

SHIRLEY MADLENER DE SOUZA GLERIANI

**ELABORAÇÃO DE FITA ATIVA DE ACETATO DE CELULOSE
INCORPORADA COM ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

Gleriani, Shirley Madlener de Souza, 1968-

G558e Elaboração de fita ativa de acetato de celulose incorporada
2016 com ácido graxo ômega-3 / Shirley Madlener de Souza Gleriani.
 - Viçosa, MG, 2016.
 x, 28f. : il. ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Nélio José de Andrade.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.22-25.

1. Alimentos - Processamento. 2. Ácidos graxos Ômega-3.
3. Acetato de celulose. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de
Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22 ed. 664.07

SHIRLEY MADLENER DE SOUZA GLERIANI

**ELABORAÇÃO DE FITA ATIVA DE ACETATO DE CELULOSE
INCORPORADA COM ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

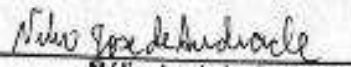
APROVADA: 29 de julho de 2016.



Eber Antônio Alves Medeiros
(Coorientador)



Patrícia Érica Fernandes



Nélio José de Andrade
(Orientador)

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”

Cora Coralina

*“Eu sou aquela mulher
a quem o tempo muito ensinou.
Ensinou a amar a vida
e não desistir da luta,
recomeçar na derrota,
renunciar a palavras
e pensamentos negativos.
Acreditar nos valores humanos
e ser otimista”.*

Cora Coralina

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus que me permitiu e ajudou a chegar até aqui.

A todos os professores do curso, que foram tão importantes durante o mestrado.

À professora Dra. Ana Clarissa dos Santos Pires que sempre que solicitada nunca poupou esforços para em ajudar nessa dissertação.

À professora Dra. Ana Vlória Bandeira Moreira que mesmo no final e em pouco tempo de relacionamento foi dedicada, amorosa e fez o melhor por mim sempre.

Ao Samuel Goulart que sempre com muita gentileza e prontidão me atendeu, sem ele meus cromatogramas não existiriam....

Ao Professor Daniel Henrique Breda Binoti que foi gentil, pronto em me ajudar em minhas estatísticas.

Agradeço em especial ao Prof. Dr. Nélio José de Andrade e ao Prof. Dr. Eber Medeiros, que além de meus orientadores foram meus amigos e parceiros, me entendendo e apoiando em todo período do mestrado, onde passei por profundos desafios pessoais e onde sempre encontrei apoio, respeito, compreensão e estímulo.

A todos os meus amigos e amigas que me deram força e amor em todo esse período do mestrado frente às minhas necessidades pessoais. Aos colegas queridos do Laboratório de Embalagem da UFV. Obrigada Profa. Dra. Nilda Ferreira Soares pela oportunidade, respeito e carinho sempre.

Às amigas em especial que me ajudaram no decorrer do experimento no Laboratório de Embalagens da UFV, Daniela Leocádio e Mariana Leles Lamas, pelos seus conhecimentos e carinho.

E agradeço aos que sem eles eu não teria chegado até aqui. Meu pai e minha mãe que infelizmente não estão mais aqui para compartilhar dessa vitória, e que os deixariam muito felizes e orgulhosos, que nunca mediram esforços para que minha formação desde o primário, fosse exemplar, a melhor. Sempre me ensinaram que o estudo, o conhecimento, a honra, a honestidade e a fé em Deus são os principais alicerces de nosso caráter.

Ao meu esposo que jamais poderia ter chegado até aqui, sem o seu apoio, respeito, companheirismo, parceria e esforços sem medida.

A todos os demais que fizeram parte dessa caminhada.

Deus abençoe a todos. Eterna gratidão!

BIOGRAFIA

SHIRLEY MADLENER DE SOUZA GLERIANI, filha de Evandro Ávila de Souza e Hannelore Madlener de Souza, nasceu em Niterói, estado de Rio de Janeiro, em 20 de Outubro de 1968.

Em julho de 1987, iniciou o Curso de Graduação em Nutrição na Universidade Federal Fluminense, graduando-se em julho de 1991.

Em março de 1999, iniciou a Especialização: Gestão da Qualidade em Alimentos Indústria e Serviços na Universidade São Judas em São Paulo, concluindo-o em dezembro de 2000.

Em agosto de 2013 iniciou Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em julho de 2016.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	2
2.1. Objetivo Geral.....	2
2.2. Objetivos Específicos.....	2
3. REVISÃO DE LITERATURA	2
3.1. Filme Ativo	2
3.2. Acetato celulose	3
3.3. ÔMEGA-3	4
3.3.1. Composição nutricional	4
3.3.2. Benefícios funcionais e prevenção e /ou melhoria na evolução de doenças	6
3.3.3. Recomendações diárias de ômega-3.....	7
3.4. Iogurte.....	8
4. MATERIAL E MÉTODOS	9
4.1. Produção do filme de acetato de celulose incorporado com ômega 3...9	
4.1.1. Filme com acetato de celulose adicionado de ômega-3 e Tween 80 10	
4.1.2. Filme com acetato de celulose adicionado de ômega-3 e glicerol....	10
4.2. Avaliação microbiológica do filme acetato incorporado com ômega 3.	10
4.3. Determinação dos Ácidos Graxos	11
4.3.1. Extração	11
4.3.2. Esterificação.....	11
4.4. Aplicação da fita ativa no iogurte	11
4.5. Análise de cromatografia gasosa.....	12

4.6.	Quantificação da difusão do ômega-3	12
4.7.	Avaliação Sensorial	13
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
5.1.	Filme de acetato de celulose por “cast” com Ômega 3.....	13
5.2.	Teste do halo do filme acetato incorporado com ômega-3	15
5.3.	Teste de resistência e integridade da fita ativa	16
5.4.	Quantificação da difusão do ômega-3	16
5.5.	Avaliação sensorial.....	20
6.	CONCLUSÕES	21
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
	APÊNDICE I.....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Separação da solução filmogênica com ômega-3 (1,75 g).....	14
Figura 2. Filmes ativos de acetato de celulose incorporados com ômega-3: (a)1,00 g (b) 1,25 g (c) 1,50 g.	15
Figura 3. Crescimento de micro-organismos para os filmes ativos de acetato celulose incorporados com ômega-3.	16
Figura 4. Integridade da fita ativa (a) controle (b) 1,00 (c) 1,25 (d) 1,50 g.	16
Figura 5. Perfil de ácidos graxos no filme com ômega-3 sem adição de glicerol.	17
Figura 6. Filme com ômega 3 (1,25 g) + glicerol 10%.	18
Figura 7. Teste de aceitação do iogurte morango enriquecido com ômega-3, por meio da fita ativa.....	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ácidos graxos [$\mu\text{g/mL}$] obtidos nos três filmes incorporados de ômega-3 (A)1,00 g (B)1,25 g e (C)1,50 g	19
---	----

RESUMO

GLERIANI, Shirley Madlener, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2016. **Elaboração de fita ativa de acetato de celulose incorporada com ácido graxo ômega-3.** Orientador: Nélcio José de Andrade. Coorientadores: Eber Antônio Alves Medeiros e Nilda de Fátima Ferreira Soares.

É crescente o potencial do uso de filmes ativos na indústria alimentícia. Esses filmes são capazes de agregar qualidade nutricional, sensorial e microbiológica aos alimentos, de modo gradual e seguro. Nos últimos anos, tem-se ampliado pesquisas na área de embalagem e uma nova linha tecnológica está em destaque: as embalagens ativas. Devido ao grande potencial do uso de filmes ativos, esse trabalho objetivou elaborar filme de acetato de celulose incorporado de ômega-3 em diferentes concentrações, para ser usado como fita ativa, que permanecesse firme e resistente quando introduzido no iogurte desnatado (isento de ômega-3); servindo como alimento funcional e melhorando a prevenção de doenças crônicas por deficiência do ômega-3 na alimentação brasileira. Conseguiu-se a fita ativa de acetato incorporada com ômega-3 em diferentes concentrações, que permaneceu resistente e íntegra, para ser introduzida em iogurte desnatado sabor morango. Constatou-se que a quantidade de ômega-3 que se difundiu não foi representativa para que, o consumidor recebesse a dose recomendada pela ANVISA de 1 g por dia de EPA/DHA, servindo como alimento funcional. A utilização do Tween 80 não gerou efeito positivo na estrutura dos filmes produzidos. As alíquotas filmogênicas com melhor resultado de homogeneidade do gel (acetona + acetato celulose + ômega-3) para elaboração do filme resistente foram de 1,0 g e 1,25 g. Sendo assim, as mais recomendadas para realização da fita ativa incorporada com ômega-3 a ser introduzida no iogurte de morango desnatado. Houve migração de ácidos graxos do filme ativo de acetato celulose para o alimento. Com posterior adição do glicerol a 10 %, houve difusão de ômega-3 na fita ativa, verificando mitigação do sabor de óleo de peixe. Talvez em outras experimentações que venham a ser realizadas, percentuais superiores de migração possam ser atingidos. A aceitação sensorial do iogurte desnatado sabor morango incorporado com a fita ativa foi de 86 %, verificando-se mitigação do sabor do óleo de peixe.

ABSTRACT

GLERIANI, Shirley Madlener, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2016. **Elaboration of active acetate cellulose tape with omega-3 fatty acid.** Adviser: Nélio José de Andrade. Co-advisers: Eber Antônio Alves Medeiros and Nilda de Fátima Ferreira Soares.

The potential of using active films in the food industry is growing. These films are able to add nutritional, sensorial and microbiological quality to foods, gradually and safely. In recent years, research has been expanded in the area of packaging and a new technological line is highlighted: the active packaging. Due to the great potential of the use of active films, this work aimed to elaborate omega-3 incorporated cellulose acetate film in different concentrations, to be used as active tape, to remain firm and resistant when introduced in the skimmed-milk yogurt (omega- 3); Serving as a functional food and improving the prevention of chronic diseases due to omega-3 deficiency in Brazilian food. The active acetate strip was incorporated with omega-3 in different concentrations, which remained sturdy and intact, to be introduced into strawberry flavored yogurt. It was found that the amount of omega-3 that was diffused was not representative for the consumer to receive the dose recommended by ANVISA of 1 g per day of EPA / DHA, serving as functional food. The use of Tween 80 did not have a positive effect on the structure of the films produced. The filmogenic aliquots with the best gel homogeneity result (acetone + cellulose acetate + omega-3) for the preparation of the resistant film were 1.0 g and 1.25 g. Thus, the most recommended for the realization of the active tape incorporated with omega-3 to be introduced in the skimmed strawberry yogurt. There was migration of fatty acids from the active cellulose acetate film to the food. With subsequent addition of the 10% glycerol, there was diffusion of omega-3 in the active tape, verifying the mitigation of the taste of fish oil. Perhaps in other trials that may be carried out, higher percentages of migration can be achieved. The sensory acceptance of the yogurt flavored strawberry flavored yogurt with the active tape was 86%, being verified mitigation of the taste of the fish oil.

1. INTRODUÇÃO

Tem sido verificado o grande potencial do uso de filmes ativos para acondicionar os alimentos, sendo este um tipo de embalagem alternativa, capaz de agregar qualidade nutricional, sensorial e microbiológica aos produtos, de modo gradual e seguro. As indústrias de alimentos têm aumentado e diversificado os alimentos processados na tentativa de suprir o mercado crescente. Nos últimos anos, tem-se ampliado pesquisas na área de embalagem e uma nova linha tecnológica está em destaque: as embalagens ativas. Essas embalagens interagem com o produto acondicionado objetivando melhorar sensorialmente e/ou estender a vida de prateleira dos produtos (SOARES et al., 2009).

Atualmente, existem novas tendências de embalagens no mercado denominadas de embalagens “ativas”. Embalagem ativa pode ser definida como o tipo de embalagem que muda as condições do ambiente que cerca o alimento para prolongar a sua vida útil, manter e/ou melhorar as propriedades sensoriais e de segurança, enquanto conserva a qualidade do alimento. São utilizadas para aumentar a vida de prateleira, melhorar as características sensoriais, evitar as deteriorações química e microbiológica e garantir a segurança dos alimentos, inibindo o crescimento de micro-organismos patogênicos (SOUSA et al., 2012).

Os ácidos graxos poliinsaturados ômega-6 e ômega-3, por exemplo, são essenciais ao organismo, principalmente pelas propriedades funcionais que apresentam. O consumo de quantidades relativamente pequenas destes ácidos graxos podem prevenir deficiências nutricionais, e várias doenças crônicas, algumas delas, inclusive, degenerativas. Os alimentos de origem marinha são ricos em ácidos graxos ômega-3, principalmente o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA) (MARTIM et al., 2006).

A incorporação direta dos óleos de peixe em alimentos processados, é um enorme entrave tanto em questão ao odor intolerável durante a produção na indústria, quanto no odor e sabor acentuados de peixe no alimento que for adicionado, e ainda a maximização do efeito oxidativo no alimento veiculado.

Dentre os leites fermentados, o iogurte destaca-se com predominância no mercado mundial, constituindo uma rica fonte de proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos (FERREIRA et al., 2001). Por essas características e por não favorecer ao processo oxidativo do ômega-3 a ser incorporado, o iogurte desnatado foi escolhido como veículo no experimento.

Diante do exposto, com o grande potencial do uso de filmes ativos, objetivou-se com esse trabalho, elaborar filme ativo de acetato de celulose incorporado de ômega-3 para iogurte desnatado, servindo como alimento funcional.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Elaborar filme ativo de acetato de celulose incorporado com ômega-3 para iogurte desnatado, servindo como alimento funcional.

2.2. Objetivos Específicos

- Desenvolver filme ativo incorporado com diferentes concentrações de ômega-3;
- Avaliar e quantificar a difusão de ácidos graxos insaturados e do ômega-3, da fita ativa para o meio simulante;
- Avaliar sensorialmente o iogurte desnatado onde será colocado a fita ativa com o ômega-3, para verificar se sabor do óleo de peixe será mitigado;
- Realizar análises microbiológicas para verificar não contaminação nos filmes produzidos;
- Verificar a integridade do filme após imersão no iogurte durante os dias que permaneceram na refrigeração.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Filme Ativo

De acordo com Soares (1998), embalagens ativas são aquelas que interagem de maneira intencional com o alimento, visando melhorar algumas de suas características.

As embalagens ativas têm várias funções adicionais em relação às embalagens passivas, que são limitadas a proteger os alimentos de condições

externas. As embalagens ativas alteram as condições do produto, aumentando sua vida de prateleira, segurança e qualidade e/ou melhorando suas características sensoriais (VERMEIREN et al., 2002).

Nos EUA, no Japão e na Austrália, o conceito de embalagens ativas está sendo aplicado com sucesso. Na Europa, o desenvolvimento e a aplicação desse tipo de embalagem são ainda limitados, devido às restrições de legislação, resistência do consumidor, necessidade de conhecimento sobre a efetividade aos impactos econômico e ambiental (VERMEIREN et al., 2002). No Brasil, o desenvolvimento envolvendo embalagens ativas ainda está em nível laboratorial.

Alguns sistemas de embalagens ativas já foram desenvolvidos e encontram aplicação em produtos disponíveis no mercado. As principais técnicas em embalagens ativas dizem respeito a substâncias que absorvem oxigênio, etileno, umidade e odor, e aquelas que emitem dióxido de carbono, agentes antimicrobianos, antioxidantes e aromas (VERMEIREN et al., 1999). Nestas embalagens podem ser incorporados aditivos ou outros compostos cuja função ativa pode ser de absorção de oxigênio, etileno, umidade, dióxido de carbono e/ou sabores/odores; antioxidante e agentes antimicrobianos (LUCIO et al., 2011). Essas técnicas consistem na incorporação e, ou imobilização de certos aditivos à embalagem em vez da incorporação direta no produto (KERRY et al., 2006).

Dentre os desenvolvimentos em embalagens ativas, merecem destaque os filmes, revestimentos e sachês antimicrobianos e antioxidantes aromáticos e enriquecedores de alimentos.

3.2. Acetato celulose

A celulose é um homopolímero linear, insolúvel, de alta massa molecular, constituído de unidades repetidas de β -D-glicopiranosil, unidas por ligações glicosídicas ($\beta 1 \rightarrow 4$). Em função de sua natureza plana e linear, as moléculas de celulose podem associar-se umas às outras, por meio de ligações de hidrogênio, ao longo de extensas zonas, formando maços fibrosos e policristalinos (FENNEMA et al., 2010).

A reação de acetilação da celulose pode produzir o acetato de celulose em que o grau de substituição (GS) pode variar de 0 a 3, dependendo da sua estrutura e das condições reacionais, sendo que os diferentes graus de acetilação afetam características como a solubilidade e a biodegradabilidade do

composto (MELO, 2010).

O polímero acetato de celulose é amorfo, não tóxico e inodoro, estável em óleos minerais, permeável ao vapor d'água e, dependendo do grau de substituição, solúvel em acetona (OLIVEIRA, 2002). A partir deste polímero é possível formar filmes transparentes, essencialmente rígidos, ou seja, que suportam alta tensão à temperatura ambiente, e com certa flexibilidade (CERQUEIRA et al., 2010).

O polímero de acetato de celulose é um composto biodegradável, amorfo, não tóxico, inodoro, estável em óleos minerais, permeável a vapor de água e, dependendo do grau de substituição, solúvel em acetona. (PUC, 2010).

A obtenção de filmes a partir de celulose desperta grande interesse devido às excelentes propriedades mecânicas, estabilidade química, características de permeação e compatibilidade biológica apresentadas pela celulose, que são requisitos importantes para a indústria alimentícia, aplicações médicas, dentre outras (MORGADO et al., 2009).

Esses filmes à base de acetato de celulose têm sido produzidos e utilizados em alimentos, visto que já se mostraram eficientes na tecnologia de filmes ativos.

Particularmente sensíveis à oxidação, estas novas formulações representam um desafio tecnológico real para a indústria. Alterações de odor e sabor, bem como a cor, textura de produtos alimentícios podem, em última análise, serem rejeitados pelos consumidores.

Por isso, a importância de selecionar um alimento que possa mitigar esses efeitos ao ser incorporado do ômega-3.

3.3. ÔMEGA-3

3.3.1. Composição nutricional

Existem três importantes famílias de ácidos graxos insaturados, são as famílias ômega 3, ômega 6 e ômega 9. A família ômega-6 é derivada do ácido graxo linoléico e a família ômega-3 é derivada do ácido graxo α -linolênico. O ômega-9 também chamado de ácido oléico, é um ácido carboxílico, por possuir um grupo funcional COOH e é monoinsaturado. O único que pode ser produzido pelo próprio organismo, porém, para que isso ocorra, é necessário que os ácidos ômega 3 e ômega 6 já estejam no organismo (SOUSA et al. 2012).

Em relação ao número de insaturações, os ácidos linoléico (18:2n-6, AL) e o alfa-linolênico (18:3n-3, AAL) são denominados genericamente de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), assim como outros ácidos que apresentam duas ou mais insaturações. Em relação ao tamanho da cadeia carbônica, os AGPI que possuem 18 ou mais átomos de carbono são denominados de ácidos de cadeia longa (YEHUDA et al., 2002).

Segundo Zacan (2012), existe também uma classe de ácidos graxos denominada de essenciais. Esses são adquiridos apenas por meio da alimentação e são poliinsaturados e não sintetizados pelas células do organismo. São eles os mais comumente conhecidos como ácido graxo ômega-3, encontrado principalmente em óleo de peixe, e o ácido graxo ômega-6, cujas principais fontes alimentares são os óleos vegetais (girassol, milho, canola, soja e algodão).

Ainda segundo Hooper et al., (2012), o aumento do consumo de óleos vegetais processados conduziu também a uma composição de ácido graxo severamente desequilibrada, uma vez que estes óleos fornecem grandes quantidades de gorduras ômega-6. A proporção ideal de ômega -3 e ômega-6 é de 1:1, mas a dieta típica ocidental é (01:20)-(01:50). Esta alta razão gerou um desequilíbrio no balanceamento de ácidos graxos no organismo humano e acredita-se que isso prejudicou as funções biológicas sendo responsável por surgimento e/ou piora de várias doenças.

Estudos demonstraram que o consumo de quantidades relativamente pequenas destes ácidos graxos podem prevenir deficiências nutricionais. Os alimentos de origem marinha são ricos em ômega-3, principalmente o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA). (NOVELO et al., 2008).

Os eicosanóides são grupos de compostos biologicamente ativos de 20 carbonos (C20), que incluem as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. Estes, por sua vez, estão envolvidos na função reprodutiva, inflamação, febre, dor associada à lesão ou doença, formação das plaquetas, regulação da pressão arterial, secreção de ácidos gástricos, e uma variedade de outros processos importantes na saúde ou doença humana (FETT et al., 2001).

3.3.2. Benefícios funcionais e prevenção e /ou melhoria na evolução de doenças

Benefícios para a saúde são inúmeros, já comprovados em artigos científicos, tais como: Cardiovasculares (redução das doenças arteriais coronarianas- DAC, redução dislipidemias mistas com gorduras saturadas de Triglicerídeos (TG) associados com Colesterois *Very Ligth Density Lipoprotein* (VLDL), e *Ligth Density Lipoprotein* (LDL); aumento da concentração do colesterol considerada bom, o *Higth Density Lipoprotein* (HDL); redução índice infarto/ morte súbita; redução risco de trombose; melhora na pressão sanguínea, na função vascular e manutenção da eurritmia cardiológica (SOCIEDADE BRASILEIRA CARDIOLOGIA, 2013).

Podem também reduzir a enzima conversora de angiotensina (ECA), a formação de angiotensina II, à expressão de TGF-beta, e não ativar o sistema nervoso parassimpático. O resultado final é a melhor vasodilatação de pequenas e grandes artérias. De uma maneira esquemática podemos dizer que ômega-3 melhora a função endotelial e podem reduzir o risco para trombose e lipoproteínas A e B, mediadores da aterosclerose.

Devido às descobertas com relação aos benefícios à saúde, houve aumento em nível mundial de pesquisas sobre ácidos graxos poliinsaturados ômega-3. Desta forma, o interesse por parte das indústrias alimentícia e farmacêutica, em suplementar alimentos e desenvolver formulações contendo concentrados de ômega-3 também aumentou (WAITZBERG, 2011).

Os alimentos funcionais podem ser considerados como parte importante do bem-estar, no qual também se incluem uma dieta equilibrada e atividade física. (MORAES e COLLA, 2006; STRINGHETA et al., 2007).

Segundo Komatsu et al. (2008) e Lima et al. (2009) alimentos funcionais são os que garantem efeito nutricional adequado e podem demonstrar benefícios adicionais em uma ou mais funções do organismo, proporcionando melhoras do estado de saúde e bem-estar ou redução do risco de doenças.

As diretrizes atuais recomendam maior ingestão de ômega-3 por meio da dieta. Assim, a indústria de alimentos tem respondido a esta necessidade com o enriquecimento dos alimentos com esses ácidos graxos poliinsaturados (AGPI).

O ácido linoléico C18:2 (ômega-6) e o ácido α -linolênico C18:3 (ômega-3) são especialmente importantes para manter em condições normais, a fluidez das membranas; as funções cerebrais; a transmissão de impulsos nervosos; o

fornecimento de substrato para a produção de ácidos graxos indispensáveis ao organismo, como o eicosapentaenóico C20:5 (EPA), o docosahexaenóico C22:6 (DHA) e o ácido araquidônico C20:4 (ω -6), e ainda para a produção de eicosanóides (BRANDÃO et al., 2005; MARTIN et al., 2006; BRESSAN e COSTA, 2008; RIEDIGER et al., 2009).

Outros estudos correlacionam benefícios desde a formação do feto, e nos primeiros meses após o nascimento, na terceira idade, e em diversas doenças, principalmente, degenerativas (YEHUDA et al. 2002). Desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina, e antitrombótica (BALK et al. 2006).

Ainda segundo Hooper et al. (2012), pode-se ter benefícios na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, e doença de Alzheimer, artrite reumatóide e diabetes. Também em pacientes com doenças autoimunes, como a artrite reumatóide, geralmente respondem à suplementação de EPA e DHA com uma diminuição dos níveis elevados de citocinas e com isso, sentem melhora nos sintomas (HOOPER et al., 2012).

Muitas expectativas na oncologia, pois os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) podem ter impacto no câncer. Inibindo a carcinogênese, retardar o crescimento de tumores e aumentar a eficácia da radioterapia e de várias drogas quimioterápicas. A síndrome de caquexia afeta grande número de pacientes, com doença neoplásica avançada. Está associada à sobrevida menor, à piora da qualidade de vida e não acomete apenas pacientes que estão submetendo-se à quimico e radioterapia (CARMO E CORREA, 2009).

Na doença inflamatória intestinal (SII) parece ocasionar melhora clínica significativa (HOOPER et al., 2012). Há evidências crescentes de que as deficiências funcionais ou desequilíbrios em certos ácidos graxos altamente insaturados da série ômega-3 e ômega-6 podem contribuir para ampla gama de condições de desenvolvimento de doenças psiquiátricas, incluindo dislexia, dispraxia, transtorno de déficit de atenção, hiperatividade (TDAH), autismo, depressão, perturbação bipolar e do espectro da esquizofrenia (YUNG et al., 2004).

3.3.3. Recomendações diárias de ômega-3

Como o consumo de peixe é pequeno pela maioria da população, devido

a algumas limitações, principalmente, geográficas e financeiras, diversos produtos enriquecidos com ácidos graxos ômega-3, como pães, leites, dentre outros, têm aparecido no mercado. Entretanto, a produção destes produtos alimentícios tem representado uma tarefa difícil, que requer tecnologias especiais a fim de evitar que estes apresentem sabores/odores desagradáveis (de peixe, ranço) e ainda, impedir a oxidação dos ácidos graxos, para que não ocorra a perda de sua atividade (KIM et al., 1995).

A *International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids* (ISSFAL) publicou sobre a ingestão recomendada de ácidos graxos poliinsaturados para adultos saudáveis, para manutenção da saúde cardiovascular, a ingestão mínima de EPA e DHA combinados: 500 mg/dia (WAITZBERG, 2011).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), considera-se suplementação de ômega-3, um produto que promova enriquecimento do produto com 0,1 g EPA ou DHA/100 g ou 100 mL, utilizando metodologia reconhecida, com o teor dos contaminantes inorgânicos em mg/L: mercúrio, chumbo, cádmio e arsênio. Utilizar-se como referência o Decreto nº 55871/65, categoria de outros alimentos (BRASIL, 2008).

Fora do Brasil, em países de primeiro mundo, existe uma tendência de convergência da razão entre os ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 para o intervalo de 4:1 a 5:1. As razões de 2:1 a 3:1 têm sido recomendadas por alguns autores, por possibilitar maior conversão do ácido alfa-linolênico em DHA. Assim, as razões entre 2:1 e 4:1 têm maior importância para pessoas com hábitos alimentares que resultam em baixa ingestão de EPA e DHA (ENGLER, 2006).

A suplementação de 500 mg de DHA e 150 mg de EPA, com ou sem suplementação de ácido fólico (400 µg) a partir da 22ª semana de gestação promove aumento do EPA plasmático materno e do DHA materno e fetal até o parto, o que é considerado protetor para o feto (HOOPER et al., 2012).

3.4. Iogurte

De acordo com Heasman e Mellentin (2001), foram os japoneses que “inventaram” a terminologia dos alimentos funcionais. O médico Minora Shirota descobriu os benefícios da bactéria *Lactobacillus casei* para a regulação do trânsito intestinal na década de 1930, quando trabalhava junto aos pobres e malnutridos. Entre as 24 categorias de alimentos mais vendidos em 2005, 75% estão ligados à saúde (NIELSEN, 2007). Uma pesquisa feita pela *Health Focus*

em 30 países mostra que 44% dos consumidores brasileiros da classe A e B escolhem seus alimentos com base na relação que eles têm com a saúde, sendo um dos maiores índices da América Latina (OLIVEIRA, FERNANDES, 2004).

Os alimentos funcionais constituem prioridade de pesquisa na área de nutrição e tecnologia de alimentos, levando-se em conta o interesse do consumidor em alimentos mais saudáveis, que, além de nutrir, ajudam a modelar o sistema fisiológico do organismo (MEIER et al, 2007).

O setor lácteo não foge a esta tendência em produzir alimentos em que a funcionalidade é o principal atributo (HEASMAN, MELLENTIN, 2001). Dentre os produtos derivados do leite, o iogurte tem grande destaque, dada a sua versatilidade, podendo apresentar ausência ou reduzido teor de gordura, pode ser adicionado de frutas, cereais e diferentes sabores, sendo um alimento saudável e nutritivo. Pode também, ser enriquecido com alimentos aos quais são atribuídas características probióticas, prebióticas e nutracêuticas (OLIVEIRA, 2008).

O iogurte desnatado tem a vantagem de ter menos gordura na sua composição, e com isso, tem valor calórico baixo. Com essa quantidade menor de gordura recomenda-se não só a quem procura emagrecer como também aos que estão de olho nos níveis do colesterol, por isso escolhemos essa matriz.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Produção do filme de acetato de celulose incorporado com ômega

3

Os filmes foram elaborados com acetato de celulose (Rhodia, Freiburg, Alemanha) e acetona P.A. (Vetec®, RJ, Brasil) e processados utilizando o método “casting”, descrito por Soares e Hotchkiss (1998).

Adicionaram-se 20 mL de acetona em 2 g de resina acetato de celulose, deixando em repouso por 24 h em frascos de vidros lacrados, a fim de formar uma solução filmogênica. Os ácidos graxos foram provenientes de cápsulas de 1,000 g de óleo de peixe da empresa *Spectrum Essentials Fish Oil Omega-3®* (Extratos de ácidos graxos poli-insaturados marinhos ômega-3 purificados). O conteúdo das cápsulas foi removido com auxílio de seringa e adicionado à solução filmogênica, nas quantidades de: 1,00;1,25;1,50;1,75 /2,00 /2,25 / 2,75/ 3,00 g.

Elaboraram-se filmes ativos com a quantidade de 2 g de acetato com quantidades de 1,00; 1,25; 1,50; 1,75 e 2,00 g de ômega-3, todos em triplicatas. Porém, observou-se que em concentrações superiores a 1,75 g os filmes se tornavam inviáveis.

Após, com bastão de vidro, homogeneizou-se completamente e deixou-se em repouso por 15 min para que as bolhas se desfizessem. A solução filmogênica ativa foi colocada em uma placa de vidro e, com o auxílio de uma barra niveladora (1 mm), foi espalhada por toda a placa. A secagem dos filmes foi realizada sobre as bancadas do laboratório à temperatura ambiente até total volatilização do solvente, por aproximadamente 20 min. Os filmes foram retirados das placas e envoltos em papel alumínio e acondicionados em saco plástico sob vácuo. Os filmes ativos foram expostos à luz ultravioleta (254 nm) por 2 min para o controle microbiológico.

4.1.1. Filme com acetato de celulose adicionado de ômega-3 e Tween 80

Filmes de acetato de celulose nas concentrações de ômega de 1,75 e 2,00 g foram adicionadas três gotas de Tween 80.

4.1.2. Filme com acetato de celulose adicionado de ômega-3 e glicerol

Lote de 1,00 g de ômega-3 foi produzido também com incorporação 10 % de glicerol em relação à quantidade de acetato de celulose (2g).

4.2. Avaliação microbiológica do filme acetato incorporado com ômega 3

Realizado com o objetivo de avaliar a eficiência antimicrobiana do filme. O meio de cultura ágar PCA (Plate Count Agar) foi vertido em placas de Petri, em triplicata, e, após solidificação, cupons do filme, com 1,0 /1,0 cm, de cada tratamento, foram colocados assepticamente sobre a superfície do meio de cultura. As placas foram incubadas a 35 °C por 24-48h.

4.3. Determinação dos Ácidos Graxos

4.3.1. Extração

A extração dos ácidos graxos foi realizada de acordo com a metodologia de FOLCH (1957). A extração de lipídios é uma determinação importante em estudos bioquímicos, fisiológicos e nutricionais dos mais diversos tipos de alimentos e, portanto, deve ser realizada com acurácia.

Pesaram-se 100 mg de amostra de cada filme ativo e controle, e acrescentou-se primeiramente 1mL de solução de macerar, com o bastão de vidro, macerou-se o filme por 2 min, depois lavou-se o bastão com o restante do volume. Acrescentou-se 0,9 mL de solução de clorofórmio: metanol (2:1) para completar o volume. Homogeneizou-se em agitador de tubo por 3 min. Posteriormente, adicionou-se 0,4mL de metanol e centrifugou-se por 10 min a 3000 rpm.

Passou-se o sobrenadante para o tubo de ensaio previamente pesado e identificado (usou-se luva para tocar nos tubos). Adicionou-se 1,92 mL de solução de NaCl 0,73 %. Homogeneizou-se com agitador de tubo e centrifugou-se a 3000 rpm por 10 min. Desprezou-se a fase superior, e lavou-se a parede do tubo com 0,6 mL de solução de Folch. Desprezou-se o sobrenadante (repetiu-se a lavagem três vezes).

4.3.2. Esterificação

Esterificação dos ácidos graxos *in situ* pela metodologia de HARTMAN E LAGO (1973): Utilizaram-se tubos rosqueáveis com tampa nas quais foram adicionados 30 mg de extrato lipídico e acrescentaram-se 2,4 mL de reagente de saponificação (NaOH em metanol). Aqueceu-se em banho-maria a 80°C por 15-20 min. Adicionaram-se 6,0 mL de reagente de estratificação. O extrato foi resfriado a 40 °C. Posteriormente, adicionou-se 0,5mL de hexano e mais 3,0 mL de solução de NaCl a 20%, homogeneizou-se e retirou-se a fase superior e reservou-se em vidro âmbar identificado. Ao restante, adicionou-se 0,5mL de hexano. Retirou-se a fase superior e reservou-se em frasco âmbar identificado. Secou-se o solvente em estufa aberta a 40 °C.

4.4. Aplicação da fita ativa no iogurte

Cortaram-se fitas ativas no tamanho de 8x3 cm que foram colocadas dentro do béquer com 10 mL de iogurte desnatado Batavo e mantido sob

refrigeração (4 ± 2 °C), por 5 dias. Filme controle (sem ômega-3) também foi utilizado.

4.5. Análise de cromatografia gasosa

As amostras foram injetadas em cromatógrafo gasoso, GC 2010 Plus (Shimadzu, Japão), equipado com ejetor Split, coluna capilar Restek RT – 2560 de 100 m de comprimento e detector de ionização de chama (FID). A temperatura de trabalho do injetor foi de 220 °C e a razão de Split 1:20. A temperatura inicial do forno foi 150 °C, mantida por 5 min, elevada posteriormente a 180 °C a uma taxa de 3 °C/min, sendo então mantida em isoterma por 30 min. A temperatura do detector foi de 240 °C. Utilizou-se como padrão uma mistura composta de 37 ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco, EUA), de C4:0 e C24:1. Os ácidos graxos foram identificados de acordo com os tempos de retenção e a quantificação foi feita por normalização da área. O padrão Supelco tinha a concentração de 2 mg/mL. Tanto para o padrão como para as amostras de 1 mL.

Foram analisadas três amostras das concentrações de ômega-3: e 1,00 g e 1,25 g, por terem sido as amostras com melhor resultado de resistência, firmeza e homogeneidade do gel/solução filmogênica (acetona + acetato + ômega-3) para elaboração do filme. As análises foram realizadas em triplicata.

4.6. Quantificação da difusão do ômega-3

De posse dos valores obtidos nos cromatogramas (Anexo), tendo o pico quali-quantitativo de cada ácido-graxo, consultou-se a tabela Supelco™ 37 (Anexo), identificou-se os ácidos graxos pelo número de carbono e verificou-se o percentual existente do mesmo padrão (Anexo). Dessa maneira, a concentração de óleo em cada 2000 mg/mL é dada pela Equação 1:

$$\text{Conc} = 2000 \cdot x$$

onde x, é o percentual (%) obtido na tabela Supelco™ 37.

No entanto, para cada ácido graxo que apresentou pico, no cromatograma, o valor deve ser normalizado pela área do pico, descrito pela amostra, dividido pela área tabelada do padrão, ou seja:

$$Conc = \frac{2000 \times \text{ÁreaObtida} \times \text{ConcAmostra}}{\text{ÁreaTabelada} \times \text{VolumePadrão}} \quad (\text{Eq1})$$

4.7. Avaliação Sensorial

A aceitabilidade sensorial foi realizada no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, no período diurno (09:00 às 11:30 horas e 14:00 às 17:30 horas). Montou-se um setor com três locais reservados, onde 50 avaliadores voluntários, de ambos sexos, de faixa etária entre 17 e 55 anos compareceram para a avaliação. O iogurte foi servido de forma monádica, em copos plásticos, previamente codificados com números aleatórios de três dígitos. Os provadores avaliaram as amostras, utilizando uma escala hedônica de nove pontos (1- desgostei extremamente a 9 – gostei extremamente) Stone e Sidel (1993), indicando o quanto gostou ou desgostou do produto em relação aos atributos sensoriais aroma, sabor e impressão global (MINIM, 2013).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Filme de acetato de celulose por “cast” com Ômega 3

Observou-se nos filmes com concentrações superiores a 1,75 g de ômega-3, 2 g de acetato, que os mesmos se tornavam inviáveis. A solução filmogênica tornou-se imiscível, não sendo possível a abertura do filme de forma adequada e uniforme. O filme seco na placa, rasgou e se despedaçou ao ser retirado da placa. Optou-se pelas concentrações de ômega de 1,00; 1,25 e 1,50 g de ômega-3, para as análises de extração e esterificação dos ácidos graxos.

Verificou-se que as quantidades iguais ou superiores a 1,75 g não foram possíveis de serem executadas, pois não havia homogeneização da solução filmogênica.



Figura 1. Separação da solução filmogênica com ômega-3 (1,75 g).

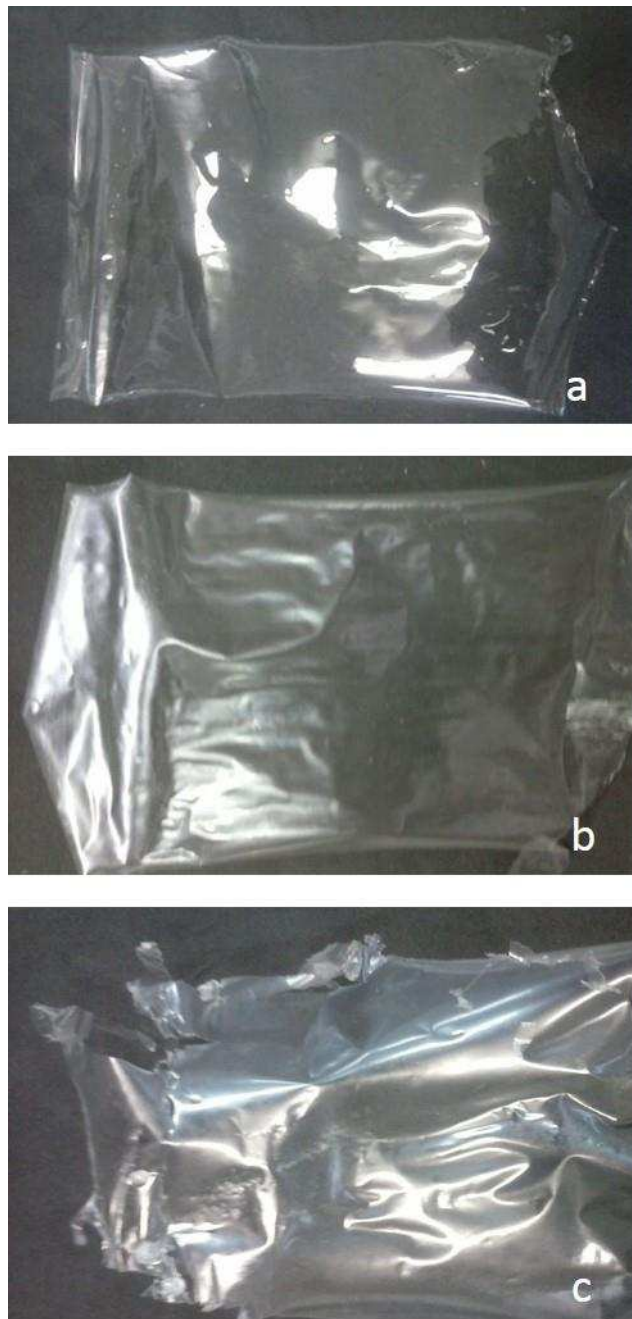


Figura 2. Filmes ativos de acetato de celulose incorporados com ômega-3: (a) 1,00 g (b) 1,25 g (c) 1,50 g.

5.2. Teste do halo do filme acetato incorporado com ômega-3

Não houve crescimento em torno dos filmes ativos no PCA, indicando que não houve contaminação microbiana dos filmes ativos analisados (Figura 3).

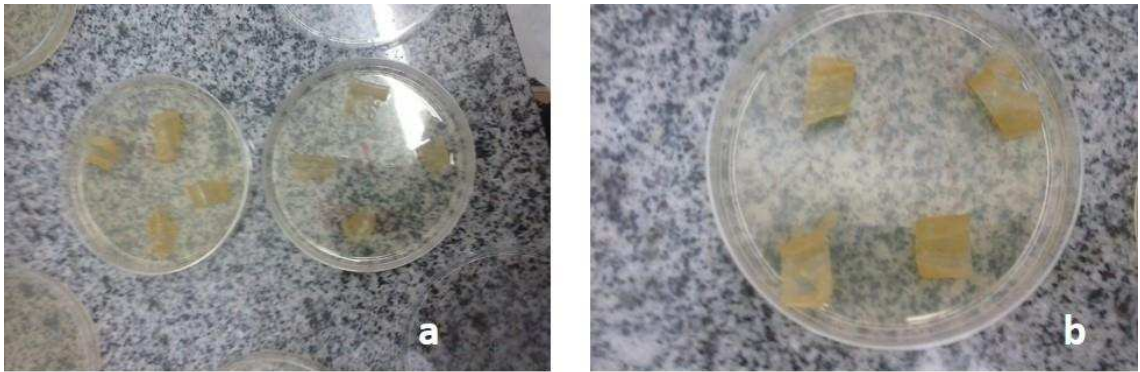


Figura 3. Crescimento de micro-organismos para os filmes ativos de acetato celulose incorporados com ômega-3.

5.3. Teste de resistência e integridade da fita ativa

A fita ativa imersa no iogurte sob refrigeração, por 5 dias, em todas as concentrações inclusive o controle, permaneceram íntegras e firmes, mostrando excelente resistência da fita ativa dentro do iogurte (Figura 4).

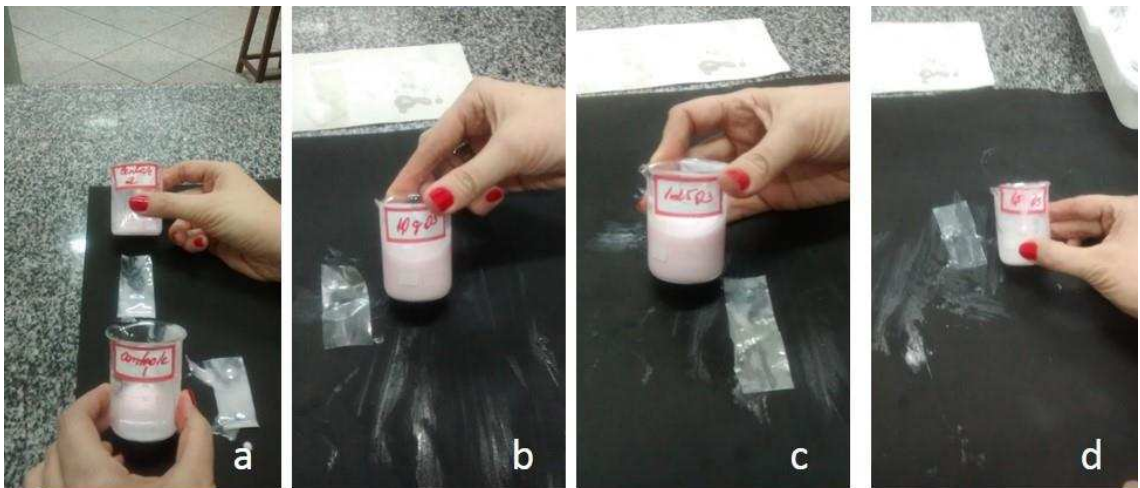


Figura 4. Integridade da fita ativa (a) controle (b) 1,00 (c) 1,25 (d) 1,50 g.

As quantidades de ômega-3 com melhor resultado de homogeneidade do gel (acetona + acetato celulose + ômega-3) para elaboração do filme foram os de 1,0 e 1,25 g. Sendo assim, as mais recomendadas para produção da fita ativa incorporada de ômega-3 a ser introduzida no iogurte de morango desnatado.

5.4. Quantificação da difusão do ômega-3

Verificou-se que houve difusão de ácido oleico que é um ácido graxo essencial, juntamente com outros ácidos graxos, mas não a presença do ômega-

3 (DHA/EPA/ácido linolênico) (Figura 4). Assim, como já foi explicado anteriormente na metodologia, decidiu-se incorporar 10 % glicerol nos demais filmes que foram produzidos posteriormente a esses cromatogramas.

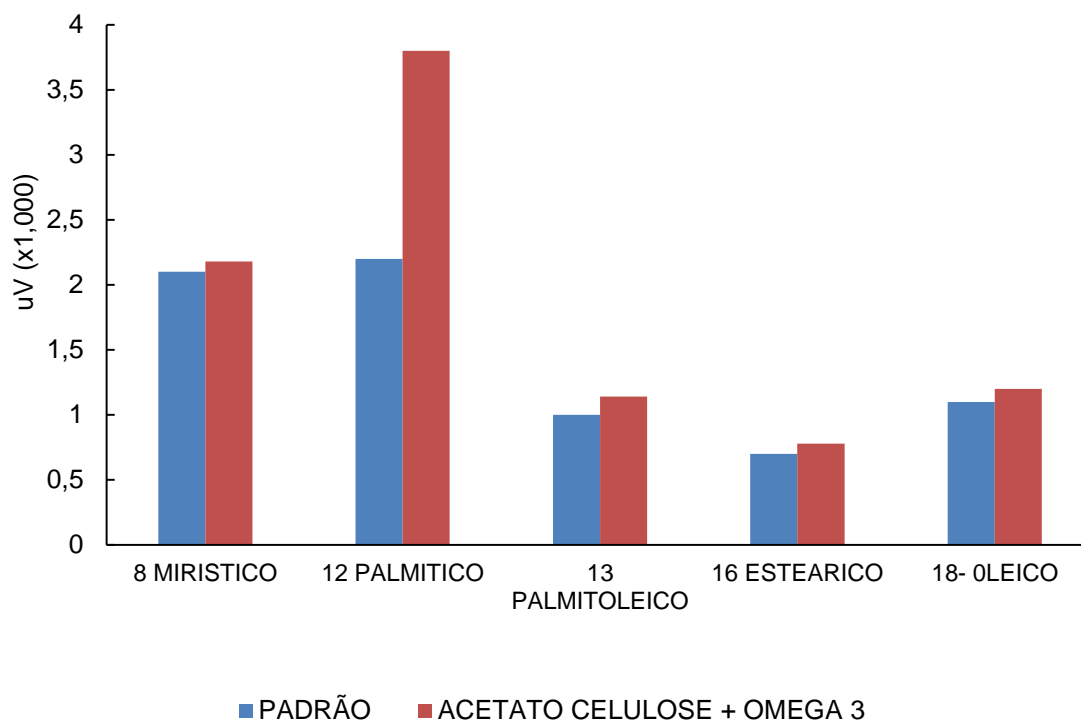


Figura 5. Perfil de ácidos graxos no filme com ômega-3 sem adição de glicerol.

Na figura 6, observou-se que 100 % das amostras analisadas na segunda leitura dos filmes contendo o filme de acetato celulose + ômega-3 + 10 % glicerol, apresentaram picos de ácidos graxos essenciais: o oleico e ômega-3 (EPA e o DHA).

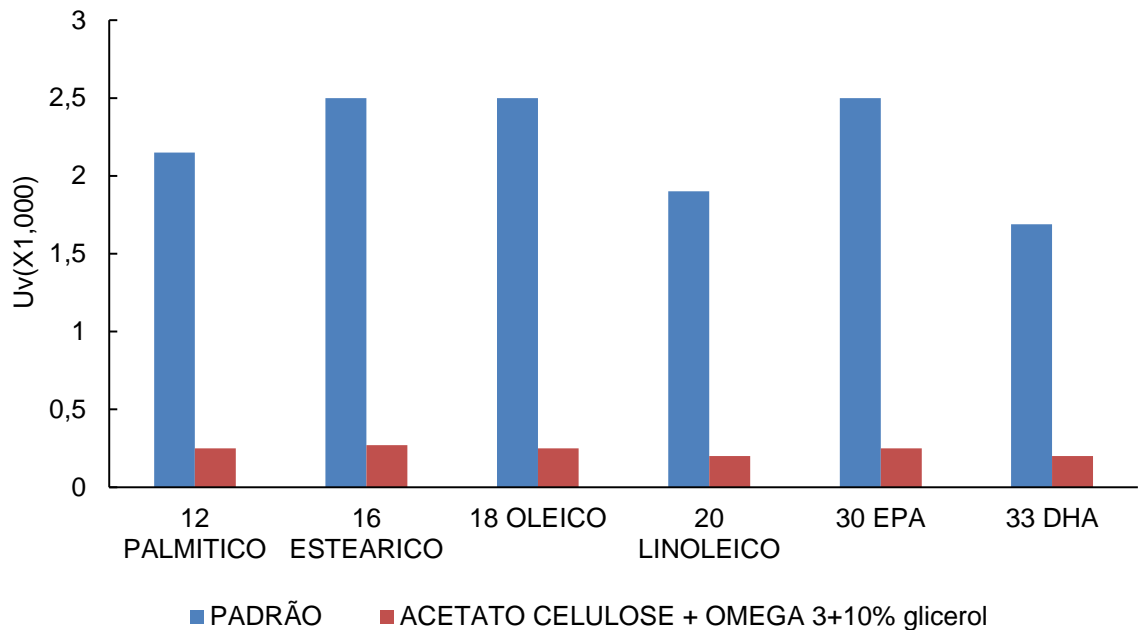


Figura 6. Filme com ômega 3 (1,25 g) + glicerol 10%.

Desta forma, verificou-se que o glicerol pode ter sido fundamental para que o ômega-3 conseguisse difundir-se mais facilmente do filme de acetato celulose para o meio simulante.

Filmes incorporados com 1,00 g de ômega-3 e com 10 % de glicerol tiveram difusão do ômega-3 facilitado pela ação plastificante.

O glicerol está presente em todos os óleos e gorduras de origem animal e vegetal em sua forma combinada, ou seja, ligado a ácidos graxos tais como o ácido esteárico, oleico, palmítico e láurico para formar a molécula de triacilglicerol. Por sua função de solvente e umectante na indústria de alimentos, sugeriu-se essa possibilidade de agregação e facilitação na migração para fora do filme no ato de extrair os ácidos graxos das amostras de filmes analisados (MOTA et al., 2009).

Desde 1959, o glicerol é reconhecido como uma substância atóxica, permitido como aditivo em alimentos e também como substância “GRAS” (*Generally Regarded as Safe*) pela agência *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos. No Brasil, seu uso em produtos alimentícios é assegurado pela Resolução da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) de nº 386, de 5 de agosto de 1999 (ARRUDA, RODRIGUES e FELIPE, 2006).

Outra aplicação consiste no uso como aditivo para várias classes de polímeros. Um exemplo foi o desenvolvimento, realizado por Fishman e

colaboradores, de misturas de polímeros naturais (pectina e amido) plastificados com glicerol (FISHMAN et al., 2000).

Considerando-se a função plastificante do glicerol, e também o que foi encontrado no experimento de Meira (2012), considerando a adição de glicerol, a tensão na ruptura apresentou diferença significativa ao nível de 95 %. Para o alongamento na ruptura, força na ruptura e deformação na perfuração não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) com relação aos diferentes processos e ao filme controle.

Estes mesmos autores mostraram que o aumento na quantidade de glicerol aumentava a solubilidade em água dos filmes, devido ao caráter hidrofílico do glicerol. O glicerol, por ter um maior caráter hidrofílico, contribui para a maior afinidade dos filmes com glicerol pela água (SOTHORNVIT e KROCHTA, 2001).

Nesse experimento, não surgiu efeito positivo com adição do Tween 80. Assim, o uso dessas concentrações de ômega-3 para elaboração de filme ativo de acetato celulose foram descontinuados do trabalho e não são recomendadas para utilização.

Os valores das concentrações dos ácidos graxos encontrados nas amostras são descritos na Tabela 1

Tabela 1. Ácidos graxos [$\mu\text{g/mL}$] obtidos nos três filmes incorporados de ômega-3 (A)1,00 g (B)1,25 g e (C)1,50 g

Ácido Graxo	Concentração [$\mu\text{g/mL}$]		
	A	B	C
C12 – Ác Palmítico	1,39	1,16	0,68
C14 – Heptadecanóico	-	-	0,26
C16 – Ác Esteárico	0,61	0,57	-
C18 - Ác. Oleico	4,51	3,72	2,94
C19 – Ác. Linolelaídico	0,50	0,40	0,71
C20 – Ác. Linoleico	1,15	1,02	0,45
C22 - Ác. Gama Linolênico	0,28	-	1,02
C30 - EPA -	2,5	-	-
C33 - DHA -	1,89	2,06	3,80

Os valores dos ácidos graxos precursores do ômega-3 (C22 , C30 , C33) das amostras de 1,00 / 1,25 e 1,50 g foram, respectivamente: 4,42 µg/mL , 2,06 µg/mL , 4,82 µg/mL.

Considerando-se que a difusão no meio simulante seja igual na matriz alimentícia, cada mL tem 11,30 µg. Em uma média (1,00/1,25 /1,50 = 1,25 g) de ômega-3 nas fitas ativas, migrado para o iogurte, conteria em cada mL, 9,04 µg de ômega-3. Sendo necessário, assim, para se obter 1 g de ômega-3 (dosagem diária recomendada), ingerir 110 L de iogurte suplementado. Nesse caso se tornou inviável a ingestão de toda essa quantidade para se ter o efeito de suplementação diária recomendada do ômega-3.

Constatou-se que a quantidade que difundiu não foi representativa para que, com o consumo diário de dois potes de iogurte, o consumidor recebesse a dose recomendada pela ANVISA de 1 g por dia de EPA /DHA, servindo como alimento funcional, no que tange a necessidade de ômega-3 diária para servir como prevenção de doenças crônicas por deficiência desse ácido graxo.

5.5. Avaliação sensorial

Os resultados encontrados foram: O provador para gostei extremamente, 08 provadores para gostei muito, 25 para gostei moderadamente, 10 para gostei ligeiramente, 05 para Indiferente e para desgostei ligeiramente, 02 para desgostei muito, e 00 para desgostei extremamente. Resultando assim, em 86 % aceitação (Figura 7).

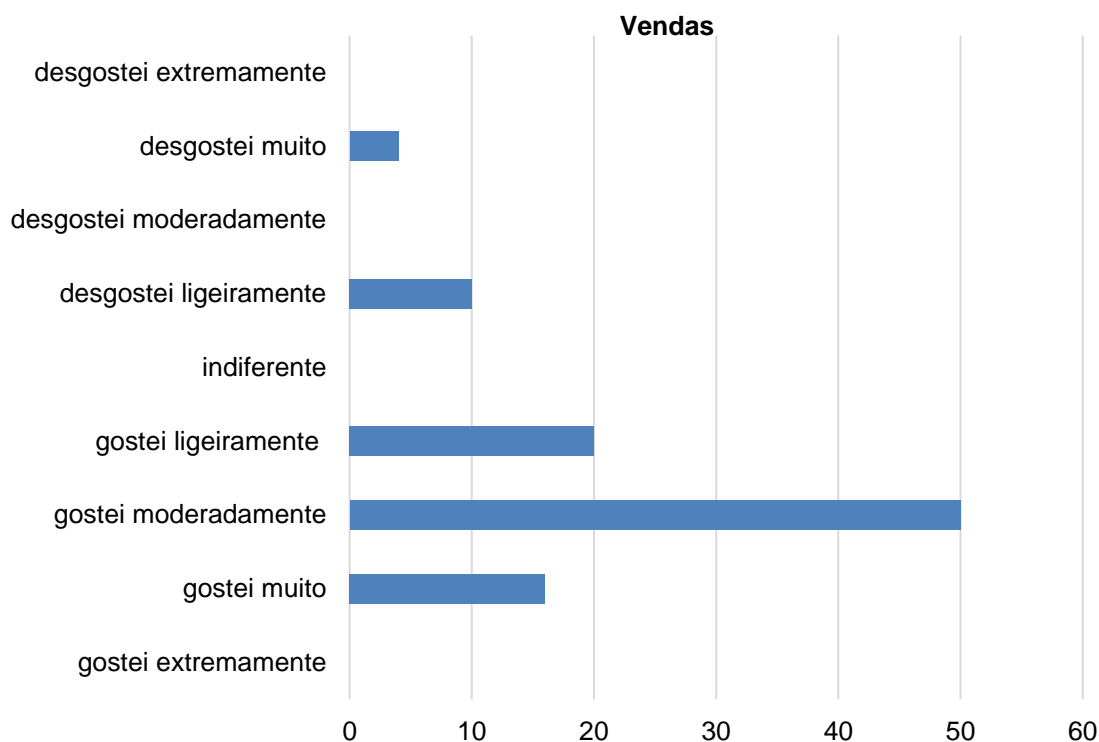


Figura 7. Teste de aceitação do iogurte morango enriquecido com ômega-3, por meio da fita ativa.

6. CONCLUSÕES

A fita ativa de acetato de celulose incorporada com ômega-3 em diferentes concentrações permaneceu íntegra, após ser introduzida no iogurte desnatado sabor morango.

A utilização do Tween 80 não gerou efeito positivo na estrutura dos filmes produzidos.

Filmes contendo acima de 1,25 g de ômega-3 não são recomendados.

A adição do glicerol (10 %) nos filmes ativos promoveu difusão de ômega-3 (DHA/EPA e ácido linolênico) para o meio simulante.

Iogurte desnatado sabor morango enriquecido de ômega-3 por meio da fita ativa, teve 86 % de aceitação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.; WELLER, C.L.; HANNA, M.A.; FRONING, G.W.; Mechanical and barrier properties of GENNADIOS, egg albumen films. **Journal of Food Science**, v. 61, n.3, p.585-589, 1996.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. **Peixes e ômega-3 ácidos graxos: recomendação AHA Site AHA**. Disponível em:< <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identificador=4632>>. Acessado em: 14 de julho, 2006.

ANDRADE, M.M.; CARMO.; M.G.T.; Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanoides, inflamação e imunidade. **Revista MN – Metabólica**, v.8, n.3, p.135-43, 2006.

ARRUDA, P.P; RODRIGUES, R.C; FELIPE, M.G.; Glicerol: um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. **Revista Analytica**, n.26, p. 56-62, 2006.

aterosclerose. *Rev. Bras. Cardiol.*; n.1, p. 92-133, 2001. Disponível em: <<http://www.drashirleydecampos.com>>.

BALK, E.M.; LICHTENSTEIN, A.H.; CHUNG, M.; KUPELNICK, B.; CHEW, P. J.; Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a systematic review. **Atherosclerosis**. v.189, n.1, p.19-30, 2006.

[br/imprimir.php?noticiaid=23033](http://www.drashirleydecampos.com.br/imprimir.php?noticiaid=23033)>. Acesso em: 23 dez. 2011.

BRANDÃO, P.A.; COSTA, F.C.P.; BARROS, L.R.; NASCIMENTO, G.A.J.; Ácidos graxos e colesterol na alimentação humana. **Agropecuária Técnica**, v.26, n.1, p.5-14, 2005.

BRASIL, **Instrução Normativa nº 46**, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Brasília: DF, 2007. Disponível em :<[Http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/instru%C3%87%C3%83o-normativa-n%C2%BA-46-de-23-de-outubro-de-2007.pdf](http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/instru%C3%87%C3%83o-normativa-n%C2%BA-46-de-23-de-outubro-de-2007.pdf)> Acessado em 05 março de 2016.

BRASIL, INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62 de 26 de agosto de 2003. **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Brasília, 2003. Disponível em: < <https://www.diariodasleis.com.br/busca/exibelink.php?numlink=1-77-23-2007-06-12-28>>. Acessado em 02 de fevereiro, 2016.

BRASIL; **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: DF, 2008. Disponível em

:<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>
Acessado em 05 março de 2016.

BRESSAN, J.; COSTA, A.G.V.; Componentes alimentares de ação potencial na modulação da composição corporal e controle do apetite. In: COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.B.; **Alimentos funcionais - Benefícios para Saúde**, 2008, 298p

CARMO, M.C.N.; CORREIA, M.I.T.D.; A Importância dos Ácidos Graxos Ômega-3 no Câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 55, n.3, p. 279-287, 2009.

ENGLER, M.M.; ENGLER M.B.; Omega-3 fatty acids: Role in cardiovascular health and disease.; **J Cardio Vasc Nurs**; v. 21, n.1,p. 17-24, 2006.

FISHMAN, M.L.; COFFIN, D.R.; KONSTANCE, R.P.; ONWULATA, C.I.; Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol. **Carbohydrate Polymers**, v.41, n.4, p.317–325, 2000.

HEASMAN, M.& MELLENTIN, J.; The Functional Foods Revolution **Healthy People, Healthy Profits?** London: Earthscan. 2001

HOOPER, L.; THOMPSON, R.L.; HARRISON, R.A.; SUMMERBELL, C.D.; MOORE, H.J.; WORTHINGTON, H.V.; DURRINGTON, P.N.; HIGGINS, J.P.T.; RIEMERSMA, R.A.; EBRAHIM, S.B.J; SMITH, G.D.; Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review, **BMJ**, v.332, n. 7544 , p.752-760, 2007.

HU, F.B; BRONER, L.; WILLETT.; STAMPFER, M.J.; REXODRE, K.M.; ALBERT, C.M.; HUNTER, D.; MANSON, J.E.; Fish and Omega-3 Fatty Acid Intake and Risk of Coronary Heart Disease in Women, **JAMA**, v.287, n.14, p.1815-1821, 2002.

KIM, D.N.; EASTMAN, A.; BAKER, J.E.; MASTRANGELO, A.; SETHI, S.; ROSS, J.S.; SCHMEE, J.; THOMAS, W.A.; Fish oil, atherogenesis, and thrombogenesis. **Ann N Y Academic Science**. v.478, n.748, p.474–480. 1995.

LEE, C.H.; LEE, S.C.; PARK, H.J.; LEE, D.S. ; A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging material incorporating nisin and a-tocopherol. **Journal of Food Engineering**, v.62, n.4, p.323-329, 2004.

LÚCIO, L; SILVEIRA, M.; TAKEUCHI, K.; MOURA, C.; **Uso de filmes ativos antimicrobianos incorporados com óleo essencial de orégano (Origanum vulgare L.) na conservação de massa fresca**. Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, UFG. Disponível em: http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pibic/trabalhos/LISIA_MA.PDF>
Acesso em: 15 mar. 2012

MARTINS, R. S.; SANTOS, C. V.; TEIXEIRA, S. R.; **Alterações da rede logística e expansão do mercado de leite longa vida no Brasil**. Disponível em: http://www.madainoticias.com.br/ma_atualidades20.htm>. Acesso em: 15

março 2004

MEIER, R.; LOCHS, H.; Pre- and probiotics; **Ther Umsch**, v.64, n3: p.161-9

MEIRA, V.C.R.S.; Preparação e caracterização de filmes de amido modificado por reticulação, acetilação e com adição de lipídio e celulose bacteriana. Tese de Doutorado. Universidade Federal De Santa Catarina Centro, Florianópolis, SC, 199p., 2012.

MINIM, V.P.R.; **Análise Sensorial Estudos com Consumidores**, Editora UFV, 3 edição, 332p., 2013.

MORAES, F. P; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde.

MOTA, C.J.A, Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da Glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v.32, n.3, p. 639-648, 2009.

NETO, L.G.G., Influência do tratamento UAT no valor nutritivo do leite. **Leite e derivados**. São Paulo, v.12, n.67, p.36-39, 2002.

NIELSEN, A.C. **Os alimentos funcionais: a nova fronteira da indústria alimentar**. Disponível em:<<http://www.acnielsen.com.br>. Acessado em: 21.jun.2007.

NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D. A. A importância dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. Revista Salus-Guarapuava, Paraná, v. 2, n. 1, Jan./Jun. 2008. Disponível em: <<http://revistas.unicentro.br/index.php/salus/article/viewFile/694/825>>. Acesso em: 01 set. 2011

OLIVEIRA, D.; FERNANDES, D. 2004. Revolução na mesa. **Isto é Dinheiro**, São Paulo, 21.jan. Disponível em :<http://www.terra.com.br/istoedinheiro/333/negocios/333_revolucao_mesa.htm>. Acesso em: 16.mar.2008.

OLIVEIRA, S.P. Alimentos Funcionais: Aspectos Relacionados ao Consumo. **Rev Food Ingredients**. 2002; v.20.

PUC-RIO – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. **Polímeros: introdução e conceitos fundamentais**, 2010. Disponível em: <http://www2.dbd.puc-ucriobr/pergamum/tesesabertas/0312428_05_cap_02.pdf>. Acesso em: 02 jun 2011

Revista Eletrônica de Farmácia, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

ROSE, D.P.; CONNOLY, J.M., RAYBURN, J.; COLEMAN, M. Influence of diets containing eicosapentaenoic or docosahexaenoic acid on growth and metastasis of breast cancer cells in nude mice. **Journal of the National Cancer Institute**, v.87, p.587-592, 1995.

SOARES, N.F.F.; SILVA, W.A.; PIRES, A. C. S; CAMILLOTO, G.P.; SILVA, P.S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, v.56, n.4, p.370-378, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz para Prevenção de Aterosclerose do Departamento de STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, T.T.; GOMES, R. C. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, v.43, n. 2, p. 181-194, 2007a

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHERE, F.; DEVEBERE, J.; Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. **Food Additives and Contaminants**, v.19, n.1, p.163-171, 2002.

WAITZBERG, D.L.; Ômega-3: o que existe de concreto, São Paulo: Nutrilite, 2007. Disponível em:<http://www.amway.com.br/downloads/misc/monografia_omega3.pdf>.Acesso em: 7 março. 2016.

YEHUDA, S.; RABINOVITZ, S.; CARASSO, R L.; MOSTOFSKY, DI.; The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. **Neurobiology Aging**. v.23, n.5, p.843-53, 2002.

YUNG, A.R.; PHILLIPS, L.J.; MCGORRY, P.D.; Treating schizophrenia in the prodromal phase. **Curr Top Behav Neurosci.**, v. 4, p. 97–121, 2010.

ZANCAN, K. C.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO₂ and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. *Journal of Supercritical Fluids*, 24, 57-76, 2002.

APÊNDICE I

Padrão de áreas e padrão Supelco dos Ácidos Graxos

GC Postrun (Admin) - [Data Analysis - PADRÃO INSATURADO.gc.d Line1 Channel1 FID1]

Method - Peak Integration Parameters

Integration Quantitative Compound Group Performance

Width: 3 sec
Slope: 438.528 uV/min
Drift: 0 uV/min
T. DBL: 1000 min
Min. Area/Height: 1000 counts

Peak#	Compound Name	Ret. Time	Compound ID#	Area	Area%
10		21.625	10	152615.3	2.0542
11		23.826	11	155628.8	1.9551
12		24.127	12	497870.2	6.2545
13		26.025	13	137131.8	1.7227
14		26.655	14	119587.3	1.5023
15		28.618	15	129701.4	1.6234
16		29.237	16	236693.8	2.9735
17		30.467	17	104666.4	1.3449
18		31.007	18	270831.4	3.4023
19		32.350	19	105834.8	1.3296
20		33.493	20	110888.6	1.3930
21		34.454	21	234213.6	2.9423
22		35.422	22	117316.7	1.4738
23		36.095	23	100429.0	1.2616
24		36.302	24	117627.9	1.4777
25		37.077	25	119529.9	1.5016
26		38.814	26	92736.2	1.1650
27		39.964	27	266711.7	3.3506
28		40.977	28	95242.7	1.1965
29		41.774	29	88934.9	1.1172
30		42.215	30	95686.6	1.2021
31		42.775	31	116362.4	1.4686
32		42.927	32	116088.8	1.4584
33		44.935	33	85630.3	1.0745
34		46.427	34	311328.5	3.9111
35		46.876	35	93170.3	1.1705
36		48.599	36	85868.0	1.0787

Supelco™ 37 Component FAME Mix, 100mg Neat
Catalog No. 18919-1AMP

This fatty acid methyl ester (FAME) mixture is carefully prepared by weight. The weight percentage of each component is indicated.

Column: SP™-2560, 100m x 0.25mm ID, 0.20µm film
Cat. No.: 24056
Oven: 140°C (5 min) to 240°C at 4°C/min
Carrier: helium, 20cm/sec
Det.: FID, 260°C
Inj.: 1µL, 260°C, split 100:1
Sample: Dilute to 10mg/mL in methylene chloride

Component	Weight %
1. Butyric Acid Methyl Ester (C4:0)	4%
2. Caproic Acid Methyl Ester (C6:0)	4%
3. Caprylic Acid Methyl Ester (C8:0)	4%
4. Capric Acid Methyl Ester (C10:0)	4%
5. Undecanoic Acid Methyl Ester (C11:0)	2%
6. Lauric Acid Methyl Ester (C12:0)	4%
7. Tridecanoic Acid Methyl Ester (C13:0)	2%
8. Myristic Acid Methyl Ester (C14:0)	4%
9. Myristoleic Acid Methyl Ester (C14:1)	2%
10. Pentadecanoic Acid Methyl Ester (C15:0)	2%
11. cis-10-Pentadecanoic Acid Methyl Ester (C15:1)	2%
12. Palmitic Acid Methyl Ester (C16:0)	6%
13. Palmitoleic Acid Methyl Ester (C16:1)	2%
14. Heptadecanoic Acid Methyl Ester (C17:0)	2%
15. cis-10-Heptadecanoic Acid Methyl Ester (C17:1)	2%
16. Stearic Acid Methyl Ester (C18:0)	4%
17. Elaidic Acid Methyl Ester (C18:1n9t)	2%
18. Oleic Acid Methyl Ester (C18:1n9c)	4%
19. Linolelaic Acid Methyl Ester (C18:2n6t)	2%
20. Linoleic Acid Methyl Ester (C18:2n6c)	2%
21. Arachidic Acid Methyl Ester (C20:0)	4%
22. s-Linolenic Acid Methyl Ester (C18:3n6)	2%
23. cis-11-Eicosanoic Acid Methyl Ester (C20:1)	2%
24. Linolenic Acid Methyl Ester (C18:3n3)	2%
25. Heneicosanoic Acid Methyl Ester (C21:0)	2%
26. cis-11,14-Eicosadienoic Acid Methyl Ester (C20:2)	2%
27. Behenic Acid Methyl Ester (C22:0)	4%
28. cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester (C20:3n6)	2%
29. Erucic Acid Methyl Ester (C22:1n9)	2%
30. cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester (C20:3n3)	2%
31. Arachidonic Acid Methyl Ester (C20:4n6)	2%
32. Tricosanoic Acid Methyl Ester (C23:0)	2%
33. cis-13,16-Docosadienoic Acid Methyl Ester (C22:2)	2%
34. Lignoceric Acid Methyl Ester (C24:0)	4%
35. cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid Methyl Ester (C20:5n3)	2%
36. Nervonic Acid Methyl Ester (C24:1)	2%
37. cis-4,7,10,13,16,19-Doosahexaenoic Acid Methyl Ester (C22:6n3)	2%

CROMATOGRAMAS DOS FILMES ATIVOS

