

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CÂMPUS CAMPO MOURÃO - PARANÁ

MATEUS GONZALES DOMICIANO

**MICROENCÁPSULAÇÃO DE ÔMEGA 3 PARA APLICAÇÃO EM
*FROZEN YOGURT***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2015

MATEUS GONZALES DOMICIANO

**MICROENCÁPSULAÇÃO DE ÔMEGA 3 PARA APLICAÇÃO EM
*FROZEN YOGURT***

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos da Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Campo Mourão, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regiane da Silva Gonzalez.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a Maria Josiane Sereia

CAMPO MOURÃO

2015



TERMO DE APROVAÇÃO

MICROENCAPSULAÇÃO DE ÔMEGA 3 PARA APLICAÇÃO EM *FROZEN YOGURT*

POR

MATEUS GONZALES DOMICIANO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado em 07 de Julho de 2015 às 15:30 h como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi argüido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof^a. Dr^a. Regiane da Siva Gonzalez
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Tanatiana Ferreira Guelbert
Membro da banca

Prof. Dr^o. Augusto Tanamati
Membro da banca

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR *Campus* Campo Mourão.

À memória de meu tio Sebastião Domiciano. À meu pai José Domiciano e minha mãe Maria Regina Gonzales Domiciano, e à minhas irmãs Juliana Gonzales Domiciano e Aline Gonzales Domiciano que são as pessoas mais importantes da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo que tens feito em minha vida.

Ao meu pai senhor José Domiciano e minha mãe Maria Regina Gonzales Domiciano por toda paciência, apoio financeiro e incentivo. Os quais nunca me deixaram faltar nada e sempre se dedicaram para que tivesse oportunidade que eles não tiveram.

As minhas irmãs Juliana e Aline que me apoiaram desde o primeiro dia que passei no vestibular.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a Regiane Gonzalez da Silva, pelos quatro anos e meio de iniciação científica e o TCC, e a coorientadora Prof^a. Dr^a Maria Josiane Sereia. Muito obrigado pela atenção, dedicação e confiança durante esses anos de trabalho.

Aos colegas de pesquisa Jéssica, Renan, Karla, Leticia, Tamires. E a Heloisa (Helo) e Mário que me apoiaram no TCC.

Os técnicos do laboratório Marcos Vieira (Marquinhos) e Adriele Rodrigues dos Santos, tanto no apoio a pesquisa e TCC quanto na amizade desses anos.

À família de amigos: Mirian, Martha, Sérgio, e seus pais. Ao qual tivemos esta amizade ao longo da graduação, e que ela se estenda por toda vida.

À Andrea e sua família (AFS) pelo companheirismo e apoio, presentes nos últimos anos de minha graduação.

Ao Thomas (Champs) pela amizade ao longo da faculdade, que sempre me convidava para os cultos, ou então para um bom bate papo.

Aos amigos irmãos de sala Matheus (Tiozão), Juliana (Jú), Ketlyn (Kety), Rhayanna (Rhay), pessoas que convivi, estudei, sofri e ri muito em suas companhias.

Aos amigos que sempre sabiam se descontrair em Campo Mourão, Caio, Tiago Ferreira, Thiago Cinelli, Thiago Vinicius, Marcos Max (Frodo), Nathacha, Maísa, Christine (Chris), Leonardo, Wellington "Maidana", Vanderlei (Vandinho). E os assisenses Paula (Paulinha) e seu irmão Marcus (Jar-Jar).

As pessoas que me apoiaram e me ajudaram quando cheguei em Campo Mourão, Maia e Fran, Marcio Damasio (Marcin), Éverton, Felipe (Brother) e o Bruno. E o Primeiro Amigo de república Jorge Sanchez (Chileno).

E à Talita (Tah) pela sua paciência, que conviveu com a loucura entre estudar, passar no vestibular e a mudança para Campo Mourão, o meu muito obrigado.

Aos professores da Coordenação de Engenharia e Tecnologia de Alimentos que se dedicam a ensinar para que se formem excelentes profissionais, Engenheiros de Alimentos.

Agradeço também aos professores da banca examinadora, pelas sugestões que contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

À todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha graduação, o meu Muito Obrigado!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.”

Martin Luther King

RESUMO

DOMICIANO, M. G. **Microencapsulação de ômega 3 para aplicação em *frozen yogurt***. 2015. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

O ômega 3 é um ácido graxo poliinsaturado que quando consumido em doses recomendadas, apresenta diversos benefícios ao ser humano, entre eles a prevenção e o tratamento de doenças cardíacas. A aplicação de ômega 3 em alimentos já vem sendo utilizada em função da preocupação dos consumidores em adquirir alimentos mais saudáveis, em busca da melhor qualidade de vida. Neste trabalho foi produzido microcápsulas de albumina e colágeno reticuladas com íons de cálcio que atuaram como matrizes para a incorporação de ômega 3. As microcápsulas obtidas apresentaram tamanho médio de 10 a 113 μm , e foram capazes de evitar o sabor e odor desagradáveis. A adição de microcápsulas em *frozen yogurt* não modificou as características físicas, químicas e sensoriais do produto mostrando que esta técnica de encapsulação pode ser considerada uma boa oportunidade de negócio para a indústria de alimentos, principalmente para área de desenvolvimento de produtos naturais.

Palavras-Chave: Micelas; Ácido docosahexaenoico; Ácido eicosapentaenoico; Gelados comestíveis.

ABSTRACT

DOMICIANO, M. G. **Ômega 3 microencapsulation to apply in frozen yogurt.** 2015. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

The Omega 3 is a polyunsaturated fatty acid that, when consumed in recommended doses, has several benefits to humans, including preventing and treating cardiovascular diseases. The inclusion of Omega 3 in food has been happening for a while since consumers are increasingly opting for a healthy diet that enhances quality of life. In this work both albumin microcapsules and collagen cross-linked with calcium ions acted as matrices for the incorporation of Omega 3. The obtained microcapsules had average size of 10 to 113 μm and were capable of avoiding unpleasant taste and odor. The addition of microcapsules did not change the physical, chemical and sensory characteristics of frozen yogurt showing that this encapsulation technique may be considered a good business opportunity for the food industry, mainly for the area of development of the natural products.

Key words: Micelle; Docosahexaenoic acid; eicosapentaenoic acid; edible ice cream

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da síntese e preparo das micelas de albumina e colágeno.....	20
Figura 2 – Fluxograma da pré-ativação da cultura probiótica.....	21
Figura 3 – Fluxograma do preparo da base.....	22
Figura 4 - Etapa de congelamento do frozen yogurt com microcápsulas de ômega 3.....	23
Figura 5 - Fluxograma do preparo da calda	23
Figura 6 - Tubos de ensaio com LST, para pesquisa de coliformes a 35°C	25
Figura 7 - Microcápsulas de albumina e colágeno contendo ômega 3, microscopia realizada em objetiva de 40x.....	27
Figura 8 - Gráfico da curva de calibração	28
Figura 9 - Gráfico da curva de liberação de ômega 3.....	29
Figura 10 - Gráfico de derretimento das amostras com e sem Microcápsulas	31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 ÔMEGA 3.....	15
3.2 <i>FROZEN YOGURT</i>	16
3.3 MICROENCÁPSULAÇÃO	16
3.4 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	17
4 MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO	19
4.2 SÍNTESE E PREPARO DAS MICELAS DE ALBUMINA E COLÁGENO ...	19
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS	20
4.3.1 Análise microscópica.....	20
4.3.2 Análise da curva de calibração para o ômega 3.....	20
4.3.3 Cinética de liberação do ômega 3	21
4.4 ELABORAÇÃO DO <i>FROZEN YOGURT</i> COM ÔMEGA 3.....	21
4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	23
4.5.1 Análise de pH.....	24
4.5.2 Determinação de porcentagem de incorporação de ar (<i>overrun</i>).....	23
4.5.3 Análise de derretimento.....	23
4.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	25
4.7 ANÁLISE SENSORIAL.....	26
4.7.1 Análises Estatísticas dos Dados	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 SÍNTESE E PREPARO DAS MICELAS	27
5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS	27
5.2.1 Análise Microscópica.....	27
5.2.2 Análise Da curva de calibração para ômega 3	28
5.2.3 Cinética de liberação do ômega 3	28
5.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	28
5.3.1 Análise de pH.....	28

5.3.2 Determinação de porcentagem de incorporação de ar (<i>overrun</i>)	29
5.3.3 Análises de derretimento	29
5.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	30
5.4.1 Pesquisa de coliformes a 35 e a 45°C.....	30
5.5 ANÁLISE SENSORIAL	31
6 CONCLUSÃO	33
7 REFERÊNCIAS.....	34
ANEXO	40

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, 30 % das mortes são causadas por doenças cardíacas, principalmente por infarto e acidente vascular cerebral (AVC). Em média 60 % das vítimas são homens acima dos 56 anos, porém jovens entre 20 e 40 anos estão tendo mais problemas cardiovasculares, como infartos e representam em média 12 % do total, sendo que há dez anos, esse número não passava de 6 % (ANDRADE, 2013; PAVANELLO, 2008). Doenças cardiovasculares estão associadas principalmente ao alto consumo de gorduras saturadas, álcool e outros fatores de risco como peso acima do ideal. A boa notícia é que os fatores de riscos podem ser revertidos reduzindo o consumo de gorduras trans e ingerindo gorduras insaturadas (STIPP et al., 2007).

Entre os ácidos graxos poli-insaturados, está o ômega 3, que é constituído principalmente pelo ácido alfa-linolênico (ALA), o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA). Estes são considerados essenciais, pois o ser humano não consegue sintetizá-lo, sendo adquiridos por meio de alimentação (CORDIOLI, 2011).

O ômega 3 (EPA e DHA) pode ser obtido através de peixes como atum, anchova, salmão, sardinha e arenque. O seu consumo reduz o colesterol LDL (Low-density lipoprotein), beneficia a manutenção do ritmo cardíaco e também possui ação anti-inflamatória, além de ser usado em tratamentos de doenças cardíacas em geral. É considerado indispensável para o desenvolvimento do cérebro e retina de recém-nascidos. Em vegetais o ômega 3 (ALA) pode ser encontrado nos óleos de linhaça, canola, soja e colza; além das nozes e amêndoas. O ácido alfa linolênico estimula o sistema imunológico, por isso é utilizado em tratamentos de doenças de auto-imunidades como lúpus e eczema, e tem ação anti-inflamatória, também é utilizado em doenças ósseas e doenças psiquiátricas como depressão grave e psicose maníaco-depressiva (FAGUNDES, 2002; CARDOSO, OLIVEIRA, 2008). Ainda, segundo YAMASHITA, SARKIS (2011), previnem também alguns tipos de câncer, como o de mama, útero e ovário, além de diminuir sintomas da menopausa. Outro fator importante para este ácido graxo em particular é que na literatura não há relatos de compostos de ômega 3 que contenham efeitos tóxicos e/ou carcinogênicos citados (CORDIOLI, 2011).

Apesar de todas as vantagens que o consumo adequado de ômega 3 traz ao organismo humano a ingestão destes é considerada baixa nas dietas ocidentais uma vez que a necessidade diária está em torno de 1 a 2 gramas e o consumo em torno de 0,04 gramas. Além do custo dos alimentos ricos em ômega 3 o odor e o sabor desagradável são fatores que auxiliam o baixo consumo do mesmo (PERINI et al., 2010).

Uma forma de adicionar o ômega 3 em alimentos e/ou ingredientes e ao mesmo tempo mascarar a presença é através da microencapsulação. Este tipo de tecnologia é aplicada principalmente para empacotar nutrientes na forma líquida ou sólida, com capsulas extremamente pequenas compostas por finas coberturas de polímeros. A utilização das microcápsulas pode servir para evitar a transferência de ácidos gordos ou para evitar sua degradação gerada pela luz, umidade, oxigênio, pH extremo e também por ingredientes reativos. Ainda, evita aglomerados e reduz a higroscopicidade além de aumentar a uniformidade, pode transformar líquido em sólido controlando a velocidade de liberação, e mascarar sabores e odores, tornando-se em uma fonte de nutrientes com propriedades únicas (ARSHADY, 1993; UBBINK, KRÜGER, 2006; RODRIGUES et al., 2011; REBELLO, 2009).

Quando o ômega 3 é adicionado corretamente em um alimento, chamamos este de Alimento funcional. Alimento funcional é definido como qualquer alimento ou ingrediente alimentar que pode fornecer benefício para a saúde além dos nutrientes tradicionais que ele contém. Estes são capazes de produzir efeitos metabólicos ou fisiológicos desejáveis a uma boa saúde, podendo atuar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas. Podem ser citados como componentes com ação funcional os ácidos graxos como o ômega 3, os prebióticos, probióticos, polifenóis e os carotenóides (GAVA, SILVA, FRIAS, 2008; MILNER, 1999).

No mercado atual é possível encontrar alimentos enriquecidos com ômega 3, com apelo funcional, como leite, ovo, azeites, carnes, queijos, entre outros produtos enriquecidos com diferentes porções desse ácido. Entre os alimentos enriquecidos com ômega 3, o ovo é o produto mais disponível, visto que a ração fornecida aos frangos é enriquecida com este ácido graxo. Dessa mesma maneira se enriquece também com ômega 3 a carne de aves, carne de porco e o leite de vaca (SILVA, JUNIOR, SOARES, 2007; VALENZUELA, SANHUEZA, NIETO, 2000; GONZALEZ, 2002).

Também é possível encontrar sobremesas enriquecidas com ômega 3 em locais de comercialização de produtos naturais. Segundo Gon (2014), micelas de albumina e colágeno aplicadas em yogurt frozen são capazes de proteger um ingrediente funcional. Obtendo ainda um produto com características físicas, químicas e sensoriais adequadas a de um “Gelado Comestível”, mostrando que o *frozen yogurt* pode ser considerado uma boa opção de produto para o mercado.

Com base no descrito acima, comprova-se o vasto campo de pesquisa para desenvolvimento de produtos funcionais. Neste sentido a microencapsulação de ômega 3 para aplicação em *frozen yogurt* apresenta uma alternativa ao consumo de ômega 3. Entretanto, uma vez que o *frozen yogurt* é uma gelado comestível agradável ao paladar propõe-se o seguinte desafio: é possível microencapsular ômega 3 e inserir no frozen sem a percepção do consumidor?

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem por como objetivo microencapsular ômega 3 derivado de peixe, através de micelas constituídas de albumina e colágeno, para aplicação em *frozen yogurt* funcional.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtenção das microcápsulas de albumina e colágeno contendo ômega 3;
- Caracterização do tamanho das microcápsulas;
- Obter a curva de calibração do ômega 3;
- Realizar a cinética de liberação do ômega 3;
- Obtenção de *frozen yogurt*;
- Análises físico-químicas (Análise de pH, determinação de porcentagem de incorporação de ar “*overrun*” e análise de derretimento da formulação;
- Análises microbiológica;
- Análise sensorial do produto *frozen yogurt*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ÔMEGA 3

As primeiras análises sobre o metabolismo dos ácidos graxos ômega 3 surgiram na década de 70, a partir de um estudo da doença coronariana. Observou-se que os esquimós da Groenlândia, apesar do alto consumo de dietas ricas em gorduras com elevados teores de colesterol e baixa ingestão de carboidratos, apresentam baixos níveis de colesterol total, triglicéride e lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), e níveis maiores de lipoproteínas de alta densidade (HDL), o que pode ser relacionados aos menores índices de doenças cardiovasculares, ateroscleroses, artrite, hipertensão e trombose. Os Esquimós também apresentam baixa incidência de asma, psoríase e doenças autoimune (CUKIER et al., 1997; DAVIS et al., 1987).

O ômega 3 é um tipo de gordura poliinsaturada encontrada principalmente em peixes marinhos de água fria e em algumas sementes de plantas. O ácido alfa linolênico (ALA), que pertence e dá origem ao Omega 3, permite a formação de dois importantes ácidos graxos de cadeia longa: o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA) (MARTINS et al., 2008; FAGUNDES, 2002).

O EPA possui ação anti-inflamatória, atuando na produção de substâncias anti-inflamatórias chamadas prostaglandinas E (PEIXOTO et al., 2001). Apresenta também, benefícios para a saúde do coração e circulação já que, além de ser anti-inflamatório, também diminui a agregação plaquetária, reduzindo a formação de coágulos que podem causar trombose e derrame cerebral (AVC). Também ajuda nos sintomas ou doenças de caráter inflamatório como celulite, obesidade e artrite reumatoide (ZAMBOM, SANTOS, MODESTO, 2004).

O DHA é considerado como ótimo alimento para o cérebro, já que mais da metade deste órgão é composto por gorduras. Em benefícios, está envolvido com diversos processos cognitivos, como o funcionamento da memória e da correta sinalização entre os neurônios. Também impede a formação de substâncias deletérias para o cérebro e aumenta a produção de substâncias anti-inflamatórias e neuroprotetoras, tendo um efeito protetor contra doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson e Esclerose Lateral Amiotrófica. Este tipo de ácido graxo

ômega 3 tem papel importante no desenvolvimento fetal e faz parte da retina dos olhos (WOODCOCK et al., 1984; ANJO, 2004).

3.2 FROZEN YOGURT

O *Frozen yogurt* como é chamado, é um sorvete de iogurte, sendo um produto diferente dos demais sorvetes já que há uma fermentação prévia de tal forma que, pela ação dos microrganismos, parte dos açúcares são transformados em ácido láctico. Uma vez finalizada esta fermentação, se procede à adição do restante dos ingredientes, o batimento, e o congelamento, resultando em um produto de consistência cremosa, suave e agradável ao paladar (GONÇALVES, EBERLE, 2008).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2005) classifica o *frozen yogurt* como um gelado comestível e o define como produto obtido basicamente de leite, submetido à fermentação láctea através da ação de bactérias probióticas ou a partir de iogurte com ou sem adição de outras substâncias alimentícias, sendo posteriormente aerado e congelado.

O *frozen yogurt* pode ser considerado uma alternativa saudável ao sorvete para as pessoas que sofrem com obesidade, doenças cardiovasculares e intolerância à lactose, em decorrência do seu baixo conteúdo de gordura (o percentual de gordura em um sorvete de iogurte padrão varia de 3,5 a 6 %) e reduzido teor de lactose, o qual depende estritamente do tipo e duração da fermentação. Além disso, o *frozen yogurt* apresenta maior vida de prateleira quando comparado ao iogurte (CORTE, 2008; PEREIRA et al., 2012).

3.3 MICROENCAPSULAÇÃO

Segundo Arshady (1993), a microencapsulação é uma tecnologia conhecida e sua aplicação se dá principalmente no empacotamento de pequenas partículas de nutrientes, na forma sólida ou líquida, com cápsulas extremamente reduzidas formadas por finas coberturas poliméricas. Estas podem liberar seu conteúdo sob velocidade e condições específicas de acordo com o efeito desejado, representando uma solução para as várias limitações no emprego de ingredientes, suprimindo ou atenuando sabores indesejáveis. É empregada para reduzir a volatilidade e a

reatividade de alguns nutrientes, aumentando a sua estabilidade principalmente em presença de luz, oxigênio e pH variáveis (TODD, 1970).

Diversas partículas podem ser “empacotadas”, como: pigmentos, compostos de sabor, nutrientes, enzimas, conservantes, acidulantes, entre outras, em cápsulas comestíveis (KAREL & LANGER, 1998). O material a ser encapsulado, é chamado de recheio ou núcleo, e o material que forma a cápsula, encapsulante, cobertura ou parede (GIBBS, 1999).

A encapsulação podem ser classificadas em 3 categorias, de acordo com Baker (1986): macro ($>5000 \mu\text{m}$), micro ($0,2-5000 \mu\text{m}$) e nanocápsulas ($<0,2 \mu\text{m}$). Em termos de arquitetura, as cápsulas podem ser divididas em dois grupos: aquelas nas quais o núcleo é nitidamente concentrado na região central, circundado por um filme definido e contínuo do material de parede, e aquelas nas quais o núcleo é uniformemente disperso em uma matriz.

A encapsulação do ômega 3 se encontra na faixa de $0,2-5000 \mu\text{m}$, classificando-a como micro. Seu principal objetivo é minimizar efeitos oxidativos, o que atualmente pode ser realizado através das técnicas de utilização de agentes antioxidantes ou da microencapsulação. Diversos materiais são descritos na literatura para formação de microcápsulas dentre os quais se destacam: os carboidratos, as proteínas, as gomas e alguns lipídios (DELLAMORA-ORTIZ, CARVALHO E FREITAS, 2009).

3.4 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Nas últimas décadas tem-se atribuído aos alimentos, além das funções de nutrição e de prover apelo sensorial, uma terceira função relacionada à resposta fisiológica específica produzida por alguns alimentos, que são chamados de alimentos funcionais. Estes alimentos podem prevenir, curar ou auxiliar na recuperação de determinadas doenças (ZERAİK et al., 2010).

O termo “Alimento Funcional” faz parte de uma recente concepção de alimentos, lançada no Japão na década de 80. Por meio de um programa de governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava grande expectativa de vida (ANJO, 2004).

O alimento pode ser considerado como funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo, além de

possuir efeitos nutricionais adequados, de maneira que seja tanto relevante para o bem estar e a saúde quanto para a redução do risco de certa doença. Além disso, não são considerados medicamentos, pois os princípios responsáveis pelos efeitos benéficos não são extraídos do alimento (ROBERFROID, 2002; SANDERS, 1998).

Segundo a ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (1999), alimento funcional é definido como "aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido, como parte da dieta habitual, produz efeitos benéficos à saúde".

No Brasil já existem vários alimentos funcionais no mercado como: (i) iogurtes com probióticos que melhoram a saúde intestinal, (ii) leites enriquecidos com ferro (que ajuda na prevenção e no tratamento da anemia), com vitaminas e com o ácido ômega-3 (que ajuda no controle do colesterol), (iii) bem como ovos e margarinas enriquecidos também com ômega 3. Recentemente a água mineral ingressou no mercado das bebidas funcionais, oferecendo águas que contêm alta concentração de vitaminas C e vitaminas do complexo B, a fim de fortalecer o sistema imunológico, ou que contêm a fibra FOS (frutooligossacarídeo) e que prometem contribuir para a prevenção dos cânceres de mama e de cólon, podendo reduzir os riscos de doenças cardiovasculares, além de regular o intestino (RAUD 2008; OLIVEIRA et al, 2002).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

Este trabalho foi realizado nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) câmpus Campo Mourão.

4.2 SÍNTESE E PREPARO DAS MICELAS DE ALBUMINA E COLÁGENO

A obtenção das micelas de albumina e colágeno foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Rodrigues (2014), com algumas modificações. Através da Figura 1 pode-se visualizar o fluxograma da síntese e preparo das micelas de albumina e colágeno, conforme descrito com mais detalhe abaixo.

Para o preparo das micelas inicialmente foram preparadas soluções aquosa de colágeno 20 %, e albumina 10 %. Para o preparo da solução de colágeno, foi adicionado o colágeno em água mantida sob constante aquecimento (80° C) e agitação utilizando chapa de aquecimento (DiagTech DT3120H). A solução de albumina foi dissolvida em água destilada, mantida a temperatura ambiente, afim de evitar possíveis alterações em sua características.

Após as duas soluções prontas, esperou-se 20 minutos para a solução de colágeno estabilizar sua temperatura com a temperatura ambiente, e então foi realizado a mistura das duas soluções utilizando agitação mecânica (Fisatom, Mod. 713D) com uma velocidade de 470 rpm, por aproximadamente 10 minutos até sua completa miscibilidade. Em seguida foram adicionados 4,5 gramas de Tween 80, mantendo a agitação por mais 5 minutos. Após este tempo, adicionou-se 21 gramas de óleo de peixe contendo 35% de DHA e EPA, ômega 3 (All Chemistry), mantendo agitação, por mais 5 min.

Logo após foram adicionados 450 mL de água destilada gelada com temperatura de 1 °C, com intenção de formar emulsão de albumina e colágeno dispersa em meio aquoso, prosseguindo com a agitação por mais 5 minutos. Em seguida foram adicionados 100 mL de solução de cloreto de cálcio (10 % m/v), para reticulação do colágeno e albumina, mantendo agitação constante. Neste momento

foi adicionado ácido clorídrico (HCl) a solução até pH=4,5, sob agitação constante e, por fim foi adicionado 80 mL de isopropanol.

Terminado os 5 minutos de agitação após a adição do isopropanol, a solução foi centrifugada a fim de retirar o álcool e separar as microcápsulas de albumina e colágeno com ω 3. Após a retirada do álcool repetiu-se por mais três vezes a centrifugação das microcápsulas que foram lavadas com água destilada, e armazenadas em geladeira a 5 °C.

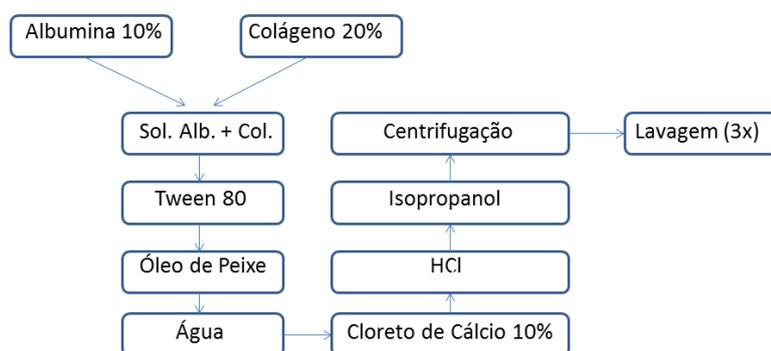


Figura 1: Fluxograma da síntese e preparo das micelas de albumina e colágeno.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS

4.3.1 Análise microscópica

Foi realizada através da caracterização da imagem das microcápsulas utilizando um microscópio óptico (BIOVAL, modelo L2000A), com câmera acoplada ao computador (DCM130E), com o intuito de avaliar a estrutura polimérica micelar formada. As medidas dos diâmetros das microcápsulas foram obtidas através do programa Image Tool.

4.3.2 Análise da curva de calibração para o ω 3

Foram preparadas 4 soluções de ω 3 em hexano a partir da diluição de uma solução 1×10^{-3} mL de ω 3. As soluções diluídas resultantes de

concentrações $6,66 \times 10^{-3}$, $4,44 \times 10^{-3}$ e $2,96 \times 10^{-3}$ mL foram utilizadas para preparar uma curva de calibração através da leitura da absorção máxima da substância em 232nm, utilizando-se o espectrofotômetro (PG, Modelo T80+ UV/VIS).

4.3.3 Cinética de liberação do ômega 3

Foi realizada a cinética de liberação do ômega 3 adicionando-se 0,26 g de microcápsulas, em uma cubeta contendo 3 mL de hexano a qual foi então levada ao espectrofotômetro para detecção da absorção máxima de ômega 3. O valor de máxima absorção foi então convertido em concentração através da curva de calibração obtida anteriormente. A cinética de liberação do ômega 3 foi realizada em duplicata.

4.4 ELABORAÇÃO DO *FROZEN YOGURT* COM ÔMEGA 3

Duas formulações foram elaboradas de acordo com o método proposto por Oliveira, Sereia, Oliveira (2012), com modificações. À primeira formulação aplicou-se as microcápsulas, e na segunda formulação como controle não ocorreu adição de microesferas.

O preparo das formulações constituiu-se por três etapas:

1) Pré-ativação da cultura probiótica – foi realizada a partir da dissolução asseptica de uma alíquota de 5 g de cultura de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* em 1 L de leite desnatado UHT e incubada em estufa por 12 horas a 40 °C, conforme fluxograma na Figura 2.

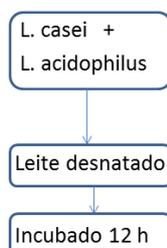


Figura 2: Fluxograma da pré-ativação da cultura probiótica.

2) Preparo da base – utilizando um liquidificador industrial, foram homogeneizados em 2 L de leite desnatado UHT os ingredientes sólidos: 5 % de leite em pó desnatado, 1 % de soro em pó, 1 % de espessante, 1 % de amido de milho modificado (Gemacon) e 10 % de açúcar. Em seguida, a mistura sofreu tratamento térmico em banho-maria até atingir 90 °C por 10 minutos, e então posteriormente, sofreu o resfriamento até chegar a 36 °C para adição de 2 % da cultura probiótica pré-ativada, sendo em seguida, incubada em estufa a 36 °C por 12 horas. Conforme fluxograma na Figura 3.

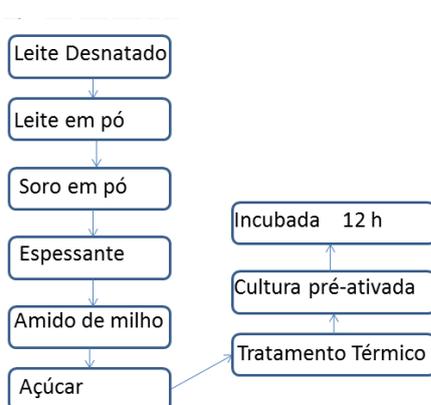


Figura 3: Fluxograma do preparo da base.

3) Preparo da calda - utilizando o liquidificador industrial homogeneizou-se por 10 minutos os 2 L da base fermentada, obtida anteriormente, com 5 % de xarope de glicose, 5 % de leite em pó, 1 % de soro de leite em pó e 1% de emulsificante. Por último, a mistura foi congelada em sorveteira vertical (Fort Frio) á -20 °C onde ocorreu a adição de microcápsulas com ômega 3 (Figura 4). As amostras foram acondicionadas em potes plásticos com tampa, identificadas e armazenadas em congelador a -20 °C, afim de serem submetidos a análises físico-químicas, microbiológicas e sensorial. Conforme fluxograma na Figura 5.



Figura 4: Etapa de congelamento do *frozen yogurt* com microcápsulas de ômega 3.

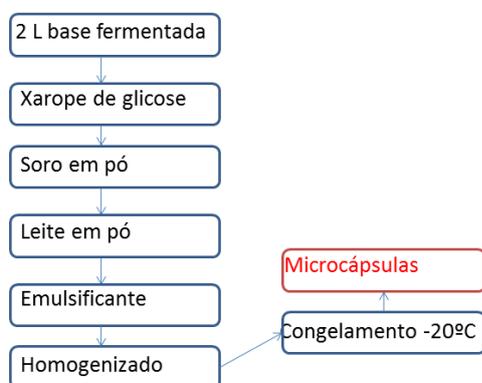


Figura 5: Fluxograma do preparo da calda.

4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

O produto *frozen yogurt* obtido foi caracterizado através das seguintes análises físico-químicas.

4.5.1 Análise do pH

O pH foi determinado seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008), por meio do método potenciométrico. Com 10 g das amostras dissolvidas em 100 mL de água destilada, foi realizada a análise utilizando um pHmetro (MS tecnopon Equip. Especiais Ltda, modelo mPA-210) previamente calibrado, sendo realizado em duplicata.

4.5.2 Determinação de porcentagem de incorporação de ar (*overrun*)

A determinação do *overrun*, que é a porcentagem de incorporação de ar sofrida durante processo de congelamento da calda de frozen, foi realizada a partir da determinação dos volumes de uma certa massa de frozen antes e após o descongelamento. Utilizando a Equação 1, onde os volumes inicial e final foram medidos em provetas conforme metodologia descrita por Mosquim (1999), pode-se determinar o *overrun*.

$$\%Overrun = \frac{(\text{Volume final do frozen} - \text{Volume inicial da calda})}{\text{Volume inicial da calda}} \times 100 \quad (1)$$

4.5.3 Análise de derretimento

O teste de derretimento foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Rechsteiner (2009). Duas amostras de frozen de 50 mL foram congeladas por aproximadamente 60 minutos em freezer vertical, em seguida, transferiu-se este volume para uma tela de malha metálica de abertura 0,5 cm. Registrou-se o volume de frozen drenado a cada 5 minutos, mantido a temperatura ambiente do laboratório entre $30 \pm 1^\circ\text{C}$, sem circulação de ar.

A partir dos dados obtidos foram construídos gráficos do volume derretido em função do tempo, no qual pode-se obter por meio de regressão linear o tempo inicial de derretimento. O teste foi realizado em duplicata.

4.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

4.6.1 Pesquisa de coliformes a 35 °C e a 45 °C

A análise microbiológica de pesquisa de coliformes a 35 °C e a 45 °C foi realizada segundo a Instrução Normativa de 62 (MAPA, 2003).

Utilizando o teste de número mais provável (NMP) em caldo lauril sulfato triptose (LST), foi realizada a pesquisa de coliformes a 35 °C, diluindo 25 g de frozen em 225 mL de água peptonada tamponada 0,1 %, obtendo diluição 10^{-1} . As preparações das diluições decimais subsequentes foram realizadas em tubos contendo 9 mL do mesmo diluente até 1/1000, com um tubo de Durhan invertido. Assim, foram incubados em estufa bacteriológica a 35-36 °C por 48 horas (Figura 6).

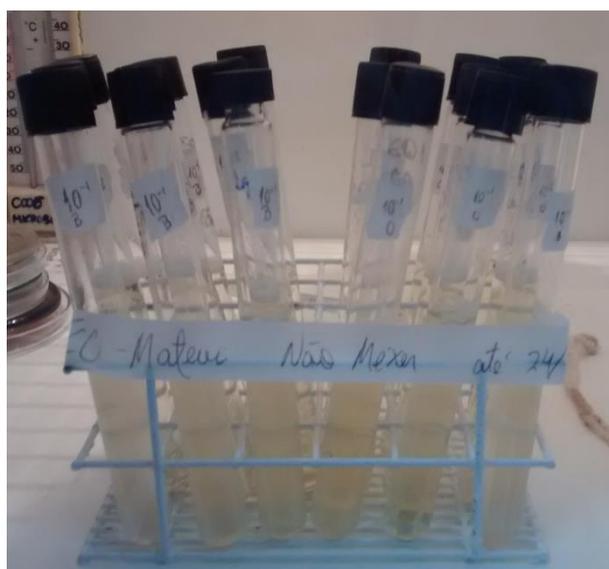


Figura 6: Tubos de ensaio com LST, para pesquisa de coliformes a 35°C.

A prova confirmativa para coliformes a 45 °C foi realizada pela inoculação em caldo EC, em temperatura seletiva de $45 \pm 0,2$ °C a partir dos tubos positivos obtidos na prova presuntiva, onde a presença de gás nos tubos de Durhan evidencia a fermentação da lactose presente no meio.

4.7 ANÁLISE SENSORIAL

Para análise sensorial de comparação do produto, o trabalho foi submetido ao Conselho Nacional de Saúde e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, intitulado como: Desenvolvimento de Frozens Funcionais Linha Clean Label, e com o número do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 02027012.3.0000.0092 (ANEXO A).

As análises sensoriais ocorreram no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos, onde foi realizada após o terceiro dia de fabricação dos frozens. Onde foi aplicado o teste duo-trio com 60 provadores não treinados e recrutados no próprio câmpus da universidade para verificar a existência ou não de diferença significativa entre as amostras estudadas (DUTCOSKI, 2011), sendo elas o frozen com e sem adição de microesferas contendo omega 3.

Para efetuar a análise sensorial cada provador recebeu 20 g de cada amostra em copos plásticos descartáveis codificados com números aleatórios de três dígitos, acompanhados de uma colher descartável, um copo com água potável e as fichas para respostas (ANEXO B).

4.7.1 Análises Estatísticas dos Dados

Os dados obtido na análise sensorial foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si ao nível de 5 % de probabilidade de erro, analisados pelo programa Statistica (Statsoft) versão 8.0 segundo Granato, et al. (2010).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE E PREPARO DAS MICELAS

As micelas obtidas demonstraram consistência viscosa de coloração branca opaca, composta por microcápsulas de albumina e colágeno, no qual o ômega 3 foi microencapsulado.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS

5.2.1 Análise Microscópica

A formação das microcápsulas de albumina e colágeno obtidas por microemulsificação seguida de reticulação por íons cálcio, foi comprovada por meio da análise das imagens obtidas por microscopia óptica (Figura 7).

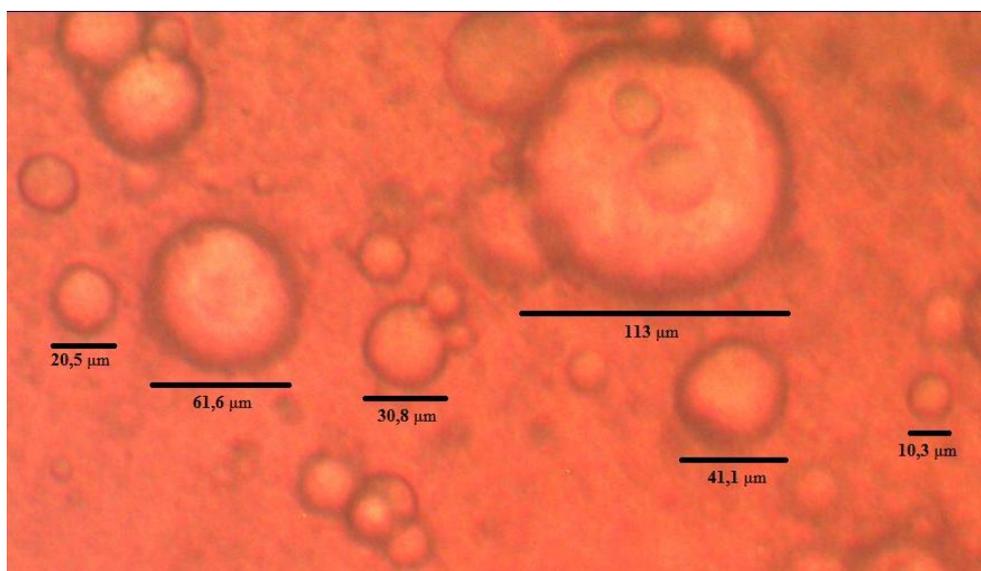


Figura 7: Microcápsulas de albumina e colágeno contendo ômega 3, microscopia realizada em objetiva de 40x.

O tamanho das micelas obtidas estava entre 10 e 113 µm. Estes valores obtidos são desejáveis, uma vez que, quanto maior a quantidade de micelas com

tamanhos inferiores a 100 μm menor será sua percepção na análise sensorial (RODRIGUES, MORAES, SILVA, 2012)

A variação de tamanho está associada ao método de agitação utilizado, onde a baixa rotação não foi suficiente para impedir que as micelas obtidas se agregassem (SHAW, 1975).

5.2.2 Análise das curvas de calibração para ômega 3

A curva de calibração do ômega 3 foi obtida usando o método de Pacheco & Regitano-D'arce (2009), com alterações. Através de dados coletados no espectrofotometro a 232 nm, tendo como padrão o próprio ômega 3 diluído em hexano foi construído o gráfico (Figura 8) de mg/ml de ômega 3 em função da absorbância.

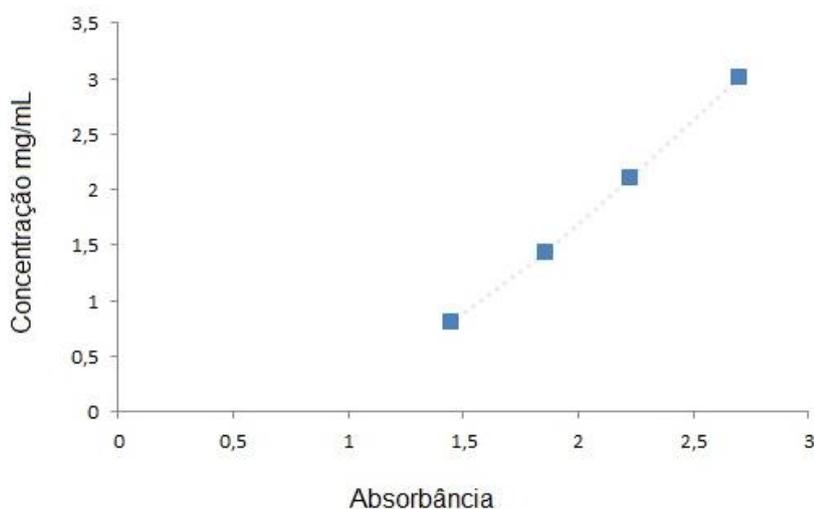


Figura 8: Gráfico da curva de calibração.

5.2.3 Cinética de liberação do ômega 3

Após realizar a análise em espectrofotômetro a 232 nm, foi obtido a curva de liberação de ômega 3, conforme Figura 9, que apresenta a curva de liberação de ômega 3 mostrando que as microcápsulas contendo ômega 3 foram capazes de liberar 1,52 mg/mL de ômega 3 em apenas 10 minutos, e após 60 minutos foi capaz de liberar 2,73 mg/mL de ômega 3. A análise foi realizada em duplicada obtendo os mesmo valores.

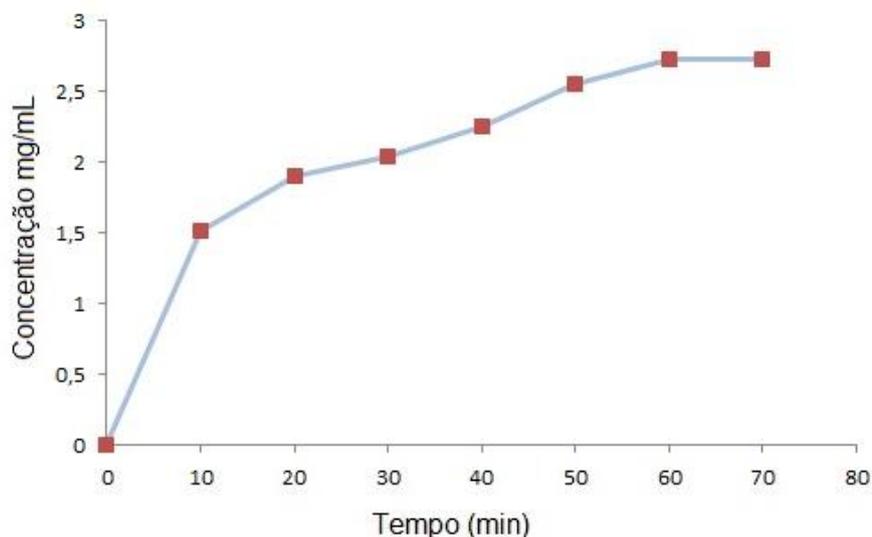


Figura 9: Gráfico da curva de liberação de ômega 3.

5.3 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

5.3.1 Análise de pH

O frozen sem microcápsulas apresentou valor de pH de 3,83, e o mesmo valor na repetição, enquanto o frozen contendo microcápsulas apresentou os valores de 3,86 e 3,92. Pante (2014) em seu trabalho obteve resultados de pH sem diferença significativa, onde comparava *frozen yogurt* com polpa de amora-preta integral a *frozen yogurt* com polpa de amora-preta encapsulada com maltodextrina. Em outro trabalho, Ferreira (2011) desenvolveu *frozen yogurt* saborizado com polpa de cajá-manga obtendo um valor de pH de 4,47.

Na literatura e em trabalhos não há uma concordância entre os autores, sobre a faixa de pH ideal que o *frozen yogurt* deve atingir ao final da incubação. Porém, em trabalhos já divulgados os valores de pH estão entre 3,7 e 4,6, onde são considerados mais próximos do ideal, uma vez que fora dessa faixa de pH o frozen pode se apresentar excessivamente amargo ou ácido (MARTIM, 2002).

5.3.2 Determinação de porcentagem de incorporação de ar (*overrun*)

O *overrun*, quantidade de ar incorporado na massa, das formulações adicionadas com microcápsulas foi de 28,46 % e a formulação sem microcápsulas 29,21 %. Estes resultados estão acima do valor mínimo, 20 % estabelecido pela legislação (ANVISA, 2005).

Pante (2014) encontrou resultados próximos aos citados, entre 27,90 % a 29,07 %, ao avaliar a aplicação de amora preta em *frozen yogurt*. Oliveira (2014) observou em frozens adicionados de mirtilo resultados de 29,89 % a 29,07 %.

5.3.3 Análise de derretimento

A Figura 10 apresenta o gráfico com os dados obtidos do derretimento, mostrando o volume versus o tempo das duas amostras analisadas, com microcápsulas e sem microcápsulas. Foi observado que o frozen contendo microcápsulas teve maior resistência ao derretimento quando comparado com o frozen sem microcápsulas, este fenômeno ocorre principalmente entre o intervalo de tempos de 10 a 70 minutos. Outro fator importante, é o tempo inicial de derretimento, para o frozen sem microcápsulas o derretimento ocorre nos primeiros 5 minutos de análise, enquanto no frozen com microcápsulas esse tempo é de 10 minutos.

Em seu trabalho, Oliveira (2014) observou menor resistência ao derretimento do frozen, em comparação com frozen adicionado de corantes encapsulados, demonstrando diferença de aproximadamente 15 %, obtidos entre 10,46 e 12,08 minutos, respectivamente.

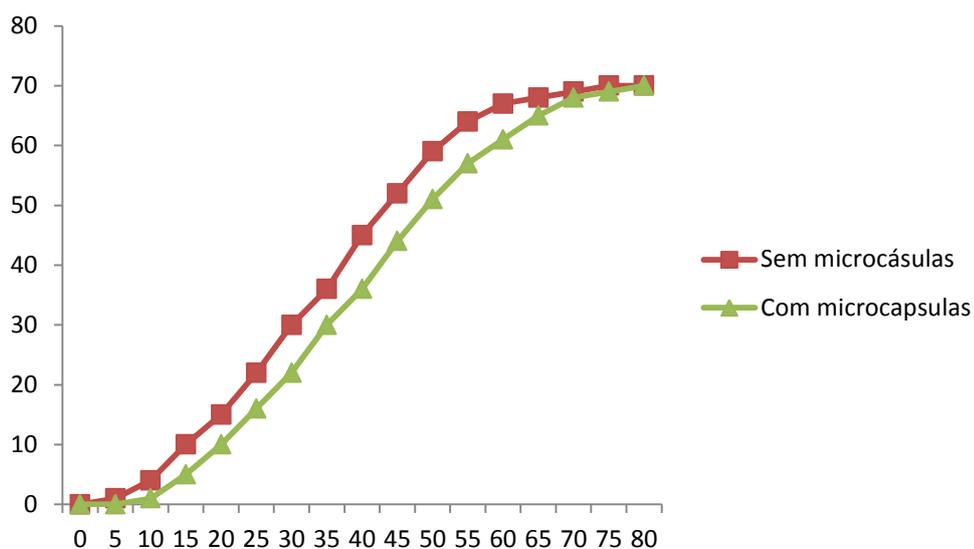


Figura 10: Gráfico de derretimento das amostras com e sem microcápsulas.

5.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

5.4.1 Pesquisa de coliformes a 35 e a 45 °C

A análise microbiológica, pesquisa de coliformes a 35 °C e a 45 °C, para as duas formulações apresentaram resultados $<3,0$ NMP/g, onde segundo a Resolução RDC nº 12 da ANVISA (2001), estabelece que o valor máximo 5×10 NMP/g para coliformes 45 °C, termotolerantes. Resultados importantes que avaliam as condições higiênico-sanitárias dos *frozen yogurt*, demonstrando que todas as formulações atenderam aos padrões estabelecidos, não representando riscos ao consumidor e tornando segura a análise sensorial.

5.5 ANÁLISE SENSORIAL

De acordo com a tabela para o teste duo-trio (Anexo C) a amostra não apresentou diferença significativa da amostra padrão ao nível de 5 % de probabilidade.

O número mínimo de acertos da amostra correta para se detectar diferença significativa é considerado de 37 acertos. Realizando o Teste Duo-Trio com 60 julgadores, 32 avaliaram as amostras de forma correta.

Segundo Dutcosky (2011) o teste Duo-Trio é um método discriminativo, e tem sido utilizado em estudos para determinar se existem diferenças notáveis entre os alimentos, quando os seus ingredientes, processamento, embalagem, ou armazenamento são de algum modo alterado.

6 CONCLUSÃO

As micelas formadas a partir de albumina e colágeno foram capazes de manter o ômega 3 microencapsulado no *frozen yogurt* sem serem perceptíveis na análise sensorial, uma vez que o ômega 3 puro apresenta sabor e odor desagradáveis ao paladar. Com o resultado foi possível obter assim, um produto “gelado comestível” sem modificar as características químicas, físicas e sensoriais, tornando a técnica de microencapsulação uma boa oportunidade para a indústria de alimentos aplicar ômega 3.

As micelas apresentaram tamanhos em sua grande proporção, menores que 100 μm sendo imperceptíveis na análise sensorial, e ainda foram capazes de liberar o ômega 3 encapsulado, demonstrando que a cada 0,26 gramas de micelas, continham 2,73 mg de ômega 3. Na análise de pH, foi possível analisar que adicionando as micelas com ômega 3, o pH tem uma pequena elevação, porém não afeta ao ponto de ser perceptível ao paladar. Para a análise de derretimento, *overrun*, o *frozen* com microcápsulas demonstrou ser mais resistente ao derretimento, começando a derreter após 10 minutos de seu contato com temperatura ambiente. E com análise sensorial observou-se que não há diferença significativa ao nível de 5 % de probabilidade.

Sugestões para trabalhos futuros:

- Realizar análise de liberação de ômega 3 no organismo humano;
- Realizar análise de perfil dos ácidos graxo poliinsaturado presente;
- Realizar análise quantitativa dos ácidos graxo poliinsaturado;
- Realizar análise sensorial de teste de aceitação.

7 REFERÊNCIAS

ANDRADE, J. P.; MATTOS, L. A. P.; CARVALHO, A. C.; MACHADO, C. A.; OLIVEIRA, G. M. M. Programa nacional de qualificação de médicos na prevenção e atenção integral às doenças cardiovasculares. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. v. 100 n. 3, São Paulo. 2013.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**. v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

ANVISA - Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº. 18, de 30 de abril de 1999**. Regulamento Técnico das diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos, constante do anexo desta portaria. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 03 de maio de 1999.

ANVISA - Agência nacional de vigilância sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. 2001.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 266 de 22 de setembro de 2005**. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de gelados comestíveis e, preparados para gelados comestíveis. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, 2005.

ARSHADY, R. Microcapsules for food. **Journal of Microencapsulation**. London, v. 10, n. 4, p. 413-435, jul. 1993.

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

CARDOSO, A. L.; OLIVEIRA, G. G. Alimentos Funcionais. Nutri Jr, Florianópolis, jun. de 2008. Disponível em: <http://www.nutrijr.ufsc.br/jornal/jornal_eletronico_06-08.pdf>. Acessado em: 02 jun. 2008.

CORDIOLI, A. V. **Psicofármacos**: Consulta Rápida. Porto Alegre: Artmed, 2011.

CORTE, F. F. D. **Desenvolvimento de Frozen Yogurt com Propriedades Funcionais**. Pró-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da universidade Federal de Santa Maria; Santa Maria-RS, 2008.

CUKIER, C.; WAITZBERG, D. L.; SOARES, S. R.; LOGULLO, A. F.; BACCHI, C. E.; TRAVASSOS, V. H. Efeitos da nutrição parenteral total contendo diferentes emulsões lipídicas sobre a fagocitose de macrófagos de ratos. **Revista Hospital das Clínicas Faculdade de Medicina de São Paulo**. v52, p.239-245, 1997.

DAVIS, H. R.; BRIDENSTINE, R. T.; VESSELINOVITCH, D.; WISSLER, R. W. Fish oil inhibits development of atherosclerosis in rhesus monkeys. **Arteriosclerosis**. v.7, n.5, p.441-449, 1987.

DELLAMORA-ORTIZ, G.; CARVALHO, L. M. J.; FREITAS, O. **Microencapsulação de Óleo de Peixe Utilizando Goma Arábica/Maltodextrina e o Complexo Caseína-Pectina/Maltodextrina**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Unversidade Federal do Rio de Janeiro.

DUTCOSKI, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 3ª ed., Curitiba: Champagnat, 2011.

FAGUNDES, L. A. **Ômega-3 & Ômega-6: O equilíbrio dos ácidos gordurosos essenciais na prevenção de doenças**. Porto Alegre: Age, 2002.

FERREIRA, A. G. L. **Caracterização Físico-Química de Frozen Yogurt Sabor Cajá-Manga**. 38f. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso. Química Industrial. Universidade Estadual de Goiás. Anápolis 2011.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: Princípios e aplicação**. São Paulo: Nobel, 2008.

GIBBS, B.F. Encapsulation in the food industry: a review. **Revista Food Science Nutrition**. v.50, p.213-224, 1999.

GON, R. L. R. **Aplicação e Viabilidade de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* E *S. thermophilus* Microencapsulados em Frozen Yogurt de Soja**. 2014. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

GONÇALVES, A. A.; EBERLE, I. R. Frozen yogurt com bactérias probióticas. **Revista Alimentos e Nutrição**. Araraquara v.19, n.3, p. 291-297, 2008.

GONZALEZ, M. I. C. **Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes**. Caracas: Interciencia, 2002.

GRANATO, D.; RIBEIRO, J. C. B.; CASTRO, I. A.; MASSON, M. L. Sensory evaluation and physicochemical optimization of soy-bases desserts using response surface methodology. **Food Chemistry**, v.121, p. 899-906, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KAREL, M.; LANGER, R. **Controlled release of food additives**. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. Flavor encapsulation. Washington, DC: ACS, 1998. p.29-36.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (Dispoa). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, que aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. 2003.

MARTIM, A. F. **Armazenamento do iogurte Comercial e o Efeito na Proporção das Bactérias Lácticas**. 2002. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia 36 de Alimentos), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. São Paulo.

MARTINS, M. B.; SUAIDEN, A. S.; PIOTTO, R. F.; BARBOSA, M. Propriedades dos ácidos graxos poliinsaturados – Omega 3 obtidos de óleo de peixe e óleo de linhaça. **Revista Ciência e Saúde**. v.26, n.2, p.153-156, 2008.

MILNER, J. A. Functional Foods and Health Promotion. **The journal of nutrition**. Bethesda, v. 129, n. 7, p. 1395-1397, jul. 1999.

MOSQUIM, M. C. A. **Fabricando sorvetes com qualidade**. São Paulo: Fonte Comunicações, 1999.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** vol. 38, n. 1, 2002.

OLIVEIRA, R. R.; SEREIA, M. J.; OLIVEIRA, T. P.; AZEVEDO, A. S. Aspectos físico-químicos e sensoriais de *frozens yogurt* elaborados com culturas probióticas e diferentes proporções de mel. In: SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS, 4. 2012. **Anais**. Campo Mourão: UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2012. 1 CD-ROM

OLIVEIRA, T. P. **Mirtilo: caracterização e aplicação da polpa e da fruta em pó em frozen yogurt funcional linha clean label**. 2014. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

PACHECO, S. G. A.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Estabilidade oxidativa de óleo de peixe encapsulado em diferentes tipos de embalagem em condição ambiente. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.29 n.4, 2009.

PANTE, G. C. **Desenvolvimento, encapsulação e caracterização da polpa integral de amora-preta (*Rubus sp.*) aplicada em frozen yogurt**. 52 f. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso. Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão. 2014.

PAVANELLO, Ricardo. **O aumento do infarto agudo do miocárdio em jovens, São Paulo**, jul. de 2009. Disponível em: <<http://www.hcor.com.br/imagens/Arquivos/OAumentodoInfartodoMiocardioemJovens.pdf>>. Acessado em 02 jul. 2014.

PEIXOTO, C. H.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F. P.; BORCHARDT, G.; JUNKES, S. **Utilização de dois análogos sintéticos da prostaglandina F₂α (Dinoprost e Cloprostenol) pela via submucosa vulvar na indução de partos em suínos**. In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, Porto Alegre, 2001. Anais, p. 191-192.

PEREIRA, G. G.; RAFAEL, L. M.; GAJO, A. A.; RAMOS, T. M.; PINTO, S. M.; RESENDE, J. V.; ABREU, L. R. **Influência do pH nas características físico-químicas e sensoriais de frozen yogurt de morango**. Seminário: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, n. 2, p. 675-686, abr. 2012.

PERINI, J. A. L.; STEVANATO, F. B.; SARG, S. C.; VISENTAINER J. E. L.; DALALIO, M. M. O.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Revista Nutrição**. v.23, n.6, 2010.

RAUD, C. **Os alimentos funcionais: a nova fronteira da indústria alimentar análise das estratégias da danone e da nestlé no mercado brasileiro de iogurtes.** Rev. Sociol. Polít., Curitiba, v. 16, n. 31, p. 85-100, 2008.

REBELLO, F. F. P. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Revista Agrogeoambiental.** Pouso Alegre, v. 1, n. 3, p. 134-144, dez. 2009.

RECHSTEINER, M. S. **Desenvolvimento de amidos fosfatados de batata-doce e mandioca e aplicação como substitutos de gordura em sorvetes.** 2009. 152 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

ROBERFROID, M. B. **Functional food concept and its application to prebiotics.** Digest Liver Dis n.34: p.105-110, 2002.

RODRIGUES, L. M. **Aplicação da vitamina C encapsulada em microesferas de albumina e colágeno em frozen yogurt funcional.** 2014. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

RODRIGUES, L. M.; MORAES, T.; SILVA, R. da **Liberção de anti-inflamatórios e Vitamina C a partir de microesferas de hidrogéis de albumina e colágeno.** In: IV SIMTEA - Simpósio de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão: SIMTEA, 2012.

RODRIGUES, R. A. F.; RODRIGUES, M. V. N.; OLIVEIRA, T. I. V.; BUENO, C. Z.; SOUZA, I. M. O.; SARTORATTO, A.; FOGLIO, M. A. Docosahexaenoic acid ethyl ester (DHAEE) microcapsule production by spray-drying: optimization by experimental design. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v. 31, n. 3, Set. 2011.

SANDERS, M.E. **Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria.** Int. Dairy J., Amsterdam, v.8, p.341-347, 1998

SHAW, D. J. **Introdução à química dos colóides e de superfícies.** São Paulo: E. Blucher: Ed. Da USP, 1975.

SILVA, D. R. B.; JUNIOR, P. F. M.; SOARES, E. A. A importância dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa na gestação e lactação. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil.** Recife, vol.7, n.2, p. 123-133, jun. 2007.

STIPP, M. A. C.; LEITE, J. L.; CUNHA, N. M.; ASSIS, L. S.; ANDRADE, M. P.; SIMÕES, R. D. O consumo do álcool e as doenças cardiovasculares – Uma análise sob o olhar da enfermagem. **Revista Enfermagem**. v. 11, n. 4, p. 581 -585, 2007.

TODD, R. D. **Microencapsulation and flavour industry**. Flavour Industry, London, v. 1, n.11, p. 768-771, 1970.

UBBINK, J.; KRÜGER, J. Physical approaches for the delivery of active ingredients in foods. **Trends in Food Science & Technology**. Switzerland v. 17, n. 5, p. 244-254, out. 2006.

VALENZUELA B. A.; SANHUEZA C. J.; NIETO K. S. Acidos grasos omega-3 de cadena larga en la nutrición humana y animal: un modelo de alimentos funcionales. **Revista chilena de nutrición**. Santiago, v. 27, n. 3, p. 345-351, dez. 2000.

ZAMBOM, M. A.; SANTOS, G. T.; MODESTO, E. C. Importância das gorduras poliinsaturadas da saúde humana. *Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia*. v. 7, p.553-557, 2004.

ZERAIK, M. L.; PEREIRA, C. A. M.; ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H. **Maracujá: um alimento funcional?**. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.3 n.20, p. 459-471, 2010.

YAMASHITA, C.; SARKIS, K. S. **Alimentação Saudável: a sua importância na qualidade de vida e na prevenção de doenças**. Rio de Janeiro: Elsevir, 2011.

WOODCOCK, B. E.; SMITH, E.; LAMBERT, W. H. Beneficial effect of fish oil on blood viscosity in peripheral vascular disease. **Br Med J**. v. 5 p. 594-595. 1984.

ANEXO

ANEXO A: Termo de consentimento livre e esclarecido na forma de convite para os provadores no teste de aceitação.

“Estudo sensorial de *frozen yogurt* funcional com ômega 3.”

Prezado (a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa “ESTUDO SENSORIAL DE *FROZEN YOGURT* FUNCIONAL COM ÔMEGA 3”, do meu trabalho de conclusão de curso de graduação junto com a Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Campo Mourão. O objetivo da pesquisa é realizar uma avaliação sensorial de *frozen yogurt* funcional com adição de ômega 3 microencapsulado. A sua participação é muito importante e você participará como integrante de uma equipe que irá degustar amostras de *frozen yogurt* funcional com ômega 3 e será solicitado a dar sua opinião sobre o quanto o produto é parecido com o outro. Os *frozen yogurt* funcionais foram preparados de forma similar aos normais, com adição de omega 3 encapsulado em microesferas no final da formulação. A análise sensorial levará em torno de 15 minutos, e você poderá fazê-la no horário que tiver maior disponibilidade. A ingestão de tal produto não trará nenhum risco à sua saúde por se tratar de um alimento seguro. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é voluntária, podendo recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo pessoal. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Os benefícios esperados são informação para a continuação de um estudo do *frozen yogurt* funcional sendo realizada por um grupo de pesquisa da UTFPR. Informamos que você não pagará nem será remunerado por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na pesquisa. Caso dúvidas ou necessite de esclarecimentos pode nos contatar (Prof^a. Dr^a Regiane da Silva Gonzalez,

COLIQ/UTFPR, regiane@utfpr.edu.br, (44) 9841527; Profª. Drª. Maria Josiane Sereia, COEAL/UTFPR, josiane@utfpr.edu.br, (44) 3518-1400), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro Integrado de Ensino Superior da Faculdade Integrado de Campo Mourão - CIES, ou no telefone (44)3518-2500. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Campo Mourão, ____ de _____ de 2015.

Pesquisador Responsável: Mateus Gonzales Domiciano

RG: 40.745.981-9

_____ (nome por extenso do **sujeito de pesquisa**), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____

ANEXO B: Ficha de avaliação para Teste Duo-Trio da análise sensorial.

Amostra: *Frozen Yogurt* **Julgador:** _____

Data: __/__/__

Você está recebendo uma amostra padrão (P) e duas amostras codificadas. Uma das amostras codificadas é igual ao padrão, faça um círculo nesta amostra.

Comentários: _____

ANEXO C: Número mínimo de respostas corretas para estabelecer diferença significativa entre as amostras, em vários níveis de significância.

Nº total de julgamentos	Níveis de probabilidade (α)						
	5%	4%	3%	2%	1%	0,5%	0,1%
7	7	7	7	7	7	-	-
8	7	7	8	8	8	8	-
9	8	8	8	8	9	9	-
10	9	9	9	9	10	10	10
11	9	9	10	10	10	11	11
12	10	10	10	10	11	11	12
13	10	11	11	11	12	12	13
14	11	11	11	12	12	13	13
15	12	12	12	12	13	13	14
16	12	12	13	13	14	14	15
17	13	13	13	14	14	15	16
18	13	14	14	14	15	15	16
19	14	14	15	15	15	16	17
20	15	15	15	16	16	17	18
21	15	15	16	16	17	17	18
22	16	16	16	17	17	18	19
23	16	17	17	17	18	19	20
24	17	17	18	18	19	19	20
25	18	18	18	19	19	20	21
26	18	18	19	19	20	20	22
27	19	19	19	20	20	21	22
28	19	20	20	20	21	22	23
29	20	20	21	21	22	22	24
30	20	21	21	22	22	23	24
31	21	21	22	22	23	24	25
32	22	22	22	23	24	24	26
33	22	23	23	23	24	25	26
34	23	23	23	24	25	25	27
35	23	24	24	25	25	26	27
36	24	24	25	25	26	27	28
37	24	25	25	26	26	27	29
38	25	25	26	26	27	28	29
39	26	26	26	27	28	28	30
40	26	27	27	27	28	29	30
41	27	27	27	28	29	30	31
42	27	28	28	29	29	30	32
43	28	28	29	29	30	31	32
44	28	29	29	30	31	31	33
45	29	29	30	30	31	32	34
46	30	30	30	31	32	33	34
47	30	30	31	31	32	33	35
48	31	31	31	32	33	34	36
50	32	32	33	34	34	35	37
60	37	38	38	39	40	41	43
70	43	43	44	45	46	47	49
80	48	49	49	50	51	52	55
90	54	54	55	56	57	58	61
100	59	60	60	61	63	64	66

Fonte: ABNT, NBR 13169, 1994.