

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

Luana Garbin Cardoso

**Microencapsulação de óleo de chia (*Salvia hispanica*) para aplicação em
queijos processados**

Passo Fundo

2019

Luana Garbin Cardoso
Engenheira de Alimentos

**Microencapsulação de óleo de chia (*Salvia hispanica*) para aplicação em
queijos processados**

Dissertação de mestrado apresentada para
obtenção do título de Mestre em Ciência e
Tecnologia de Alimentos.
Orientador: Luciane Maria Colla
Coorientador: Vandr e Barbosa Brião
Linha de pesquisa: Qualidade e propriedades
funcionais de alimentos.

Passo Fundo
2019

CIP – Catalogação na Publicação

C268m Cardoso, Luana Garbin

Microencapsulação de óleo de chia (*Sálvia hispanica*) para aplicação em
queijos processados / Luana Garbin Cardoso. – 2019.
126 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Maria Colla.
Coorientador: Prof. Dr. Vandr e Barbosa Brião.
Disserta o (Mestrado em Ciências e Tecnologia de
Alimentos) – Universidade de Passo Fundo, 2019.

1. Alimentos funcionais. 2. Queijo – Fabrica o. 3.  cidos graxos. 4. Inulina.
5. S lvia hispânica. I. Colla, Luciane Maria, orientadora.
II. Brião, Vandr e Barbosa, coorientador. III. Título.

CDU: 664

Cataloga o: Bibliotecária Juliana Langaro Silveira - CRB 10/2427

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

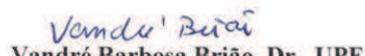
Microencapsulação de óleo de chia (*Salvia hispânica*) para aplicação em queijos processados

Elaborada por
Luana Garbin Cardoso

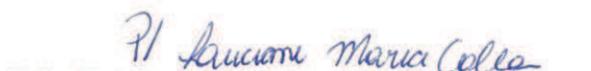
Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Comissão Examinadora


Luciane Maria Colla, Dra., UPF
(Orientadora/Presidente)


Vandrê Barbosa Brião, Dr., UPF
(Coorientador)


Christian Oliveira Reinehr, Dr., UPF


Neila Silvia Pereira dos Santos Richards, Dra., UFSM

Passo Fundo, RS, Brasil
2019

Aos meus pais, Cleonir e Luiz Valdeci, ao meu irmão Luan Lucas e ao meu namorado Ivan Junior por todo apoio, compreensão, incentivo e paciência.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me iluminar e permitir concluir mais uma etapa na minha vida.

Agradeço a minha família, base fundamental, pela força, confiança, apoio e incentivo em mim depositados para a conclusão de mais uma etapa e por estarem presentes em todos os momentos. Amo vocês.

Agradeço a minha orientadora profa. Dra. Luciane Maria Colla e ao meu coorientador Vandré Barbosa Brião, pela oportunidade, pela paciência, disponibilidade, pela orientação científica, incentivo e por mostrarem o melhor caminho durante esses anos.

Agradeço a bolsista de iniciação científica Raíssa Vieira da Silva pela disponibilidade em me ajudar do início ao fim dos experimentos, pelo companheirismo, dedicação e positividade, tornando os dias de trabalho mais leves.

Agradeço ao estagiário e meu namorado Ivan José Bordignon Junior por tamanha dedicação e companheirismo, por não medir esforços na realização dos experimentos, busca de artigos e interpretação dos resultados, por estar ao meu lado, me acalmar, dar força e nunca me deixar desanimar, sempre procurando soluções e acreditando que daria certo. Amo você.

Agradeço aos amigos e colaboradores dos Laboratórios de Bioquímica e Bioprocessos, Aulas práticas, Tecnologia de leites, Análise Sensorial, Laboratórios do Parque Científico e Tecnológico da UPF (módulo II) e CEPA pelo convívio, apoio e ajuda nas análises.

Agradeço aos meus colegas/amigos do mestrado por dividir momentos de alegrias e de dificuldades, pela união e apoio. Agradeço em especial à Juliane Mossmann por estar sempre disponível a sanar minhas dúvidas referentes a produção do queijo processado.

Agradeço a Globalfood pelo fornecimento dos ingredientes para fabricação do queijo processado, a SweetMix pelo fornecimento da inulina, a Pazze pelo fornecimento do óleo de chia, a Rasip pelo fornecimento do queijo Grana Padano e ao Laticínio Boavistense pelo fornecimento do queijo Mozzarella que viabilizaram a realização deste trabalho.

Agradeço a Universidade de Passo Fundo, em especial, o Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, o curso de Engenharia de alimentos, professores, alunos e funcionários, pela amizade, apoio e o suporte fornecidos para a realização deste trabalho.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado.

Por fim, agradeço a todos que convivi durante esses anos e que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho. Todos estão guardados na minha memória e no meu coração, sou eternamente grata a vocês.

Muito obrigada!

RESUMO

A crescente demanda por alimentos funcionais, que além de sua função nutricional proporcione benefícios à saúde do consumidor tem instigado as indústrias de alimentos a reformularem seus produtos para atender esta necessidade. As indústrias de produtos lácteos são um importante veículo de alimentos funcionais, pois estes produtos são bem aceitos pelos consumidores como alimentos adicionados de compostos saudáveis. O queijo Grana Padano é um produto lácteo que possui boa composição nutricional, porém apresentam elevado teor de gordura, a qual é composta principalmente por ácidos graxos saturados. Queijos processados são produtos obtidos através da fusão de queijos com adição de produtos de origem não láctea em até 30%, o que permite a adição de compostos funcionais como a inulina que proporciona efeito prebiótico no organismo e o óleo de chia que possui alto teor de ácidos graxos insaturados, os quais são instáveis a fatores ambientais como luz, temperatura e oxigênio, o que gera a necessidade de que o óleo seja previamente microencapsulado para que se mantenha estável em produtos alimentícios. Portanto, objetivou-se contribuir para o desenvolvimento de alimentos funcionais. O trabalho foi dividido em 2 etapas. Na primeira etapa foi avaliado a composição do óleo de chia, e realizado a sua microencapsulação e caracterização das microcápsulas. Na segunda etapa foram elaboradas quatro formulações de queijo processado: formulação padrão (FP), formulação com adição de inulina (FI), formulação com adição de inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOCM) e a formulação adição de inulina e óleo de chia livre (FIOCL). As formulações de queijo processado foram caracterizadas através de análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. O óleo de chia apresentou elevado teor de ácidos graxos insaturados. A microencapsulação do óleo de chia pela técnica de gelificação iônica utilizando como material de parede o alginato de sódio e cloreto de cálcio resultou em microcápsulas com eficiência de microencapsulação de 94,37% na proporção óleo: alginato 3:1, baixa solubilidade em água (0,04%) e tamanho de partícula das microesferas de 195,2 μm , sendo estes resultados satisfatórios porque a eficiência de encapsulação foi considerada alta, a solubilidade foi baixa, sendo ideal para adição das microesferas em produtos alimentícios com alto teor de água e o tamanho de partícula as classificou como microesferas. Os teores de umidade e gordura no extrato seco das formulações obtidas estão de acordo com a legislação brasileira. A formulação com adição de inulina (FI) apresentou redução de 36% de gordura, os testes sensoriais indicaram que a mesma não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) em comparação com a formulação padrão em relação a todos os atributos analisados, e apresentou características semelhantes a formulação padrão, podendo ser produzido um queijo processado funcional com redução de gordura. A FIOCM apresentou diferença significativa em relação a FIOCL em relação ao sabor, provando que o processo de microencapsulação foi capaz de mascarar o sabor de óleo, porém são necessários ajustes no processo para evitar a formação de aglomerados de microcápsulas que interferem na textura do produto, considerando-se que o óleo de chia agrega funcionalidade ao mesmo.

Palavras-chave: Ácidos graxos insaturados, Inulina, Gelificação iônica.

ABSTRACT

The growing demand for functional foods, which in addition to its nutritional function provides consumer health benefits, has prompted the food industry to reshape its products to meet this need. The dairy industries are an important vehicle for functional foods, as these products are well accepted by consumers as food added with healthy compounds. Grana Padano cheese is a dairy product that has a good nutritional composition, but has a high fat content, which is mainly composed of saturated fatty acids. Processed cheeses are products obtained through the fusion of cheeses with the addition of non-dairy products in up to 30%, which allows the addition of functional compounds such as inulin that provides prebiotic effect in the body and chia oil that has high content of unsaturated fatty acids, which are unstable to environmental factors such as light, temperature and oxygen, which generates the need for the oil to be pre-microencapsulated to remain stable in food products. Therefore, it was aimed to contribute to the development of functional foods. The work was divided into 2 stages. In the first stage the chia oil composition was evaluated, and its microencapsulation and microcapsule characterization were performed. In the second step, four processed cheese formulations were formulated: standard formulation (FP), formulation with inulin addition (IF), inulin addition formulation and chia oil microcapsules (FIOCM) and the addition formulation of inulin and chia oil (FIOCL). The processed cheese formulations were characterized by microbiological, physico-chemical and sensorial analyzes. Chia oil had a high content of unsaturated fatty acids. The microencapsulation of chia oil by the ionic gelling technique using sodium alginate and calcium chloride resulted in microcapsules with microencapsulation efficiency of 94.37% in the ratio 3:1 oil: alginate low solubility in water (0,04%) and particle size of the microspheres of 195.2 μm , these results being satisfactory because the encapsulation efficiency was considered high, the solubility was low, being ideal for addition of microspheres in food products with high water content and particle size as microspheres. The moisture and fat contents in the dried extract of the formulations obtained are in accordance with the Brazilian legislation. The formulation with inulin addition (IF) showed a 36% fat reduction, the sensorial tests indicated that it did not present a significant difference ($p > 0.05$) compared to the standard formulation in relation to all attributes analyzed, and presented characteristics similar to the standard formulation, and a functional processed cheese with fat reduction could be produced. The FIOCM showed a significant difference in relation to FIOCL in relation to the taste, proving that the microencapsulation process was able to mask the oil taste, however adjustments in the process are necessary to avoid the formation of agglomerates of microcapsules that interfere in the texture of the product, considering that chia oil adds functionality to it.

Key words: Unsaturated fatty acids, Inulin, Ionic gelation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de produção de queijo processado	34
Figura 2: Estrutura química do alginato	38
Figura 3: Desenho esquemático e coordenação de cálcio do modelo da caixa de ovos descrito para o par de cadeias nas zonas de junção cálcio-alginato.....	38
Figura 4: Microencapsulação por gelificação iônica	39
Figura 5- Estrutura química da inulina	40
Figura 6 – Banho termostatizado, recipiente encamisado e agitador axial.....	49
Figura 7- Micrografia eletrônica das microesferas com aumento de 600 x	56
Figura 8- Termogravimetria das microesferas vazias.....	58
Figura 9- Termogravimetria das microesferas com óleo de chia.....	58
Figura 10- Termogravimetria do óleo de chia	58
Figura 11- FTIR das microesferas vazias, do óleo livre e microencapsulado	61
Figura 12: Aspecto do queijo processado obtido pela formulação padrão	63
Figura 13: Distribuição da frequência atribuída aos julgadores aos atributos sensoriais do teste CATA para as diferentes formulações de queijo processado.....	69
Figura 14: Número de autovalores dos componentes das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos.....	70
Figura 15: Número de autovalores dos componentes das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações de queijos processados adicionados de inulina, óleo de chia e óleo de chia microencapsulado	48
Tabela 2– Perfil de ácidos graxos em relação aos lipídeos presentes no óleo de chia .	53
Tabela 3– Eficiência de encapsulação utilizando diferentes proporções de óleo de chia:alginate.....	54
Tabela 4– Solubilidade das microcápsulas em água.....	55
Tabela 5– Calorimetria exploratória diferencial das microesferas vazias, do óleo livre e microencapsulado.	57
Tabela 6– Distribuição do tamanho das microesferas vazias e de microesferas com óleo	62
Tabela 7 – Composição química das formulações de queijo processado em base úmida	65
Tabela 8 – Composição química das formulações de queijo processado em base seca	65
Tabela 9 – Médias dos atributos utilizados para avaliar a aceitabilidade do consumidor	66
Tabela 10 – Frequência das escolhas dos atributos no questionário CATA.....	67

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais classes de ingredientes de alimentos funcionais.....	31
Quadro 2 - Parâmetros microbiológicos para queijo processado fundido.....	51

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	29
2.1 DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTÍCIOS	29
2.1.1 Alimentos funcionais.....	30
2.1.2 Produtos lácteos funcionais.....	32
2.1.3 Desenvolvimento de novos produtos lácteos funcionais.....	32
2.1.4 Queijos processados	33
2.2 ÓLEO DE CHIA.....	35
2.3 ENCAPSULAÇÃO	36
2.3.1 Agentes encapsulantes.....	37
2.3.1.1 <i>Alginato de sódio</i>	37
2.3.2 Encapsulação por gelificação iônica	39
2.4 INULINA	40
2.5 MÉTODOS AVANÇADOS DE AVALIAÇÃO SENSORIAL	41
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	43
3.1 MATÉRIAS PRIMAS	43
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	43
3.3 ETAPA 1: DEFINIÇÃO DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE CHIA, MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA E CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS	43
3.3.1 Determinação da composição do óleo de chia	43
3.3.2 Elaboração das microcápsulas.....	44
3.3.3 Eficiência do encapsulamento do óleo de chia.....	44
3.3.4 Solubilidade das microcápsulas em água	45
3.3.5 Análise morfológica	45
3.3.6 Calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria.....	46
3.3.7 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho	46
3.3.8 Tamanho de partícula e dispersão granulométrica.....	46
3.3.9 Tratamento dos dados de caracterização das microcápsulas.....	47
3.4 ETAPA 2: ELABORAÇÃO E ANÁLISES DAS FORMULAÇÕES DE QUEIJOS PROCESSADOS.....	47

3.4.1	Elaboração das formulações de queijo processado	47
3.4.2	Caracterizações químicas das formulações de queijo processado	50
3.4.3	Análises microbiológicas	50
3.4.4	Análise sensorial	51
3.4.5	Tratamento dos dados.....	52
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1	ETAPA 1: DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE CHIA, MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA E CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS	53
4.1.1	Eficiência de encapsulação.....	54
4.1.2	Solubilidade das microcápsulas	55
4.1.3	Caracterização morfológica.....	56
4.1.4	Calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria.....	57
4.1.5	Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho	60
4.1.6	Tamanho de partícula e dispersão granulométrica.....	62
4.2	ETAPA 2: ELABORAÇÃO E ANÁLISES DAS FORMULAÇÕES DE QUEIJO PROCESSADO	63
4.2.1	Caracterizações químicas das formulações de queijo processado.	64
4.2.2	Análises microbiológicas	65
4.2.3	Análise sensorial	65
5.	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS	75
	APÊNDICE A – ARTIGO CIENTÍFICO	85
	APÊNDICE B – ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DA MISTURA DE SAL FUNDENTE E ESPESSANTE.....	119
	APÊNDICE C – CROMATOGRAMA DO ÓLEO DE CHIA.	123
	APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	125
	APÊNDICE E – ALEATORIZAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA A ANÁLISE SENSORIAL.....	127

1. INTRODUÇÃO

A disponibilidade de alimentos, sustentabilidade e suficiência para alimentar a crescente população são desafios da indústria de alimentos. Da mesma forma, com o aumento da população cresce também a necessidade de produção de alimentos em maiores quantidades, bem como a procura por alimentos com apelo de saúde, na busca pela prevenção de doenças, sendo este o mercado dos alimentos funcionais (MARONE, 2017).

Alimentos funcionais são alimentos que além de sua função nutricional promovem benefícios na saúde do consumidor, como melhoria do sistema imunológico e geração do bem estar, além de prevenir doenças não transmissíveis como câncer, diabetes, colesterol, problemas cardíacos, doença de Alzheimer, osteoporose, entre outros (KHAN et al., 2013; ARIHARA, 2014; SHEIKH et al., 2017). Os componentes que tornam o alimento funcional podem estar naturalmente presentes ou podem ser adicionados com intuito de modificar o alimento para que este proporcione benefícios à saúde (TUR; BIBILONI, 2016). As classes de ingredientes funcionais mais citadas em artigos científicos são prebióticos, probióticos, antioxidantes e atuação de ácidos graxos polinsaturados (YEUNG et al, 2018). Estudos iniciais em relação ao efeito funcional de ácidos graxos poli-insaturados foram relatados ao final dos anos 60, descobrindo-se que estes poderiam controlar o nível de colesterol no sangue (KEYS et al., 1965).

Os produtos lácteos são veículos de alimentos funcionais bem aceitos pelos consumidores, especialmente quando adicionados de probióticos e prebióticos (SHORI, 2015). O desenvolvimento de produtos alimentares com um apelo à saúde é uma tendência irreversível para o setor lácteo, que é obrigado a atuar na reformulação de muitos produtos convencionais e bem estabelecidos (FERRÃO et al, 2016).

O queijo Mozzarella é um dos tipos de queijos mais consumidos no Brasil, principalmente pelo alto consumo em pizzas. É um queijo macio e úmido, apresenta em média 43% a 46% de umidade, 22% a 24% de gordura, e teor de sal é de aproximadamente 1,6% a 1,8% (SILVA, 2005). O queijo tipo Grana Padano é um queijo italiano considerado funcional pela legislação europeia, devido ao seu alto valor nutricional, presença de peptídeos bioativos, probióticos, prebióticos, vitaminas e minerais (SUMMER et al, 2017). Porém, possui alto teor de lipídeos saturados (MANUELIAN et al, 2017). Durante o processamento desses queijos, são geradas aparas, que podem ser utilizadas para fabricação de queijos processados, os quais são produzidos a partir da fusão e emulsão de queijos com adição de outros ingredientes (PRIKRYL

et al., 2018). Os ingredientes opcionais que não fazem parte da base láctea, com exceção da água, poderão estar presentes no produto final em uma proporção de no máximo 30% (m/m) (BRASIL, 1997). Portanto ao produzir queijos processados, podem-se adicionar ingredientes alimentares funcionais como prebióticos e óleos ricos em ácidos graxos insaturados e antioxidantes, como forma de torná-lo mais saudável.

O óleo de chia é rico em ácidos graxos insaturados, sendo composto principalmente por ômega-3 (64,5-69,3%), além de possuir compostos bioativos, como tocoferóis, polifenóis, carotenóides e fósforo. Os principais compostos fenólicos encontrados no óleo de chia são os ácidos clorogênico e caféico, seguidos por miricetina, quercetina e kaempferol. Portanto este é um óleo adequado para ser adicionado em alimentos que contenham baixos teores destes compostos (IXTAINA et al, 2011). Devido ao potencial antioxidante do óleo de chia, este é capaz de reduzir o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica (MARINELI et al. 2015).

O ácido graxo α -linolênico é abundante no óleo de chia, tem sido estudado por proporcionar diversos benefícios à saúde como efeito cardioprotetor, hepatoprotetor (POUDYAL et al, 2012) e no tratamento da depressão (MISCHOULON; FREEMAN, 2013). Devido aos benefícios à saúde, o óleo de chia pode agregar funcionalidade a produtos em que for adicionado, sendo uma alternativa para adição em queijos processados. Porém este é instável a fatores ambientais como temperatura, luz e oxigênio, havendo a necessidade de ser protegido dessas adversidades antes de ser adicionado em alimentos (BEYKI et al., 2014).

A microencapsulação é uma tecnologia que tem sido utilizada para superar estas desvantagens, sendo o método de gelificação iônica adequado, em razão de que este apresenta condições brandas de processamento, pois se baseia na capacidade de gelificação de um polímero na presença de íons de cálcio, sem a necessidade de aquecimento e sem o uso de solventes tóxicos. O alginato é um polissacarídeo adequado para ser utilizado na encapsulação de materiais termicamente instáveis como os ácidos graxos insaturados através da técnica de gelificação iônica, devido a sua capacidade de gelificar em temperatura ambiente e a facilidade de formar géis quando em contato com cátions Ca^{2+} ou Mg^{2+} (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016).

O uso de ingredientes prebióticos na fabricação de produtos lácteos, inclusive em queijos, é uma alternativa de desenvolvimento de alimentos funcionais. Prebióticos são carboidratos de cadeia curta que não podem ser metabolizados pelo organismo humano, os quais estimulam o desenvolvimento de bactérias benéficas ao organismo (FERRÃO et al, 2016). A inulina é um prebiótico geralmente utilizado em alimentos como substituto de gordura e modificador de textura, sendo bastante aplicada no desenvolvimento de alimentos funcionais

devido ao seu potencial benéfico à saúde (SHOAIB et al, 2016). A inulina é um frutano que não apresenta sabor e é capaz de aumentar a estabilidade de emulsões (BOTREL et al, 2014).

Esta dissertação se enquadra na linha de pesquisa de “Qualidade e propriedades funcionais de alimentos” uma vez que a proposta deste estudo foi agregar funcionalidade a um produto através da adição de inulina e microcápsulas de óleo de chia, sendo estes os ingredientes diferenciados no queijo processado. Este projeto é de grande interesse para as indústrias de produtos lácticos e aos consumidores, pois é um produto com a presença de ácidos graxos insaturados e de prebiótico, tornando-se uma opção de alimento funcional.

Objetivou-se o desenvolvimento de queijos processados funcionais adicionados de inulina e microcápsulas de óleo de chia. Os objetivos específicos foram: a) o desenvolvimento de microcápsulas de óleo de chia através do processo de gelificação iônica; b) a caracterização das microcápsulas; c) o desenvolvimento de formulações de queijo processado adicionado de óleo de chia microencapsulado e inulina; d) avaliação dos efeitos da adição de óleo de chia microencapsulado e da inulina sobre a composição química e aos atributos sensoriais e a aceitabilidade sensorial dos queijos processados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

O processo de desenvolvimento de novos produtos na indústria de alimentos possui uma variedade de fatores e procedimentos para que tenha sucesso, sendo que os principais estágios críticos básicos englobam o desenvolvimento de estratégias de produtos, design e desenvolvimento de produtos, comercialização de produtos, além do lançamento e pós-lançamento de produtos (KHAN et al, 2013).

Segundo o Decreto-Lei nº 986 - de 21 de Outubro de 1969, produto alimentício é:

“todo alimento derivado de matéria-prima alimentar ou de alimento in natura, adicionado ou não, de outras substâncias permitidas, obtido por processo tecnológico adequado”.

De acordo com Resolução nº 16 de 30 de Abril de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, novos alimentos e ingredientes são:

“os alimentos ou substâncias sem histórico de consumo no País, ou alimentos com substâncias já consumidas, e que, entretanto venham a ser adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos atualmente observados nos alimentos utilizados na dieta regular.”

Devido a influência do marketing de alimentos, a tendência é que os consumidores se tornem cada vez mais conscientes sobre a segurança alimentar, o que faz com que a indústria de alimentos passe por importantes modificações, tanto na produção, processamento e distribuição de alimentos, afim de fornecer produtos seguros e que proporcionem a manutenção e benefícios a saúde do consumidor (MARONE, 2017).

O desenvolvimento de alimentos funcionais tem se tornado fundamental na área de desenvolvimento de novos produtos para indústria de alimentos, pois os consumidores estão buscando cada vez mais por alimentos saudáveis e que ajudam a prevenir doenças crônicas e melhoram a saúde e bem-estar (KHAN et al., 2013).

Ao desenvolver um produto alimentício, antes de determinar a composição deste, é imprescindível definir o público alvo ao qual esse vai se destinar, como idosos, desportistas, pessoas com diabetes ou colesterol, afim de que este produto atenda às necessidades do grupo de consumidores destinado. De acordo com Strotmann et al, (2017) é necessário focar no público-alvo para ter uma estratégia de marketing centrada no mesmo, sendo este fator muito importante para o sucesso das empresas.

2.1.1 Alimentos funcionais

A Resolução nº 18 de 30 de Abril de 1999, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária fornece a definição legal de ingrediente ou alimento funcional:

“O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica.” (BRASIL, 1999).

Alimentos funcionais são aqueles que contêm um ou mais componentes específicos que apresentam interferência funcional na saúde e bem-estar do consumidor. Estes alimentos podem ser naturalmente funcionais ou adicionados de ingredientes funcionais, modificando um alimento para proporcionar benefícios à saúde, como na defesa contra estresse oxidativo, regulação de processos metabólicos e fisiologia cardiovascular e gastrointestinal (TUR; BIBILONI, 2015).

A Resolução nº 19 de 30 de abril de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária define como alegação de propriedade funcional:

“aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano.” (BRASIL, 1999).

Alimentos com alegação de propriedade funcional devem conter ingredientes que podem contribuir, por exemplo, na proteção das células contra os radicais livres, no funcionamento do intestino e equilíbrio da flora intestinal, na manutenção dos níveis saudáveis de triglicerídeos, na redução da absorção do colesterol, entre outros (ANVISA)

A Resolução nº 02 de 07 de Janeiro de 2002 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária define como substância bioativa:

“além dos nutrientes, os não nutrientes que possuem ação metabólica ou fisiológica específica.”

Substâncias bioativas e probióticos são classificados em: carotenóides, fitoesteróis flavonóides, fosfolipídeos, organosulfurados, polifenóis e probióticos (BRASIL, 2002).

O Quadro 1 apresenta as principais classes de ingredientes de alimentos funcionais.

Quadro 1 - Principais classes de ingredientes de alimentos funcionais

Ingrediente	Benefícios à saúde	Exemplo	Referência
Antioxidantes	Modulação do sistema imunológico; Desintoxicação de metais pesados e xenobióticos; Regulação do hormônio tireoidiano; Risco diminuído de câncer e doenças neurodegenerativas; Modulação da função tireoidiana.	Selênio; Fitoquímicos: Fenólicos; Flavonóides; Tocoferol; Isoflavonas; Antocianinas; Carotenoides; Esteróis; Proteínas do leite (peptídeos).	(CARDOSO, 2017); (MOHAMMADIAN et al, 2017)
Ácidos Graxos	Redução de fatores de risco de doença cardiovascular; Aumento do HDL e redução de LDL; Redução da morte em pacientes que sobrevivem ao infarto do miocárdio; Redução da insuficiência cardíaca crônica; Efeitos anti-inflamatórios; Efeitos na obesidade; Melhoria da função endotelial; Redução da pressão sanguínea; Proteção contra placas ateroscleróticas; Risco de trombose reduzido; Diminuição da arritmia cardíaca; Altera a toxicidade de drogas quimioterapêuticas; Previne câncer de pele e bucal; Função benéfica à imunidade.	Ácido α -linolênico (ácido graxo ω -3); AGPs n-6 (ácido araquidônico)	(CARDOSO, 2017); (DUNBAR, BOSIRE, DECKELBAUM, 2014)
Proteínas peptídios e aminoácidos	Propriedades: Antibacterianas; Antidiabéticas; Anti-hipertensivas; Inibidoras de enzimas; Antitrombóticas; Imunomoduladoras; Anticancerígenas.	Fragmentos inativos específicos na sequência da proteína nativa	(MOHAMMADIAN et al, 2017)
Probióticos	Melhorar a digestibilidade e a nutrição; Prevenir a ocorrência de diarreia; Reduzir o risco de câncer; Prevenir ou aliviar alergias e doenças atópicas; Prevenir e tratar doenças infecciosas.	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Enterococcus faecium</i>	(AGYEMAN et al, 2017)
Prebióticos	Alimento para microbiota; Prevenção de doenças inflamatória intestinal; Melhora funcionamento intestinal; Efeito favorável na fermentação no cólon; Redução dos níveis de colesterol no sangue (LDL); Melhora dos níveis de glicose no sangue e insulina; Reduz risco de câncer de cólon e obesidade.	Oligossacarídeos: Fructooligosacarídeos (FOS) e Galacto-oligosacarídeos de lactose (GOS) Fructo-oligosacarídeos de sacarose Inulina e oligofrutose de raízes de chicória Amido resistente; β -glucanos; Lactulose; Lactitol;	(MEYER, 2015); (RASMUSSEN, HAMAKER, 2017)
Vitaminas	Propriedades antioxidantes; Antiinflamatório; Agente hipocolesterolêmico; Neuroprotetor; Atenua o desenvolvimento de doenças cardiovasculares; Prevenção do câncer; Equilíbrio dos sistemas imunológico e nervoso; Melhoria da saúde óssea.	E (tocoferóis e tocotrienóis) D; B (B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12); K	(TORQUATO et al, 2016); (RAI, AGRAWAL, 2017); (CAMPBELL, TRUMP, 2017); (MIKKELSEN et al, 2017); (PALERMO et al, 2017)
Minerais	Produção de hormônios; Regulação dos batimentos cardíacos; Construção dos ossos; Transmissão de impulsos nervosos; Constituir parte estrutural de enzimas; Regulação dos níveis de glicose; Ativação de enzimas antioxidantes; Controle da pressão arterial; Sistema imunológico.	Ferro; Cálcio; Fósforo; Zinco; Iodo; Magnésio; Cobre; Selênio; Cromo; Manganês.	(GHARIBZAHEDI, JAFARI, 2017)

Fonte: elaborado pelo Autor (2017)

2.1.2 Produtos lácteos funcionais

Os lácteos são os produtos mais estudados como matrizes para desenvolvimento de alimentos funcionais. O uso de ingredientes prebióticos na fabricação de produtos lácteos, inclusive em queijos, é uma alternativa de desenvolvimento de alimentos funcionais. Prebióticos são carboidratos de cadeia curta que não podem ser metabolizados pelo organismo humano, os quais estimulam o desenvolvimento de bactérias benéficas ao organismo (FERRÃO et al, 2016).

A aplicação de probióticos em produtos lácteos é bastante comum, principalmente em iogurtes e queijos, sendo esta uma área de rápido crescimento de alimentos funcionais e de alta aceitação pelos consumidores. Os produtos lácteos funcionais adicionados de probióticos promovem redução de sintomas de intolerância a lactose, tratamento de diarreia, redução de colesterol no sangue, melhora da imunidade e propriedades anticarcinogênicas (SHORI, 2015).

Queijos italianos do tipo Grana Padano e Parmegiano Reggiano podem ser considerados alimentos funcionais de acordo com a definição da Unidade Européia. Esses tipos de queijos contêm vários compostos benéficos à saúde, como peptídios bioativos com atividade imunomoduladora e peptídeos inibidores de enzimas conversoras de angiotensina com efeitos anti-hipertensivos, oligossacarídeos com propriedades prebióticas, bactérias probióticas, ácido linoleico, vitaminas e sais minerais dentre os quais o cálcio se destaca por estar altamente disponível e pelo seu impacto na saúde óssea (SUMMER et al, 2017).

2.1.3 Desenvolvimento de novos produtos lácteos funcionais

O desenvolvimento de alimentos funcionais desempenha um papel importante na indústria alimentar moderna, sendo esta uma tendência irreversível para o setor lácteo, o qual deve atuar na reformulação de muitos produtos convencionais bem estabelecidos (FERRÃO et al, 2016).

Ao desenvolver um produto alimentício é importante pensar no público alvo ao qual este vai ser destinado, pois de acordo com Abecassis et al. (2018), os produtos lácteos do futuro serão cada vez mais sofisticados e complexos, tendo funcionalidades específicas de acordo com a necessidade de cada grupo-alvo, como exemplo produtos para desportistas ou para idosos.

O queijo é um alimento rico em nutrientes essenciais como vitaminas, minerais, peptídeos bioativos e ácidos graxos. Dentre os minerais presentes, o leite e os produtos lácteos fornecem entre 60 e 70% de Ca, que é essencial para a saúde dos ossos e dentes. As autoridades de alimentos saudáveis recomendam uma mudança na ingestão de ácidos graxos saturados para ácidos graxos insaturados e para evitar gordura trans (MANUELIAN et al, 2017).

As gorduras presentes no leite incluem os triglicerídeos, diglicéridos, colesterol e fosfolipídios. O colesterol presente em produtos de origem animal, podem afetar negativamente os níveis plasmáticos de colesterol, causando aumento dos níveis de LDL e aumento de risco de doenças cardiovasculares (GALLI, RISÉ, 2017).

O consumo de ácidos graxos ômega-3 pode atenuar o risco de doenças cardiovasculares, pois estes diminuem o nível de triglicerídeo e previnem o desenvolvimento da aterosclerose (ARCA et al, 2018), ácidos graxos insaturados como ômega-3 (ω -3) e ômega-6 (ω -6) diminuem o risco de doenças cancerígenas, inflamatórias e autoimunes (MANUELIAN et al, 2017), portanto a adição de óleo rico em ácidos graxos insaturados em alimentos com alto teor de gordura saturada como queijos processados pode ser uma alternativa para atenuar os efeitos da gordura saturada e tornar o produto um alimento funcional.

2.1.4 Queijos processados

De acordo com a Portaria nº 356, (BRASIL 1997, p.1):

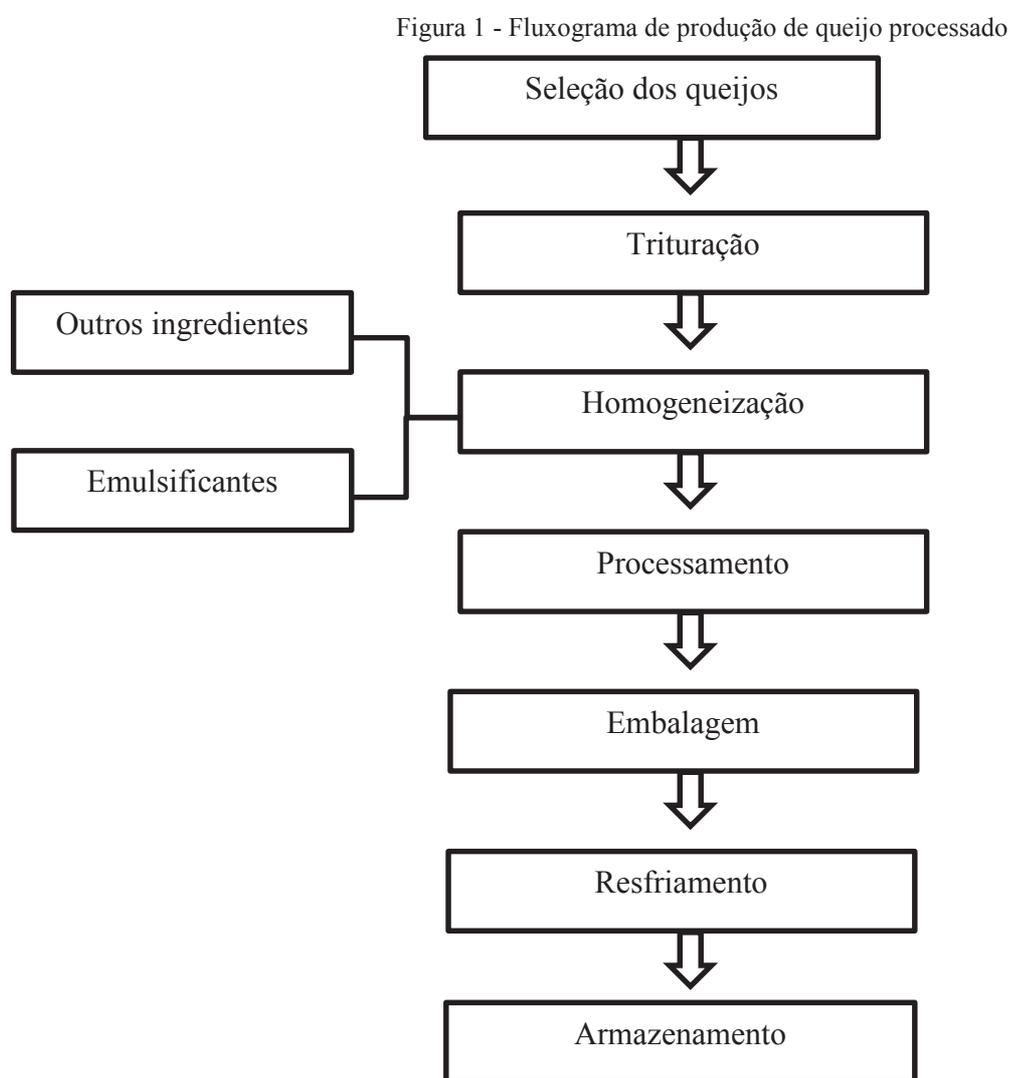
“Entende-se por Queijo Processado o produto obtido por trituração, mistura, fusão e emulsão por meio de calor e agentes emulsionantes de uma ou mais variedades de queijo, com ou sem adição de outros produtos lácteos e/ou sólidos de origem láctea e ou especiarias, condimentos ou outras substâncias alimentícias na qual o queijo constitui o ingrediente lácteo utilizado como matéria prima preponderante na base láctea.”

Segundo o Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade de Queijo Processado ou Fundido, Processado Pasteurizado e Processado ou Fundido U.H.T (UAT), estes produtos apresentam como ingredientes obrigatórios queijos de uma ou mais variedades e agentes emulsificantes autorizados. Podem ser utilizados ingredientes opcionais como manteiga, leite, creme, gordura anidra de leite, água, leite em pó, queijo em pó, queijo processado, caseinatos, outros sólidos de origem láctea, especiarias, condimentos, cloreto de sódio, outras substâncias alimentícias, amidos ou amidos modificados, edulcorantes, nutritivos, ar, dióxido de carbono, nitrogênio, gases inertes,

todos de qualidade alimentar. Os ingredientes opcionais que não fazem parte da base láctea, com exceção da água, combinados ou isolados, poderão estar presentes no produto final em uma proporção de no máximo 30% (m/m) (BRASIL, 1997).

Os queijos processados espalháveis são tipicamente compostos por uma mistura de queijos, gorduras, água e sais emulsificantes como sais de sódio, fosfatos, polifosfatos ou citratos. A mistura de ingredientes é agitada e fundida em temperaturas de aproximadamente 85°C a 110°C durante 1 a 5 minutos. Posteriormente a mistura obtida é transferida para as embalagens e resfriada abaixo de 8°C (PRIKRYL et al., 2018).

A Figura 1 apresenta o fluxograma do processo de produção de queijo processado



Fonte: Oliveira et al (2016)

Os parâmetros de processamento do queijo processado, tais como a temperatura de fusão, velocidade de agitação e tempo de resfriamento afetam de maneira relevante a

consistência do produto. Estes parâmetros influenciam principalmente a emulsificação da gordura e água adicionadas, portanto a microestrutura do queijo processado. A adição de compostos bioativos também pode afetar as características sensoriais, como sabor e consistência do produto (PRIKRYL et al., 2018).

Na fabricação de queijos processados, um fator muito importante a ser analisado é a estabilidade da gordura dentro da matriz, algumas características como textura, capacidade de fusão, firmeza e integridade do produto são afetadas pelas propriedades da gordura. Deve ser realizada a homogeneização, a fim de uniformizar a distribuição e tamanho das partículas de gordura. A adição de agentes emulsificantes é fundamental para manter a estabilidade da dispersão de gordura no produto (RAMEL, MARANGONI, 2017).

2.2 ÓLEO DE CHIA

A chia (*Salvia hispanica*) é uma planta herbácea que pertence à família *Lamiaceae* nativa do México e Guatemala. Devido ao seu alto teor de ácidos graxos poli-insaturados, as sementes da chia são consideradas relevantes para nutrição e saúde humana. O percentual de ácido α -linolênico (ALA) da semente de chia é de aproximadamente 68%, sendo o maior até então conhecido em plantas, além de serem fonte de fibras, proteínas, cálcio, magnésio, ferro vitamina B e compostos fenólicos que proporcionam atividade antioxidante (BARRETO et al, 2016).

Os principais ácidos graxos encontrados no óleo de chia são α -linolênico (64,5-69,3%), ácido linoleico (16,6-20,3%), ácido oleico (5,3-5,8%), ácido palmítico (5,5-6,6%) e ácido esteárico (2,7-4,4%). O óleo de chia possui um teor moderado de componentes bioativos, como tocoferóis (238-427 mg / kg), polifenóis (6×10^{-6} a $2,1 \times 10^{-5}$ mol / kg), carotenóides (0,53 mg / kg a 1,21 mg / kg) e fósforo (46 a 225 mg/kg). Os principais compostos fenólicos encontrados no óleo de chia são os ácidos clorogênico e cafeico, seguidos por miricetina, quercetina e kaempferol (IXTAINA et al, 2011).

Os compostos fenólicos, nomeados como ácidos fenólicos, são compostos que se acredita retardar os processos oxidativos, devido a sua capacidade antioxidante (SOUSA, 2008). O ácido cafeico presente no óleo de chia apresenta atividade neuroprotetora, o que pode ser aplicado na prevenção e no manejo de vários distúrbios neurológicos, como a epilepsia (COELHO et al, 2015).

O ácido α -linolênico tem sido relatado como capaz de reduzir o risco de doenças cardiovasculares, e conseqüentemente reduzir a mortalidade (POOLE et al, 2013). Além do efeito cardioprotetor, o ácido α -linolênico promove a hepatoproteção por meio da indução a redistribuição lipídica no organismo (POUDYAL et al, 2012). Também tem sido relatado como agente adjuvante no tratamento de depressão (MISCHOULON; FREEMAN, 2013).

2.3 ENCAPSULAÇÃO

A encapsulação é um processo muito utilizado pelas indústrias farmacêuticas, de cosméticos e alimentos. Nas indústrias de alimentos a microencapsulação é utilizada com a finalidade de preservar produtos sensíveis como óleos, compostos aromáticos, enzimas, minerais, vitaminas e corantes (RODRIGUEZ et al., 2016).

A adição de óleos diretamente a matriz de alimentos possui várias desvantagens, pois tendo sensibilidade à temperatura, luz e oxigênio, podem sofrer degradação na presença destes fatores (BEYKI et al., 2014).

Uma maneira de proteger os óleos contra a degradação e volatilização é através da encapsulação, pois de acordo com Kaushik et al. (2015), os materiais de parede nas microcápsulas têm como função proteger a substância presente no núcleo dos fatores ambientais, melhorando desta maneira a sua estabilidade, ampliando sua vida útil, melhorando a funcionalidade, e aumentando assim a gama de aplicações.

O processo de microencapsulação permite a liberação controlada dos compostos ativos e diminui a volatilização dos óleos, além de mascarar o sabor e odor da substância presente no núcleo quando estes não são desejados (RODRIGUEZ et al., 2016).

Os materiais encapsulados são normalmente mencionados como núcleo, ingrediente ativo, fase interna ou carga útil. Denomina-se concha, material de parede, revestimento, cobertura, ou membrana ao material externo protetor ao redor do núcleo (VERSIC, 1988).

As microcápsulas são formadas por um núcleo interno e um invólucro exterior, na qual o núcleo contém o ingrediente ativo. A microesfera não possui um núcleo definido, e sim uma matriz sólida onde o ingrediente ativo é disperso (BENAVIDES et al., 2016).

De acordo com o tamanho, as partículas de cápsulas ou esferas são divididas em micro ou nanopartículas. Micropartículas são partículas poliméricas, com dimensões que podem oscilar entre 1 a 250 μm . As nanopartículas são organizações de polímeros

submicrônicos ($<1 \mu\text{m}$). Conforme a metodologia utilizada no processo de preparação, nanopartículas, nanocápsulas ou nanoesferas são obtidas, as quais são morfologicamente análogas as microcápsulas e microesferas (SAÉZ et al., 2004).

Diversos métodos podem ser empregados para realizar o encapsulamento de compostos bioativos para utilização em produtos alimentícios. O método de encapsulamento mais adequado deve ser selecionado de acordo com as características do material núcleo e do produto final em que o material encapsulado será aplicado, sendo os métodos mais utilizados a secagem e resfriamento por pulverização, gelificação iônica, coacervação e lipossomas. O material externo da cápsula também apresenta influência sobre as propriedades do material encapsulado, principalmente em relação à eficiência do encapsulamento (DIAS et al., 2017).

2.3.1 Agentes encapsulantes

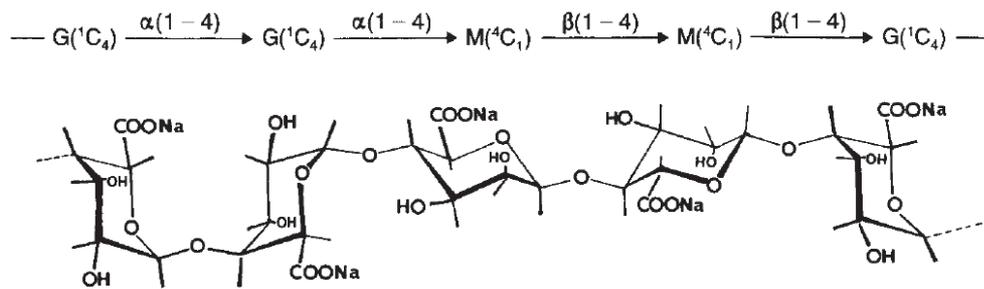
A seleção do material encapsulante deve ser realizada com base em fatores como mecanismo de liberação, não-reatividade com o composto a ser encapsulado e condições de secagem. O material de parede deve apresentar qualidade alimentar e alta solubilidade em água, tendo em vista que o processo é realizado utilizando formulações aquosas. O material também deve apresentar boas propriedades de secagem, emulsão e formação de filmes, sendo necessário ter baixa viscosidade (RODRIGUEZ et al., 2016).

2.3.1.1 Alginato de sódio

O alginato é polissacarídeo aniônico de baixo custo e não tóxico, abundante na natureza, encontrado em bactérias e algas marrons, amplamente utilizado na indústria alimentícia e biomédica (ZIA et al., 2015), apresenta propriedades de encapsulação, capacidade de formação de gel, e facilidade de moldagem em várias geometrias (VENKATESAN et al., 2015).

Os alginatos constituem uma família de copolímeros binários não ramificados ligados de forma linear por ligações glicosídicas α (1, 4) de β -D-ácido manurônico (M) e α -L-ácido glutônico (G), como pode ser observado na figura 2. A sequência e a composição podem variar de acordo com o organismo do qual o alginato é isolado (SMIDSRØD; SKJAK-BRAEK, 1990).

Figura 2: Estrutura química do alginato

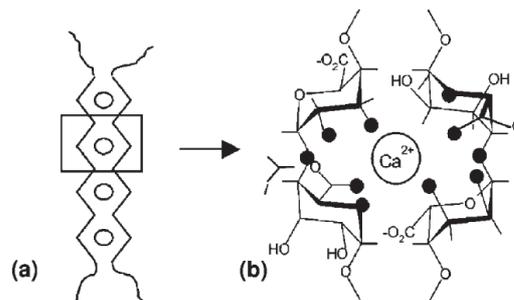


Fonte: SMIDSRØD, SKJAK-BRAEK; (1990)

A solubilidade do alginato em água depende alguns fatores como o pH, pois este deve estar acima de um certo valor crítico e os grupos de ácido carboxílico devem ser desprotonados para tornar o alginato solúvel. A força iônica do meio é outro fator que afeta a solubilidade do alginato, pois altera algumas propriedades deste como a conformação do polímero, viscosidade e a extensão da cadeia. A presença de cátions divalentes como Ca^{+2} , Sr^{+2} e Ba^{+2} no solvente causam a gelificação do alginato, portanto, para que o alginato se dissolva no meio aquoso este deve estar livre de íons de reticulação. Enquanto em meio orgânico, a solubilidade do alginato requer a formação de um sal de tetrabutylamônio (TBA). O estado dos grupos de ácidos carboxílicos de base influencia diretamente sobre a solubilidade do alginato (PAWAR; EDGAR, 2011).

Os cátions divalentes possibilitam a associação de pares de cadeias poliméricas (Figura 3 a) e a formação de zonas de junção estáveis de acordo com o modelo caixa de ovo, portanto, os cátions de Ca^{2+} causam a associação inter-cadeias e a formação de zonas de junção do gel. A Figura 3 b apresenta a associação esquemática denominada caixa de ovos, entre as unidades G, na qual dois pares de unidades G consecutivas se juntam através da coordenação de um cátion Ca^{2+} (SIKORSKI et al, 2007).

Figura 3: Desenho esquemático e coordenação de cálcio do modelo da caixa de ovos descrito para o par de cadeias nas zonas de junção cálcio-alginato.



Fonte: SIKORSKI et al; (2007)

A reticulação de alginato é normalmente realizada por gotejamento de uma solução de alginato de sódio em um banho de cloreto de cálcio, a qual é utilizada em processos de encapsulação (PAWAR; EDGAR, 2012). Nesse processo, o Na^+ é substituído por Ca^{2+} , onde cada íon deste liga duas cadeias de alginato, tornando as cadeias menos flexíveis em segundos após o gotejamento da solução de alginato em banho de água com íons de Ca^{2+} (ZIA et al, 2015).

2.3.2 Encapsulação por gelificação iônica

A gelificação iônica é um método químico que se baseia nas interações entre polímeros de carga oposta ou entre um polímero e um polycation ou poliânion (BENAVIDES et al, 2016).

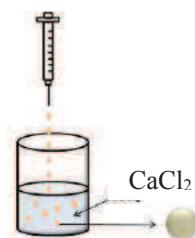
O alginato é um polímero que tem boa capacidade de formação de ligações iônicas com cátions polivalentes como íons de cálcio, o que gera uma estrutura de ligações cruzadas, formando uma película polimérica (REES, 1969).

O biopolímero mais utilizado como material de parede é o alginato devido a sua capacidade de gelificação na presença de cálcio aniônico sem a necessidade de aquecimento, o que torna estas condições de processo adequadas para o encapsulamento de óleos com alto teor de ômega 3 (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016).

A técnica de gelificação iônica resume-se em expelir uma solução contendo o polímero e o agente bioativo a ser encapsulado através de um bocal de alta pressão, a qual irá ser gotejada em uma solução contendo cloreto de cálcio (Figura 4) para que esta se solidifique por gelificação iônica. Neste processo o cálcio é difundido para o interior das gotas de polímero (BUREY et al., 2008). As partículas permanecem sob agitação por um determinado período de tempo, suficiente para que as ligações cruzadas se desenvolvam lentamente da superfície para o interior da partícula gelificada (ROCHA, 2001).

Figura 4: Microencapsulação por gelificação iônica

Solução de Alginato



Fonte: COMUNIAN, TRINDADE; (2016)

A técnica de gelificação iônica ou gelificação ionotrópica realizada por processo de extrusão, produz partículas de distribuição de tamanho que pode variar de 1 a 10000 µm dependendo do tamanho do bico do equipamento (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016).

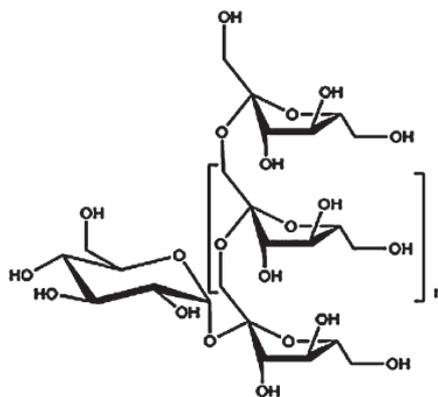
2.4 INULINA

A inulina é um polissacarídeo de armazenamento de plantas, dentre as quais as raízes de chicória são consideradas como a fonte mais rica em inulina. A inulina pertence ao grupo de carboidratos não digeríveis denominados frutanos. Em alimentos, a inulina é geralmente utilizada como substituto de gordura e açúcar, prebiótico e modificador de textura, sendo bastante utilizada no desenvolvimento de alimentos funcionais devido ao seu potencial benéfico a saúde gástrica (SHOAIB et al, 2016).

A inulina é um frutano sem sabor capaz de aumentar a estabilidade de emulsões, além de oferecer vários benefícios para a saúde (BOTREL et al, 2014). A inulina oferece benefícios nutricionais para a saúde humana, dentre eles a função como fibra dietética, regulação da ingestão e do apetite de alimentos, redução do risco de doenças gastrointestinais, efeito no metabolismo lipídico diminuindo o risco de altas concentrações de triacilglicerol, melhora na absorção de cálcio, magnésio e ferro, efeito prebiótico, estimulação do sistema imunológico e ainda apresenta baixo valor calórico (SHOAIB et al, 2016).

A Figura 5 apresenta a estrutura química da inulina

Figura 5- Estrutura química da inulina



Fonte: SHOAIB et al, (2016)

2.5 MÉTODOS AVANÇADOS DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

A caracterização sensorial é fundamental para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios, sendo a análise descritiva tradicional com avaliadores treinados comumente utilizada para esta função. Devido à necessidade de utilização de métodos mais rápidos e descrições sensoriais de produtos geradas por consumidores, desenvolveu-se novos métodos que atendam a essas necessidades. As características sensoriais obtidas com estes novos métodos rápidos são semelhantes às obtidas por análise descritiva tradicional com avaliadores treinados, porém ainda não podem ser consideradas como substituição aos métodos clássicos (ARES et al, 2015).

O método CATA (Check All That Apply) está entre as técnicas rápidas desenvolvidas recentemente para análise sensorial. Uma lista descritiva pré-definida é apresentada aos participantes, os quais são instruídos a selecionar todas as palavras que se aplicam ao produto. O método CATA é considerado fácil de aplicar e é considerado pelos consumidores como fácil e não tedioso ao ser realizado. Pesquisas realizadas relatam que as caracterizações de produtos geradas por consumidores utilizando CATA são semelhantes aos resultados obtidos por métodos tradicionais utilizando equipe treinada (ARES et al, 2015).

Ao elaborar a lista de termos para se aplicar o CATA é importante levar em consideração o número de termos utilizados, pois quando se utilizam muitos termos e estes são semelhantes ocorre uma “diluição” na frequência de citação. Portanto não se deve utilizar um número excessivo de termos e sim incluir diferentes termos para características sensoriais relevantes, com a finalidade de ter perceber a heterogeneidade do consumidor (JAEGER et al, 2015).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios da Faculdade de Engenharia e Arquitetura, do Centro de Pesquisa em Alimentação – Cepa e da Central Multiusuários de Equipamentos – Cemulti, do Parque Tecnológico, todos localizados nas dependências da Universidade de Passo Fundo.

3.1 MATÉRIAS PRIMAS

O óleo de chia foi obtido por doação da empresa Pазze Alimentos localizada no município de Panambi- RS. O concentrado proteico de soro de leite, a mistura de sal fundente e espessantes e a nisina foram obtidos por doação da empresa Globalfood. A inulina foi obtida por doação da empresa Sweetmix. As aparas de queijo tipo Grana Padano foram obtidas por doação da empresa Rasip e o queijo Mozzarella foi obtido por doação da empresa Laticínio Boavistense.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A pesquisa foi estruturada em duas etapas. Na etapa 1 foi realizada a definição da composição do óleo de chia, a microencapsulação do óleo de chia e caracterização das microcápsulas. Na etapa 2 foram elaboradas quatro formulações de queijo processado, sendo essas a formulação padrão, formulação com adição de inulina, adição de inulina e microcápsulas de óleo de chia e adição de inulina e óleo livre. Foram realizadas as análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo processado.

3.3 ETAPA 1: DEFINIÇÃO DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE CHIA, MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA E CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS

3.3.1 Determinação da composição do óleo de chia

O óleo de chia foi caracterizado quanto ao perfil de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa (Modelo GC-FID -8440, SHIMADZU), sob as seguintes condições: coluna DB-MAX 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; temperatura da coluna: 130°C,

com aumento de 2°C / min até atingir 210°C (2 min); injeção Split 1:50; temperatura do injetor: 230 °C; volume injetado: 1 µL; método de quantificação: normalização de área e gás de arraste: Hélio ultra puro 1 mL min⁻¹.

3.3.2 Elaboração das microcápsulas

As microcápsulas de óleo de chia foram obtidas através da técnica de gelificação iônica, utilizando como material de parede alginato de sódio reticulado em cloreto de cálcio.

As microcápsulas foram formadas de acordo com Ren et al. (2016) com algumas modificações. O método consistiu na formação de microcápsulas com 100 mL da solução de alginato de sódio (1,5%) com adição de óleo nas seguintes proporções: 1:1, 2:1 e 3:1 (óleo: alginato). As misturas foram agitadas por 30 min com auxílio de um homogeneizador Ultra Turrax e após foram atomizadas em 200 mL da solução de cloreto de cálcio (1,1%) utilizando o extensor do bico do Spray-dryer (LM MSD 1.0). Posteriormente as microcápsulas foram agitadas levemente por 30 min, em seguida foram filtradas, lavadas três vezes com água destilada (300 ml) e liofilizadas (Liofilizador SL-404 Terroni) para posterior avaliação e caracterização, conforme os métodos adicionados a seguir.

3.3.3 Eficiência do encapsulamento do óleo de chia

A eficiência de encapsulação foi realizada de acordo com Chan (2011) com algumas modificações. Foi efetuada a quantificação de óleo não encapsulado presente na solução de CaCl₂ após a filtração, na água de lavagem das microcápsulas e nos utensílios utilizados no processo de microencapsulação. A determinação do peso do óleo livre foi feita através da lavagem com hexano para extração de lipídeos, na qual a solução de CaCl₂ e a água de lavagem foram transferidas para funil de separação e o hexano utilizado para lavar os utensílios foi também adicionado ao funil de separação e agitado vigorosamente para extrair o lipídeo presente no líquido. O conteúdo presente no funil foi mantido por 12 horas para separação completa das fases e em seguida o hexano foi transferido para balão de fundo chato, evaporado e o lipídeo restante foi pesado. O teor de óleo encapsulado foi calculado pela diferença entre o peso total de óleo adicionado no processo

de microencapsulação e o peso de óleo não encapsulado e a eficiência de encapsulação foi calculada pela Equação 1.

$$EE(\%) = \left(\frac{\text{Óleo encapsulado (g)}}{\text{Óleo total adicionado(g)}} \right) \times 100 \quad (1)$$

3.3.4 Solubilidade das microcápsulas em água

A solubilidade em água foi determinada pelo método descrito por Eastman e Moore (1984), citado por Cano-Chauca et al. (2005), com modificações. As microcápsulas foram inseridas em água sob as mesmas condições de temperatura e agitação que serão submetidas ao serem adicionadas ao queijo processado, o período de tempo testado foi de 5 e 30 minutos, afim de avaliar se há diferença na solubilidade das microcápsulas no produto se as mesmas forem adicionadas no início do processamento que é de 30 minutos ou somente nos últimos 5 minutos. O método consiste na adição de 0,5 g de amostra em um recipiente contendo 50 mL de água destilada, sob agitação de 2.000 rpm e temperatura de 60 °C pelo tempo a ser testado, seguida por centrifugação a 6800 rpm por 15 minutos. Uma alíquota de 12,5 mL do sobrenadante foi levada à estufa a 105 °C, até evaporação completa da água. O percentual de solubilidade foi calculado de acordo com a Equação 2.

$$\text{Solubilidade (\%)} = \left(\frac{(\text{massa de sólidos em 12,5 mL de solução}) * 4}{\text{massa da amostra (g)}} \right) \times 100 \quad (2)$$

3.3.5 Análise morfológica

As características superficiais (externas) foram avaliadas através do uso de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (MEV), (Modelo JSM-6390LV, JEOL). As partículas foram fixadas em stubs de alumínio sobre fitas de carbono adesivas e posteriormente recobertas com uma fina camada de ouro em equipamento Balzer (Baltec SCD50). As observações foram realizadas com aceleração de 20 kV.

3.3.6 Calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é um método de análise térmica, este permite avaliar as variações de entalpia que ocorrem com uma substância e um material de referência em função da temperatura, enquanto essas são submetidas a uma programação controlada de temperatura (JI et al., 2004).

A termogravimetria (TG) é um sistema capaz de medir continuamente a massa de um material enquanto este é submetido a uma programação controlada de temperatura. É um método termoanalítico que permite verificar as alterações que o aquecimento pode causar nas substâncias, como modificações da estrutura molecular, além de estabelecer a faixa de temperatura em que as mesmas sofrem processos de decomposição (GIRON, 2002).

As curvas termogravimétricas e calorimétricas foram obtidas em um simulador de análise térmica (STA 6000, Perkin Elmer). Foram realizadas para as amostras de óleo de chia, microesferas vazias e óleo de chia microencapsulado.

3.3.7 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

As microcápsulas vazias (solução de alginato de sódio reticulado em CaCl_2) e as microcápsulas de óleo de chia foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho (Agilent Technologies, modelo Cary 630), empregando 4 mg de cada amostra, sendo que o registro dos espectros se dá através de Transmitância (% T). Os espectros foram coletados através de 48 varreduras no modo de absorbância de 4000 a 650 nm com uma resolução de 4 nm. As análises foram realizadas à temperatura ambiente (25 °C).

3.3.8 Tamanho de partícula e dispersão granulométrica

O tamanho de partícula foi avaliado por espectrometria de difração a laser, utilizando faixa de análise entre 0,3 μm a 500 μm . O tamanho de partículas foi medido utilizando um instrumento de difração de luz laser (BETTERSIZER, modelo S2-WD). O princípio de medida utilizado foi Fraunhofer. Foram realizadas 100 leituras em triplicata para cada amostra. A partir de uma quantidade homogênea de amostra obtida, por meio do software específico, foi determinado o diâmetro médio e a distribuição de tamanho das

micropartículas. O span, valor matemático definido como a medida da dispersão granulométrica (CHEN; DAVIS, 2002), avalia a variação do volume de distribuição das partículas em relação ao diâmetro médio, foi calculado de acordo com a Equação 3:

$$span = \left(\frac{d_{(v,90)} - d_{(v,10)}}{d_{(v,50)}} \right) \quad (3)$$

Sendo:

$d_{(v,90)}$, $d_{(v,50)}$, $d_{(v,10)}$ correspondem, respectivamente, ao diâmetro das partículas a 10%, 50% e 90% da distribuição acumulada para a amostra.

3.3.9 Tratamento dos dados de caracterização das microcápsulas

Os resultados das análises das microcápsulas de óleo de chia foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95% para avaliar comportamento do óleo microencapsulado, com exceção da análise morfológica, calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria, avaliação por espectroscopia na região do infravermelho e o tamanho de partícula.

3.4 ETAPA 2: ELABORAÇÃO E ANÁLISES DAS FORMULAÇÕES DE QUEIJOS PROCESSADOS

3.4.1 Elaboração das formulações de queijo processado

A formulação padrão de queijo processado apresentada na Tabela 1 foi fornecida pela empresa Globalfood, assim como alguns materiais necessários. Foram elaboradas diferentes formulações de queijo processado (apresentadas na Tabela 1), sendo estas com redução de creme de leite e adição de inulina, óleo de chia livre e microcápsulas de óleo de chia liofilizadas, as quais foram elaboradas realizando-se modificações na formulação padrão.

Tabela 1 – Formulações de queijos processados adicionados de inulina, óleo de chia e óleo de chia microencapsulado

Formulação	FP (%)	FI (%)	FIOCL (%)	FIOCM (%)
Água	38,40	43,40	43,40	43,40
Mistura de queijos	30,00	30,00	30,00	30,00
Creme de leite (40% MG)	28,00	13,00	10,91	10,55
Concentrado proteico de soro	1,50	1,50	1,50	1,50
Mistura de sal fundente e espessante	1,50	1,50	1,50	1,50
Sal	0,60	0,60	0,60	0,60
Nisina	0,002	0,002	0,002	0,002
Inulina	-	10,00	10,00	10,00
Óleo de chia	-	-	2,091	-
Microcápsulas de óleo de chia	-	-	-	2,45

FP: formulação padrão, FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado.

Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

Os queijos processados funcionais foram formulados considerando-se o Regulamento técnico Mercosul de identidade e qualidade de queijo processado ou fundido, processado pasteurizado e processado ou fundido U.H.T (UAT) presente na Portaria nº 356, de 04 de setembro de 1997, a qual estabelece que os ingredientes opcionais que não fazem parte da base láctea, exceto a água, isolados ou combinados, deverão estar presentes em uma proporção máxima de 30% (m/m) do produto final. As especificações técnicas da mistura de sal fundente e espessante constam no Anexo A.

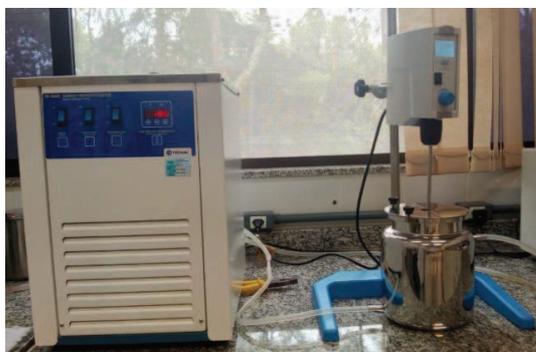
O teor de óleo de chia microencapsulado foi adicionado de acordo com Regulamento Técnico do Mercosul Sobre Informação Nutricional Complementar (Declarações de Propriedades Nutricionais) anexo à Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012, o qual estabelece que para que o alimento seja considerado fonte de ômega 3 este deve conter o mínimo de 300 mg de ácido alfa-linolênico por porção, sendo esta de 30g para queijos processados. O teor de ômega 3 adicionado no queijo processado foi calculado levando-se em consideração a análise cromatográfica, a qual apresentou o teor do ácido alfa-linolênico presente no óleo de chia utilizado. Foram considerados também o resultado da eficiência de encapsulação e a proporção de alginato utilizada no processo de microencapsulação.

O teor de inulina foi adicionado com base nas regras da ANVISA que abrangem a categoria de “Alimentos com Alegações de Propriedade Funcional e ou de Saúde”. Segundo estas normas, apenas os alimentos cuja porção diária forneça no mínimo 3g de inulina se o alimento for sólido, ou 1,5g se o alimento for líquido, podem apresentar a alegação de “contribuir para o equilíbrio da flora intestinal”. A porção de queijo processado é de 30g.

A mistura de queijos apresentada na Tabela 1 é composta por aparas de queijo tipo Mozzarella e queijo tipo Grana Padano, na proporção 70:30 de Mozzarella:Grana Padano, para que o queijo Mozzarella forme uma emulsão e evite a separação de gordura.

Para elaboração das formulações de queijo processado, foram realizados diversos testes variando-se equipamentos e parâmetros de processamento como velocidade de agitação, tempo e temperatura. A metodologia considerada mais adequada foi na qual inicialmente os materiais secos foram misturados a frio (mistura de sal fundente e espessantes, concentrado proteico de soro de leite, sal e nisina), posteriormente esta mistura foi inserida no recipiente encamisado acoplado a um banho termostaticado pré-aquecido a 60° (Figura 6) e em seguida os demais materiais foram adicionados, sendo estes a mistura de queijos Mozzarella e aparas de Grana Padano, creme de leite e água a aproximadamente 80°C. A mistura foi mantida a 60°C, sob agitação com o auxílio de um agitador axial (Figura 6) a 900 rpm por 30 minutos. Nas formulações contendo óleo de chia livre e óleo de chia microencapsulado, estes ingredientes foram adicionados ao final do processo e agitados até a completa homogeneização.

Figura 6 – Banho termostaticado, recipiente encamisado e agitador axial.



Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

Conforme estabelecido na Portaria nº 356, de 04 de setembro de 1997, após o processo de produção, o queijo processado foi mantido a uma temperatura abaixo de 10° C até a caracterização físico-química, microbiológica e sensorial.

3.4.2 Caracterizações químicas das formulações de queijo processado

As caracterizações químicas de umidade, proteína, resíduo mineral fixo, fibras e carboidratos das formulações de queijo processado foram realizadas de acordo com as metodologias descritas nas Normas do Instituto Adolfo Lutz, (2008):

a) Umidade determinada pela perda de massa em estufa regulada a 105°C, até peso constante;

b) Proteína bruta analisada pelo método Kjeldahl, sendo o teor proteico calculado pela multiplicação do teor de nitrogênio pelo fator 6,25.

c) Resíduo mineral fixo determinado em mufla a 550°C por 1 hora até ocorrer à incineração total da matéria orgânica. Resfriado em dessecador e pesado até peso constante.

d) Teor de fibras totais foi determinado pelo método de hidrólise ácida sob refluxo, sendo utilizada a mufla a 550 °C, a amostra foi aquecida e resfriada até peso constante, a perda de peso foi igual a quantidade de fibra bruta.

e) O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens de água, proteína, lipídios totais e cinzas.

O teor de lipídeos totais foi realizado de pelo método Butirométrico para creme de leite, descrito pela Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006. O método tem como princípio o tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool isoamílico, onde o ácido digere as proteínas ligadas à gordura, reduzindo a viscosidade do meio, aumentando a densidade da fase aquosa e fundindo a gordura, devido à liberação do calor resultante da reação, o que favorece a separação da gordura pelo álcool isoamílico. A amostra é centrifugada e submetida a banho-maria, em seguida a leitura é feita na escala graduada do butirômetro.

3.4.3 Análises microbiológicas

Os parâmetros microbiológicos definidos para queijo processado fundido apresentados no Quadro 2 são estabelecidos pela Resolução-RDC Nº 12, de 02 de Janeiro

de 2001, no anexo Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos.

Quadro 2 - Parâmetros microbiológicos para queijo processado fundido.

Microorganismos	Tolerância para Amostra Representativa	Tolerância para Amostra INDICATIVA
Coliformes a 45°C	n=5 c=2 m=<3 M=10	10
Estaf.coag.positiva/g	n=5 c=2 m=10 ² M=10 ³	10 ³

Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

As análises microbiológicas foram realizadas com todas as formulações que foram submetidas à avaliação sensorial.

3.4.4 Análise sensorial

O projeto foi encaminhado ao comitê de Ética da Universidade de Passo Fundo, número do parecer 2.740.501, sendo aprovado pela Comissão de avaliação. O termo de consentimento livre e esclarecido apresentado aos participantes da avaliação sensorial encontra-se no Apêndice A. Não puderam fazer parte desta pesquisa os participantes alérgicos a qualquer um dos componentes do queijo processado como ao queijo grana padano, queijo Mozzarella, creme de leite, concentrado proteico de soro de leite, sal, água, sal de fusão, espessantes e nisina.

Os participantes adultos se dispuseram voluntariamente a participar do teste. Os quais receberam uma amostra de cada formulação (apresentadas na Tabela 1) totalizando quatro formulações de queijo processado, sendo estas a formulação padrão, formulação adicionada de inulina, formulação adicionada de óleo de chia livre e óleo de chia microencapsulado. As amostras foram apresentadas de forma monádica (uma amostra por vez), aleatorizadas e codificadas (Apêndice B), utilizando luz branca e computador para avaliar os dois testes propostos. As amostras foram apresentadas acompanhadas de biscoito tipo água e sal, para remoção de sabor residual, e água para lavagem do palato, devendo ser consumidas entre cada amostra. Aos julgadores foi solicitado que avaliassem as amostras quanto à aceitabilidade e segundo o formulário da análise CATA (Check-all-that-apply).

A aceitabilidade é um teste afetivo, no qual o julgador expressa o quanto gostou ou desgostou da amostra, o mesmo é aplicado utilizando-se uma escala hedônica de nove pontos, balanceada com o mesmo número de categorias positivas e negativas (DUTCOSKY, 1996). Foram avaliados atributos, cor, aroma, textura, sabor, aparência e impressão global através de escala hedônica verbal estruturada. O índice de aceitabilidade foi calculado de acordo com a Equação 4:

$$IA = \left(\frac{\text{Média}}{9} \right) \times 100 \quad (4)$$

As amostras foram avaliadas pelo método CATA (check-all-that-apply) utilizando consumidores, sendo apresentado a estes termos que caracterizam o produto previamente definidos e solicitado para que selecionem os termos que considerarem de acordo com o produto.

A definição dos termos descritivos foi realizada com base nos atributos de aparência, textura, cor, odor e sabor comuns a alguns produtos alimentícios (Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos - 4ª Edição) e termos utilizados por Silva (2010) para caracterização sensorial de requeijão.

A lista com os termos foi utilizada para a aplicação da metodologia CATA, permitindo aos provadores selecionarem os termos que caracterizam a amostra (ARES et al., 2014).

3.4.5 Tratamento dos dados

Os resultados das caracterizações químicas e da aceitabilidade das formulações de queijo processado foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95 %.

A análise dos dados obtidos com a metodologia CATA foi realizada através de análise estatística multivariada (Análise de Componentes Principais) utilizando o Programa Statistica 7.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ETAPA 1: DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE CHIA, MICROENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA E CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS

A Tabela 2 apresenta o resultado da análise de cromatografia gasosa do óleo de chia a ser microencapsulado e posteriormente adicionado no queijo processado, mostrando o teor dos ácidos graxos em relação aos lipídeos presentes no óleo. O cromatograma se encontra no Anexo B.

Tabela 2– Perfil de ácidos graxos em relação aos lipídeos presentes no óleo de chia

Tipo de ácido graxo	Teor de cada ácido graxo (%)
C18:3	47,80
C18:1	21,89
C18:2	20,99
C16:0	4,79
C18:0	4,53
Total	100

O óleo de chia apresentou composição semelhante à relatada por outros autores. Ding et al (2018) analisaram o perfil de ácidos graxos de óleo de chia produzido em Taiwan e constataram que o mesmo apresenta em maior quantidade o ácido α -linolênico (56.98%), seguido pelo ácido linoleico (21.51%) e ácido oleico (9.17 %). Ixtaina et al (2011) analisou o perfil de ácidos graxos do óleo de chia produzido na Alemanha e encontrou como principais ácidos graxos o α -linolênico (64,5-69,3%), ácido linoleico (16,6-20,3%), e ácido oleico (5,3-5,8%). Segundo Silva et al, (2016) a composição química do óleo de chia pode variar de acordo com a condição climática e localização geográfica em que foi produzido.

Percebe-se que há variações na composição de ácidos graxos de óleos de chia provenientes de diferentes regiões, porém a maior parte da composição de ambos é sempre do ácido α -linolênico.

Devido ao alto teor de ácidos graxos insaturados presentes no óleo de chia este apresenta baixa estabilidade oxidativa, necessitando de uma proteção contra a oxidação para manter sua qualidade, sendo a microencapsulação uma alternativa que vem sendo estudada para este propósito (INÁCIO et al, 2018).

4.1.1 Eficiência de encapsulação

A Tabela 3 apresenta os resultados de eficiência de encapsulação para os testes de elaboração das microcápsulas com diferentes proporções de óleo/alginate.

Tabela 3– Eficiência de encapsulação utilizando diferentes proporções de óleo de chia:alginate

Teste	Proporção óleo:alginate	Eficiência de encapsulação (%)
1	1:1	96,70± 0,46 ^a
2	2:1	94,97± 0,72 ^b
3	3:1	94,37± 0,23 ^b

Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ao nível de 95% de confiança (média±dp).

O teste 1 apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em relação aos demais testes, apresentando maior eficiência de encapsulação, porém aprisionou menor quantidade de óleo de chia, pois foi o experimento com a menor proporção de óleo adicionada com relação a proporção de alginate. Os testes 2 e 3 (Tabela 3) apresentaram eficiência de encapsulação estatisticamente igual ($p > 0,05$), sendo que o experimento 3 aprisionou maior quantidade de óleo de chia devido a maior proporção de óleo:alginate adicionada.

Ao aumentar o teor de óleo de chia da proporção óleo:alginate 1:1 para 2:1 ocorreu uma redução estatisticamente significativa da eficiência de encapsulação, enquanto ao aumentar o teor de óleo da proporção 2:1 para 3:1 o mesmo fato não ocorreu, indicando que é possível aprisionar maior teor de óleo de chia sem alterar significativamente a eficiência do processo.

Os resultados de eficiência de encapsulação obtidos foram superiores ao encontrado por Benavides et al, (2016) que também utilizaram o método de gelificação iônica e alginate de sódio como material de parede e obteve 85% de eficiência de encapsulação, utilizando uma concentração de óleo essencial de tomilho de 2% (v/v), a

qual é inferior ao teor de óleo utilizado no teste 2 e 3, os quais foram de 3% e 4,5% (v/v) respectivamente.

Nashihah et al. (2018) também utilizaram o método de gelificação iônica para microencapsular óleo de farelo de arroz, utilizando alginato de sódio como material de parede e obteve resultado de eficiência de encapsulação superior ao encontrado no presente trabalho, o qual foi de 99,2 %, porém fez o uso de agente emulsificante e utilizou a proporção de 40:50:10 de óleo: alginato: emulsificante, proporção de óleo inferior ao menor teor de óleo testado no presente trabalho de foi de 1:1 de óleo: alginato, portanto a presença de agente emulsificante e o menor teor de óleo justificam a obtenção de eficiência de encapsulação superior a obtida no presente trabalho.

4.1.2 Solubilidade das microcápsulas

A solubilidade das microcápsulas em água é um aspecto fundamental, pois pode possibilitar a incorporação das mesmas em diferentes alimentos (BENDER et al., 2016). No caso da incorporação das microcápsulas em queijo processado, este é um fator muito importante, pois de acordo com o com o Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade de Queijo Processado ou Fundido, Processado Pasteurizado e Processado ou Fundido U.H.T (UAT), o teor máximo de umidade permitida é de 70 (g/100g), portanto para que as microcápsulas sejam aplicadas neste produto é necessário que as mesmas apresentem baixa solubilidade. O percentual de solubilidade das microcápsulas que foram adicionadas ao queijo processado está apresentada na Tabela 4.

Tabela 4– Solubilidade das microcápsulas em água

Teste	Tempo de agitação (min)	Solubilidade (%)
1	5	0,04 ±0,00 ^a
2	30	0,16 ±0,06 ^a

Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ao nível de 95% de confiança (média±dp).

O percentual de solubilidade das microcápsulas de óleo de chia em água não apresentou diferença significativa ao nível de significância de 5% quando as mesmas foram mantidas por 5 ou 30 minutos sob agitação em temperatura de 60°C, mostrando-se que a solubilidade não varia se as cápsulas forem adicionadas ao início ou somente nos últimos 5 minutos de processamento do queijo processado.

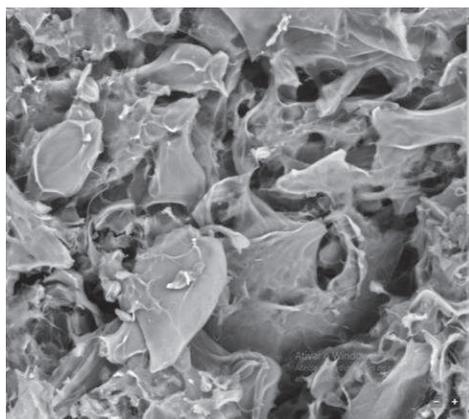
Os percentuais de solubilidade apresentados são considerados baixos, isso se deve ao fato de que ao gotear a solução de alginato de sódio em solução com cátions divalentes o torna insolúvel (EL-GHAFFAR et al., 2012).

4.1.3 Caracterização morfológica

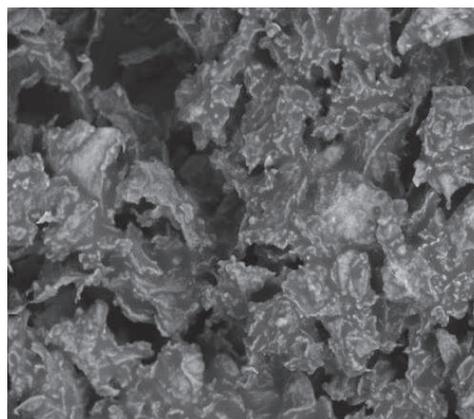
As micrografias eletrônicas de varredura (Figura 7) exibem a forma e a morfologia superficial das esferas vazias (a) e com óleo de chia (b).

As microesferas foram secas pelo processo de liofilização, o qual remove a água das mesmas e ocasiona o enfraquecimento na estrutura da matriz, promove o achatamento das paredes, encolhimento das microesferas e pode causar formação de rachaduras (Figura 7 a) (ZOHAR-PEREZ; CHET; NUSSINOVITCH, 2004; ALVES et al., 2017).

Figura 7- Micrografia eletrônica das microesferas com aumento de 600 x



(a) Microesferas vazias



(b) Microesferas com óleo de chia

Fonte: Autor (2018)

O processo de liofilização causa colapso na estrutura das esferas no momento em que a água é sublimada a partir da matriz, devido a este fenômeno as microesferas apresentaram superfície enrugada e formato irregular (CHAN et al., 2011).

Ao comparar a micrografia eletrônica de varredura das microesferas vazias (Figura 7 a) com a micrografia eletrônica de varredura das microesferas com óleo de chia (Figura 7 b), percebe-se que a espessura da parede das microesferas vazias é menor do que das microesferas com óleo, assemelhando-se a folhas. Este aumento da espessura ocorre devido ao

preenchimento das microcápsulas com óleo, provando que ocorreu a microencapsulação do óleo de chia.

4.1.4 Calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria

A Tabela 5 apresenta os resultados das variações de entalpia e temperaturas nos picos da análise calorimétrica das microesferas vazias, do óleo de chia livre e microencapsulado.

Tabela 5– Calorimetria exploratória diferencial das microesferas vazias, do óleo livre e microencapsulado.

Tratamento	ΔH (J. g ⁻¹)	Tp (°C)
Microesferas vazias	590,92	501,02
Microesferas com óleo de chia	120,47	744,37
Óleo de chia	484,54	429,87

ΔH : entalpia, Tp: Temperatura do pico

A energia envolvida e as temperaturas de mudança de fase geram informações em relação as características físicas dos compostos. A entalpia de fusão das microesferas com óleo de chia foi menor quando comparada as microesferas vazias, esta redução da entalpia de fusão ocorre devido à diminuição da porção cristalina da amostra de microesferas de óleo de chia em comparação com a amostra de microesferas vazias, devido a presença do óleo que desorganiza a estrutura cristalina, necessitando menor energia para ocorrer a fusão da amostra. Esta redução é um indicativo de que a microencapsulação do óleo foi eficiente (ROJAS, 2018). A temperatura de mudança de fase foi maior para as microesferas contendo óleo de chia do que do que para as demais amostras, indicando maior estabilidade térmica devido ao processo de microencapsulação do óleo de chia.

As Figuras 8, 9 e 10 apresentam as análises termogravimétricas das microesferas com óleo de chia e óleo de chia livre, respectivamente.

Figura 8- Termogravimetria das microesferas vazias

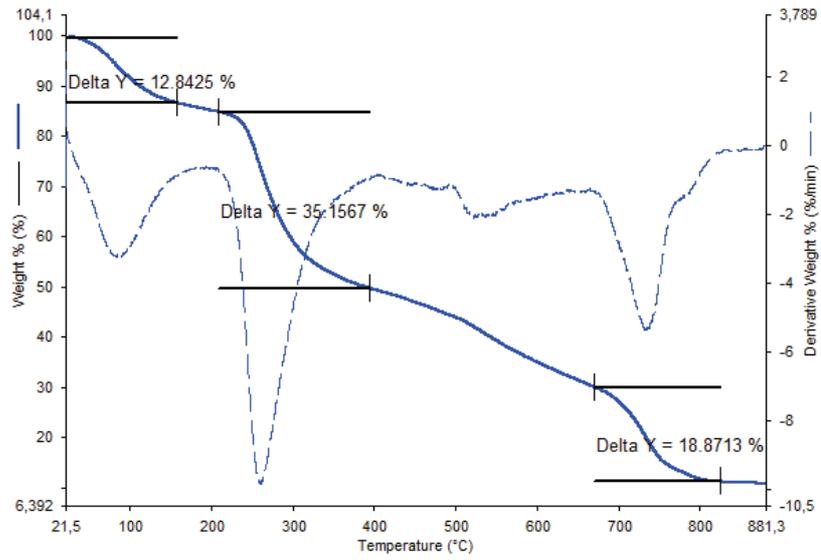


Figura 9- Termogravimetria das microesferas com óleo de chia

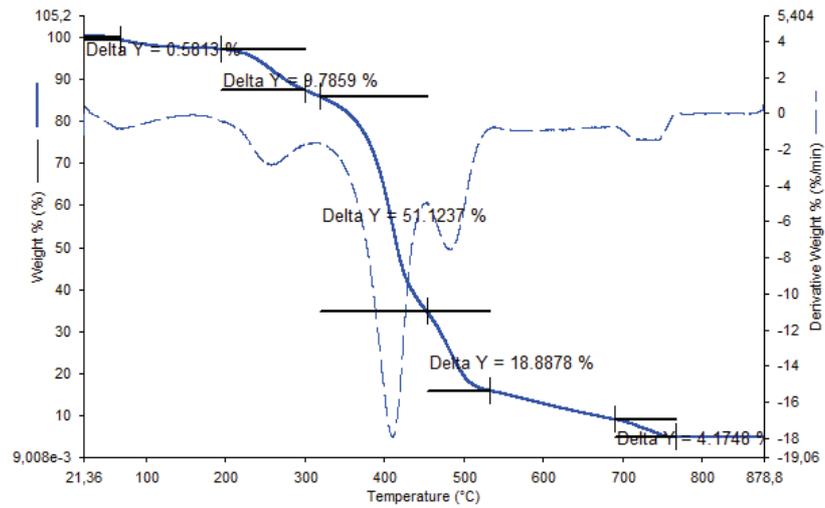
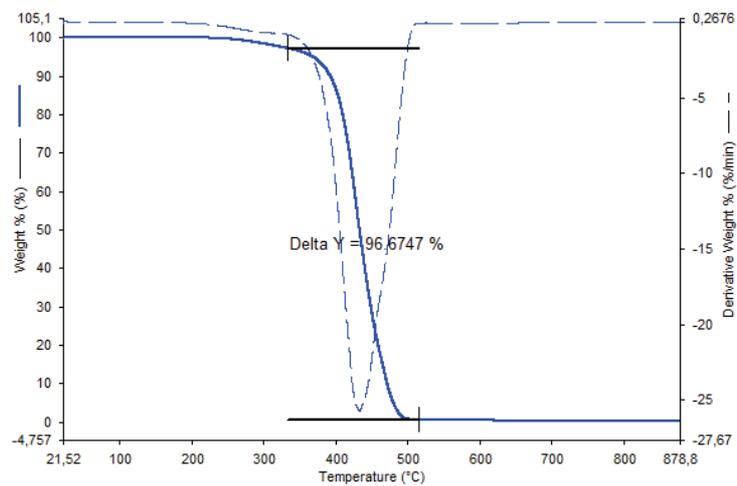


Figura 10- Termogravimetria do óleo de chia



Nas Figuras 8 e 9 percebe-se uma pequena perda de massa inicial, que representa aproximadamente 12,8% da amostra de microcápsulas vazias e 0,5% de microcápsulas com óleo de chia pouco antes de atingir 100°C, o que representa a perda de umidade presente nas microcápsulas (COMUNIAN et al, 2016). De acordo com Rizzo et al. (2013), nos picos de perda de massa acima de 200 °C, identificados como segundo estágio, ocorre a decomposição dos componentes das amostras, tais como carboidratos, e outros componentes menores, e liberam substâncias voláteis, o que pode ser observado nas Figuras 8 e 9, nas quais ocorreram picos de perda de massa quando a amostra atingiu aproximadamente 260°C e houve decomposição de cerca de 35% de amostra de microcápsulas vazias e 10% da amostra de microcápsulas com óleo de chia, devido a presença de carboidratos oriundos do alginato utilizado como material encapsulante.

A fusão dos triglicerídeos varia de acordo com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes e de sua distribuição estereo-específica ao longo das moléculas de glicerol, tal como com o grau de ramificação e comprimento de cadeia (DICKINSON; MCCLEMENTS, 1995; FERRARI et al., 2007). A degradação térmica de lipídeos depende do tipo de ácido graxo presente na amostra, as variações de massa estão relacionadas ao processo de degradação térmica que ocorre em três passos, correspondendo à degradação dos ácidos graxos poli-insaturados (200-380°C), monoinsaturados (380-480°C), e saturados (480-600°C) respectivamente (SANTOS et al., 2002).

Os óleos vegetais são comumente compostos por uma mistura de triglicerídeos, por consequência, a fusão dos mesmos ocorre em uma ampla faixa de temperaturas (DICKINSON; MCCLEMENTS, 1995). O óleo de chia utilizado é composto por 68,79% de ácidos graxos poli-insaturados (47,80% de ácido α -linolênico e 20,99% de ácido linoleico), 21,89% de ácidos graxos monoinsaturados (ácido oleico) e 9,32% de ácidos graxos saturados (4,79% de ácido palmítico e 4,53% ácido esteárico).

Na Figura 10 observa-se que a perda de massa da amostra de óleo de chia livre iniciou a aproximadamente 220 °C enquanto o início do pico de degradação ocorreu em torno de 340°C, temperatura característica de fusão de ácidos graxos poli-insaturados (200-380°C). O fim do pico de degradação ocorreu a aproximadamente a 480°C onde é o final da faixa de degradação de ácidos graxos monoinsaturados (380-480°C), tendo ocorrência do pico nas faixas de temperaturas características de ácidos graxos poli-insaturados e monoinsaturados, os quais compõem cerca de 90% do óleo de chia analisado. Após esta temperatura ainda continuou

ocorrendo degradação até próximo a 600°C que é o fim do intervalo de temperatura de fusão de ácidos graxos saturados (480-600°C), o qual é o tipo de ácido graxo presente em menor teor no óleo de chia.

Resultados semelhantes quanto à degradação de óleo de chia livre foram obtidos por Timilsena et al (2017), o qual avaliou a estabilidade térmica do óleo de chia Australiano, o mesmo relatou que foram obtidas perdas insignificantes de massa do óleo quando este foi aquecido até 215°C, a perda de massa aumentou rapidamente quando o óleo atingiu 425°C, atingindo 60% de perda em relação massa total e a degradação total do óleo aconteceu quando a temperatura atingiu 600°C.

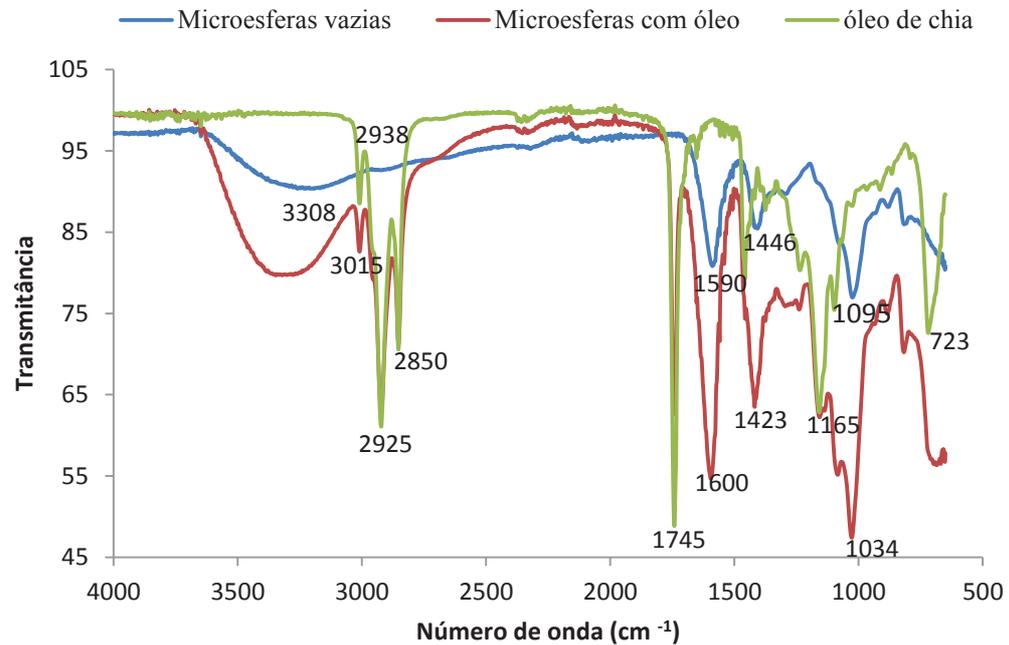
Na Figura 9 identifica-se que houve um pico de degradação em torno de 410°C e outro a aproximadamente 480°C que de acordo com Santos et al, (2002), são temperaturas características da fusão de lipídeos. Ao comparar a termogravimetria das microcápsulas vazias (Figura 8) com a das microcápsulas com óleo de chia (Figura 9) percebe-se que na amostra de microcápsulas vazias não ocorreu os picos de degradação a 410°C e 480 °C, fato que comprova que estes picos ocorreram devido à presença de lipídeos na amostra de microcápsulas com óleo de chia.

Nas Figuras 8 e 9, que representam as amostras de microcápsulas vazias e microcápsulas com óleo de chia identifica-se que ocorreu um pico de degradação em temperatura próxima a 750°C, fato este que não consta na Figura 10 que representa a amostra de óleo de chia livre, mostrando que o mesmo pico não é característico do óleo. Considerando-se que a temperatura de degradação de polissacarídeos é em torno de 200°C, percebe-se que devido ao processo de microencapsulação, quando ocorre a gelificação iônica, há alteração nas propriedades do material encapsulante, tornando-o mais resistente a altas temperaturas.

4.1.5 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

A Figura 11 apresenta os resultados da avaliação por espectroscopia na região do infravermelho das microesferas vazias, microesferas com óleo e do óleo de chia livre.

Figura 11- FTIR das microesferas vazias, do óleo livre e microencapsulado



A banda larga em 3200-3700 cm^{-1} ocorrida nas esferas vazias (Figura 11) ocorre devido às vibrações de estiramento O-H presentes no alginato. Enquanto a banda 2938 cm^{-1} representa a vibração de alongamento assimétrica C-H, na qual o pico é fraco devido a reticulação do NaAlg com Ca^{2+} (HE et al., 2012). Os picos 1446 e 1590 cm^{-1} correspondem às vibrações de estiramento simétricas e assimétricas do carboxilato, respectivamente (PAPAGEORGIU et al., 2010).

Os picos entre 2800 e 3100 cm^{-1} encontrados ao analisar o óleo de chia são característicos de lipídeos (2925, 2850 e 3010 cm^{-1}) e indicam a ligação C-H. O pico de 3010 cm^{-1} é atribuído à presença de cis-alceno ($\text{HC}=\text{CH}$) representando ácidos graxos insaturados. O pico de absorção de 1745 cm^{-1} é dado devido à presença de C=O, o qual é indicativo de lipídeos totais. As bandas sobrepostas entre 1460 e 1050 cm^{-1} são atribuídas à combinação de modos de deformação de grupos metil (CH_3) e metileno (CH_2) nas estruturas lipídicas (TIMILSENA et al, 2019).

A amostra de microesferas com óleo apresentou picos característicos da presença tanto do material de parede quanto de óleo, o que demonstra a presença de óleo na superfície das microesferas, isto ocorre devido ao processo utilizado para a microencapsulação, pois de acordo com Li et al. (2002) na gelificação iônica, o alginato de sódio forma uma matriz na presença de íons de cálcio e segundo Zuidam e Nedovic, (2010) microcápsulas do tipo matriz apresentam o

núcleo disperso sobre o material encapsulante e/ou sob a superfície, o que justifica a presença tanto de alginato quanto de óleo na superfície das microesferas.

4.1.6 Tamanho de partícula e dispersão granulométrica

As medições foram realizadas em triplicata em cada amostra e os valores médios dos diâmetros D_{10} , D_{50} e D_{90} , bem como o diâmetro médio volumétrico de partícula e o Span foram calculados pelo software e estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6– Distribuição do tamanho das microesferas vazias e de microesferas com óleo

Amostra	$d_{10}(\mu\text{m})$	$d_{50}(\mu\text{m})$	$d_{90}(\mu\text{m})$	Diâmetro médio (μm)	Span ($d_{90}-d_{10}/d_{50}$) μm
Microesferas vazias	23,71	104,7	196,6	96,11	1,650
Microesferas com óleo (3:1)	60,94	181,1	434,2	195,2	2,060

Em relação ao diâmetro médio de partícula, ao encapsular o óleo o tamanho de partícula aumentou (195,2 μm) em relação à esfera vazia (96,11 μm), o mesmo fenômeno foi observado por Hosseini et al, (2013), o qual observou que o aumento do tamanho das micropartículas é devido ao encapsulamento do óleo nas partículas alginato.

As cápsulas produzidas são caracterizadas como microesferas, pois se enquadram na faixa de tamanho de 3 a 800 μm (LEE, 2014). O tamanho de partícula é um dos fatores mais importantes a ser considerado para aplicação de microcápsulas em alimentos, pois este pode interferir na textura e no sabor final do produto (COMUNIAN, et al 2014). De acordo com Burgain et al, (2011), para que as microcápsulas não afetem as características sensoriais do alimento, o tamanho de partícula desejável é abaixo de 100 μm , portanto o tamanho das microcápsulas com óleo obtido foi maior do que o desejado para aplicação em alimentos, podendo serem identificadas pelos julgadores na análise sensorial do queijo processado.

Quanto ao span, a amostra de microesferas vazias apresentou o valor de 1,65 e a amostra de microesferas com óleo 2,06, mostrando que a dispersão foi maior na amostra com óleo de

chia, enquanto na amostra de microesferas vazias a distribuição foi mais uniforme. Campo et al, (2017) sintetizaram nanopartículas de óleo de chia preparadas utilizando mucilagem de sementes de chia e encontraram o valor de span 1,76 o qual é intermediário aos valores relatados neste estudo.

4.2 ETAPA 2: ELABORAÇÃO E ANÁLISES DAS FORMULAÇÕES DE QUEIJO PROCESSADO

A Figura 12 apresenta o aspecto da formulação padrão realizada conforme a Tabela 1, a qual foi obtida utilizando-se uma mistura de aparas raladas do queijo tipo Grana Padano (30%) e queijo tipo Mozzarella (70%) utilizando-se os parâmetros de 60°C por 30 min sob agitação de 2000 rpm. Nessas condições ocorreu total incorporação da gordura, não havendo presença de pedaços de queijo Grana Padano não derretidos e o produto não apresenta aparência de queimado, sendo estes os parâmetros que se mostraram mais adequados ao produto com os equipamentos disponíveis.

Figura 12: Aspecto do queijo processado obtido pela formulação padrão



Fonte: elaborado pelo Autor (2018)

Durante o processo de produção do queijo processado, o sal fundente adicionado (fosfato de sódio) sequestra o cálcio e dissocia a caseína, o que causa um aumento da sua solubilidade e hidratação, o que faz com que sob a ação do calor e agitação, a caseína se dissocie e emulsione a gordura presente na formulação, formando uma estrutura homogênea (GUINEE et al., 2004).

À medida que os queijos maturam, as enzimas e as bactérias lácticas presentes hidrolisam as caseínas em peptídeos, reduzindo assim o teor de caseína intacta nos queijos maturados (KAPOOR et al, 2008). O queijo tipo Grana Padano é maturado por no mínimo um ano, período suficiente para que a maior parte da caseína presente no queijo seja hidrolisada, portanto provavelmente não restam caseínas suficientes para emulsionar a gordura e água adicionadas no queijo processado feito somente com este tipo de queijo, portanto para ocorrer a emulsificação do produto, foi necessária a adição do queijo Mozzarella, o qual não sofreu processo de maturação.

4.2.1 Caracterizações químicas das formulações de queijo processado.

A composição química das formulações de queijo processado está apresentada na Tabela 7. De acordo com o Regulamento Técnico do Mercosul de Identidade e Qualidade de Queijo Processado ou Fundido, Processado Pasteurizado e Processado ou Fundido U.H.T (UAT), o teor máximo de umidade permitida é de 70 (g/100g), todas as formulações obtidas apresentaram teor de umidade de acordo com a legislação, a qual não estabelece um teor de umidade mínimo.

Em relação ao teor de matéria gorda no extrato seco, a mesma legislação estabelece que o teor mínimo deve ser de 35 (g/100g), não estabelecendo um teor máximo, portanto o teor de matéria gorda em extrato seco das amostras de queijo processado (Tabela 8) da formulação padrão, formulação adicionada de óleo de chia livre e formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado estão de acordo com a legislação brasileira.

A amostra da formulação de queijo processado com adição de inulina é considerada com teor reduzido de gordura, atendendo a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 54, de 12 de novembro de 2012, a qual estabelece que para um alimento ser considerado como reduzido em gorduras totais, este deve apresentar uma redução de no mínimo 25% das mesmas. Na Tabela 7, observa-se que formulação padrão apresenta um teor de gorduras totais de 22,67%, enquanto a formulação com adição de inulina apresenta 14,50%, sendo reduzido 8,17% do teor de gordura total do produto, o que representa uma redução de 36,03% do teor de gorduras totais em relação a formulação padrão.

As formulações com substituição de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) e substituição de creme de leite por inulina e óleo de chia microencapsulado (FIOCM) não foram consideradas com teor reduzido de lipídeos pois foi realizada a determinação de

lipídeos totais, portanto devido a adição de óleo não houve redução de no mínimo 25% de lipídeos em relação a formulação padrão, houve substituição de uma parcela de gordura saturada por insaturada.

Tabela 7 – Composição química das formulações de queijo processado em base úmida

Componentes	FP	FI	FIOCL	FIOCM
Proteína (%)	9,67±0,23 ^a	9,57±0,07 ^a	9,76±0,39 ^a	9,68±0,58 ^a
Lipídeos (%)	22,67±0,58 ^a	14,50±0,71 ^c	22,50±0,71 ^a	18,00±0,00 ^b
Umidade (%)	62,26±0,10 ^a	57,46±0,05 ^b	56,43±0,21 ^c	55,48±0,48 ^d
Cinzas (%)	2,93±0,07 ^b	3,28±0,03 ^{ba}	2,95±0,23 ^b	3,37±0,03 ^a
Carboidratos (%)	2,47±0,66 ^d	15,19±0,60 ^a	8,36±0,99 ^c	13,47±0,49 ^b

FP: formulação padrão, FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado. Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ao nível de 95% de confiança (média±dp). A análise estatística foi realizada comparando-se as linhas.

Tabela 8 – Composição química das formulações de queijo processado em base seca

Componentes	FP	FI	FIOCL	FIOCM
Proteína (%)	25,63	22,50	22,39	21,74
Lipídeos (%)	60,07	34,08	51,65	40,43
Cinzas (%)	7,75	7,71	6,77	7,57
Carboidratos (%)	5,13	34,47	17,86	28,75

FP: formulação padrão, FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado.

4.2.2 Análises microbiológicas

Não foi observado crescimento de colônias microbianas, tanto na análise de coliformes a 45°C quanto de *Staphylococcus* coagulase positiva, portanto os resultados foram inferiores aos limites de tolerância exigidos pela RDC N°12 (apresentados no item 3.4.3), os resultados são satisfatórios pois atendem aos requisitos de qualidade para consumo humano. Estando de acordo com os parâmetros microbiológicos exigidos, todas as formulações foram submetidas a análise sensorial.

4.2.3 Análise sensorial

A Tabela 9 apresenta os valores médios das notas de aceitabilidade para os atributos de aparência, aroma, sabor, textura, cor e impressão global das formulações de queijo processado.

Não foram observadas diferenças significativas entre a formulação padrão (FP) e a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) em todos os atributos avaliados, mostrando-se que a inulina pode ser utilizada como substituto de gordura na produção de queijo processado com redução deste componente. Enquanto as formulações com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) e por inulina e óleo de chia microencapsulado (FIOMC) apresentaram diferença significativa em relação a formulação padrão (FP) em todos os atributos, indicando que a adição do óleo de chia tanto livre quanto microencapsulado afeta de maneira negativa a percepção do consumidor, reduzindo a aceitabilidade em todos os atributos sensoriais que foram avaliados.

Ao comparar a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) com a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) percebe-se que não houve diferença significativa nos atributos aparência, aroma e cor, porém nos atributos sabor, textura e impressão global houve diferença significativa, indicando que a adição de microcápsulas de óleo de chia influenciou negativamente a aceitabilidade do produto.

A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) apresentou diferença significativa em relação ao sabor quando comparada a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) mostrando que o processo de microencapsulação do óleo de chia foi capaz de mascarar o sabor deste. Porém, em relação aos demais atributos avaliados não houve diferença significativa, mostrando que o processo de microencapsulação não mascarou os mesmos.

Tabela 9 – Médias dos atributos utilizados para avaliar a aceitabilidade do consumidor

Atributos	FP	FI	FIOCL	FIOMC
Aparência	7,84±1,43 ^a	7,74±1,38 ^{ab}	6,90±2,13 ^b	6,56±1,51 ^b
Aroma	7,82±0,94 ^a	7,54±1,30 ^a	6,78±1,91 ^b	6,90±1,42 ^{ab}
Sabor	7,84±1,18 ^a	7,38±1,61 ^a	5,20±2,33 ^c	6,24±1,71 ^b
Textura	8,16±0,84 ^a	7,64±1,31 ^a	6,66±2,00 ^b	6,38±1,75 ^b
Cor	8,32±0,79 ^a	8,00±1,01 ^{ab}	7,54±1,67 ^b	7,44±1,31 ^b
Impressão global	8,06±0,84 ^a	7,56±1,16 ^a	6,06±1,91 ^b	6,60±1,46 ^b
IA	88,96	84,93	72,48	74,30

FP: formulação padrão, FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado. Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ao nível de 95% de confiança (média±dp). A análise estatística foi realizada comparando-se as linhas.

Para que o índice de aceitabilidade seja considerado bom deve ser considerado superior a 70% (DUTCOSKY, 1996), portanto todas as amostras apresentaram bom índice de aceitabilidade, mesmo havendo diferença significativa entre as amostras.

O questionário CATA tem como finalidade unir informações dos produtos em relação a percepção das características sensoriais do consumidor, podendo justificar os resultados de aceitabilidade obtidos. A frequência de escolha de cada atributo pelo consumidor está apresentada na Tabela 10.

Tabela 10 – Frequência das escolhas dos atributos no questionário CATA

Atributo	FP	FI	FIOCL	FIOMC
Aroma maturado	17	18	8	16
Aroma de leite	13	18	9	12
Aroma de creme de leite	17	8	5	6
Aroma de óleo	4	1	16	8
Aroma rançoso	3	3	10	4
Aroma de queijo	31	38	20	33
Aroma agradável	35	34	16	24
Aroma desagradável	0	1	11	4
Textura lisa	35	29	24	6
Textura muito firme	4	4	1	26
Textura muito mole	5	8	9	0
Textura homogênea	32	29	13	5
Textura pastosa	15	17	19	32
Presença de grânulos	3	9	17	26
Aglomerado	1	3	3	11
Sabor de óleo	2	2	21	16
Sabor residual de ranço	2	1	15	6
Sensação gordurosa na boca	11	7	18	16
Sabor residual amargo	5	11	15	9
Sabor lácteo	23	22	6	13
Muito salgado	18	14	16	10
Pouco salgado	1	7	6	11
Sabor agradável	32	29	7	16
Sabor desagradável	1	4	20	13
Aparência brilhosa	23	23	17	5
Aparência cremosa	40	28	27	19
Cor amarelo fosco	2	5	8	17
Cor amarelo claro	33	32	26	18

FP: formulação padrão, FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado.

Os atributos citados com maior frequência nas quatro formulações de queijo processado foram aparência cremosa, cor amarelo claro e aroma de queijo. Na formulação padrão (FP) e na formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) os atributos mais apontados foram aroma agradável, textura lisa, textura homogênea, sabor agradável, aroma de queijo, aparência cremosa e cor amarelo claro. Os atributos mais mencionados na formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) foram aroma de queijo, textura pastosa, presença de grânulos e textura muito firme. Os julgadores perceberam a adição das microcápsulas, porém a aceitabilidade da textura não foi afetada quando comparada a FIOMC com a FIOCL. Os atributos mais frequentes para a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) foram aparência cremosa e cor amarelo claro, textura lisa, sabor de óleo e sabor desagradável, o qual provavelmente provem do óleo de chia.

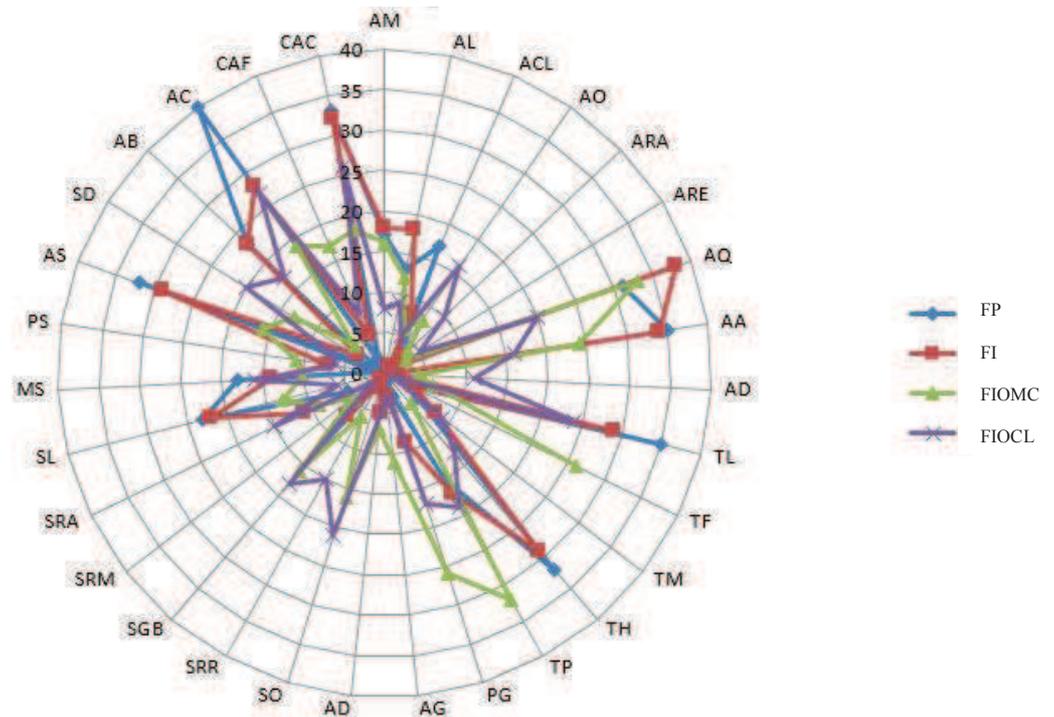
Os atributos sabor de óleo, sabor desagradável e sabor residual de ranço foram mais frequentes na amostra com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL), enquanto na amostra com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) estes atributos foram menos frequentes, portanto a microencapsulação do óleo de chia foi capaz de mascarar o sabor do mesmo. A adição do óleo de chia livre interfere no sabor do produto, diminuindo a aceitabilidade da amostra, pois a mesma apresentou diferença significativa no atributo sabor em relação as demais amostras.

Nas quatro formulações de queijo processado, os atributos menos frequentes foram textura muito mole, aroma desagradável, aglomerado e aroma rançoso. Na formulação padrão e na formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina os atributos menos citados foram sabor desagradável, sabor residual de ranço, sabor de óleo e aroma de óleo, que são característicos do óleo de chia.

Na formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) os atributos menos mencionados foram textura muito firme e aglomerado, que são mais características mais frequentes na formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC), na qual os atributos menos apontados foram textura muito mole, aroma desagradável e aroma rançoso, que são atributos mais apontados na formulação com adição de óleo de chia livre (FIOCL), pois são aromas característicos do óleo de chia, mostrando que mesmo não havendo diferença significativa na aceitabilidade do atributo aroma, houve maior percepção de aromas característicos de óleo quando o mesmo não foi microencapsulado.

A Figura 13 apresenta as características de cada amostra de queijo processado em relação aos atributos mais e menos citados no teste CATA.

Figura 13: Distribuição da frequência atribuída aos julgadores aos atributos sensoriais do teste CATA para as diferentes formulações de queijo processado

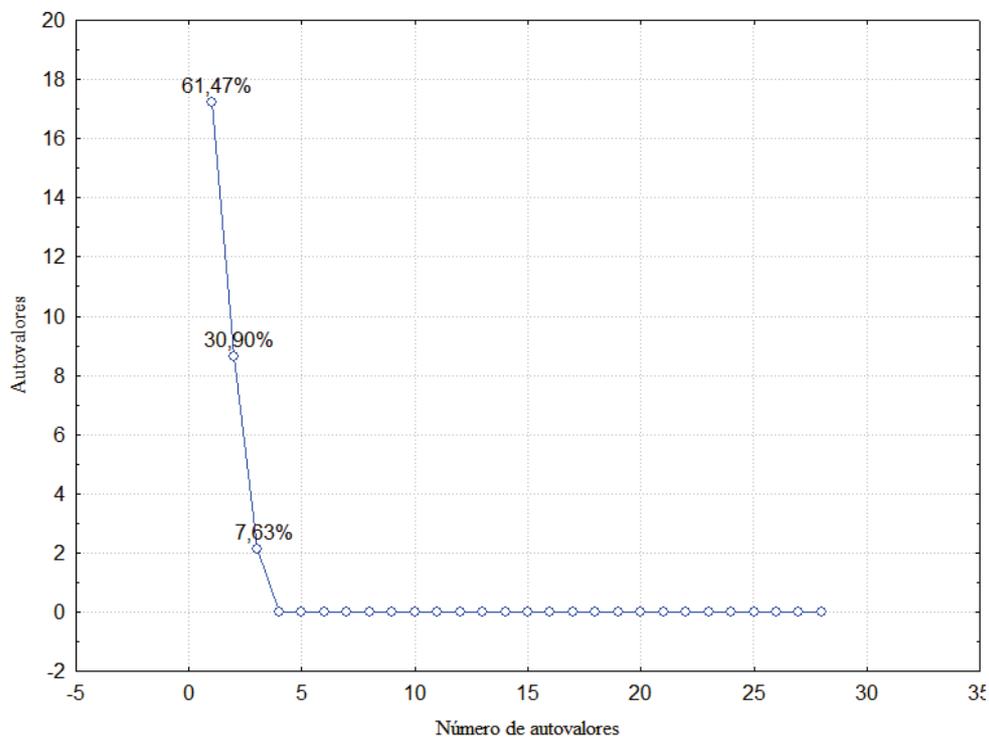


FP: formação padrão; FI: formação adicionada de inulina; FIOCL: formação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formação adicionada de óleo de chia microencapsulado. AM: Aroma maturado; AL: Aroma de leite; ACL: Aroma de creme de leite; AO: Aroma de óleo; ARA: Aroma rançoso; AQ: Aroma de queijo; AA: Aroma agradável; AD: Aroma desagradável; TL: Textura lisa; TF: Textura muito firme; TM: Textura muito mole; TH: Textura homogênea; TP: Textura pastosa; PG: Presença de grânulos; AG: Aglomerado; SO: Sabor de óleo; SRR: Sabor residual de ranço; SGB: Sensação gordurosa na boca; SRA: Sabor residual amargo; SL: Sabor lácteo; MS: Muito salgado; PS: Pouco salgado; SA: Sabor agradável; SD: Sabor desagradável; AB: Aparência brilhosa; AC: Aparência cremosa; CAF: Cor amarelo fosco; CAC: Cor amarelo claro

Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

A análise de componentes principais dos dados do método CATA (Figura 14) mostra que a variabilidade das amostras pôde ser explicada em 92,37% por dois componentes principais.

Figura 14: Número de autovalores dos componentes das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos.



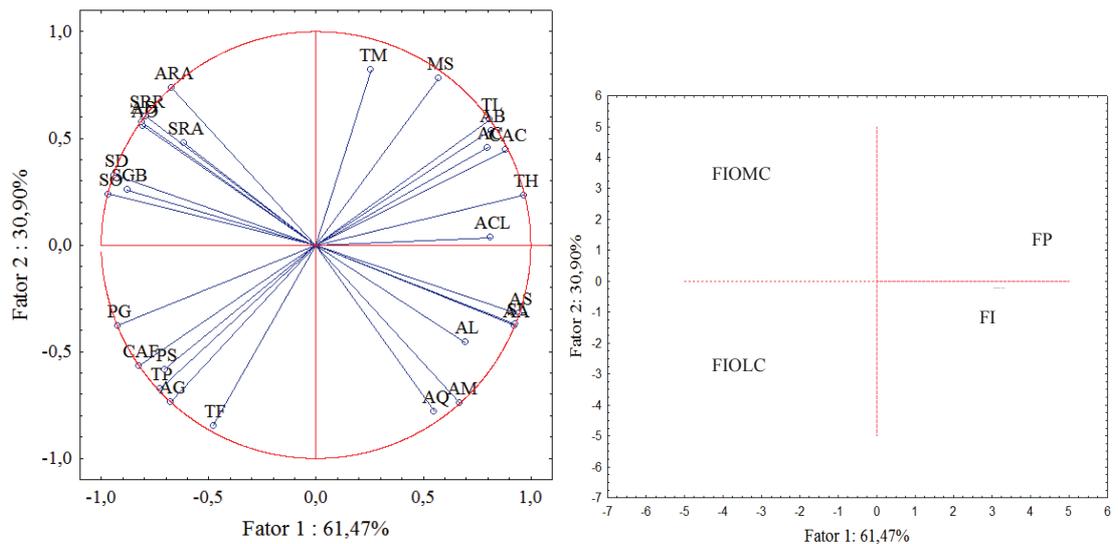
Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

A Figura 15, apresenta o número de autovalores dos componentes das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos, na qual estão apresentados os atributos que melhor representam cada amostra. A formulação padrão (FP) de queijo processado foi representada pelos atributos aroma de creme de leite, textura homogênea, cor amarelo claro, aparência cremosa, aparência brilhosa, textura lisa, muito salgado e textura muito mole. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) foi representada pelos atributos sabor agradável, aroma agradável, aroma de leite, aroma maturado e aroma de queijo, características essas provenientes dos queijos Grana Padano e Mozzarella. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) foi representada pelos atributos sabor de óleo, sensação gordurosa na boca, sabor desagradável, sabor residual amargo, sabor residual de ranço, aroma de óleo, aroma rançoso. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) foi representada pelos atributos presença de grânulos, cor amarelo fosco, pouco salgado, textura pastosa, aglomerado, textura muito firme.

A formulação padrão (FP) se relaciona com a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) por estar no mesmo quadrante (Figura 15), sendo que as duas não tem a presença de óleo na composição. A formulação com substituição parcial de creme de

leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) se relaciona com a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) por estarem no mesmo quadrante, pois as duas amostras apresentam óleo na formulação, mesmo tendo ocorrido diferença significativa na aceitabilidade do sabor entre ambas as amostras e o sabor relacionado ao sabor de óleo ter sido menos evidente na formulação com óleo microencapsulado.

Figura 15: Número de autovalores dos componentes das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos



FP: formulação padrão; FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOMC: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado. AM: Aroma maturado; AL: Aroma de leite; ACL: Aroma de creme de leite; AO: Aroma de óleo; ARA: Aroma rançoso; AQ: Aroma de queijo; AA: Aroma agradável; AD: Aroma desagradável; TL: Textura lisa; TF: Textura muito firme; TM: Textura muito mole; TH: Textura homogênea; TP: Textura pastosa; PG: Presença de grânulos; AG: Aglomerado; SO: Sabor de óleo; SRR: Sabor residual de ranço; SGB: Sensação gordurosa na boca; SRA: Sabor residual amargo; SL: Sabor lácteo; MS: Muito salgado; PS: Pouco salgado; SA: Sabor agradável; SD: Sabor desagradável; AB: Aparência brilhosa; AC: Aparência cremosa; CAF: Cor amarelo fosco; CAC: Cor amarelo claro

Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

A formulação padrão (PF) e a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) são mais bem representadas pelos atributos relacionados a cor, textura, aparência e teor de sal, enquanto a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) e a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) são mais representados pelos parâmetros relacionados ao sabor e aroma.

A metodologia CATA é utilizada como ferramenta para reunir informações sobre a percepção dos consumidores com relação às características sensoriais de produtos, podendo contribuir com as melhorias no desenvolvimento de produtos (BRUZZONE et al., 2015).

Através da análise sensorial de aceitabilidade e CATA, percebe-se que é possível produzir queijo processado com redução de gordura sem afetar a aceitabilidade do produto e sem modificar significativamente as características do mesmo. Porém a substituição parcial de creme de leite por inulina e microesferas de óleo de chia obtidas pelo processo de gelificação iônica interferiu nas características do produto em todos os atributos avaliados. No entanto, ao comparar a mesma com a formulação em que foi feita a substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre percebe-se que houve diferença significativa em relação ao sabor, além de ter sido menos perceptível o sabor desagradável e sabor residual de ranço no teste CATA, mostrando que a microencapsulação do óleo foi capaz de mascarar o sabor do mesmo, contudo ainda são necessários mais estudos a fim de se desenvolver um queijo processado com adição de microesferas de óleo de chia com aceitabilidade e atributos mais semelhantes à formulação padrão.

5. CONCLUSÃO

O processo de microencapsulação por gelificação iônica possibilitou a formação de microcápsulas de alginato de cálcio com óleo de chia. A microencapsulação do óleo de chia pelo método de gelificação iônica utilizando uma proporção óleo: alginato de 3:1 apresentou resultados satisfatórios de eficiência de encapsulação (94,37%) e de solubilidade, pois esta foi baixa (0,04% e 0,16% em 5 e 30 minutos de agitação em água), sendo ideal para aplicação em produtos com alto teor de umidade como o queijo processado.

As formulações de queijo processado desenvolvidas apresentam resultados de umidade e teor de matéria gorda no extrato seco em conformidade com a legislação brasileira, sendo a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina considerada com redução de gordura, pois apresentou uma redução de 36,03% do teor de gorduras totais em relação a formulação padrão.

Na análise sensorial a formulação com adição de inulina (FI) não apresentou diferença significativa na aceitabilidade com relação a todos os atributos avaliados, portanto é possível produzir queijo processado com redução de 36% de gordura sem afetar a aceitabilidade do produto. A formulação com adição de microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) apresentou diferença significativa em relação a aceitabilidade do sabor em relação a amostra de queijo processado com adição de óleo livre (FIOCL), mostrando que o processo de microencapsulação é capaz de mascarar o sabor do óleo.

A formulação padrão (FP) de queijo processado foi representada por atributos como aroma de creme de leite, textura homogênea, aparência cremosa, aparência brilhosa e textura lisa. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) foi representada pelos atributos presença de grânulos, textura pastosa, aglomerado, textura muito firme. Ambas as formulações são mais bem representadas pelos atributos relacionados a textura e aparência. Os atributos presença de grânulos e aglomerados podem ser evitados fazendo-se ajustes no processo de microencapsulação para evitar que as microcápsulas aglomerem e formem grânulos, enquanto os atributos textura pastosa, textura muito firme podem ser corrigidos adicionando-se mais água ao queijo processado, uma vez que esta formulação inclui um óleo funcional com inúmeras propriedades de saúde.

A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) foi representada pelos atributos sabor e aroma agradáveis, aroma de leite, aroma maturado e aroma de queijo. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre

(FIOCL) foi representada pelos atributos sabor de óleo, sensação gordurosa na boca, sabor desagradável, sabor residual amargo, sabor residual de ranço, aroma de óleo, aroma rançoso. As duas formulações são mais representados pelos parâmetros relacionados ao sabor e aroma. Ao avaliar os atributos que caracterizaram a FIOCL fica evidente que o sabor de óleo é bastante rejeitado pelos consumidores e ao comparar com a formulação com adição de óleo de chia microencapsulado (FIOMC) percebe-se que estes atributos não a caracterizam, portanto, como foi detectado também no teste sensorial de aceitabilidade, o processo de microencapsulação foi capaz de mascarar o sabor de óleo.

Diante disso, este estudo mostrou que o processo de microencapsulação apresentou bons resultados quanto à eficiência de microencapsulação e à solubilidade, porém são necessárias melhorias no processo afim de evitar que as microcápsulas formem aglomerados, para que as mesmas possam ser adicionadas ao produto sem interferir na textura e aparência do mesmo, considerando-se a funcionalidade que o óleo de chia agrega ao queijo processado. A presente pesquisa também comprovou que é possível realizar a redução de gordura além de tornar o queijo processado funcional através da substituição de creme de leite por inulina que apresenta função prebiótica no organismo, apresentando-se resultados satisfatórios do ponto de vista sensorial.

REFERÊNCIAS

- ABECASSIS, J.; CUQ, B.; ESCUDIER, J, L.; GARRIC, G.; KONDJAYAN, A.; PLANCHOT, V.; SALMON, J. M.; VRIES, H. Food chains; the cradle for scientific ideas and the target for technological innovations. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v. 46, p. 7-17, 2018.
- AGGARWALL, P.; DOLLIMORE, D. The effect of chemical modification on starch studied using thermal analysis, **Thermochimica Acta**, v. 324, p. 1- 8, 1998.
- AGYEMAN, M. F.; STAPLETON, P.; BASIT, A. W.; GAISFORD, S. Microcalorimetric evaluation of a multi-strain probiotic: Interspecies inhibition between probiotic strains. **Journal of Functional Foods**. v. 36, p.357–361, 2017.
- ARAÚJO, E.R. **Elaboração e análise sensorial de geleia de pimenta com abacaxi**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.14, p.233-238, 2012.
- ARCAA, M.; BORGHI, C.; PONTREMOLI, R.; DE FERRARID, G.M.; COLIVICCHIE, F.; DESIDERIF, G.; TEMPORELLI, P.L. Hypertriglyceridemia and omega-3 fatty acids: Their oftenoverlooked role in cardiovascular disease prevention. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. v. 28, p. 197-205, 2018.
- ARES, G.; ANTÚNEZ, L.; BRUZZONE, F.; VIDAL, L.; GIMÉNEZ, A.; PINEAU, B.;BERESFORD, M. K.; JIN, D.; PAISLEY, A. G.; CHHEANG, S. L.; ROIGARD, C. M.; JAEGER, S. R. Comparison of sensory product profiles generated by trained assessors and consumers using CATA questions: Four case studies with complex and/or similar samples. *Food Quality and Preference*. v. 45, p. 75-86, 2015.
- ARIHARA, K. Functional foods. **Encyclopedia of Meat Sciences**. v. 2, p. 32–36, 2014.
- BARRETO, A. D.; GUTIERREZ, É. M. R.; SILVA, M. R.; SILVA, F. O.; SILVA, N. O. C.; LACERDA, I. C. A.; LABANCA, R. A.; ARAÚJO, R. L. B. Characterization and Bioaccessibility of Minerals in Seeds of *Salvia hispanica* L. **American Journal of Plant Sciences**. v. 7, p.2323-2337, 2016.
- BENAVIDES, S.; CORTÉS, P.; PARADA, J.; FRANCO, W. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food Chemistry**, v.204, p. 77–83, 2016.
- BEYKI, M.; ZHAVEH, S.; KHALILI, S. T.; RAHMANI-CHERATI, T.; ABOLLAHI, A.; BAYAT, M.; TABATABAEI, M.; MOHSENIFAR, A. Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. **Industrial Crops and Products**, v.54, p. 310–319, 2014.
- BOTREL, D. A.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V.;YOSHIDA, M. I. Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. **Food Research International**. v. 62, P. 344-352, 2014.

BRASIL. Ministério da agricultura pecuária e do abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 68, DE 12 DEZEMBRO DE 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 de Dezembro de 2006.

BRASIL. Resolução RDC nº 02, de 07 de janeiro de 2002. Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, 17 de julho de 2002.

BRASIL. Resolução nº 16, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico de Procedimentos para registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 de dezembro de 1999.

BRASIL. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 de maio de 1999.

BRASIL. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 de maio de 1999.

BRASIL. DECRETO-LEI nº 986 de 21 de outubro de 1969. **Diário Oficial da União**, Brasília, 21 de outubro de 1969.

BRASIL. Ministério da agricultura pecuária e do abastecimento. Portaria nº 356, de 04 de setembro de 1997. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo processado ou fundido, processado pasteurizado e processado ou fundido U.H.T (UAT). **Diário Oficial da União**, Brasília, 04 de setembro de 1997.

BRASIL. Ministério da agricultura pecuária e do abastecimento. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Regulamento técnico geral para a fixação dos requisitos microbiológicos de queijos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 07 de março de 1996.

BRUZZONE, F.; VIDAL, L.; ANTÚNEZ, L.; GIMÉNEZ, A.; DELIZA, R.; ARES, G. Comparison of intensity scales and CATA questions in new product development: Sensory characterisation and directions for product reformulation of milk desserts. **Food Quality and Preference**, v. 44, p. 183-193, 2015.

BUREY, P.; BHANDARI, B. R.; HOWES, T.; GODLEY, M. J. Hydrocolloid gel particles: formation, characterization, and application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, p. 361-377, 2008.

BURGAIN, J.; GAIANI, C.; LINDER, M.; SCHER, J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of food engineering**, v. 104, n. 4, p. 467-483, 2011.

CAMPBELL, M. J.; TRUMP, D. L. Vitamin D Receptor Signaling and Cancer. **Endocrinology & Metabolism Clinics**. v. 46, p. 1009–1038, 2017.

CAMPO, C.; SANTOS, P. P.; COSTA, T. M. H.; PAESE, K.; GUTERRES, S. S.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as wall material: Characterization and stability evaluation. **Food Chemistry**. v. 234, p. 1–9, 2017.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 5, n. 4, p. 420–428, 2005.

CARDOSO, B. R.; DUARTE, G. B. S.; REIS, B. Z.; COZZOLINO, S. M.F. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. **Food Research International**. v.100, p. 9-18, 2017.

CARVALHO FILHO, M. A. S. **Preparação e estudo termoanalítico dos cinamatos de terras raras, exceto (escandio), no estado sólido**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2000.

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

CHEN, J.; DAVIS, S. S. The release of diazepam from poly (hydroxybutyrate-cohydroxyvalerate) microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v. 19, n. 2, p. 191-201, 2002.

CHAN, E. S.; WONG, S. L.; LEE, P. P.; LEE, J. S.; TI, T. B.; ZHANG, Z.; PONCELET, D.; RAVINDRA, P.; PHAN, S. H.; YIM, Z. H. Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium–alginate beads and the viability of encapsulated cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 225-232, 2011.

COELHO, V. R.; VIEIRA, C. G.; SOUZA, L. P.; MOYSÉS, F.; BASSO, C.; PAPKE, D. K. M.; PIRES, T. R.; SIQUEIRA, I. R.; PICADA, J. N.; PEREIRA, P. Antiepileptogenic, antioxidant and genotoxic evaluation of rosmarinic acid and its metabolite caffeic acid in mice. **Life Sciences**. v. 122, p.65–71, 2015.

COMUNIAN, T. A.; ABBASPOURRAD, A.; TRINDADE, C. S. F.; WEITZ, D. A. Fabrication of solid lipid microcapsules containing ascorbic acid using a microfluidic technique. **Food Chemistry**. v. 152, p. 271–275, 2014.

COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**. v. 61, p. 442-457, 2016.

DIAS, D. R.; BOTREL, D. A.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Food Science**, v.13 p. 31–37, 2017.

DICKINSON, E.; MCCLEMENTS, D. J. Advances in food colloids. **Springer Science & Business Media**. 1995.

DING, Y.; LIN, H. W.; LIN, Y. L.; YANG, D. J.; YU, Y. S.; CHEN, J. W.; WANG, S. Y.; CHEN, Y. C. Nutritional composition in the chia seed and its processing properties on restructured ham-like products. **Journal of Food and Drug Analysis**. v. 26, p. 124-134, 2018.

DUNBAR B.S.; BOSIRE R.V.; DECKELBAUM, R.J. Omega 3 and omega 6 fatty acids in human and animal health: An African perspective. **Molecular and Cellular Endocrinology**. v. 398, p. 69-77, 2014.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996.

EL-GHAFFAR, M. A. ABD.; HASHEM, M. S.; EL-AWADY, M. K.; RABIE, A. M. PH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 2, p. 667-675, 2012.

FERRARI, C., ANGIULI, M., TOMBARI, E., RIGHETTI, M. C., MATTEOLI, E., & SALVETTI, G. Promoting calorimetry for olive oil authentication. **Thermochimica Acta**, v.459(1-2), p.58–63, 2007.

FERRÃO, L.L.; SILVA, E.B.; SILVA, H.L.A.; SILVA, R.; MOLLAKHALILI, N.; GRANATO, D.; FREITAS, M.Q.; SILVA, M.C.; RAICES, R.S.L.; PADILHA, M.C.; ZACARCHENCO, P.B.; BARBOSA, M.I.M.J.; MORTAZAVIAN, A.M.; CRUZ, A.G. Strategies to develop healthier processed cheeses: Reduction of sodium and fat contents and use of prebiotics. **Food Research International**. v. 86, p. 93-102, 2016.

GALLI, C.; RISÉ, P. The Role of Fats in Milk and Dairy Products in Nutrition and Health from Infancy to Adulthood. **Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan**. p. 57–72, 2017.

GIRI, A.; KANAWJIA, S. K.; SINGH, M. P. Effect of inulin on physico-chemical, sensory, fatty acid profile and microstructure of processed cheese spread. **Food Science and Technology**. v. 58, p. 2443-2451, 2017.

GHARIBZAHEDI, S. M. T.; JAFARI, S. M. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. **Trends in Food Science & Technology**. 2017.

GUINEE TP, CARIC M, KALAB M. Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products. Cheese: **Chemistry, Physics and Microbiology**. v. 2, p. 349–94, 2004.

HE, Y.; ZHANG, N.; GONG, Q.; QIU, H.; WANG, W.; LIU, Y.; GAO, J. Alginate/graphene oxide fibers with enhanced mechanical strength prepared by wet spinning. **Carbohydrate polymers**, v. 88, n. 3, p. 1100-1108, 2012.

INÁCIO, A. G.; FRANCISCO, C. R. L.; ROJAS, V. M.; LEONE, R. S.; VALDERRAMA, P.; BONA, E.; LEIMANN, F. V.; TANAMATI, A. A. C.; GONÇALVES, O. H. Evaluation of the oxidative stability of chia oil-loaded microparticles by thermal, spectroscopic and chemometric methods. **LWT - Food Science and Technology**. v. 87, p. 498-506, 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Editora Ministério da Saúde. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 4ª edição, 1ª edição digital. 2008. p. 1020

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C, M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B.W.K.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 24 p. 166–174, 2011.

JAEGER, S. R.; BERESFORD, M. K.; PAISLEY, A. G.; ANTÚNEZ, L.; VIDAL, L.; CADENA, R. S.; GIMÉNEZ, A.; ARES, G. Check-all-that-apply (CATA) questions for sensory product characterization by consumers: Investigations into the number of terms used in CATA questions. **Food Quality and Preference**. v. 42, p. 154-164, 2015.

KAPOOR, R.; METZGER, L. E. Process cheese: Scientific and technological aspects—A review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**. v. 7, p. 194-214, 2008.

KAUSHIK, P.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 868–881, 2015.

KEYS, A.; ANDERSON, J.T.; GRANDE, F. Serum cholesterol response to changes in the diet: IV. Particular saturated fatty acids in the diet. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v.14, n. 7, p. 776-787, 1965.

KHAN, R. S.; GRIGOR, J.; WINGER, R.; WIN, A. Functional food product development -Opportunities and challenges for food manufacturers. **Trends in Food Science & Technology**, v. 30, p. 27-37, 2013.

LEE, B. H. **Fundamentals of food biotechnology**. 2 edição, página 120, capítulo 1, editora: Wiley Blackwell, 2014.

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

LI, S.; WEI, Y.; FANG, Y.; ZHANG, W.; ZHANG, B. DSC study on the thermal properties of soybean protein isolates/corn starch mixture. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 1633-1638, 2014.

MALVERN. **Difração a laser**. Disponível em: <<http://www.malvern.com/br/products/technology/laser-diffraction/>>. Acesso em: 17 out. 2017.

MANUELIAN, C. L.; CURRO, S.; PENASA, M.; CASSANDRO, M.; MARCHI, M. D.; Prediction of minerals, fatty acid composition and cholesterol content of commercial cheeses by near infrared transmittance spectroscopy. **International Dairy Journal**. v. 71, p. 107-113, 2017.

MARIN, D.; ALEMÁN, A.; SÁNCHEZ-FAURE, A.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, MC. Freeze-dried phosphatidylcholine liposomes encapsulating various antioxidant extracts from natural waste as functional ingredients in surimi gels. **Food Chem**. v. 245, p. 525 – 535, 2018.

MARINELI, R. S.; LENQUISTE, S. A.; MORAES, E. A.; MARÓSTICA J. M. R. Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia hispanica* L.) in diet-induced obese rat. **Food Research International**. v. 76, p. 666-674, 2015.

MARONE, P. A. Food safety: marketing trends intended for consumer awareness and partnership. **Developing New Functional Food and Nutraceutical Products**. p. 85-108, 2017.

MEYER, D. Health Benefits of Prebiotic Fibers. **Advances in Food and Nutrition Research**. v. 74, p. 47-91, 2015.

MIKKELSEN, K.; STOJANOVSKA, L.; PRAKASH, M.; APOSTOLOPOULOS, V. The effects of vitamin B on the immune/cytokine network and their involvement in depression. **Maturitas**. v. 96, p. 58–71, 2017.

MISCHOULON, D.; FREEMAN, M. P. Omega-3 Fatty Acids in Psychiatry. **Psychiatr Clin North Am**. v. 36, p. 15–23, 2013.

MOHAMMADIAN, M.; SALAMI, M.; DJOMEH, Z. E.; ALAVI, F. Nutraceutical Properties of Dairy Bioactive Peptides. **Nutraceutical Properties of Dairy Bioactive Peptides**. p. 325–342, 2017.

NASHIHAH, S.; MUN'IM, A.; SUTRIYO; SAPUTRI, F. C. Formulation and Characterization of Rice Bran Oil in Alginate Microcapsules. **J Young Pharm**, v.10, p. 37-40, 2018.

OLIVEIRA, R. B. A.; MARGALHO, L. P.; NASCIMENTO, J. S.; COSTA, L. E.O.; PORTELA, J. B.; CRUZ, A. G.; SANT'ANA, A. S. Processed cheese contamination by spore-forming bacteria: A review of sources, routes, fate during processing and control. **Trends in Food Science & Techn**. v. 57, p. 11-19, 2016.

PALERMO, A.; TUCCINARDI, D.; D'ONOFRIO, L.; WATANABE, M.; MAGGI, D.; MAURIZI, A. R.; GRETO, V.; BUZZETTI, R.; NAPOLI, N.; POZZILLI, P.;

MANFRINI, S. Vitamin K and osteoporosis: Myth or reality? **Metabolism Clinical and experimental**. v. 70, p. 57-71, 2017.

PAPAGEORGIU, S. K.; KOUVELOU, E. P.; FAVVAS, E. P.; SAPALIDIS, A. A.; ROMANOS, G. E.; KATSAROS, F. K. Metal–carboxylate interactions in metal–alginate complexes studied with FTIR spectroscopy. **Carbohydrate research**, v. 345, n. 4, p. 469-473, 2010.

PAWAR SN, EDGAR KJ. Chemical modification of alginates in organic solvent systems. **Biomacromolecules**. v. 103, p. 12- 4095, 2011

PAWAR, S. N.; EDGAR, K. J. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. **Biomaterials**. v.33, p.3279-3305, 2012.

POOLE, C. D.; HALCOX, J. P.; JENKINS-JONES, S.; CARR, E. S.M.; SCHIFFLERS, M. G.; RAY, K. K.; CURRIE, C. J. Omega-3 Fatty Acids and Mortality Outcome in Patients With and Without Type 2 Diabetes After Myocardial Infarction: A Retrospective, Matched-Cohort Study. **Clinical Therapeutics**. v. 35, n.1, p. 40, 2013.

PRIKRYL, J.; HAJEK, T.; SVECOVA, B.; SALEK, R. N.; CERNÍKOVA, M.; CERVENKA, L.; BUNKA, F. Antioxidant properties and textural characteristics of processed cheese spreads enriched with rutin or quercetin: The effect of processing conditions. **LWT - Food Science and Technology**. v. 87, p. 266-271, 2018.

POUDYAL, H.; PANCHALD, S. K.; WAANDERSB, J.; WARDC, L.; BROWN, L. Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 23, p. 153–162, 2012.

PRIKRYL, J.; HÁJEK, T.; SVECOVÁ, B.; SALEK, R. N.; CERNÍKOVÁ, M.; CERVENKA, L.; Bunka, F. Antioxidant properties and textural characteristics of processed cheese spreads enriched with rutin or quercetin: The effect of processing conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v.87, p.266-271, 2018.

RAI, V.; AGRAWAL, D. K. Role of Vitamin D in Cardiovascular Diseases. **Endocrinology Metabolism Clinics of North America**. v. 46, p. 1039-1059, 2017.

RAMEL, P. R.; MARANGONI, A. G. Characterization of the polymorphism of milk fat within processed cheese products. **Food Structure**. v. 12, p. 15-25, 2017.

RASMUSSEN, H. E.; HAMAKER, B. R. Prebiotics and Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology Clinics of North America**. v. 46, p. 783-795, 2017.

RÉ, M. I. Microencapsulation by Spray Drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195–1236, 1 jan. 1999.

REES, D. A. Structure, conformation, and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**. v. 24, p. 267–332, 1969.

REN, Y.; XIE, H.; LIU, X.; YANG, F.; YU, W.; MA, X. Tuning the formation and stability of microcapsules by environmental conditions and chitosan structure. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 9, p. 1090-1100, 2016.

RIZZO, A. M.; PRUSSI, M.; BETTUCCI, L.; LIBELLI, I. M.; CHIARAMONTI, D. Characterization of microalga *Chlorella* as a fuel and its thermogravimetric behavior. **Applied energy**, v. 102, p. 24-31, 2013.

ROCHA, W.S. **Permeação de solutos de diferentes massas moleculares em matrizes compostas de alginato de cálcio e acetofitalato de celulose**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) - Programa de Pós-Graduação em Planejamento Alimentar e Nutrição). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ROCHA, W. S.; GROSSO, C. R. F. Permeação de solutos de diferentes massas moleculares de cálcio e acetofitalato de celulose. **Sitientibus**, n. 35, p. 125-148, 2006.

RODRÍGUEZ, J.; MARTÍN, M. J.; RUIZ, M. A.; CLARES, B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. **Food Research International**, v. 83, p. 41-59, 2016.

ROJAS, VM. **Encapsulação de óleos de alto valor nutricional para formulação de alimentos**. 2018. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão.

SAÉZ, V.; HERNÁEZ, E.; SANZ, L.; & KATIME, I. Liberación controlada de fármacos micropartículas. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v.5, p. 87-101, 2004.

SANTOS, J.C.O.; DOS SANTOS, I.M.G.; DE SOUZA, A.G.; PRASAD, S.; DOS SANTOS, A.V. Thermal Stability and Kinetic Study on Thermal Decomposition of Commercial Edible Oils by Thermogravimetry. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 4, p. 1393-1398, 2002.

SENHORINI, G. A.; ZAWADZKI, S. F.; FARAGO, P. V.; ZANIN, S. MW; MARQUES, F. A. Microparticles of poly (hydroxybutyrate- co- hydroxyvalerate) loaded with andiroba oil : Preparation and characterization. **Materials Science & Engineering C**, v. 32, n. 5, p. 1121-1126, 2012.

SHEIKH, B. Y.; SARKER, M. M. R.; KAMARUDIN, M. N. A.; ISMAIL, A. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 95, p. 614-648, 2017.

SHOAIB M.; SHEHZAD, A.; OMAR, M.; RAKHA, A.; RAZA, H.; SHARIF, H. R.; SHAKEEL, A.; ANSARI, A.; NIAZI, S. Inulin: Properties, health benefits and food applications. **Carbohydrate Polymers**. v. 147, p. 444-454, 2016.

SHORI, A. B. The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods focusing on viability during storage. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 4, p. 423-431, 2015.

SIKORSKI, P.; MO, F.; SKJAK-BRAEK, G.; STOKKE, B. T. Evidence for egg-box-compatible interactions in calcium-alginate gels from fiber X-ray diffraction. **Biomacromolecules**. v. 8, p. 2098–2103, 2007.

SILVA, F. T. Queijo Mozzarella. **Embrapa Informação Tecnológica**. p. 52, 2005.

SILVA, R. C. S. N. **Caracterização sensorial e reológica de requeijão light adicionado de concentrado proteico de soro**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, 2010.

SMIDSROD, O.; SKJAK-BRAEK, G. Alginate as immobilization matrix for cells. **Trends in Biotechnology**. v. 8, p. 71-78, 1990.

SOUSA, J. B. A. S. P. **Atividade biológica de derivados do ácido cafeico: efeito antioxidante e anti-inflamatório**. Dissertação (Especialização em água e alimentos) Faculdade do Porto, Porto/PT, 2008.

SUMMER, A.; FORMAGGIONI, P.; FRANCESCHI, P.; FRANGIA, F.D.; RIGHI, F.; MALACARNE, M. Cheese as functional food: The example of parmigiano reggiano and grana padano. **Food Technology and Biotechnology**. v. 55, p. 277-289, 2017.

TIMILSENA, Y. P.; VONGSVIVUT, J.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. **Food Chemistry**. v. 228, p. 294-402, 2017.

TIMILSENA, Y. P.; VONGSVIVUT, J.; TOBIN, M. J.; ADHIKARI, R.; BARROW, C.; ADHIKARI, B. Investigation of oil distribution in spray-dried chia seed oil microcapsules using synchrotron-FTIR microspectroscopy. **Food Chemistry**. v. 275, p. 457-466, 2019.

TORQUATO, P.; RIPA, O.; GIUSEPPONI, D.; GALARINI, R.; BARTOLINI, D.; WALLERT, M.; PELLEGRINO, R.; CRUCIANI, G.; LORKOWSKI, S.; BIRNINGER, M.; MAZZINI, F.; GALLI, F. Analytical strategies to assess the functional metabolome of vitamin E. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 124, p. 399–412, 2016.

TUR, J.A.; BIBILONI, M. M. Functional Foods. **Encyclopedia of Food and Health**. p. 157–161, 2016.

TURKMEN, N. Kefir as a Functional Dairy Product. **Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan**. p. 373–383, 2017.

VENKATESAN, J.; BHATNAGAR, I.; MANIVASAGAN, P.; KANG, K.; KIM, S. Alginate composites for bone tissue engineering: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 72, p. 269-281, 2015.

VERSIC, R. J. Flavour encapsulation: An overview. **American Chemical Society**, v. 370, p. 1–6, 1988.

YEUNG, A. W. K.; MOCAN, A.; ATANASOV, A. G. Let food be thy medicine and medicine be thy food: A bibliometric analysis of the most cited papers focusing on nutraceuticals and functional foods. **Food Chemistry**, v. 269, p. 455-465, 2018.

ZIA, K. M.; ZIA, F.; ZUBER, M.; REHMAN, S.; AHMAD, M. N. Alginate based polyurethanes: A review of recent advances and perspective. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 377-387, 2015.

ZOHAR-PEREZ, C.; CHET, I.; NUSSINOVITCH, A. Irregular textural features of dried alginate–filler beads. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 249-258, 2004.

ZUIDAM, N. J.; NEDOVIC, V. **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. New York, NY: Springer-Verlag New York, 2010.

APÊNDICE A – Artigo científico

MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CHIA (*Salvia hispanica*) PARA APLICAÇÃO EM QUEIJOS PROCESSADOS

RESUMO

A crescente demanda por alimentos funcionais, que além de sua função nutricional proporcione benefícios à saúde do consumidor tem instigado as indústrias de alimentos a reformularem seus produtos para atender esta necessidade. As indústrias de produtos lácteos são um importante veículo de alimentos funcionais, pois estes produtos são bem aceitos pelos consumidores como alimentos adicionados de compostos saudáveis. O queijo Grana Padano é um produto lácteo que possui boa composição nutricional, porém apresentam elevado teor de gordura, a qual é composta principalmente por ácidos graxos saturados. Queijos processados são produtos obtidos através da fusão de queijos com adição de produtos de origem não láctea em até 30%, o que permite a adição de compostos funcionais como a inulina que proporciona efeito prebiótico no organismo e o óleo de chia que possui alto teor de ácidos graxos insaturados, os quais são instáveis a fatores ambientais como luz, temperatura e oxigênio, o que gera a necessidade de que o óleo seja previamente microencapsulado para que se mantenha estável em produtos alimentícios. Portanto, objetivou-se contribuir para o desenvolvimento de alimentos funcionais. O trabalho foi dividido em 2 etapas. Na primeira etapa foi avaliado a composição do óleo de chia, e realizado a sua microencapsulação e caracterização das microcápsulas. Na segunda etapa foram elaboradas quatro formulações de queijo processado: formulação padrão (FP), formulação com adição de inulina (FI), formulação com adição de inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOCM) e a formulação adição de inulina e óleo de chia livre (FIOCL). As formulações de queijo processado foram caracterizadas através de análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. O óleo de chia apresentou elevado teor de ácidos graxos insaturados. A microencapsulação do óleo de chia pela técnica de gelificação iônica utilizando como material de parede o alginato de sódio e cloreto de cálcio resultou em microcápsulas com eficiência de microencapsulação de 94,37% na proporção óleo: alginato 3:1, baixa solubilidade em água (0,04%) e tamanho de partícula das microesferas de 195,2 μm , sendo estes resultados satisfatórios porque a eficiência de encapsulação foi considerada alta, a solubilidade foi baixa, sendo ideal para adição das microesferas em produtos alimentícios com alto teor de água e o tamanho de partícula as classificou como microesferas. Os teores de umidade e gordura no extrato seco das formulações obtidas estão de acordo com a legislação brasileira. A formulação com adição de inulina (FI) apresentou redução de 36% de gordura, os testes sensoriais indicaram que a mesma não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em comparação com a formulação padrão em relação a todos os atributos analisados, e apresentou características semelhantes a formulação padrão, podendo ser produzido um queijo processado funcional com redução de gordura. A FIOCM apresentou diferença significativa em relação a FIOCL em relação ao sabor, provando que o processo de microencapsulação foi capaz de mascarar o sabor de óleo, porém são necessários ajustes no processo para evitar a formação de aglomerados de microcápsulas que interferem na textura do produto, considerando-se que o óleo de chia agrega funcionalidade ao mesmo.

Palavras-chave: Ácidos graxos insaturados, Inulina, Gelificação iônica.

1 INTRODUÇÃO

A disponibilidade de alimentos, sustentabilidade e suficiência para alimentar a crescente população são desafios da indústria de alimentos. Da mesma forma, com o aumento da população cresce também a necessidade de produção de alimentos em maiores quantidades, bem como a procura por alimentos com apelo de saúde, na busca pela prevenção de doenças, sendo este o mercado dos alimentos funcionais (MARONE, 2017).

Alimentos funcionais são alimentos que além de sua função nutricional promovem benefícios na saúde do consumidor, como melhoria do sistema imunológico e geração do bem estar, além de prevenir doenças não transmissíveis como câncer, diabetes, colesterol, problemas cardíacos, doença de Alzheimer, osteoporose, entre outros (KHAN et al., 2013; ARIHARA, 2014; SHEIKH et al., 2017). Os componentes que tornam o alimento funcional podem estar naturalmente presentes ou podem ser adicionados com intuito de modificar o alimento para que este proporcione benefícios à saúde (TUR; BIBILONI, 2016). As classes de ingredientes funcionais mais citadas em artigos científicos são prebióticos, probióticos, antioxidantes e atuação de ácidos graxos polinsaturados (YEUNG et al, 2018). Estudos iniciais em relação ao efeito funcional de ácidos graxos poli-insaturados foram relatados ao final dos anos 60, descobrindo-se que estes poderiam controlar o nível de colesterol no sangue (KEYS et al., 1965).

Os produtos lácteos são veículos de alimentos funcionais bem aceitos pelos consumidores, especialmente quando adicionados de probióticos e prebióticos (SHORI, 2015). O desenvolvimento de produtos alimentares com um apelo à saúde é uma tendência irreversível para o setor lácteo, que é obrigado a atuar na reformulação de muitos produtos convencionais e bem estabelecidos (FERRÃO et al, 2016).

O queijo Mozzarella é um dos tipos de queijos mais consumidos no Brasil, principalmente pelo alto consumo em pizzas. É um queijo macio e úmido, apresenta em média 43% a 46% de umidade, 22% a 24% de gordura, e teor de sal é de aproximadamente 1,6% a 1,8% (SILVA, 2005). O queijo tipo Grana Padano é um queijo italiano considerado funcional pela legislação europeia, devido ao seu alto valor nutricional, presença de peptídeos bioativos, probióticos, prebióticos, vitaminas e mineiras (SUMMER et al, 2017). Porém, possui alto teor de lipídeos saturados (MANUELIAN et al, 2017). Durante o processamento desses queijos, são geradas aparas, que podem ser utilizadas para fabricação de queijos processados, os quais são produzidos a partir da fusão e emulsão de queijos com adição de outros ingredientes (PRIKRYL et al., 2018).

Os ingredientes opcionais que não fazem parte da base láctea, com exceção da água, combinados ou isolados, poderão estar presentes no produto final em uma proporção de no máximo 30% (m/m) (BRASIL, 1997). Portanto ao produzir queijos processados, podem-se adicionar ingredientes alimentares funcionais como prebióticos e óleos ricos em ácidos graxos insaturados, como forma de torná-lo mais saudável.

O óleo de chia é rico em ácidos graxos insaturados, sendo composto principalmente por ômega-3 (64,5-69,3%), além de possuir compostos bioativos, como tocoferóis, polifenóis, carotenóides e fósforo. Os principais compostos fenólicos encontrados no óleo de chia são os ácidos clorogênico e caféico, seguidos por miricetina, quercetina e kaempferol. Portanto este é um óleo adequado para ser adicionado em alimentos que contenham baixos teores destes compostos (IXTAINA et al, 2011). Devido ao potencial antioxidante do óleo de chia, este é capaz de reduzir o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica (MARINELI et al. 2015).

O ácido graxo α -linolênico é abundante no óleo de chia, tem sido estudado por proporcionar diversos benefícios à saúde como efeito cardioprotetor, hepatoprotetor (POUDYAL et al, 2012) e no tratamento da depressão (MISCHOULON; FREEMAN, 2013). Devido aos benefícios à saúde, o óleo de chia pode agregar funcionalidade a produtos em que for adicionado, sendo uma alternativa para adição em queijos processados. Porém este é instável a fatores ambientais como temperatura, luz e oxigênio, havendo a necessidade de ser protegido dessas adversidades antes de ser adicionado em alimentos (BEYKI et al., 2014).

A microencapsulação é uma tecnologia que tem sido utilizada para superar estas desvantagens, sendo o método de gelificação iônica adequado, em razão de que este apresenta condições brandas de processamento, pois se baseia na capacidade de gelificação de um polímero na presença de íons de cálcio, sem a necessidade de aquecimento e sem o uso de solventes tóxicos. O alginato é um polissacarídeo adequado para ser utilizado na encapsulação de materiais termicamente instáveis como os ácidos graxos insaturados através da técnica de gelificação iônica, devido a sua capacidade de gelificar em temperatura ambiente e a facilidade de formar géis quando em contato com cátions Ca^{2+} ou Mg^{2+} (COMUNIAN; FAVARO-TRINDADE, 2016).

O uso de ingredientes prebióticos na fabricação de produtos lácteos, inclusive em queijos, é uma alternativa de desenvolvimento de alimentos funcionais. Prebióticos são carboidratos de cadeia curta que não podem ser metabolizados pelo organismo humano, os quais estimulam o desenvolvimento de bactérias benéficas ao organismo (FERRÃO et

al, 2016). A inulina é um prebiótico geralmente utilizado em alimentos como substituto de gordura e modificador de textura, sendo bastante aplicada no desenvolvimento de alimentos funcionais devido ao seu potencial benéfico à saúde (SHOAIB et al, 2016). A inulina é um frutano que não apresenta sabor e é capaz de aumentar a estabilidade de emulsões (BOTREL et al, 2014).

Este estudo teve como objetivo o desenvolvimento de queijos processados funcionais adicionados de inulina e microcápsulas de óleo de chia obtidas através do processo de gelificação iônica, além da caracterização das microcápsulas e avaliação dos efeitos da adição de óleo de chia microencapsulado e da inulina sobre a composição química, aos atributos sensoriais e a aceitabilidade sensorial dos queijos processados.

2 MATERIAIS

O óleo de chia foi obtido por doação da empresa Pazze Alimentos localizada no município de Panambi- RS. O concentrado proteico de soro de leite, a mistura de sal fundente e espessantes e a nisina foram obtidos por doação da empresa Globalfood. A inulina foi obtida por doação da empresa Sweetmix. As aparas de queijo tipo Grana Padano foram obtidas por doação da empresa Rasip e o queijo Mozzarella foi obtido por doação da empresa Laticínio Boavistense.

3 METODOLOGIA

3.1 Determinação da composição do óleo de chia, microencapsulação do óleo de chia e caracterização das microcápsulas

3.1.1 Definição da composição do óleo de chia

O óleo de chia foi caracterizado quanto ao perfil de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa (Modelo GC-FID -8440, SHIMADZU), sob as seguintes condições: coluna DB-MAX 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm ; temperatura da coluna: 130°C, com aumento de 2°C / min até atingir 210°C (2 min); injeção Split 1:50; temperatura do injetor: 230 °C; volume injetado: 1 μL ; método de quantificação: normalização de área e gás de arraste: Hélio ultra puro 1 mL min⁻¹.

3.1.2 Elaboração das microcápsulas

As microcápsulas de óleo de chia foram obtidas através da técnica de gelificação iônica, utilizando como material de parede alginato de sódio reticulado em cloreto de cálcio. As microcápsulas foram formadas de acordo com Ren et al. (2016) com algumas

modificações. O método consistiu na formação de microcápsulas com 100 mL da solução de alginato de sódio (1,5%) com adição de óleo nas seguintes proporções: 1:1, 2:1 e 3:1 (óleo: alginato). As misturas foram agitadas por 30 min com auxílio de um homogeneizador Ultra Turrax e após foram atomizadas em 200 mL da solução de cloreto de cálcio (1,1%) utilizando o extensor do bico do Spray-dryer (LM MSD 1.0). Posteriormente as microcápsulas foram agitadas levemente por 30 min, em seguida foram filtradas, lavadas com água destilada e liofilizadas (Liofilizador SL- 404 Terroni).

3.1.3 Eficiência do encapsulamento do óleo de chia

A eficiência de encapsulamento foi testada nas proporções óleo: alginato de 1:1, 2:1 e 3:1, a qual foi realizada de acordo com Chan (2011) com algumas modificações. Foi efetuada a quantificação de óleo não encapsulado presente na solução de CaCl_2 após a filtração, na água de lavagem das microcápsulas e nos utensílios utilizados no processo de microencapsulação. A determinação do peso do óleo livre foi feita através da lavagem com hexano e posterior evaporação, o lipídeo restante foi pesado. O teor de óleo encapsulado foi calculado pela diferença entre o peso total de óleo adicionado no processo de microencapsulação e o peso de óleo não encapsulado e a eficiência de encapsulação foi calculada pela Equação 1.

$$EE(\%) = \left(\frac{\text{Óleo encapsulado (g)}}{\text{Óleo total adicionado(g)}} \right) \times 100 \quad (1)$$

3.1.4 Solubilidade das microcápsulas em água

A solubilidade em água foi determinada pelo método descrito por Eastman e Moore (1984), citado por Cano-Chauca et al. (2005), com modificações. Foram testados os períodos de tempo de 5 e 30 minutos, afim de avaliar se há diferença na solubilidade das microcápsulas no produto se as mesmas forem adicionadas no início do processamento ou somente nos últimos 5 minutos. O método consiste na adição de 0,5 g de amostra em um recipiente contendo 50 mL de água destilada, sob agitação de 2.000 rpm e temperatura de 60 °C pelo tempo a ser testado, seguida por centrifugação a 6800 rpm por 15 minutos. Uma alíquota de 12,5 mL do sobrenadante foi levada à estufa a 105 °C, até evaporação completa da água. O percentual de solubilidade foi calculado de acordo com a Equação 2.

$$\text{Solubilidade (\%)} = \left(\frac{(\text{massa de sólidos em 12,5 mL de solução}) * 4}{\text{massa da amostra (g)}} \right) \times 100 \quad (2)$$

3.1.5 Análise morfológica

As características superficiais (externas) foram avaliadas através do uso de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (MEV), (Modelo JSM-6390LV, JEOL). As partículas foram fixadas em stubs de alumínio sobre fitas de carbono adesivas e posteriormente recobertas com uma fina camada de ouro em equipamento Balzer (Baltec SCD50). As observações foram realizadas com aceleração de 20 kV.

3.1.6 Calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria

As curvas termogravimétricas e calorimétricas foram obtidas em um simulador de análise térmica (STA 6000, Perkin Elmer). Foram realizadas para as amostras de óleo de chia, microesferas vazias e óleo de chia microencapsulado.

3.1.7 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

As microcápsulas vazias (solução de alginato de sódio reticulado em CaCl_2) e as microcápsulas de óleo de chia foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho (Agilent Technologies, modelo Cary 630), empregando 4 mg de cada amostra, sendo que o registro dos espectros se dá através de Transmitância (% T). Os espectros foram coletados através de 48 varreduras no modo de absorbância de 4000 a 650 nm com uma resolução de 4 nm. As análises foram realizadas à temperatura ambiente (25 °C).

3.1.8 Tamanho de partícula e dispersão granulométrica

O tamanho de partícula foi avaliado por espectrometria de difração a laser, utilizando faixa de análise entre 0,3 μm a 500 μm . O tamanho de partículas foi medido utilizando um instrumento de difração de luz laser (BETTERSIZER, modelo S2-WD). O princípio de medida utilizado foi Fraunhofer. Foram realizadas 100 leituras em triplicata para cada amostra. A partir de uma quantidade homogênea de amostra obtida, por meio do software específico, foi determinado o diâmetro médio e a distribuição de tamanho das micropartículas. O span, valor matemático definido como a medida da dispersão granulométrica (CHEN; DAVIS, 2002), avalia a variação do volume de distribuição das partículas em relação ao diâmetro médio, foi calculado de acordo com a Equação 3:

$$span = \left(\frac{d_{(v,90)} - d_{(v,10)}}{d_{(v,50)}} \right) \quad (3)$$

Sendo:

$d_{(v,90)}$, $d_{(v,50)}$, $d_{(v,10)}$ correspondem, respectivamente, ao diâmetro das partículas a 10%, 50% e 90% da distribuição acumulada para a amostra.

3.1.9 Tratamento dos dados de caracterização das microcápsulas

Os resultados das análises das microcápsulas de óleo de chia foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95% para avaliar comportamento do óleo microencapsulado, com exceção da análise morfológica, calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria, avaliação por espectroscopia na região do infravermelho e o tamanho de partícula.

3.2 Elaboração e análises das formulações de queijos processados

3.2.1 Elaboração das formulações de queijo processado

A formulação padrão de queijo processado apresentada na Tabela 1 foi fornecida pela empresa Globalfood. Foram elaboradas diferentes formulações de queijo processado (apresentadas na Tabela 1), sendo estas com redução de creme de leite e adição de inulina, óleo de chia livre e microcápsulas de óleo de chia liofilizadas, as quais foram elaboradas realizando-se modificações na formulação padrão.

Tabela 1 – Formulações de queijos processados adicionados de inulina, óleo de chia e óleo de chia microencapsulado

Formulação	FP (%)	FI (%)	FIOCL (%)	FIOCM (%)
Água	38,40	43,40	43,40	43,40
Mistura de queijos	30,00	30,00	30,00	30,00
Creme de leite (40% MG)	28,00	13,00	10,91	10,55
Concentrado proteico de soro	1,50	1,50	1,50	1,50
Mistura de sal fundente e espessante	1,50	1,50	1,50	1,50
Sal	0,60	0,60	0,60	0,60
Nisina	0,002	0,002	0,002	0,002
Inulina	-	10,00	10,00	10,00
Óleo de chia	-	-	2,091	-
Microcápsulas de óleo de chia	-	-	-	2,45

FP: formulação padrão, FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado.

Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

Os queijos processados funcionais foram formulados considerando-se o Regulamento técnico Mercosul de identidade e qualidade de queijo processado ou fundido, processado pasteurizado e processado ou fundido U.H.T (UAT) presente na Portaria nº 356, de 04 de setembro de 1997, a qual estabelece que os ingredientes opcionais que não fazem parte da base láctea, exceto a água, isolados ou combinados, deverão estar presentes em uma proporção máxima de 30% (m/m) do produto final.

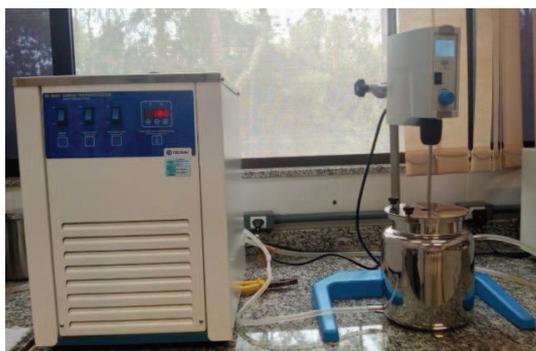
O teor de óleo de chia microencapsulado foi adicionado de acordo com Regulamento Técnico do Mercosul Sobre Informação Nutricional Complementar (Declarações de Propriedades Nutricionais) anexo à Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012, o qual estabelece que para que o alimento seja considerado fonte de ômega 3 este deve conter o mínimo de 300 mg de ácido alfa-linolênico por porção, sendo esta de 30g para queijos processados. O teor de ômega 3 adicionado no queijo processado foi calculado levando-se em consideração a análise cromatográfica, a qual apresentou o teor do ácido alfa-linolênico presente no óleo de chia utilizado. Foram considerados também o resultado da eficiência de encapsulação e a proporção de alginato utilizada no processo de microencapsulação.

O teor de inulina foi adicionado com base nas regras da ANVISA que abrangem a categoria de “Alimentos com Alegações de Propriedade Funcional e ou de Saúde”. Segundo estas normas, apenas os alimentos cuja porção diária forneça no mínimo 3g de inulina se o alimento for sólido, ou 1,5 g, se o alimento for líquido, podem apresentar a alegação de “contribuir para o equilíbrio da flora intestinal”. A porção de queijo processado é de 30g.

A mistura de queijos apresentada na Tabela 1 é composta por aparas de queijo tipo Mozzarella e queijo tipo Grana Padano, na proporção 70:30 de Mozzarella:Grana Padano, para que o queijo Mozzarella forme uma emulsão e evite a separação de gordura.

Para produção do queijo processado, inicialmente os materiais secos foram misturados a frio (mistura de sal fundente e espessantes, concentrado proteico de soro de leite, sal e nisina), posteriormente esta mistura foi inserida no recipiente encamisado acoplado a um banho termostaticado pré-aquecido a 60° (Figura 1) e em seguida os demais materiais foram adicionados, sendo estes a mistura de queijos Mozzarella e Grana Padano, creme de leite e água a aproximadamente 80°C. A mistura foi mantida a 60°C, sob agitação com o auxílio de um agitador axial (Figura 1) a 900 rpm por 30 minutos. Nas formulações contendo óleo de chia livre e óleo de chia microencapsulado, estes ingredientes foram adicionados ao final do processo e agitados até a completa homogeneização.

Figura 1 – Banho termostaticado, recipiente encamisado e agitador axial.



Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

Conforme estabelecido na Portaria nº 356, de 04 de setembro de 1997, após o processo de produção, o queijo processado foi mantido a uma temperatura abaixo de 10° C até a caracterização físico-química, microbiológica e sensorial.

3.2.2 Caracterizações químicas das formulações de queijo processado

As caracterizações químicas de umidade, proteína, resíduo mineral fixo, fibras e carboidratos das formulações de queijo processado foram realizadas de acordo com as metodologias descritas nas Normas do Instituto Adolfo Lutz, (2008). O teor de lipídeos totais foi realizado de pelo método Butirométrico para creme de leite, descrito pela Instrução Normativa N° 68, de 12 de dezembro de 2006.

3.2.3 Análises microbiológicas

Os parâmetros microbiológicos definidos para queijo processado fundido apresentados no Quadro 1 são estabelecidos pela Resolução-RDC N° 12, de 02 de Janeiro de 2001, no anexo Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos.

Quadro 1 - Parâmetros microbiológicos para queijo processado fundido.

Microorganismos	Tolerância para Amostra Representativa	Tolerância para Amostra INDICATIVA
Coliformes a 45°C	n=5 c=2 m=<3 M=10	10
Estaf.coag.positiva/g	n=5 c=2 m=10 ² M=10 ³	10 ³

Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

As análises microbiológicas foram realizadas com todas as formulações que foram submetidas à avaliação sensorial.

3.2.4 Análise sensorial

O projeto foi encaminhado ao comitê de Ética da Universidade de Passo Fundo, número do parecer 2.740.501, sendo aprovado pela Comissão de avaliação. Não puderam fazer parte desta pesquisa os participantes alérgicos a qualquer um dos componentes do queijo processado como ao queijo grana padano, queijo mussarela, creme de leite, concentrado proteico de soro de leite, sal, água, sal de fusão, espessantes e nisina.

Os provadores receberam uma amostra de cada formulação (apresentadas na Tabela 1), totalizando quatro formulações de queijo processado. As amostras foram apresentadas de forma monádica, aleatorizadas e codificadas, utilizando luz branca e computador para avaliar os dois testes propostos. As amostras foram apresentadas

acompanhadas de biscoito tipo água e sal, para remoção de sabor residual, e água para lavagem do palato, devendo ser consumidas entre cada amostra. Aos julgadores foi solicitado que avaliassem as amostras quanto à aceitabilidade e segundo o formulário da análise CATA (Check-all-that-apply).

A aceitabilidade é um teste afetivo, no qual o julgador expressa o quanto gostou ou desgostou da amostra, o mesmo é aplicado utilizando-se uma escala hedônica de nove pontos, balanceada com o mesmo número de categorias positivas e negativas (DUTCOSKY, 1996). Foram avaliados atributos, cor, aroma, textura, sabor, aparência e impressão global através de escala hedônica verbal estruturada. O índice de aceitabilidade foi calculado de acordo com a Equação 4:

$$IA = \left(\frac{\text{Média}}{9} \right) \times 100 \quad (4)$$

As amostras foram avaliadas pelo método CATA (check-all-that-apply) utilizando consumidores, sendo apresentado a estes termos que caracterizam o produto. A definição dos termos descritivos foi realizada com base nos atributos de aparência, textura, cor, odor e sabor comuns a alguns produtos alimentícios (Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos - 4ª Edição) e termos utilizados por Silva (2010) para caracterização sensorial de requeijão. A lista com os termos foi utilizada para a aplicação da metodologia CATA, permitindo aos provadores selecionarem os termos que caracterizam a amostra (ARES et al., 2014).

3.2.5 Tratamento dos dados

Os resultados das caracterizações químicas e da aceitabilidade das formulações de queijo processado foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95 %.

A análise dos dados obtidos com a metodologia CATA foi realizada através de análise estatística multivariada (Análise de Componentes Principais) utilizando o Programa Statistica 7.0.

4 RESULTADOS

4.1 Determinação da composição do óleo de chia, microencapsulação do óleo de chia e caracterização das microcápsulas

A Tabela 2 apresenta o resultado da análise de cromatografia gasosa do óleo de chia a ser microencapsulado e posteriormente adicionado no queijo processado, mostrando o teor dos ácidos graxos em relação aos lipídeos presentes no óleo. O cromatograma se encontra no Anexo B.

Tabela 2– Perfil de ácidos graxos em relação aos lipídeos presentes no óleo de chia

Tipo de ácido graxo	Teor de cada ácido graxo (%)
C18:3	47,80
C18:1	21,89
C18:2	20,99
C16:0	4,79
C18:0	4,53
Total	100

O óleo de chia apresentou composição semelhante à relatada por outros autores. Ding et al (2018) analisaram o perfil de ácidos graxos de óleo de chia produzido em Taiwan e constataram que o mesmo apresenta em maior quantidade o ácido α -linolênico (56.98%), seguido pelo ácido linoleico (21.51%) e ácido oleico (9.17 %). Ixtaina et al (2011) analisou o perfil de ácidos graxos do óleo de chia produzido na Alemanha e encontrou como principais ácidos graxos o α -linolênico (64,5-69,3%), ácido linoleico (16,6-20,3%), e ácido oleico (5,3-5,8%). Segundo Silva et al, (2016) a composição química do óleo de chia pode variar de acordo com a condição climática e localização geográfica em que foi produzido.

Percebe-se que há variações na composição de ácidos graxos de óleos de chia provenientes de diferentes regiões, porém a maior parte da composição de ambos é sempre do ácido α -linolênico.

Devido ao alto teor de ácidos graxos insaturados presentes no óleo de chia este apresenta baixa estabilidade oxidativa, necessitando de uma proteção contra a oxidação para manter sua qualidade, sendo a microencapsulação uma alternativa que vem sendo estudada para este propósito (INÁCIO et al, 2018).

4.1.1 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação utilizando a proporção óleo: alginato de 1:1 foi de $96,7\% \pm 0,46^a$, o qual apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em relação aos demais testes, apresentando maior eficiência de encapsulação, porém aprisionou menor quantidade de óleo de chia, pois foi o experimento com a menor proporção de óleo adicionada com relação a proporção de alginato. Nas proporções óleo: alginato de 2:1 e 3:1, a eficiência de encapsulação foi estatisticamente igual ($p > 0,05$), $94,97 \pm 0,72^b$ e $94,37 \pm 0,23^b$ respectivamente, portanto na proporção 3:1 ocorreu aprisionamento de maior quantidade de óleo de chia devido a maior proporção de óleo adicionada.

Ao aumentar o teor de óleo de chia da proporção óleo:alginato 1:1 para 2:1 ocorreu uma redução estatisticamente significativa da eficiência de encapsulação, enquanto ao aumentar o teor de óleo da proporção 2:1 para 3:1 o mesmo fato não ocorreu, indicando que é possível aprisionar maior teor de óleo de chia sem alterar significativamente a eficiência do processo.

Os resultados de eficiência de encapsulação obtidos foram superiores ao encontrado por Benavides et al, (2016) que também utilizaram o método de gelificação iônica e alginato de sódio como material de parede e obteve 85% de eficiência de encapsulação, utilizando uma concentração de óleo essencial de tomilho de 2% (v/v), a qual é inferior ao teor de óleo utilizado nas proporções 2:1 e 3:1, os quais foram de 3% e 4,5% (v/v) respectivamente.

Nashihah et al, (2018) também utilizaram o método de gelificação iônica para microencapsular óleo de farelo de arroz, utilizando alginato de sódio como material de parede e obteve resultado de eficiência de encapsulação superior ao encontrado no presente trabalho, o qual foi de 99,2 %, porém fez o uso de agente emulsificante e utilizou a proporção de 40:50:10 de óleo: alginato: emulsificante, proporção de óleo inferior ao menor teor de óleo testado no presente trabalho de foi de 1:1 de óleo: alginato, portanto a presença de agente emulsificante e o menor teor de óleo justificam a obtenção de eficiência de encapsulação superior a obtida no presente trabalho.

4.1.2 Determinação da solubilidade das microcápsulas

A solubilidade das microcápsulas em água é um aspecto fundamental, pois pode possibilitar a incorporação das mesmas em diferentes alimentos (BENDER et al., 2016). No caso da incorporação das microcápsulas em queijo processado, este é um fator muito importante, pois de acordo com o Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade de Queijo Processado ou Fundido, Processado Pasteurizado e Processado ou Fundido U.H.T (UAT), o teor máximo de umidade permitida é de 70 (g/100g), portanto para que as microcápsulas sejam aplicadas neste produto é necessário que as mesmas apresentem baixa solubilidade.

O percentual de solubilidade das microcápsulas de óleo de chia em água não apresentou diferença significativa ao nível de significância de 5% quando as mesmas foram mantidas por 5 ou 30 minutos sob agitação em temperatura de 60°C, os quais foram de $0,04 \pm 0,00^a$ e $0,16 \pm 0,06^a$, respectivamente, mostrando-se que a solubilidade não varia se as cápsulas forem adicionadas ao início ou somente nos últimos 5 minutos de processamento do queijo processado.

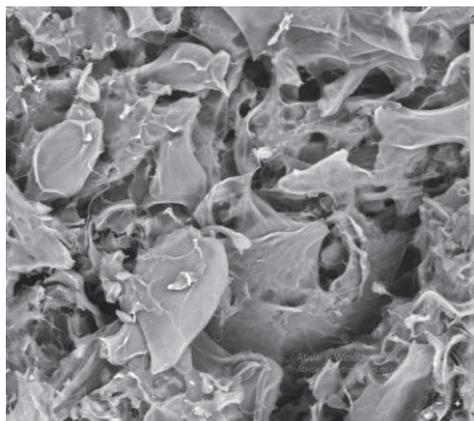
Os percentuais de solubilidade apresentados são considerados baixos, isso se deve ao fato de que ao gotejar a solução de alginato de sódio em solução com cátions divalentes o torna insolúvel (EL-GHAFFAR et al., 2012).

4.1.3 Caracterização morfológica

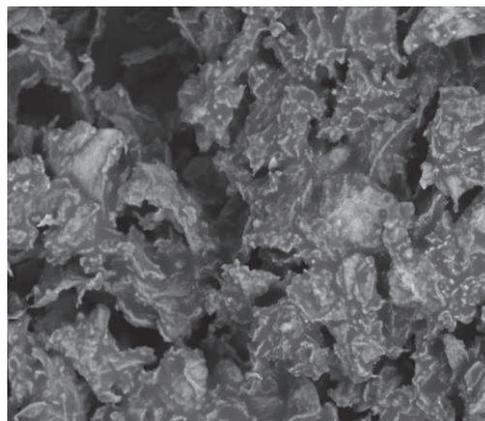
As micrografias eletrônicas de varredura (Figura 2) exibem a forma e a morfologia superficial das esferas vazias (a) e com óleo de chia (b).

As microesferas foram secas pelo processo de liofilização, o qual remove a água das mesmas e ocasiona o enfraquecimento na estrutura da matriz, promove o achatamento das paredes, encolhimento das microesferas e pode causar formação de rachaduras (Figura 2 a) (ZOHAR-PEREZ; CHET; NUSSINOVITCH, 2004; ALVES et al., 2017).

Figura 2 - Micrografia eletrônica das microesferas com aumento de 600 x



(a) Microesferas vazias



(b) Microesferas com óleo de chia

Fonte: Autor (2018)

O processo de liofilização causa colapso na estrutura das esferas no momento em que a água é sublimada a partir da matriz, devido a este fenômeno as microesferas apresentaram superfície enrugada e formato irregular (CHAN et al., 2011).

Ao comparar a micrografia eletrônica de varredura das microesferas vazias (Figura 7 a) com a micrografia eletrônica de varredura das microesferas com óleo de chia (Figura 7 b), percebe-se que a espessura da parede das microesferas vazias é menor do que das microesferas com óleo, assemelhando-se a folhas. Este aumento da espessura ocorre devido ao preenchimento das microcápsulas com óleo, provando que ocorreu a microencapsulação do óleo de chia.

4.1.4 Calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria

A Tabela 3 apresenta os resultados das variações de entalpia e temperaturas nos picos da análise calorimétrica das microesferas vazias, do óleo de chia livre e microencapsulado.

Tabela 3– Calorimetria exploratória diferencial das microesferas vazias, do óleo livre e microencapsulado.

Tratamento	ΔH (J. g ⁻¹)	Tp(°C)
Microesferas vazias	590,92	501,02
Microesferas com óleo de chia	120,47	744,37
Óleo de chia	484,54	429,87

ΔH : entalpia, Tp: Temperatura do pico

A energia envolvida e as temperaturas de mudança de fase geram informações em relação as características físicas dos compostos. A entalpia de fusão das microesferas com óleo de chia foi menor quando comparada as microesferas vazias, esta redução da entalpia de fusão ocorre devido à diminuição da porção cristalina da amostra de microesferas de óleo de chia em comparação com a amostra de microesferas vazias, devido a presença do óleo que desorganiza a estrutura cristalina, necessitando menor energia para ocorrer a fusão da amostra. Esta redução é um indicativo de que a microencapsulação do óleo foi eficiente (ROJAS, 2018). A temperatura de mudança de fase foi maior para as microesferas contendo óleo de chia do que do que para as demais amostras, indicando maior estabilidade térmica devido ao processo de microencapsulação do óleo de chia.

As Figuras 3a, 3b e 3c apresentam as análises termogravimétricas das microesferas com óleo de chia e óleo de chia livre, respectivamente.

Figura 3a- Termogravimetria das microesferas vazias

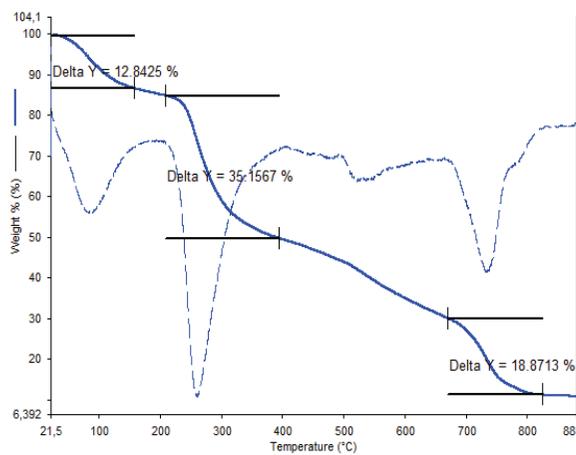


Figura 3b- Termogravimetria das microesferas com óleo de chia

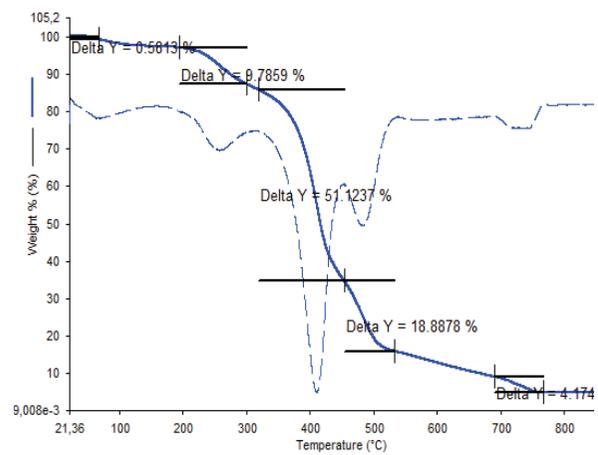
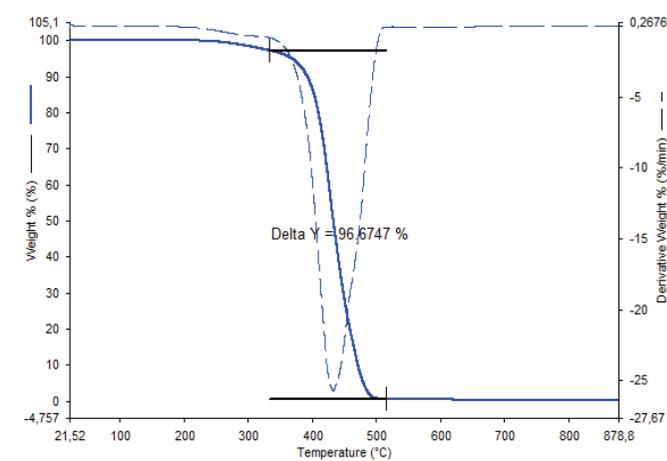


Figura 3c- Termogravimetria do óleo de chia



Nas Figuras 3a e 3b percebe-se uma pequena perda de massa inicial, que representa aproximadamente 12,8% da amostra de microcápsulas vazias e 0,5% de microcápsulas com óleo de chia pouco antes de atingir 100°C, o que representa a perda de umidade presente nas microcápsulas (COMUNIAN et al, 2016). De acordo com Rizzo et al. (2013), nos picos de perda de massa acima de 200 °C, identificados como segundo estágio, ocorre a decomposição dos componentes das amostras, tais como carboidratos, e outros componentes menores, e liberam substâncias voláteis, o que pode ser observado nas Figuras 8 e 9, nas quais ocorreram picos de perda de massa quando a amostra atingiu aproximadamente 260°C e houve decomposição de cerca de 35% de amostra de microcápsulas vazias e 10% da amostra de microcápsulas com óleo de chia, devido a presença de carboidratos oriundos do alginato utilizado como material encapsulante.

A fusão dos triglicerídeos varia de acordo com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes e de sua distribuição estereo-específica ao longo das moléculas de glicerol, tal como com o grau de ramificação e comprimento de cadeia (DICKINSON & MCCLEMENTS, 1995; FERRARI et al., 2007). A degradação térmica de lipídeos depende do tipo de ácido graxo presente na amostra, as variações de massa estão relacionadas ao processo de degradação térmica que ocorre em três passos, correspondendo à degradação dos ácidos graxos poli-insaturados (200-380°C), monoinsaturados (380-480°C), e saturados (480-600°C) respectivamente (SANTOS et al., 2002).

Os óleos vegetais são comumente compostos por uma mistura de triglicerídeos, por consequência, a fusão dos mesmos ocorre em uma ampla faixa de temperaturas (DICKINSON & MCCLEMENTS, 1995). O óleo de chia utilizado é composto por 68,79% de ácidos graxos poli-insaturados (47,80% de ácido α -linolênico e 20,99% de ácido linoleico), 21,89% de ácidos graxos monoinsaturados (ácido oleico) e 9,32% de ácidos graxos saturados (4,79% de ácido palmítico e 4,53% ácido esteárico).

Na Figura 3c observa-se que a perda de massa da amostra de óleo de chia livre iniciou a aproximadamente 220 °C enquanto o início do pico de degradação ocorreu em torno de 340°C, temperatura característica de fusão de ácidos graxos poli-insaturados (200-380°C). O fim do pico de degradação ocorreu a aproximadamente a 480°C onde é o final da faixa de degradação de ácidos graxos monoinsaturados (380-480°C), tendo ocorrência do pico nas faixas de temperaturas características de ácidos graxos poli-

insaturados e monoinsaturados, os quais compõem cerca de 90% do óleo de chia analisado. Após esta temperatura ainda continuou ocorrendo degradação até próximo a 600°C que é o fim do intervalo de temperatura de fusão de ácidos graxos saturados (480-600°C), o qual é o tipo de ácido graxo presente em menor teor no óleo de chia.

Resultados semelhantes quanto a degradação de óleo de chia livre foram obtidos por Timilsena et al (2017), o qual avaliou a estabilidade térmica do óleo de chia Australiano, o mesmo relatou que foram obtidas perdas insignificantes de massa do óleo quando este foi aquecido até 215°C, a perda de massa aumentou rapidamente quando o óleo atingiu 425°C, atingindo 60% de perda em relação massa total e a degradação total do óleo aconteceu quando a temperatura atingiu 600°C.

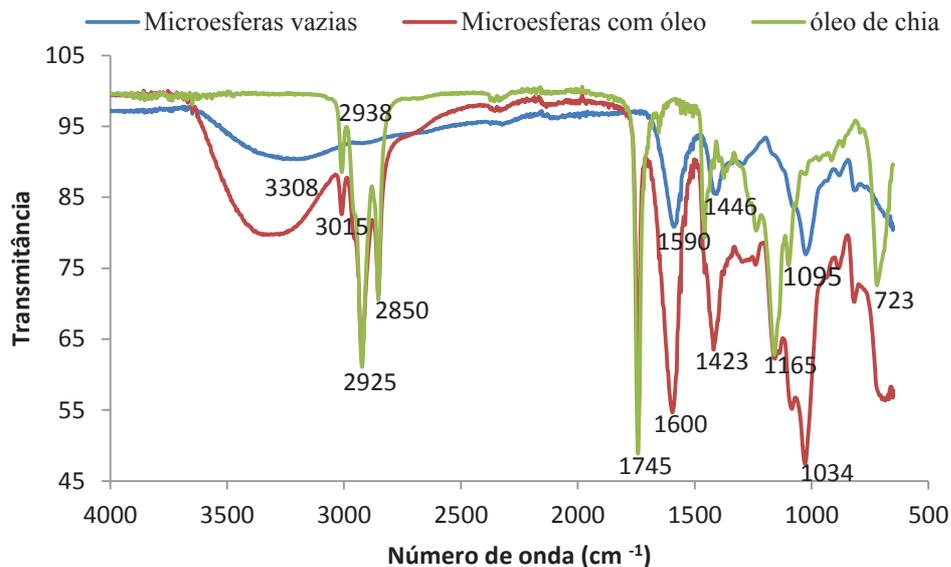
Na Figura 3b identifica-se que houve um pico de degradação em torno de 410°C e outro à aproximadamente 480°C que de acordo com Santos et al, (2002), são temperaturas características da fusão de lipídeos. Ao comparar a termogravimetria das microcápsulas vazias (Figura 3a) com a das microcápsulas com óleo de chia (Figura 3b) percebe-se que na amostra de microcápsulas vazias não ocorreu os picos de degradação a 410°C e 480 °C, fato que comprova que estes picos ocorreram devido à presença de lipídeos na amostra de microcápsulas com óleo de chia.

Nas Figuras 3a e 3b que representam as amostras de microcápsulas vazias e microcápsulas com óleo de chia identifica-se que ocorreu um pico de degradação em temperatura próxima a 750°C, fato este que não consta na Figura 5 que representa a amostra de óleo de chia livre, mostrando que o mesmo pico não é característico do óleo. Considerando-se que a temperatura de degradação de polissacarídeos é em torno de 200°C, percebe-se que devido ao processo de microencapsulação, quando ocorre a gelificação iônica, há alteração nas propriedades do material encapsulante, tornando-o mais resistente a altas temperaturas.

4.1.5 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

A Figura 4 apresenta os resultados da avaliação por espectroscopia na região do infravermelho das microesferas vazias, microesferas com óleo e do óleo de chia livre.

Figura 4- FTIR das microesferas vazias, do óleo livre e microencapsulado.



A banda larga em 3200-3700 cm^{-1} ocorrida nas esferas vazias (Figura 4) ocorre devido às vibrações de estiramento O-H presentes no alginato. Enquanto a banda 2938 cm^{-1} representa a vibração de alongamento assimétrica C-H, na qual o pico é fraco devido a reticulação do NaAlg com Ca^{2+} (HE et al., 2012). Os picos 1446 e 1590 cm^{-1} correspondem às vibrações de estiramento simétricas e assimétricas do carboxilato, respectivamente (PAPAGEORGIU et al., 2010).

Os picos entre 2800 e 3100 cm^{-1} encontrados ao analisar o óleo de chia são característicos de lipídeos (2925, 2850 e 3010 cm^{-1}) e indicam a ligação C-H. O pico de 3010 cm^{-1} é atribuído à presença de cis-alceno ($\text{HC}=\text{CH}$) representando ácidos graxos insaturados. O pico de absorção de 1745 cm^{-1} é dado devido à presença de C=O, o qual é indicativo de lipídeos totais. As bandas sobrepostas entre 1460 e 1050 cm^{-1} são atribuídas à combinação de modos de deformação de grupos metil (CH_3) e metileno (CH_2) nas estruturas lipídicas (TIMILSENA et al., 2019).

A amostra de microesferas com óleo apresentou picos característicos da presença tanto do material de parede quanto de óleo, o que demonstra a presença de óleo na superfície das microesferas, isto ocorre devido ao processo utilizado para a microencapsulação, pois de acordo com Li et al, (2002) na gelificação iônica, o alginato de sódio forma uma matriz na presença de íons de cálcio e segundo Zuidam; Nedovic, (2010) microcápsulas do tipo matriz apresentam o núcleo disperso sobre o material encapsulante e/ou sob a superfície, o que justifica a presença tanto de alginato quanto de óleo na superfície das microesferas.

4.1.6 Tamanho de partícula e dispersão granulométrica

As medições foram realizadas em triplicata em cada amostra e os valores médios dos diâmetros D_{10} , D_{50} e D_{90} , bem como o diâmetro médio volumétrico de partícula e o Span foram calculados pelo software e estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4– Distribuição do tamanho das microesferas vazias e de microesferas com óleo.

Amostra	$d_{10}(\mu\text{m})$	$d_{50}(\mu\text{m})$	$d_{90}(\mu\text{m})$	Diâmetro médio (μm)	Span ($d_{90}-d_{10}/d_{50}$) μm
Microesferas vazias	23,71	104,7	196,6	96,11	1,650
Microesferas com óleo (3:1)	60,94	181,1	434,2	195,2	2,060

Em relação ao diâmetro médio de partícula, ao encapsular o óleo o tamanho aumentou (195,2 μm) em relação à esfera vazia (96,11 μm), o mesmo fenômeno foi observado por Hosseini et al, (2013), o qual observou que o aumento do tamanho das micropartículas é devido ao encapsulamento do óleo nas partículas alginato.

As cápsulas produzidas são caracterizadas como microesferas, pois se enquadram na faixa de tamanho de 3 a 800 μm (LEE, 2014). O tamanho de partícula é um dos fatores mais importantes a ser considerado para aplicação de microcápsulas em alimentos, pois este pode interferir na textura e no sabor final do produto (COMUNIAN, et al 2014). De acordo com Burgain et al, (2011), para que as microcápsulas não afetem as características sensoriais do alimento, o tamanho de partícula desejável é abaixo de 100 μm , portanto o tamanho das microcápsulas com óleo obtido foi maior do que o desejado para aplicação em alimentos, podendo serem identificadas pelos julgadores na análise sensorial do queijo processado.

Quanto ao span, a amostra de microesferas vazias apresentou o valor de 1,65 e a amostra de microesferas com óleo 2,06, mostrando que a dispersão foi maior na amostra com óleo de chia, enquanto na amostra de microesferas vazias a distribuição foi mais uniforme. Campo et al, (2017) sintetizaram nanopartículas de óleo de chia preparadas

utilizando mucilagem de sementes de chia e encontraram o valor de span 1,76 o qual é intermediário aos valores relatados neste estudo.

4.2 Elaboração e análises das formulações de queijo processado

4.2.1 Caracterizações químicas das formulações de queijo processado.

A composição química das formulações de queijo processado está apresentada na Tabela 5. De acordo com o Regulamento Técnico do Mercosul de Identidade e Qualidade de Queijo Processado ou Fundido, Processado Pasteurizado e Processado ou Fundido U.H.T (UAT), o teor máximo de umidade permitida é de 70 (g/100g), todas as formulações obtidas apresentaram teor de umidade de acordo com a legislação, a qual não estabelece um teor de umidade mínimo.

Em relação ao teor de matéria gorda no extrato seco, a mesma legislação estabelece que o teor mínimo deve ser de 35 (g/100g), não estabelecendo um teor máximo, portanto o teor de matéria gorda em extrato seco das amostras de queijo processado (Tabela 6) da formulação padrão, formulação adicionada de óleo de chia livre e formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado estão de acordo com a legislação brasileira.

A amostra da formulação de queijo processado com adição de inulina é considerada com teor reduzido de gordura, atendendo a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 54, de 12 de novembro de 2012, a qual estabelece que para um alimento ser considerado como reduzido em gorduras totais, este deve apresentar uma redução de no mínimo 25% das mesmas. Na Tabela 5, observa-se que a formulação padrão apresenta um teor de gorduras totais de 22,67%, enquanto a formulação com adição de inulina apresenta 14,50%, sendo reduzido 8,17% do teor de gordura total do produto, o que representa uma redução de 36,03% do teor de gorduras totais em relação a formulação padrão.

As formulações com substituição de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) e substituição de creme de leite por inulina e óleo de chia microencapsulado (FIOCM) não foram consideradas com teor reduzido de lipídeos pois foi realizada a determinação de lipídeos totais, portanto devido a adição de óleo não houve redução de no mínimo 25% de lipídeos em relação a formulação padrão, porém foi realizada uma modificação do tipo de lipídeo presente, pois foi substituído creme de leite que contém gordura saturada por óleo de chia que contém lipídeos insaturados.

Tabela 5 – Composição química das formulações de queijo processado em base úmida

Componentes	FP	FI	FIOCL	FIOCM
Proteína (%)	9,67±0,23 ^a	9,57±0,07 ^a	9,76±0,39 ^a	9,68±0,58 ^a
Lipídeos (%)	22,67±0,58 ^a	14,50±0,71 ^c	22,50±0,71 ^a	18,00±0,00 ^b
Umidade (%)	62,26±0,10 ^a	57,46±0,05 ^b	56,43±0,21 ^c	55,48±0,48 ^d
Cinzas (%)	2,93±0,07 ^b	3,28±0,03 ^{ba}	2,95±0,23 ^b	3,37±0,03 ^a
Carboidratos (%)	2,47±0,66 ^d	15,19±0,60 ^a	8,36±0,99 ^c	13,47±0,49 ^b

FP: formulação padrão, FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado. Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ao nível de 95% de confiança (média±dp). A análise estatística foi realizada comparando-se as linhas.

Tabela 6 – Composição química das formulações de queijo processado em base seca

Componentes	FP	FI	FIOCL	FIOCM
Proteína (%)	25,63	22,50	22,39	21,74
Lipídeos (%)	60,07	34,08	51,65	40,43
Cinzas (%)	7,75	7,71	6,77	7,57
Carboidratos (%)	5,13	34,47	17,86	28,75

FP: formulação padrão, FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado.

4.2.2 Análises microbiológicas

Não ocorreu crescimento de colônias, tanto na análise de coliformes a 45°C quanto de *Staphylococcus* coagulase positiva, portanto os resultados foram inferiores aos limites de tolerância exigidos pela RDC N°12 (apresentados no item 3.4.3), os resultados são satisfatórios pois atendem aos requisitos de qualidade para consumo humano. Estando de acordo com os parâmetros microbiológicos exigidos, todas as formulações foram submetidas a análise sensorial.

4.2.3 Análise sensorial

A Tabela 7 apresenta os valores médios das notas de aceitabilidade para os atributos de aparência, aroma, sabor, textura, cor e impressão global das formulações de queijo processado. Não foram observadas diferenças significativas entre a formulação padrão (FP) e a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) em todos os atributos avaliados, mostrando-se que a inulina pode ser utilizada como substituto de gordura na produção de queijo processado com redução deste componente. Enquanto as formulações com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de

chia livre (FIOCL) e por inulina e óleo de chia microencapsulado (FIOMC) apresentaram diferença significativa em relação a formulação padrão (FP) em todos os atributos, indicando que a adição do óleo de chia tanto livre quanto microencapsulado afeta de maneira negativa a percepção do consumidor, reduzindo a aceitabilidade em todos os atributos sensoriais que foram avaliados.

Ao comparar a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) com a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) percebe-se que não houve diferença significativa nos atributos aparência, aroma e cor, porém nos atributos sabor, textura e impressão global houve diferença significativa, indicando que a adição de microcápsulas de óleo de chia influenciou negativamente a aceitabilidade do produto.

A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) apresentou diferença significativa em relação ao sabor quando comparada a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) mostrando que o processo de microencapsulação do óleo de chia foi capaz de mascarar o sabor deste. Porém, em relação aos demais atributos avaliados não houve diferença significativa, mostrando que o processo de microencapsulação não mascarou os mesmos.

Tabela 7 – Médias dos atributos utilizados para avaliar a aceitabilidade do consumidor

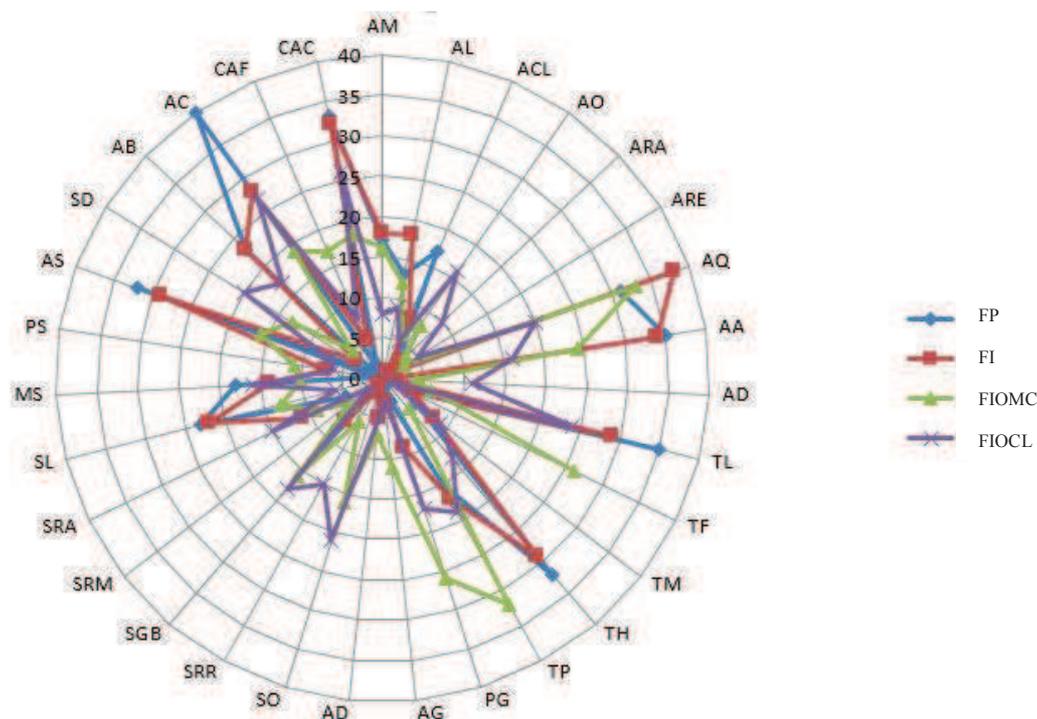
Atributos	FP	FI	FIOCL	FIOMC
Aparência	7,84±1,43 ^a	7,74±1,38 ^{ab}	6,90±2,13 ^b	6,56±1,51 ^b
Aroma	7,82±0,94 ^a	7,54±1,30 ^a	6,78±1,91 ^b	6,90±1,42 ^{ab}
Sabor	7,84±1,18 ^a	7,38±1,61 ^a	5,20±2,33 ^c	6,24±1,71 ^b
Textura	8,16±0,84 ^a	7,64±1,31 ^a	6,66±2,00 ^b	6,38±1,75 ^b
Cor	8,32±0,79 ^a	8,00±1,01 ^{ab}	7,54±1,67 ^b	7,44±1,31 ^b
Impressão global	8,06±0,84 ^a	7,56±1,16 ^a	6,06±1,91 ^b	6,60±1,46 ^b
IA	88,96	84,93	72,48	74,30

FP: formulação padrão, FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado. Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ao nível de 95% de confiança (média±dp). A análise estatística foi realizada comparando-se as linhas.

Para que o índice de aceitabilidade seja considerado bom deve ser considerado superior a 70% (DUTCOSKY, 1996), portanto todas as amostras apresentaram bom índice de aceitabilidade, mesmo havendo diferença significativa entre as amostras.

O questionário CATA tem como finalidade unir informações dos produtos em relação à percepção das características sensoriais do consumidor, podendo justificar os resultados de aceitabilidade obtidos. A Figura 5 apresenta as características de cada amostra de queijo processado em relação aos atributos mais e menos citados no teste CATA.

Figura 5: Distribuição da frequência atribuída aos julgadores aos atributos sensoriais do teste CATA para as diferentes formulações de queijo processado



FP: fórmulação padrão; FI: fórmulação adicionada de inulina; FIOCL: fórmulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: fórmulação adicionada de óleo de chia microencapsulado. AM: Aroma maturado; AL: Aroma de leite; ACL: Aroma de creme de leite; AO: Aroma de óleo; ARA: Aroma rançoso; AQ: Aroma de queijo; AA: Aroma agradável; AD: Aroma desagradável; TL: Textura lisa; TF: Textura muito firme; TM: Textura muito mole; TH: Textura homogênea; TP : Textura pastosa; PG: Presença de grânulos; AG: Aglomerado; SO: Sabor de óleo; SRR: Sabor residual de ranço; SGB: Sensação gordurosa na boca; SRA: Sabor residual amargo; SL : Sabor lácteo; MS: Muito salgado; PS: Pouco salgado; SA: Sabor agradável; SD: Sabor desagradável; AB: Aparência brilhosa; AC: Aparência cremosa; CAF: Cor amarelo fosco; CAC: Cor amarelo claro

Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

Os atributos citados com maior frequência nas quatro fórmulações de queijo processado foram aparência cremosa, cor amarelo claro e aroma de queijo. Na fórmulação padrão (FP) e na fórmulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI)

os atributos mais apontados foram aroma agradável, textura lisa, textura homogênea, sabor agradável, aroma de queijo, aparência cremosa e cor amarelo claro. Os atributos mais mencionados na formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) foram aroma de queijo, textura pastosa, presença de grânulos e textura muito firme. Os julgadores perceberam a adição das microcápsulas, porém a aceitabilidade da textura não foi afetada quando comparada a FIOMC com a FIOCL. Os atributos mais frequentes para a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) foram aparência cremosa e cor amarelo claro, textura lisa, sabor de óleo e sabor desagradável, o qual provavelmente provem do óleo de chia.

Os atributos sabor de óleo, sabor desagradável e sabor residual de ranço foram mais frequentes na amostra com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL), enquanto na amostra com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) estes atributos foram menos frequentes, portanto a microencapsulação do óleo de chia foi capaz de mascarar o sabor do mesmo. A adição do óleo de chia livre interfere no sabor do produto, diminuindo a aceitabilidade da amostra, pois a mesma apresentou diferença significativa no atributo sabor em relação as demais amostras.

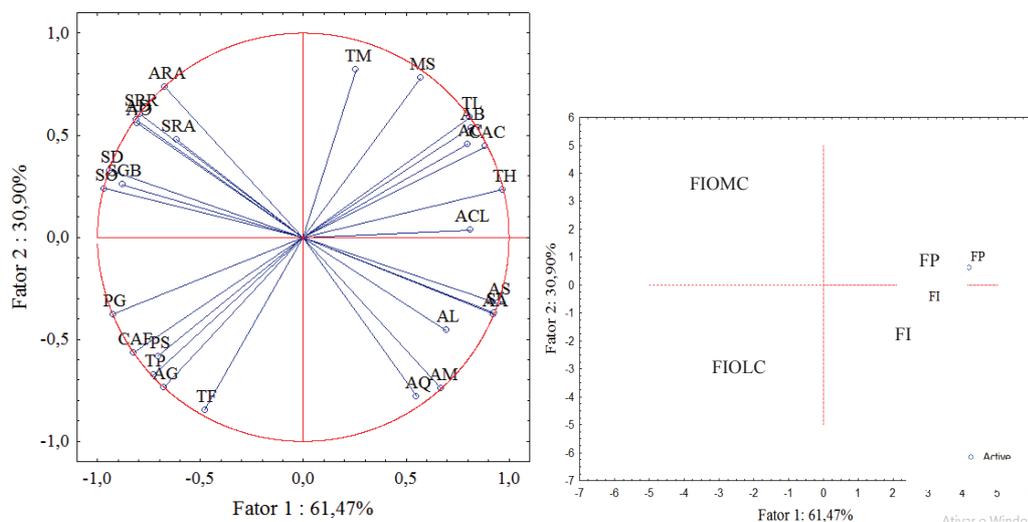
Nas quatro formulações de queijo processado, os atributos menos frequentes foram textura muito mole, aroma desagradável, aglomerado e aroma rançoso. Na formulação padrão e na formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina os atributos menos citados foram sabor desagradável, sabor residual de ranço, sabor de óleo e aroma de óleo, que são característicos do óleo de chia.

Na formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) os atributos menos mencionados foram textura muito firme e aglomerado, que são mais características mais frequentes na formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC), na qual os atributos menos apontados foram textura muito mole, aroma desagradável e aroma rançoso, que são atributos mais apontados na formulação com adição de óleo de chia livre (FIOCL), pois são aromas característicos do óleo de chia, mostrando que mesmo não havendo diferença significativa na aceitabilidade do atributo aroma, houve maior percepção de aromas característicos de óleo quando o mesmo não foi microencapsulado.

A Figura 6, apresenta o número de autovalores dos componentes das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos, na qual estão apresentados os atributos que melhor representam cada amostra. A formulação padrão (FP) de queijo processado foi representada pelos atributos aroma de creme de leite, textura homogênea, cor amarelo claro, aparência cremosa, aparência brilhosa, textura lisa, muito salgado e textura muito mole. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) foi representada pelos atributos sabor agradável, aroma agradável, aroma de leite, aroma maturado e aroma de queijo, características essas provenientes dos queijos Grana Padano e Mozzarella. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) foi representada pelos atributos sabor de óleo, sensação gordurosa na boca, sabor desagradável, sabor residual amargo, sabor residual de ranço, aroma de óleo, aroma rançoso. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) foi representada pelos atributos presença de grânulos, cor amarelo fosco, pouco salgado, textura pastosa, aglomerado, textura muito firme.

A formulação padrão (FP) se relaciona com a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) por estar no mesmo quadrante (Figura 6), sendo que as duas não tem a presença de óleo na composição. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) se relaciona com a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) por estarem no mesmo quadrante, pois as duas amostras apresentam óleo na formulação, mesmo tendo ocorrido diferença significativa na aceitabilidade do sabor entre ambas as amostras e o sabor relacionado ao sabor de óleo ter sido menos evidente na formulação com óleo microencapsulado.

Figura 6: Número de autovalores dos componentes das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos



FP: formulação padrão; FI: formulação adicionada de inulina; FIOCL: formulação adicionada de óleo de chia livre; FIOCM: formulação adicionada de óleo de chia microencapsulado. AM: Aroma maturado; AL: Aroma de leite; ACL: Aroma de creme de leite; AO: Aroma de óleo; ARA: Aroma rançoso; AQ: Aroma de queijo; AA: Aroma agradável; AD: Aroma desagradável; TL: Textura lisa; TF: Textura muito firme; TM: Textura muito mole; TH: Textura homogênea; TP : Textura pastosa; PG: Presença de grânulos; AG: Aglomerado; SO: Sabor de óleo; SRR: Sabor residual de ranço; SGB: Sensação gordurosa na boca; SRA: Sabor residual amargo; SL : Sabor lácteo; MS: Muito salgado; PS: Pouco salgado; SA: Sabor agradável; SD: Sabor desagradável; AB: Aparência brilhosa; AC: Aparência cremosa; CAF: Cor amarelo fosco; CAC: Cor amarelo claro

Fonte: elaborado pelo Autor (2019)

A formulação padrão (PF) e a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOCM) são mais bem representadas pelos atributos relacionados a cor, textura, aparência e teor de sal, enquanto a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) e a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) são mais representados pelos parâmetros relacionados ao sabor e aroma.

A metodologia CATA é utilizada como ferramenta para reunir informações sobre a percepção dos consumidores com relação às características sensoriais de produtos, podendo contribuir com melhorias no desenvolvimento de produtos (BRUZZONE et al., 2015).

Através da análise sensorial de aceitabilidade e CATA, percebe-se que é possível produzir queijo processado com redução de gordura sem afetar a aceitabilidade do produto e sem modificar significativamente as características do mesmo. Porém a

substituição parcial de creme de leite por inulina e microesferas de óleo de chia obtidas pelo processo de gelificação iônica interferiu nas características do produto em todos os atributos avaliados. No entanto, ao comparar a mesma com a formulação em que foi feita a substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre percebe-se que houve diferença significativa em relação ao sabor, além de ter sido menos perceptível o sabor desagradável e sabor residual de ranço no teste CATA, mostrando que a microencapsulação do óleo foi capaz de mascarar o sabor do mesmo, contudo ainda são necessários mais estudos afim de se desenvolver um queijo processado com adição de microesferas de óleo de chia com aceitabilidade e atributos mais semelhante à formulação padrão.

5 CONCLUSÃO

O processo de microencapsulação por gelificação iônica possibilitou a formação de microesferas de alginato de cálcio com óleo de chia. A microencapsulação do óleo de chia pelo método de gelificação iônica utilizando uma proporção óleo: alginato de 3:1 apresentou resultados satisfatórios de eficiência de encapsulação (94,37%) e de solubilidade, pois esta foi baixa (0,04% e 0,16% em 5 e 30 minutos de agitação em água), sendo ideal para aplicação em produtos com alto teor de umidade como o queijo processado.

As formulações de queijo processado desenvolvidas apresentam resultados de umidade e teor de matéria gorda no extrato seco em conformidade com a legislação brasileira, sendo a formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina considerada com redução de gordura, pois apresentou uma redução de 36,03% do teor de gorduras totais em relação a formulação padrão.

Na análise sensorial a formulação com adição de inulina (FI) não apresentou diferença significativa na aceitabilidade com relação a todos os atributos avaliados, portanto é possível produzir queijo processado com redução de 36% de gordura sem afetar a aceitabilidade do produto. A formulação com adição de microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) apresentou diferença significativa em relação a aceitabilidade do sabor em relação a amostra de queijo processado com adição de óleo livre (FIOCL), mostrando que o processo de microencapsulação é capaz de mascarar o sabor do óleo.

A formulação padrão (FP) de queijo processado foi representada por atributos como aroma de creme de leite, textura homogênea, aparência cremosa, aparência brilhosa e textura lisa. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e microcápsulas de óleo de chia (FIOMC) foi representada pelos atributos presença de grânulos, textura pastosa, aglomerado, textura muito firme. Ambas as formulações são mais bem representadas pelos atributos relacionados a textura e aparência. Os atributos presença de grânulos e aglomerados podem ser evitados fazendo-se ajustes no processo de microencapsulação para evitar que as microcápsulas formem aglomerem e formem grânulos, enquanto os atributos textura pastosa, textura muito firme podem ser corrigidos adicionando-se mais água ao queijo processado, uma vez que esta formulação inclui um óleo funcional com inúmeras propriedades de saúde.

A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina (FI) foi representada pelos atributos sabor e aroma agradáveis, aroma de leite, aroma maturado e aroma de queijo. A formulação com substituição parcial de creme de leite por inulina e óleo de chia livre (FIOCL) foi representada pelos atributos sabor de óleo, sensação gordurosa na boca, sabor desagradável, sabor residual amargo, sabor residual de ranço, aroma de óleo, aroma rançoso. As duas formulações são mais representados pelos parâmetros relacionados ao sabor e aroma. Ao avaliar os atributos que caracterizaram a FIOCL fica evidente que o sabor de óleo é bastante rejeitado pelos consumidores e ao comparar com a formulação com adição de óleo de chia microencapsulado (FIOMC) percebe-se que estes atributos não a caracterizam, portanto, como foi detectado também no teste sensorial de aceitabilidade, o processo de microencapsulação foi capaz de mascarar o sabor de óleo.

Diante disso, este estudo mostrou que o processo de microencapsulação apresentou bons resultados quanto à eficiência de microencapsulação e à solubilidade, porém são necessárias melhorias no processo afim de evitar que as microcápsulas formem aglomerados, para que as mesmas possam ser adicionadas ao produto sem interferir na textura e aparência do mesmo, considerando-se a funcionalidade que o óleo de chia agrega ao queijo processado. A presente pesquisa também comprovou que é possível realizar a redução de gordura além de tornar o queijo processado funcional através da substituição de creme de leite por inulina que apresenta função prebiótica no organismo, apresentando-se resultados satisfatórios do ponto de vista sensorial.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A. I.; RODRIGUES, M. Z.; RIBEIRO PINTO, M. R. M.; LAGO VANZELA, E. S.; STRINGHETA, P. C.; PERRONE, Í. T.; RAMOS, A. M. Morphological characterization of pequi extract microencapsulated through spray drying. **International Journal of Food Properties**, p. 1-8, 2017.
- BENAVIDES, S.; CORTÉS, P.; PARADA, J.; FRANCO, W. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food Chemistry**, v.204, p. 77–83, 2016.
- BEYKI, M.; ZHAVEH, S.; KHALILI, S. T.; RAHMANI-CHERATI, T.; ABOLLAHI, A.; BAYAT, M.; TABATABAEI, M.; MOHSENFAR, A. Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. **Industrial Crops and Products**, v.54, p. 310–319, 2014.
- CAMPO, C.; SANTOS, P. P.; COSTA, T. M. H.; PAESE, K.; GUTERRES, S. S.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as wall material: Characterization and stability evaluation. **Food Chemistry**, v. 234, p. 1–9, 2017.
- CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 5, n. 4, p. 420–428, 2005.
- CHAN, E. S.; WONG, S. L.; LEE, P. P.; LEE, J. S.; TI, T. B.; ZHANG, Z.; PONCELET, D.; RAVINDRA, P.; PHAN, S. H.; YIM, Z. H. Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium–alginate beads and the viability of encapsulated cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 225-232, 2011.
- CHEN, J.; DAVIS, S. S. The release of diazepam from poly (hydroxybutyrate-cohydroxyvalerate) microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v. 19, n. 2, p. 191-201, 2002.
- COMUNIAN, T. A.; ABBASPOURRAD, A.; TRINDADE, C. S. F.; WEITZ, D. A. Fabrication of solid lipid microcapsules containing ascorbic acid using a microfluidic technique. **Food Chemistry**, v. 152, p. 271–275, 2014.
- COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 442-457, 2016.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996.

EL-GHAFFAR, M. A. ABD.; HASHEM, M. S.; EL-AWADY, M. K.; RABIE, A. M. PH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 2, p. 667-675, 2012.

FERRÃO, L.L.; SILVA, E.B.; SILVA, H.L.A.; SILVA, R.; MOLLAKHALILI, N.; GRANATO, D.; FREITAS, M.Q.; SILVA, M.C.; RAICES, R.S.L.; PADILHA, M.C.; ZACARCHENCO, P.B.; BARBOSA, M.I.M.J.; MORTAZAVIAN, A.M.; CRUZ, A.G. Strategies to develop healthier processed cheeses: Reduction of sodium and fat contents and use of prebiotics. **Food Research International**. v. 86, p. 93-102, 2016.

HE, Y.; ZHANG, N.; GONG, Q.; QIU, H.; WANG, W.; LIU, Y.; GAO, J. Alginate/graphene oxide fibers with enhanced mechanical strength prepared by wet spinning. **Carbohydrate polymers**, v. 88, n. 3, p. 1100-1108, 2012.

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C, M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B.W.K.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 24 p. 166–174, 2011.

LEE, B. H. **Fundamentals of food biotechnology**. 2 edição, página 120, capítulo 1, editora: Wiley Blackwell, 2014.

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

MARONE, P. A. Food safety: marketing trends intended for consumer awareness and partnership. **Developing New Functional Food and Nutraceutical Products**. p. 85-108, 2017.

MARINELI, R. S.; LENQUISTE, S. A.; MORAES, E. A.; MARÓSTICA J. M. R. Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia hispanica* L.) in diet-induced obese rat. **Food Research International**. v. 76, p. 666-674, 2015.

MISCHOULON, D.; FREEMAN, M. P. Omega-3 Fatty Acids in Psychiatry. **Psychiatr Clin North Am**. v. 36, p. 15–23, 2013.

NASHIHAH, S.; MUN'IM, A.; SUTRIYO; SAPUTRI, F. C. Formulation and Characterization of Rice Bran Oil in Alginate Microcapsules. **J Young Pharm**, v.10, p. 37-40, 2018.

PAPAGEORGIOU, S. K.; KOUVELOU, E. P.; FAVVAS, E. P.; SAPALIDIS, A. A.; ROMANOS, G. E.; KATSAROS, F. K. Metal–carboxylate interactions in metal–alginate complexes studied with FTIR spectroscopy. **Carbohydrate research**, v. 345, n. 4, p. 469-473, 2010.

POUDYAL, H.; PANCHALD, S. K.; WAANDERSB, J.; WARDC, L.; BROWN, L. Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 23, p. 153–162, 2012.

REN, Y.; XIE, H.; LIU, X.; YANG, F.; YU, W.; MA, X. Tuning the formation and stability of microcapsules by environmental conditions and chitosan structure. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 9, p. 1090-1100, 2016.

RIZZO, A. M.; PRUSSI, M.; BETTUCCI, L.; LIBELLI, I. M.; CHIARAMONTI, D. Characterization of microalga Chlorella as a fuel and its thermogravimetric behavior. **Applied energy**, v. 102, p. 24-31, 2013.

SANTOS, J.C.O.; DOS SANTOS, I.M.G.; DE SOUZA, A.G.; PRASAD, S.; DOS SANTOS, A.V. Thermal Stability and Kinetic Study on Thermal Decomposition of Commercial Edible Oils by Thermogravimetry. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 4, p. 1393–1398, 2002.

SENHORINI, G. A.; ZAWADZKI, S. F.; FARAGO, P. V.; ZANIN, S. MW; MARQUES, F. A. Microparticles of poly (hydroxybutyrate- co- hydroxyvalerate) loaded with andiroba oil : Preparation and characterization. **Materials Science & Engineering C**, v. 32, n. 5, p. 1121–1126, 2012.

SHORI, A. B. The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods focusing on viability during storage. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 4, p. 423-431, 2015.

TIMILSENA, Y. P.; VONGSVIVUT, J.; TOBIN, M. J.; ADHIKARI, R.; BARROW, C.; ADHIKARI, B. Investigation of oil distribution in spray-dried chia seed oil microcapsules using synchrotron-FTIR microspectroscopy. **Food Chemistry**. v. 275, p. 457-466, 2019.

TUR, J.A.; BIBILONI, M. M. Functional Foods. **Encyclopedia of Food and Health**. p. 157–161, 2016.

ZOHAR-PEREZ, C.; CHET, I.; NUSSINOVITCH, A. Irregular textural features of dried alginate–filler beads. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 249-258, 2004.

ZUIDAM, N. J.; NEDOVIC, V. **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. New York, NY: Springer-Verlag New York, 2010

APÊNDICE B – Especificação técnica da mistura de sal fundente e espessante.



ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA

Produto	Cliente	Emissão	Revisão		Pág.
GLOBALSYSTEM REQ 7040	Univ. de Passo Fundo	18/06/2018	n°	Data	1/2
Código do cliente: REQ 7040-T07			0	18/06/2018	

REGISTROS	
Ministério da Saúde / ANVISA	Isento de Registro de acordo com a Resolução RDC nº27 de 06.08.2010.
Ministério da Agricultura	Dispensado de AUP de acordo com a Instrução Normativa nº 49 de 14/09/2006.

CARACTERÍSTICAS GERAIS	
Descrição	Mistura de estabilizantes e espessantes.
Aplicação	Queijos processados ou fundidos e creme de ricota*.
Composição	Proteínas lácteas; estabilizantes tetrapirofosfato de sódio, hexametáfosfato de sódio, tripolifosfato de sódio; espessantes alginato de sódio e carboximetilcelulose.
Aspecto / Cor	Pó de cor creme, sendo que pequenas variações na cor podem ocorrer devido à origem das matérias primas utilizadas.
Solubilidade	Hidrata parcialmente em água fria e dissolve completamente acima de 85°C.

*Utilizar de acordo com os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade e com a Legislação vigentes.

COMPOSIÇÃO	
Ingredientes	Concentração (%)
Proteínas lácteas	20 – 30
Tetrapirofosfato de sódio	20 – 30
Hexametáfosfato de sódio	15 – 20
Tripolifosfato de sódio	5 – 10
Alginato de sódio	10 – 15
Carboximetilcelulose	10 – 15

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Análises	Características / Valores
Energia	Máx. 124,0 Kcal/100g
Carboidrato	Máx. 12,0 %
Lactose	Máx. 2,0 %
Proteína	Máx. 16,0 %
Gordura	Máx. 1,3 %
Cinza	Máx. 70,5 %
Umidade	Máx. 7,5 %

Sódio

Máx. 23,0 %

Todas as referências tecnológicas estão de acordo com nosso melhor conhecimento. No entanto, é indispensável a elaboração de testes e a verificação das características de nossos produtos antes da sua efetiva utilização para determinar sua adaptação às condições tecnológicas individuais de cada empresa.

Rua: Alberto Sampaio, 45/47

Fone/Fax: (11) 55641100 / (11) 55641101

www.globalfood.com.br

Produto	Cliente	Emissão	Revisão		Pág.
GLOBALSYSTEM REQ 7040	Univ. de Passo Fundo	18/06/2018	n°	Data	2/2
Código do cliente: REQ 7040-T07			0	18/06/2018	

Status GMO	Não contém ingredientes transgênicos.
-------------------	---------------------------------------

Status Glúten	Não contém glúten.
----------------------	--------------------

PRESEÇA DE ALERGÊNICOS*

Trigo, centeio, aveia, amêndoas e pistache derivados	Crustáceos e derivados	Ovos e derivados	Peixes e derivados	Amendoim e derivados	Soja e derivados	Leite e derivados	Amêndoas e derivados	Avelãs e derivados	Castanha, castanholo, pinhão, castanha de caju e derivados	Macadâmia e derivados	Pistache e derivados	Nozes, Pecãs e derivados	Pinoli e derivados	Látex natural
não	não	não	não	não	não	sim	não	não	não	não	não	não	não	não

* Resolução RDC nº 26 de 02/07/2015-ANVISA

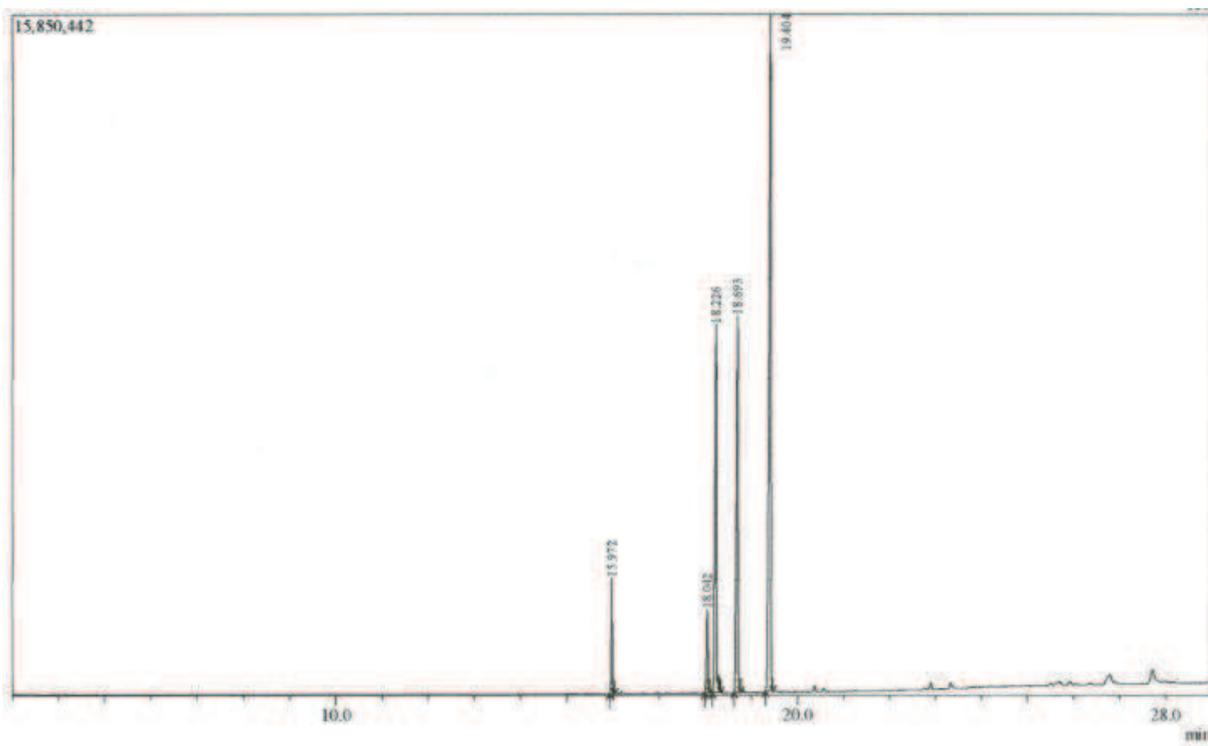
PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS

Análises	Valores
Contagem total	< 1,0 x 10 ⁴ UFC/g
Coliformes a 35°C	< 1,0 x 10 ² NMP/g
Coliformes a 45°C	< 3,0 NMP/g
<i>Salmonella sp</i>	Ausente em 25 g
Bolores e Leveduras	< 2,0 x 10 ³ UFC/g

EMBALAGEM	Saco Kraft branco revestido com polietileno contendo 25 kg. <i>Nota: Ajude o meio ambiente. Destine a embalagem vazia à reciclagem.</i>
ARMAZENAGEM	Local seco e fresco.
VALIDADE	06 (seis) meses na embalagem original fechada.

Todas as referências tecnológicas estão de acordo com nosso melhor conhecimento. No entanto é indispensável a elaboração de testes e a verificação das características de nossos produtos antes da sua efetiva utilização para determinar sua adaptação às condições tecnológicas individuais de cada empresa.

APÊNDICE C – Cromatograma do óleo de chia.



Name	R.Time	Peak#	Area	Area%
c16:0	15.972	1	4931060	4.79
c18:0	18.042	2	4659214	4.53
c18:1	18.226	3	22520706	21.89
c18:2	18.693	4	21589744	20.99
c18:3	19.404	5	49167200	47.80
			102867924	100.00

Ativ
Acess
ativar

APÊNDICE D -- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa sobre Aceitabilidade, Intenção de Compra e CATA (Termos que se Aplicam) de queijos processados adicionados de óleo de chia microencapsulado de responsabilidade da pesquisadora Luana Garbin Cardoso.

Esta pesquisa justifica-se pela busca dos consumidores por alimentos funcionais, que além de sua função nutricional proporcione benefícios à saúde, mantendo características sensoriais aceitáveis. Desta maneira, busca-se adicionar óleo de chia microencapsulado devido aos seus benefícios a saúde em função de sua composição rica em ômega-3 e ômega-6, além de compostos antioxidantes. Dentre os objetivos se encontra a avaliação da aceitação sensorial das melhores formulações.

Os queijos processados desenvolvidos não oferecem riscos ao consumidor, pois como uma etapa prévia a análise sensorial serão realizadas as análises microbiológicas estabelecidas pela Resolução-RDC Nº 12, de 02 de Janeiro de 2001, no anexo Regulamento Técnico Sobre Os Padrões Microbiológicos Para Alimentos (Coliformes a 45°C, Estafilococos coag. Pos./g) de modo a garantir a qualidade sanitária do produto. Os ingredientes dos queijos processados são: aparas de queijo grana padano, queijo Mozzarella, creme de leite, concentrado proteico de soro de leite, sal, água, sal de fusão, espessantes e nisina. Caso possua intolerância ou alergia ou qualquer outra reação adversa a qualquer um dos ingredientes você não poderá participar da pesquisa. A sua participação na pesquisa será em um encontro, junto ao laboratório de análise sensorial do CEPA na Universidade de Passo Fundo com duração aproximada de 15 minutos para cada julgador.

Se for identificado algum sinal de desconforto na sua participação na pesquisa, a pesquisadora compromete-se em orientá-lo (a) e encaminhá-lo (a) para os profissionais especializados na área.

Ao participar da pesquisa, você será informado sobre os benefícios do produto bem como, algumas sugestões de preparações de onde poderá utilizar o queijo processado. Você terá a garantia de receber esclarecimentos sobre qualquer dúvida relacionada à pesquisa e poderá ter acesso aos seus dados em qualquer etapa do estudo. Sua participação nessa pesquisa não é obrigatória e você pode desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento.

Os dados relacionados à sua identificação não serão divulgados. Os resultados da pesquisa serão divulgados, mas você terá a garantia do sigilo e da confidencialidade dos dados.

Caso você tenha dúvidas sobre o comportamento dos pesquisadores ou sobre as mudanças ocorridas na pesquisa que não constam no TCLE, e caso se considera prejudicado (a) na sua dignidade e autonomia, você pode entrar em contato com a pesquisadora Luana Garbin Cardoso e (54) 9 96224618, ou com o Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (54) 3316-8171, ou também pode consultar o Comitê de Ética em Pesquisa da UPF, pelo telefone (54) 3316 8157 no horário das 08h às 12h e das 13h30min às 17h30min, de segunda a sexta-feira.

Dessa forma, se você concorda em participar da pesquisa como consta nas explicações e orientações acima, coloque se nome no local indicado abaixo. Desde já, agradecemos a sua colaboração e solicitamos a sua assinatura de autorização neste termo, que será também assinado pelo pesquisador responsável em duas vias, sendo que uma ficará com você e outra com a pesquisadora.

Passo Fundo, 13 de dezembro de 2018.

Nome do (a) participante: _____

Assinatura: _____

Nome da pesquisadora: Luana Garbin Cardoso

Assinatura: _____

APÊNDICE E – - Aleatorização das amostras para a análise sensorial

Codificação	Amostra
A	Queijo processado padrão
B	Queijo processado com inulina
C	Queijo processado com Microcápsulas de óleo de chia
D	Queijo processado com Óleo de chia

Julgador	Aleatorização	A	B	C	D
1	ABCD	134	247	383	683
2	ABDC	296	382	516	455
3	ACBD	381	831	182	747
4	ACDB	452	453	258	517
5	ADBC	514	957	687	259
6	ADCB	685	515	454	384
7	BACD	749	686	746	840
8	BADC	837	745	839	957
9	BCAD	956	907	958	908
10	BCDA	182	217	194	219
11	BDAC	216	392	218	394
12	BDCA	391	463	393	465
13	CABD	462	525	464	527
14	CADB	524	696	526	698
15	CBAD	695	755	697	758
16	CBDA	754	896	756	898
17	CDAB	895	967	897	969
18	CDBA	966	912	968	913
19	DABC	121	227	123	229
20	DACB	226	303	228	305
21	DBAC	302	473	304	475

22	DBCA	472	535	474	537
23	DCAB	534	610	536	612
24	DCBA	606	766	611	768
25	ABCD	765	806	767	804
26	ABDC	805	977	825	979
27	ACBD	976	917	978	918
28	ACDB	132	237	134	239
29	ADBC	236	313	238	315
30	ADCB	312	483	314	485
31	BACD	482	545	484	547
32	BADC	544	620	546	622
33	BCAD	619	776	621	778
34	BCDA	795	815	734	817
35	BDAC	814	987	816	989
36	BDCA	986	923	985	643
37	CABD	146	252	148	254
38	CADB	251	323	253	325
39	CBAD	322	493	324	495
40	CBDA	492	565	494	567
41	CDAB	564	630	566	632
42	CDBA	629	786	631	782
43	DABC	785	825	787	827
44	DACB	824	997	826	953
45	DBAC	996	927	998	928
46	DBCA	163	272	165	274
47	DCAB	271	333	273	335
48	DCBA	332	405	334	407
49	ABCD	404	574	406	576
50	ABDC	573	639	575	640