelen Siqueira dos Santos Aroldo Arévalo Pinedo Carlos Alberto Baca Maldonado William Renzo Cortez-Vega Sandriane Pizato Rosalinda Arévalo Pinedo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.00019091024</b>	
<b>CAPÍTULO 25</b> .....	<b>237</b>
PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CERVEJAS TIPO WITBIER A PARTIR DE MALTE DE TRIGO E TRIGO NÃO MALTADO	
Adriana Crispim de Freitas Francielle Sousa Oliveira Paulo Roberto Barros Gomes Virlane Kelly Lima Hunaldo Maria Alves Fontenele	
<b>DOI 10.22533/at.ed.00019091025</b>	

<b>CAPÍTULO 26</b> .....	<b>247</b>
PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE DOCE DE LEITE UTILIZANDO LACTOSSORO NO INSTITUTO FEDERAL FLUMINENSE - CAMPUS BOM JESUS DO ITABAPOANA-RJ	
José Carlos Lazarine de Aquino	
Jorge Ubirajara Dias Boechat	
Cassiano Oliveira da Silva	
Maria Ivone Martins Jacintho Barbosa	
Wesley Barcellos da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.00019091026</b>	
<b>CAPÍTULO 27</b> .....	<b>253</b>
REAPROVEITAMENTO DE RESÍDUO DE ABACAXI PARA A PRODUÇÃO DE BISCOITO TIPO COOKIE INCORPORADO COM FARINHA DE COCO	
Jéssica Barrionuevo Ressutte	
João Pedro de Sanches Pinheiro	
Jéssica Maria Ferreira de Almeida-Couto	
Caroline Zanon Belluco	
Marília Gimenez Nascimento	
Iolanda Cristina Cereza Zago	
Joice Camila Martins da Costa	
Kamila de Cássia Spacki	
Mônica Regina da Silva Scapim	
<b>DOI 10.22533/at.ed.00019091027</b>	
<b>CAPÍTULO 28</b> .....	<b>263</b>
STUDY OF CELL VIABILITY AND PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF PROBIOTIC JUICE FROM CASHEW AND TANGERINE	
Maria Thereza Carlos Fernandes	
Fernanda Silva Farinazzo	
Carolina Saori Ishii Mauro	
Juliana Morilha Basso	
Leticia Juliani Valente	
Adriana Aparecida Bosso Tomal	
Alessandra Bosso	
Camilla de Andrade Pacheco	
Sandra Garcia	
<b>DOI 10.22533/at.ed.00019091028</b>	
<b>SOBRE AS ORGANIZADORAS</b> .....	<b>273</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO</b> .....	<b>274</b>

## MICROENCAPSULAÇÃO POR LIOFILIZAÇÃO DE CAROTENOIDES PRODUZIDOS POR *Phaffia rhodozyma* UTILIZANDO GOMA XANTANA COMO AGENTE ENCAPSULANTE

**Michelle Barboza Nogueira**

Universidade Federal do Rio Grande, Escola de  
Química e Alimentos.  
Rio Grande, RS.

**Janaina Fernandes de Medeiros Burkert**

Universidade Federal do Rio Grande, Escola de  
Química e Alimentos.  
Rio Grande, RS.

**RESUMO:** Carotenoides são pigmentos que apresentam instabilidade à luz, temperatura elevada e presença de oxigênio, sendo a microencapsulação uma alternativa para aumentar sua estabilidade e possibilitar sua aplicação em alimentos. Este estudo objetivou produzir carotenoides através de cultivos de *Phaffia rhodozyma*, e promover sua microencapsulação pela técnica de liofilização utilizando goma xantana como material de parede. Observou-se um elevado rendimento de processo (>94%) e eficiência de encapsulação (>88%) para as proporções estudadas, ocorrendo a formação de uma única matriz contendo os pigmentos dispersos, sem a separação das partículas. A encapsulação dos compostos de interesse foi confirmada por calorimetria diferencial de varredura, porém a goma xantana não é um material indicado para obter micropartículas pela técnica de liofilização.

**PALAVRAS-CHAVE:** bioprodutos; pigmentos;

cultivos microbianos; microcápsulas.

### MICROENCAPSULATION BY LYOPHILIZATION OF CAROTENOIDS PRODUCED BY *Phaffia rhodozyma* WITH XANTAN GUM AS THE ENCAPSULATING AGENT

**ABSTRACT:** Carotenoids are pigments that have instability to light, high temperature and presence of oxygen, microencapsulation is an alternative to increase its stability and allow its application in food. This study aimed to produce carotenoids by *Phaffia rhodozyma* crops, and promote their Microencapsulation by lyophilization technique using xanthan gum as wall material. There was a process of high yield (> 94 %) and encapsulation efficiency (> 88%) for the proportions studied, occurring only the formation of a matrix containing pigments dispersed without separation of the particles. Encapsulation of the compounds of interest was not confirmed by differential scanning calorimetry, but the xanthan gum is not a material suitable for obtaining microparticles by lyophilization technique.

**KEYWORDS:** bioproducts; pigments; microbial cultures; microcapsules.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os carotenoides são hidrocarbonetos lipossolúveis pertencentes ao grupo dos terpenos sintetizados pela rota metabólica dos isoprenoides, contendo 40 carbonos unidos por unidades opostas no centro da molécula, com ligações duplas conjugadas que permitem a absorção de luz na região do visível, conferindo colorações que variam do amarelo ao vermelho (VALDUGA, et al., 2009a; MATA-GÓMES et al., 2014).

Estes pigmentos são amplamente utilizados para a aplicação em alimentos, porém, em escala industrial, a maior parte de sua produção ocorre através de processos químicos que propiciam a síntese os compostos (VALDUGA, et al., 2009b), haja vista que algumas fontes naturais dependem de sazonalidade, custos elevados ou grande espaço físico para sua obtenção. Apesar disso, a busca dos consumidores por produtos que contenham menor quantidade de aditivos químicos desperta o interesse por fontes naturais de carotenoides, como é o caso da bioprodução destes compostos por cultivos microbianos (VALDUGA et al., 2009a; VALDUGA et al., 2009b).

A levedura *Phaffia rhodozyma* é um micro-organismo carotenogênico que oferece vantagens frente a outras fontes microbianas e naturais, visto que existe a disponibilidade de cultivo ao longo do ano, permite a utilização de fontes simples de carbono e nitrogênio em seus meios de cultivo, acarretando em baixo custo de produção (VALDUGA et al, 2009b; CIPOLATTI et al, 2015), além de ser classificada como GRAS (Generally Recognized as Safe) (MICHELON et al, 2012).

O grande empasse relacionado à aplicação de carotenoides em alimentos, envolve a dificuldade da manutenção de suas características em função de sua baixa estabilidade a fatores intrínsecos de alguns produtos, bem como condições de processamento e estocagem, sendo sensíveis à luz, altas temperaturas e suscetíveis à oxidação (BAGETTI, 2009). Tecnologias como a microencapsulação visam proteger esses compostos dentro de partículas micrométricas, e representam uma alternativa para aumentar sua estabilidade, ampliando as possibilidades de aplicação em alimentos (FAVARO-TRINTADE, et al., 2008).

Diante disso, este estudo objetiva promover a encapsulação de carotenoides produzidos pela levedura *P. rhodozyma*, pelo método de liofilização utilizando goma xantana como agente encapsulante, visando sua aplicação em alimentos.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Micro-organismo e preparo do inóculo

A levedura *Phaffia rhodozyma* NRRL-Y 17268, proveniente do Laboratório de Pesquisa da Região Norte (Peoria, USA) e certificada como GRAS (Generally

Recognized as Safe) foi utilizada neste estudo. O micro-organismo foi mantido em ágar inclinado em meio extrato de malte e levedura (YM) com (g.L<sup>-1</sup>): 3 de extrato de levedura, 3 de extrato de malte, 5 de peptona, 10 de glicose, adicionados de 0,2 g.L<sup>-1</sup> de KNO<sub>3</sub> a 4°C (PARAJÓ, SANTOS & VÁZQUEZ, 1998).

Para a reativação, a partir das culturas estoques foram realizados repiques para tubos de ensaio com o mesmo meio e incubados por 48h a 25°C. Após foi realizada uma ressuspensão celular em 1 mL de água peptonada (0,1%) e adicionada em 9 mL de meio YM, sendo incubados nas mesmas condições descritas anteriormente.

## 2.2 Produção dos carotenoides

O inóculo utilizado na produção dos pigmentos foi realizado em erlenmeyers de 500 mL contendo 90 mL do caldo YM, e adicionado de 10 mL do cultivo oriundo da reativação, sendo incubado a 25°C, 150 rpm por 48 h ou tempo necessário para atingir 1x10<sup>8</sup> cél.mL<sup>-1</sup>, contadas através de câmara de Neubauer (RIOS et al., 2015).

A bioprodução de carotenoides foi realizada em erlenmeyers de 500 mL com 153 mL do meio de produção YM a pH inicial de 6,0, acrescidos de 10% de inóculo (10<sup>8</sup> cél.mL<sup>-1</sup>), sendo as condições operacionais do processo 25°C, 180 rpm por 168 h (RIOS et al., 2015). As biomassas obtidas foram secas em estufa a 35°C por 24 h, após, foram maceradas em gral e pistilo e os tamanhos das partículas foram padronizados através de peneira de Tyler 115, onde cada tamanho de fração passante corresponde a > 125 µm (CIPOLATTI, 2012).

## 2.3 Extração e recuperação dos carotenoides

A ruptura celular foi realizada pelo método de ondas ultrassônicas, utilizando 0,1 g de biomassa seca (48h a 35°C), adicionando-se 6 mL de acetona para facilitar a extração dos carotenoides, através da aplicação de 4 ciclos ultrassônicos de 40 kHz por 10 min, sendo a água do banho trocada a cada ciclo, segundo o método adaptado de Medeiros e colaboradores (2008).

Cada amostra foi centrifugada a 1745xg por 10 min, o solvente foi separado e o procedimento de ruptura foi repetido até o branqueamento total da célula. Nas fases solventes, obtidas da centrifugação, foram adicionados 10 mL de solução de NaCl 20% (p/v) e 10 mL de éter de petróleo. Após agitação e separação de fases o excesso de água foi retirado com sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), dando origem aos extratos carotenogênicos (BONFIM, 1999).

Para a obtenção do volume total dos extratos carotenogênicos a serem encapsulados foram realizadas 5 extrações para cada tratamento.

## 2.4 Microencapsulação dos carotenoides e caracterização das microcápsulas

A microencapsulação dos carotenoides foi realizada pelo método de liofilização, utilizando goma xantana como material de revestimento, segundo Pralhad &

Rajendrakumar (2004) e Laine et al. (2008). Para a elaboração das partículas foi realizada a rotaevaporação do solvente dos extratos carotenogênicos a 35°C, seguida da dissolução em solução aquosa contendo o material de parede, nas proporções 1:1 e 1:2 (carotenoides:material de parede) em relação ao teor de sólidos. A mistura foi agitada por 3 h, sendo posteriormente submetida ao congelamento a -80°C, seguido pelo processo de liofilização.

A verificação da formação das microcápsulas, bem como a análise morfológica e o tamanho das partículas formadas foram observados através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de acordo com Castro (2002).

A eficiência de encapsulação dos carotenoides foi realizada segundo o método espectrofotométrico descrito por Sutter, et al. (2007), baseado na estimativa dos carotenoides totais presentes dentro e fora das partículas.

Para realizar a quantificação dos carotenoides presentes na superfície das partículas, 0,1 g de amostra e 5 mL de hexano foram misturados e levados a um agitador vortex por 10 s, seguidos de centrifugação a 3420xg por 10 min, recolhendo o sobrenadante. Para a quantificação do total de carotenoides presentes dentro e fora das micropartículas, foi realizada a dispersão das micropartículas em 5 mL de hexano, agitou-se vigorosamente para a remoção do total de carotenoides, filtrou-se com algodão para um balão de 10 mL e lavou-se o resíduo com hexano. Ambas as frações recolhidas foram avaliadas espectrofotometricamente em 470 nm quanto ao teor total de carotenoides.

Os resultados foram expressos em percentual de carotenoides encapsulados através da equação 1.

$$\%EE = \frac{\text{Total de Carotenoides} - \text{Carotenoides da Superfície}}{\text{Total de Carotenoides}} \times 100 \quad (1)$$

O rendimento do processo de encapsulação foi calculado com base na massa dos sólidos iniciais e finais, seguido de sua conversão em percentual. A confirmação da encapsulação foi realizada através da análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC) de acordo com Rutz (2013) utilizando uma taxa de 10°C min<sup>-1</sup> entre 25 e 280°C, com fluxo de nitrogênio de 40 mL min<sup>-1</sup>.

Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados avaliados estatisticamente através da análise de variância, e quando detectadas diferenças ao nível de significância 5% (p<0,05), foram seguidos por teste T.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados do rendimento da microencapsulação a partir do processo de liofilização utilizando goma xantana como agente encapsulante.

Observa-se que as perdas dos compostos de interesse decorrentes do processo de encapsulação são muito pequenas, haja vista que o rendimento do processo, baseado na massa de sólidos para ambas as proporções testadas, foram superiores a 94%. Valores elevados também foram obtidos quando relacionados à eficiência de encapsulação, podendo-se inferir que o material de parede apresenta grande capacidade de aprisionamento dos compostos de interesse, uma vez que em torno de 90% dos carotenoides submetidos ao processo encontraram-se na parte interna das microcápsulas formadas.

Não foi verificada diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre as proporções testadas do agente encapsulante, sugerindo que, visando minimizar custos, não existe a necessidade de adicionar uma proporção superior de material de cobertura em relação aos pigmentos a serem aprisionados.

Visualmente, para ambas as condições testadas, a goma xantana propiciou a preservação da coloração alaranjada intensa dos carotenoides.

<b>Agente encapsulante</b>	<b>Rendimento de obtenção das microcápsulas (%)</b>	<b>Eficiência de Encapsulação (%)</b>
Goma Xantana (1:1)	96,22	88,89 ± 2,13 a
Goma Xantana (1:2)	94,86	91,67 ± 0,85 a

Tabela 1- Eficiência da encapsulação pelo método de liofilização.

\*Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa pelo Teste de T ( $p<0,05$ ).

Através das micrografias eletrônicas de varredura (MEV) na Figura 1 pode ser observado que o agente encapsulante, independente da proporção em que foi testado, aprisionou os carotenoides formando uma única matriz. Em função de tal característica, não foi possível calcular os tamanhos médios de partículas obtidos. Segundo Rutz (2013) as características do material de revestimento utilizado, bem como as condições de processos, são determinantes nas características das partículas obtidas.

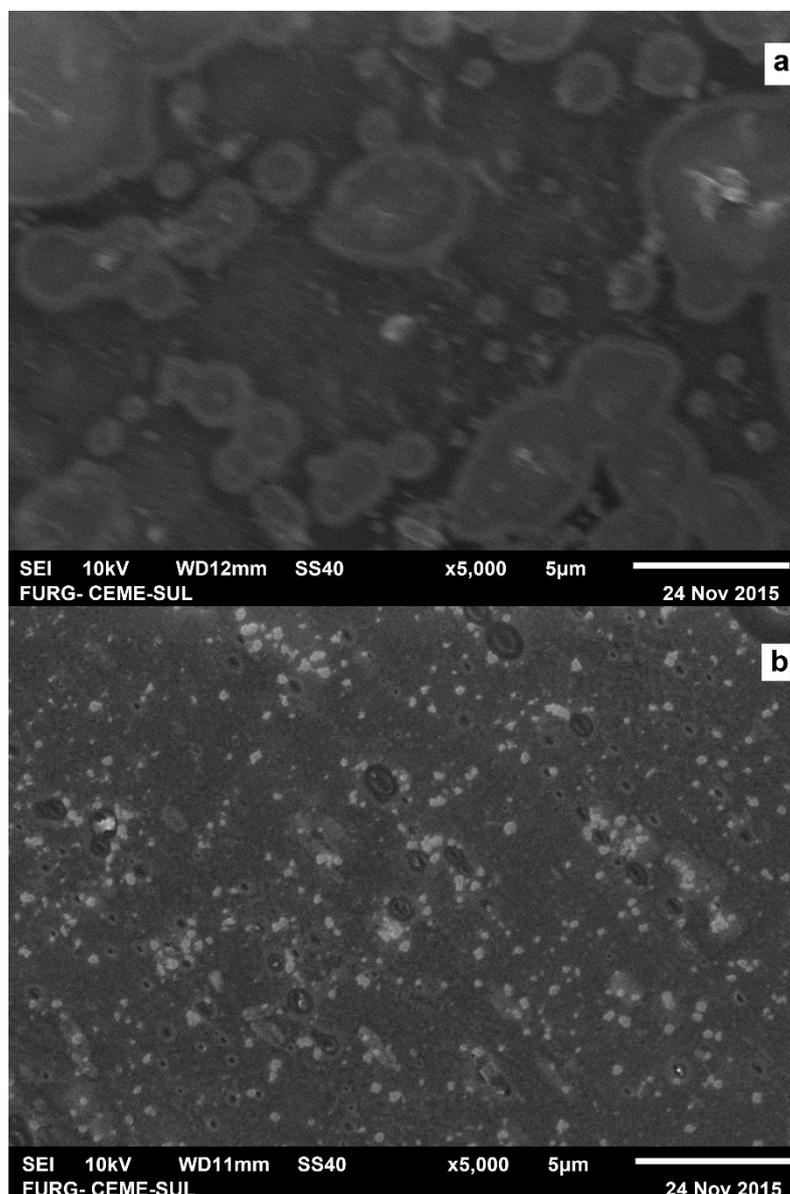


Figura 1- Micrografias de MEV das microcápsulas de carotenoides utilizando proteína de soja, em diferentes proporções, como agente encapsulante: a (x 5000)- goma xantana 1:1; b (x 5000)- goma xantana 1:2.

As características obtidas neste estudo também foram observadas por Sousdaleff e colaboradores (2013), Zuanon, Malacrida e Telis (2013) e Rutz e colaboradores (2016) em suas pesquisas, ao utilizarem o método de liofilização para o encapsulamento de diferentes compostos, dependendo do material de parede utilizado, indicando que, embora o método de liofilização seja comumente utilizado para a obtenção de microcápsulas, nem sempre mostra-se adequado uma vez que objetiva a formação de micropartículas esféricas bem definidas e separadas.

Os eventos endotérmicos e exotérmicos apresentados nos termogramas de DSC (Figura 2) encontram-se representados através de curvas para baixo e de curvas para cima, respectivamente.

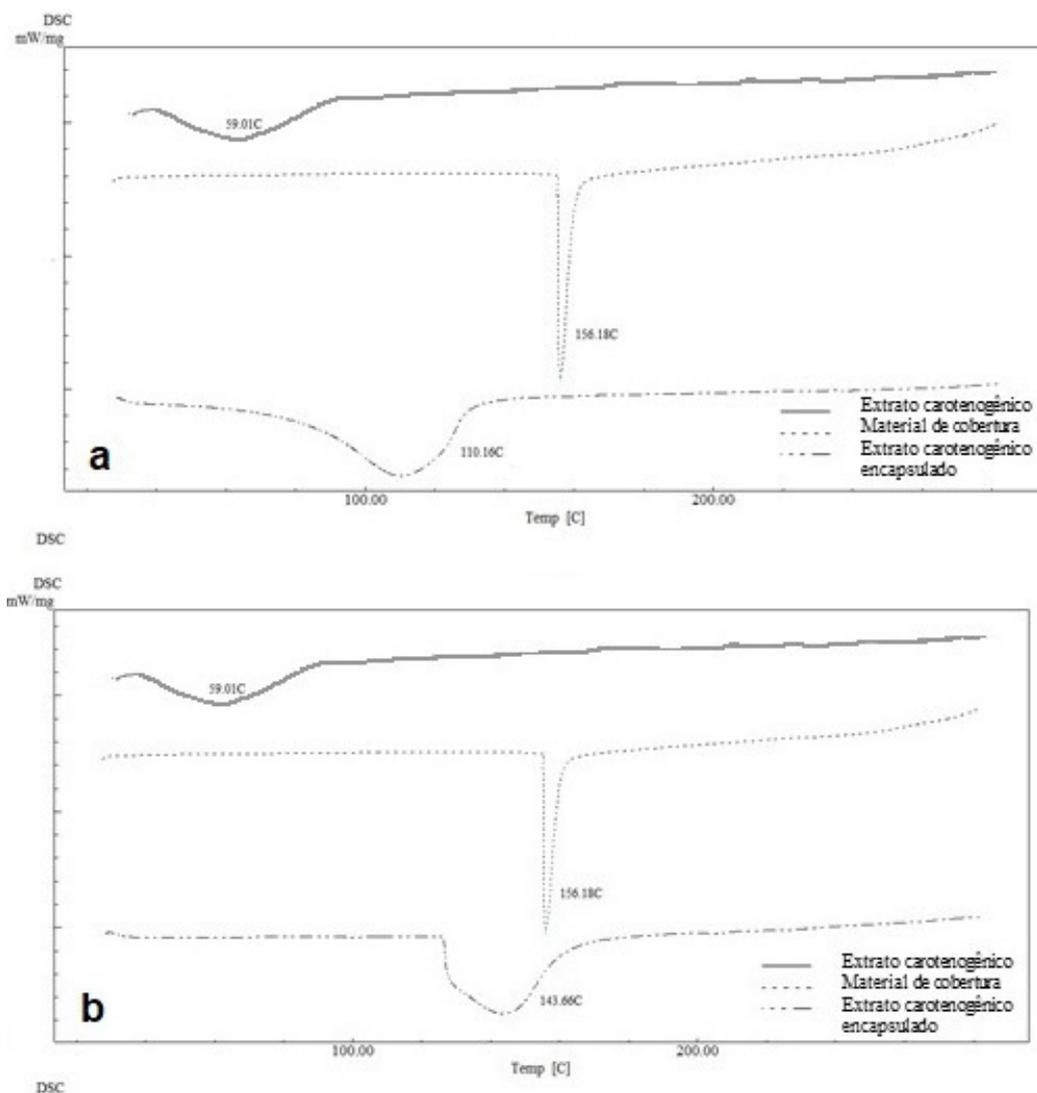


Figura 2- Termogramas de DSC das microcápsulas de carotenoides utilizando proteína de soja como material de cobertura em diferentes proporções: a- goma xantana 1:1, b- goma xantana 1:2.

O extrato carotenogênico livre é caracterizado pela apresentação um evento endotérmico ao atingir 59°C, enquanto que a goma xantana apresenta um único evento endotérmico a 156°C. Após o processo de encapsulamento dos compostos de interesse nota-se um único evento endotérmico, sendo em torno de 110°C para a proporção 1:1 e de 146°C para a proporção 1:2, assemelhando-se ao comportamento do material de parede.

Além disso, os termogramas demonstram a ausência de evento endotérmico a temperaturas próximas de 59° C, característico do extrato carotenogênico livre, sugerindo que os compostos de interesse foram protegidos, e conseqüentemente, a afirmando a ocorrência da encapsulação.

#### 4 | CONCLUSÃO

Promoveu-se o aprisionamento dos carotenoides produzidos pela levedura *P. rhodozyma* utilizando goma xantana como agente encapsulante pela técnica de

liofilização, obtendo-se elevado rendimento de processo e eficiência de encapsulação. Desta maneira, grande parte dos carotenoides microbianos foram encapsulados, proporcionando o aumento de sua estabilidade e, conseqüentemente, ampliando as possibilidades de sua aplicação em alimentos. Apesar disso, foi observada a formação de uma única matriz contendo os compostos de interesse dispersos em seu interior, indicando que apesar de os carotenoides estarem protegidos, a goma xantana não é um material de cobertura indicado para obter partículas em escala micrométrica, bem definidas e separadas pelo método de liofilização.

## 5 | AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa.

## REFERÊNCIAS

Bagetti, M. (2009). **Caracterização físico-química e capacidade antioxidante de pitanga (*Eugenia uniflora* L.)** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

Bonfim, T. M. B (1999). **Produção de astaxantina pela levedura *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) a partir de meios de cultura de baixo custo** (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Castro, L. A. S. (2002) **Processamento de mostras para microscopia eletrônica de varredura**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 37p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 93).

Cipollati, E. P (2012). **Obtenção de carotenoides microbianos com atividade antioxidante a partir de coprodutos agroindustriais** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

Cipollati, E. ; Bulsing, B. ; Sá, C. S. ; Burkert, C. A. V. ; Furlong, E. B. ; Burkert, J. F. M. (2015). Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: Antioxidant activity and stability of extracts. **African Journal of Biotechnology**, 14, 1982-1988.

Favaro-Trindade, C. S.; Pinho, S. C.; Rocha, G. A. (2008). Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, 11(2), 103-112.

Laine, P., Kylli, P., Heinonen, M., Jouppila, K. (2008). Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. **Journal Agricultural Food Chemistry**, 56, 11251-11261.

Mata-Gómes, L. C.; Montañez, J. C.; Méndez-Zavala, A.; Aguilar, C. N.(2014). Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. **Microbial Cell Factories**, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Mexico.

Medeiros, F. O.; Alves, F. G.; Lisboa, C. R.; Martins, D. S.; Burkert, C. A. V.; Kalil, S. J. (2008). Ondas ultrassônicas e pérolas de vidro: um novo método de extração de b-galactosidase para uso em laboratório. **Química Nova**, 31(2), 336-339.

Michelon, M.; Borba, T. M.; Rafael, R. S.; Burkert, C. A. V.; Burkert, J. F. M. (2012). Extraction of Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: A Comparison between Different Techniques of Cell Disruption. **Food Science Biotechnology**, 21(1), 1-8.

- Parajó, J. C.; Santos, V.; Vázquez, M. (1998). Optimization of carotenoid production by *Phaffia rhodozyma* cells grown on xylose. **Process Biochemistry**, 33(2), 181-187.
- Pralhad, T. Rajendrakumar, K. (2004). Study of freeze-dried quercetin–cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 34, 333-339.
- Rios, D. A. S.; Borba, T. M.; Kalil, S. J.; Burkert, J. F. M. (2015). Parboiling wastewater in the maximization of carotenoids bioproduction by *Phaffia rhodozyma*. **Ciência e Agrotécnica**, 39(4), 401-410.
- RUTZ, J. K. (2013). **Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- Rutz, J. K.; Borges, C. D.; Zambiasi, R.C.; Rosa, C. G.; Silva, M. M. (2016). Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, v. 202, p. 324-333, 2016.
- Sousdaleff, M., Baesso, M. L., Medina Neto, A., Nogueira, A. C., Marcolino, V. A., Matioli, G. (2013). Microencapsulation by freeze-drying of potassium norbixinate and curcumin with maltodextrin: Stability, solubility, and food application. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61, 955–965.
- Sutter, S. C.; Buera, M. P.; Elizalde, B. E. (2007).  $\beta$ -carotene encapsulation in a mannitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion. **International Journal of Pharmaceutics**, 332, 45-54.
- Valduga E.; Tatsch, P. O.; Tiggemann, L.; Treichel, H.; Toniazzo, G.; Zeni, J.; Luccio, M.; Fúrigo Júnior, A. (2009a). Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Química Nova**, 32(9), 2429-2436.
- Valduga, E.; Valério, A.; Tatsch, P.O.; Treichel, H.; Furigo Jr, A.; Luccio, M. D. (2009b). Optimization of the production of total carotenoids by *Sporidiobolus salmonicolor* (CBS 2636) using response surface technique. **Food Bioprocess Technology**, 2, 415-421.
- Zuanon, L. A. C., Malacrida, C. R., Telis, V. R. N. (2013). Production of turmeric oleoresin microcapsules by complex coacervation with gelatin-gum arabic. **Journal of Food Process Engineering**, 36, 364–373.

## **SOBRE AS ORGANIZADORAS**

**VANESSA BORDIN VIERA** bacharel e licenciada em Nutrição pelo Centro Universitário Franciscano (UNIFRA). Mestre e Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Docente do Curso de Nutrição e da Pós-Graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Editora da subárea de Ciência e Tecnologia de Alimentos do *Journal of bioenergy and food science*. Líder do Grupo de Pesquisa em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFCG. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de antioxidantes, desenvolvimento de novos produtos, análise sensorial e utilização de tecnologia limpas.

**NATIÉLI PIOVESAN** Docente no Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN), graduada em Química Industrial e Tecnologia em Alimentos, pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Possui graduação no Programa Especial de Formação de Professores para a Educação Profissional. Mestre e Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Atua principalmente com o desenvolvimento de pesquisas na área de antioxidantes naturais, desenvolvimento de novos produtos e análise sensorial.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Aceitação 3, 10, 17, 21, 24, 25, 28, 30, 32, 33, 34, 35, 40, 47, 51, 55, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 72, 83, 86, 89, 93, 96, 97, 98, 110, 112, 133, 134, 138, 139, 141, 142, 143, 145, 146, 147, 148, 160, 166, 175, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 235, 237, 238, 243, 244, 245, 253, 255, 257, 262  
Aceitação sensorial 21, 24, 25, 35, 65, 89, 93, 97, 98, 139, 141, 142, 143, 145, 146, 147, 148, 237, 245, 253  
ADO 65, 67, 68, 70, 73  
Agroindústrias 13, 14, 15  
Alimento saudável 139  
Análise física 100, 101, 107  
Análise sensorial 10, 11, 13, 16, 17, 21, 23, 28, 35, 36, 46, 51, 55, 57, 67, 72, 73, 93, 109, 111, 113, 114, 117, 119, 132, 133, 135, 136, 137, 141, 172, 176, 179, 180, 181, 185, 186, 241, 243, 256, 257, 258, 262, 273  
Antioxidante 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 24, 39, 47, 48, 73, 108, 118, 148, 157, 158, 207, 270  
Aproveitamento de resíduo 37  
Atividade antioxidante 13, 14, 15, 16, 19, 22, 23, 24, 39, 73, 148, 207

### B

Betalainas 13, 14, 16, 17, 19, 20, 22  
Bolo 1, 3, 8, 9, 10, 11, 26, 35, 89, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98  
Brassica oleracea L. 111, 112, 119

### C

Casca de uva 46, 47, 48, 49, 52, 53, 54, 55, 56  
Cereal matinal 46, 47, 51, 53, 54, 55, 56, 57  
Confeitaria 1, 2, 3, 10, 11, 102, 216, 225

### D

Doença Celíaca 89, 90, 98, 140

### E

Empanado 111, 114, 116, 119  
Extrato vegetal 101, 103

### F

Fermentação 29, 37, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 91, 104, 105, 106, 107, 121, 122, 123, 124, 126, 128, 129, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 161, 195, 238, 239, 240, 241, 242  
Fermentação alcoólica 44, 121, 122, 238  
Fermento químico 1, 3, 6, 7, 8, 10

Fibra alimentar 26, 27, 91, 119, 138, 139, 141, 142, 144, 145, 148, 174, 255, 259, 261  
Físico-química 16, 18, 23, 25, 28, 30, 52, 53, 65, 70, 74, 84, 130, 132, 139, 149, 154, 157, 169,  
170, 207, 209, 216, 224, 226, 227, 238, 239, 245, 250, 262, 270  
Frutas tropicais 65, 271

## **G**

Gastronomia 1, 2, 3, 10, 11, 101, 119, 148, 185  
Glúten 12, 28, 32, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 102, 105, 106, 107, 108, 115, 119,  
123, 140, 262

## **H**

Hidrodestilação 58, 59, 60

## **L**

Lippia alba 58, 59, 62, 63, 64

## **M**

Mucilagem de Chia 75, 76, 77, 79

## **N**

Nova bebida 37  
Novos produtos 15, 27, 34, 40, 91, 97, 100, 101, 102, 111, 122, 141, 162, 174, 253, 273

## **O**

Óleo essencial 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 195

## **P**

Panificação 2, 3, 11, 12, 25, 27, 34, 35, 39, 89, 90, 91, 100, 102, 109, 139, 140, 173, 210, 211,  
215

## **Q**

Queijo Minas frescal 82, 88

## **R**

Reologia 75, 76

## **S**

Segurança alimentar 11, 82, 145, 270  
Sorgo 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 225  
Suco verde 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81

## T

Técnicas culinárias 1

## V

Vida de prateleira 74, 82, 83, 255

Vinho de fruto 121

Vinificação 39, 121, 122

## Y

*Yarrowia lipolytica* 75, 76, 77, 81

YIBio 75, 76, 80

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-700-0



9 788572 477000