

MARINA CARVALHO MARTINS MADALÃO

**EMULSÃO A/O/A PARA O CARREAMENTO DE CÁLCIO E VITAMINA D E SEU
IMPACTO NA QUALIDADE SENSORIAL DE PATÊ DE SOJA**

Tese 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 *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Valéria Paula Rodrigues Mnim

Coorientadores: Luis Antonio Minim
Andréa Alves Simiqueli

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M178e
2022

Madalão, Marina Carvalho Martins, 1989-

Emulsão A/O/A para o carreamento de cálcio e vitamina D e seu impacto na qualidade sensorial de patê de soja / Marina Carvalho Martins Madalão. – Viçosa, MG, 2022.

1 tese eletrônica (64 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Orientador: Valéria Paula Rodrigues Minim.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.484> Modo de
acesso: World Wide Web.

1. Patês (Culinária). 2. Avaliação sensorial. 3. Emulsão.
4. Vitamina D. 5. Cálcio. I. Minim, Valéria Paula Rodrigues,
1961-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

CDD 22. ed. 641.812

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552

MARINA CARVALHO MARTINS MADALÃO

**EMULSÃO A/O/A PARA O CARREAMENTO DE CÁLCIO E VITAMINA D E
SEU IMPACTO NA QUALIDADE SENSORIAL DE PATÊ DE SOJA**

Tese 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 *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 15 de junho de 2022.

Assentimento:

Marina Carvalho Martins Madalão
Marina Carvalho Martins Madalão
Autora


Valéria Paula Rodrigues Minim
Orientadora

Aos meus pais, Pedro e Maria das Graças, aos
meus irmãos Mariana e Vitor, ao meu marido
João Carlos e ao meu filho Rafael

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que me proporcionou a vida, iluminou o meu caminho durante esta caminhada e me deu força nos momentos mais difíceis.

Aos meus amados pais Pedro e Maria das Graças pela educação, amor e incentivo. Vocês foram fundamentais nessa caminhada!

Aos meus irmãos Mariana e Vitor, e aos cunhados Fernando e Bianca pelo exemplo de vida, carinho, incentivo e amizade.

A minha sobrinha Fernanda, pelo amor, carinho e alegria... obrigada por renovar minhas forças sempre que encontramos.

Agradeço ao meu querido marido João Carlos que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades e por sempre acreditar no meu potencial.

Ao meu filho Rafael, que mesmo antes de nascer, me ensinou o que é o amor incondicional.

A todos os integrantes do Laboratório de Propriedades Tecnológicas e Sensoriais dos Alimentos da UFV de 2017 a 2022, pelo companheirismo, amizade e apoio nas análises.

À Alice e ao Alexandre, queridos amigos, pela acolhida, amizade e apoio.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade e formação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À professora DSc. Valéria Paula Rodrigues Minim, pela orientação, oportunidade, confiança, dedicação e ensinamentos que sem dúvida, foram fundamentais para mais essa etapa de minha vida.

Ao professor DSc. Luis Antonio Minim pela coorientação e por me permitir utilizar o seu laboratório.

À professora DSc Andréa Alves Simiqueli pela coorientação.

À professora DSc Márcia Vidigal pelas sugestões valiosas na execução do estudo.

Ao professor DSc Sérgio Henrique Saraiva pelo auxílio nas análises estatísticas.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFV pelo conhecimento transmitido.

À equipe do laboratório de embalagens, em especial a Laís Batista, Alane Rafaela e Clara Suprani pela disponibilidade, acolhida, apoio e amizade.

Aos integrantes dos Laboratórios de Desenvolvimento e Simulação de Processos, Bioagro e de solos da UFV pela parceria, apoio e disponibilidade.

Aos professores DSc. Andréa Alves Simiqueli, Luis Antonio Minim, Suzana Maria Della Lucia e Sérgio Henriques Saraiva, pela gentileza de participarem da banca examinadora e também pelas sugestões apresentadas para melhoria deste trabalho.

BIOGRAFIA

MARINA CARVALHO MARTINS MADALÃO, filha de Pedro Alexandrino Martins e Maria das Graças de Carvalho Martins, nasceu em Timóteo, Minas Gerais, no dia 20 de setembro de 1989.

Em março de 2014 graduou-se em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Espírito Santo, em Alegre, Espírito Santo.

Em fevereiro de 2016 tornou-se mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Espírito Santo

Em julho de 2017 iniciou o curso de doutorado no programa de pós graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Viçosa – MG, submetendo-se a defesa em junho de 2022.

RESUMO

MADALÃO, Marina Carvalho Martins, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2022. **Emulsão A/O/A para o carregamento de cálcio e vitamina D e seu impacto na qualidade sensorial de patê de soja.** Orientadora: Valéria Paula Rodrigues Minim. Coorientadores: Luis Antonio Minim e Andréa Alves Simiqueli.

A deficiência de cálcio e vitamina D é um problema global e tem sido associada a diversas doenças. Dessa forma, a fortificação de alimentos com esses nutrientes é uma estratégia para reduzir esse problema. Emulsão dupla é um sistema carreador promissor para viabilizar o processo de fortificação, pois protege a vitamina D da oxidação e o cálcio de interações com proteínas da soja. Objetivou-se com este trabalho produzir emulsões duplas do tipo $A_i/O/A_e$ carreadoras de vitamina D e cálcio. Foi avaliada a influência da proporção de fase aquosa (A_i/A_e - 10/60; 15/55 e 20/70) e da concentração de emulsificante polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) (2,0, 2,5 e 3,0% m/m) na estabilidade cinética das emulsões ao longo de 13 dias de armazenamento. Para isso, foram analisados: potencial zeta, propriedades reológicas (curva de escoamento e viscoelasticidade), eficiência do aprisionamento (EA) e estabilidade cinética (EC) da localização do cálcio, pH, microestrutura e estabilidade macroscópica das emulsões A/O/A, bem como a tensão interfacial das emulsões primárias (A_i/O). A emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D de melhor desempenho em relação ao aprisionamento de cálcio foi adicionada ao patê de soja. Avaliou-se a aceitação dos patês com adição de emulsão dupla carreadora de cálcio e vitamina D e sem adição dos nutrientes (patê controle), antes e após fornecer aos consumidores a informação sobre a adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde. Foi observada estrutura de emulsão dupla em todos os tratamentos. O potencial zeta das emulsões A/O/A não foi influenciado pelas variáveis em estudo e variou entre - 5,068 mV e - 6,548 mV. Apesar do baixo valor, as emulsões permaneceram estáveis durante 13 dias de armazenamento. As emulsões foram caracterizadas como fluido não newtoniano (pseudoplástico) e indicaram predominância do caráter elástico. Os valores de pH das emulsões variaram de 7,17 a 7,37, tendo sido observado maior valor de pH nas emulsões com proporções de água (15/55), aliado à maior concentração de emulsificante (3,0% m/m). Todos os

tratamentos apresentaram EA de cálcio superior a 90% e EC superior a 75%. Os tratamentos contendo proporção de fase aquosa 10/60 apresentaram maior EA (próximo a 95%) e EC da localização do cálcio (próximo a 90%), independente da concentração de PGPR. Assim, a emulsão A/O/A contendo proporção de fase aquosa de 10/60 e concentração de PGPR 2,0% (tratamento 1) foi selecionada para carrear cálcio e vitamina D no patê de soja. Foi possível adicionar 40% de emulsão no patê. Isso faz com que o produto seja classificado como “adicionado” de cálcio e “enriquecido” com vitamina D, de acordo com a legislação. Assim, conclui-se que é possível utilizar emulsão dupla do tipo A/O/A para carrear cálcio e vitamina D em patê de soja, aumentando a aceitação do produto, principalmente após informar os consumidores sobre a adição dos nutrientes e seus benefícios à saúde.

Palavras-chave: Emulsão dupla. Nutrientes. Estabilidade cinética. Aceitação.

ABSTRACT

MADALÃO, Marina Carvalho Martins, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2022. **W/O/W emulsion for calcium and vitamin D carrying and its impact on the sensory quality of soy pâté.** Advisor: Valéria Paula Rodrigues Minim. Co-advisors: Luis Antonio Minim and Andréa Alves Simiqueli.

Calcium and vitamin D deficiency is a global problem linked to several diseases. Thus, fortifying foods with these nutrients is a strategy to reduce this problem. Double emulsions are a promising carrier system for the fortification process, as they protect vitamin D from oxidation and calcium from interactions with soy proteins. This work aimed to produce double emulsions of the Ai/O/Ae type carrying vitamin D and calcium. The influence of the aqueous phase proportion (Ai/Ae - 10/60; 15/55 and 20/70) and the concentration of polyglycerol polyricinoleate (PGPR) emulsifier (2.0, 2.5, and 3.0% m/m) on the kinetic stability of the emulsions over 13 days of storage. For this, the following were analyzed: zeta potential, rheological properties (flow curve and viscoelasticity), trapping efficiency (EA) and kinetic stability (EC) of calcium localization, pH, microstructure, and macroscopic stability of W/O/W emulsions, as well as the interfacial tension of the primary emulsions (Ai/O). The W/O/W emulsion carrying calcium and vitamin D with the best performance concerning calcium trapping was added to the soy pâté. The acceptance of pâtés with the addition of a double emulsion carrying calcium and vitamin D and without the addition of nutrients (control pate) was evaluated before and after, providing consumers with information about the addition of calcium and vitamin D and their health benefits. A double emulsion structure was observed in all treatments. The zeta potential of W/O/W emulsions was not influenced by the variables under study and varied between -5.068 mV and -6.548 mV. Despite the low value, the emulsions remained stable for 13 days of storage. The emulsions were characterized as non-Newtonian fluid (pseudoplastic) and indicated a predominance of the elastic character. The pH values of the emulsions ranged from 7.17 to 7.37, with a higher pH value being observed in emulsions with proportions of water (15/55), combined with a higher concentration of emulsifier (3.0% m/m). All treatments presented calcium AE greater than 90% and EC greater

than 75%. Treatments containing a 10/60 aqueous phase ratio showed higher EA (close to 95%) and EC of calcium localization (close to 90%), regardless of PGPR concentration. Thus, the W/O/W emulsion containing an aqueous phase ratio of 10/60 and a concentration of PGPR 2.0% (treatment 1) was selected to carry calcium and vitamin D in the soy pâté. It was possible to add 40% of emulsion to the pâté. This makes the product classified as “added” for calcium and “enriched” with vitamin D, according to the legislation. Thus, it is concluded that it is possible to use a double emulsion of the W/O/W type to carry calcium and vitamin D in soy pâté, increasing the acceptance of the product, especially after informing consumers about the addition of nutrients and their health benefits.

Keywords: Double emulsion. Nutrients. Kinetic stability. Acceptance.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos obtidos a partir das combinações dos níveis de proporção entre as fases aquosas interna e externa (Ai/Ae) e a concentração de PGPR.	23
Tabela 2. Medidas de cor dos patês controle e adicionado de cálcio e enriquecido com vitamina D.	53
Tabela 3. Médias de aceitação dos patês de soja, controle e adicionado de emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D, nas sessões cega e com informação	55
Tabela 4. ANOVA geral para as variáveis pH, potencial zeta, viscosidade aparente e aprisionamento de cálcio.	60
Tabela 5. Comparação das emulsões duplas com a emulsão controle por meio do teste de Dunnet.	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação das emulsões duplas (tratamento de 1 a 9) e simples (tratamento controle).....	24
Figura 2. Imagens de microscopia de luz das emulsões duplas A/O/A (A) e da emulsão simples A/O (B) com o aumento de 1000X no tempo de armazenamento de 1 dia.	29
Figura 3. Gráfico de gradiente para viscosidade aparente em função da proporção de água e da concentração de PGPR.	31
Figura 4. Viscosidade aparente das emulsões ao longo do tempo de armazenamento de 13 dias.	32
Figura 5. Valores médios dos módulos de viscoelasticidade (G' e G'') e T_g das emulsões em função da frequência, a 25 °C.	34
Figura 6. Gráfico de gradiente para o pH das emulsões duplas.	35
Figura 7. Eficiência de aprisionamento (EA) e estabilidade cinética (EC) da localização do cálcio ao longo do tempo de armazenamento (dias) expresso em porcentagem de Ca^{2+} presente na fase aquosa interna.	37
Figura 8. Fotografia das emulsões duplas e controle nos tempos 1 e 13 dias de armazenamento.	38
Figura 9. Perfis de decaimento de tensão interfacial dos sistemas que compõem as emulsões primárias Ai/O nas diferentes proporções de fase aquosa.	40
Figura 10. Informativo sobre os benefícios do cálcio e vitamina D.	51
Figura 11. Diagrama de Pareto para os efeitos lineares, quadráticos e de interação para potencial zeta.	61
Figura 12. Diagrama de Pareto para os efeitos lineares, quadráticos e de interação para viscosidade aparente	62
Figura 13. Diagrama de Pareto para os efeitos lineares, quadráticos e de interação para pH. .	63
Figura 14. Diagrama de Pareto para os efeitos lineares, quadráticos e de interação para aprisionamento de cálcio.	64

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
1 INTRODUÇÃO.....	21
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
2.1 Materiais	22
2.2 Delineamento experimental	23
2.3 Preparo das emulsões.....	24
2.3.1 Preparo da emulsão A_i/O	25
2.3.2 Preparo da emulsão $A_i/O/A_e$	25
2.4 Análise e caracterização instrumental das emulsões duplas.....	26
2.4.1 Microestrutura	26
2.4.2 Potencial Zeta.....	26
2.4.3 Propriedades Reológicas	26
2.4.4 pH.....	27
2.4.5 Eficiência do aprisionamento e estabilidade cinética da localização do cálcio	27
2.4.6 Estabilidade macroscópica	28
2.5 Tensão interfacial.....	28
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
3.1 Microestrutura.....	28
3.2 Potencial Zeta	29
3.3 Propriedades Reológicas.....	30
3.4 pH	34
3.5 Eficiência do aprisionamento e estabilidade cinética da localização do cálcio.....	36
3.6 Estabilidade macroscópica.....	37
3.7 Tensão interfacial.....	38
4 CONCLUSÃO.....	40
5 REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO.....	44
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
2.1 Materiais	46
2.2 Preparo da emulsão A/O/A.....	47
2.3 Preparo dos patês	48
2.4 Caracterização instrumental dos patês.....	48
2.4.1 Eficiência de aprisionamento de cálcio.....	48
2.4.2 pH.....	49
2.4.3 Cor.....	49
2.5 Avaliação da influência da informação sobre adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde na aceitação do patê de soja	50
2.5.1 Consumidores.....	50
2.5.2. Teste de aceitação - Sessão Cega.....	50
2.5.3. Teste de aceitação - Sessão com informação	51
2.5.4 Análise estatística	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
3.1 Caracterização dos patês.....	52
3.1.1 Cor.....	52
3.1.2 Eficiência do aprisionamento de cálcio.....	53
3.1.3 pH.....	54
3.2 Avaliação da influência da informação sobre adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde na aceitação do patê de soja	54
4 CONCLUSÃO.....	56
5 REFERÊNCIAS	56
CONCLUSÃO GERAL	59
Material suplementar	60

INTRODUÇÃO GERAL

O cálcio é um macromineral que desempenha importantes funções no organismo. Sua principal fonte é o leite, seguido de vegetais e frutas. Baixos níveis séricos de cálcio no organismo têm sido associados a doenças como: osteoporose (Bae et al., 2022; Shen et al., 2021; Taylor & Elbadawy, 2006), osteomalácia (Taylor & Elbadawy, 2006), hipertensão (Potje et al., 2021), obesidade (Feng et al., 2021; Hastert et al., 2021), raquitismo (Mays & Brickley, 2022), enfraquecimento dos dentes e redução da capacidade de coagulação do sangue (Meschino, 2002).

A vitamina D se divide em duas categorias: colecalciferol (D_3) e ergocalciferol (D_2). A D_2 é obtida principalmente na dieta, por meio de alimentos como leite, ovos e cogumelos (Khan et al., 2022). A D_3 é sintetizada pela pele, quando exposta à radiação ultravioleta da luz solar (Jiang et al., 2018). A ingestão dietética de vitamina D_2 é inferior às necessidades diárias de reposição, sendo, portanto, a D_3 a principal fonte de vitamina D (Bouillon & Carmeliet, 2018). Sabe-se que a vitamina D exerce função essencial na saúde humana, devido à sua ação na função imunológica, proliferação celular, diferenciação e apoptose (Jiang et al., 2018). Assim, a carência dessa vitamina tem sido relacionada a diversas implicações na saúde, como doenças ósseas (Hou et al., 2018), cardiovasculares (Janjusevic et al., 2022; Soh et al., 2021), autoimunes, câncer, entre outras (Jiang et al., 2018).

Um fator importante a ser considerado é o efeito sinérgico do cálcio e da vitamina D. Os metabolismos de ambos os compostos estão intimamente relacionados. Isso ocorre porque a homeostase de cálcio é regulada, principalmente, pelo hormônio paratireoideiano (PTH) e pela 1,25-di-hidroxitamina D [$1,25(OH)_2D$], que é a forma ativa da vitamina D (Bacchetta et al., 2022; Jiang et al., 2018; Weaver & Fleet, 2004).

Apesar de os benefícios do cálcio e da vitamina D serem muito difundidos, a deficiência desses compostos ainda é muito comum em parte da população devido à baixa ingestão de alimentos ricos em cálcio e vitamina D. Como os produtos lácteos são as maiores fontes de cálcio, indivíduos intolerantes à lactose, alérgicos ao leite, veganos ou que por outros motivos não consomem produtos lácteos são os mais suscetíveis às doenças, uma vez que o cálcio proveniente de fontes não lácteas tem sua disponibilidade afetada pela presença de ácido oxálico, fítico e fibras (Fulgoni et al., 2011). Outro fator que deve ser considerado é a baixa exposição dos indivíduos à luz solar, em razão das doenças associadas à incidência dos raios ultravioleta, como o câncer de pele, que tem levado a população a intensificar o uso de protetor

solar. De acordo com Lichtenstein et al. (2013), a utilização de filtro solar reduz no mínimo 95% da produção de vitamina D. Assim, considerando a ingestão inadequada de cálcio e vitamina D e a baixa exposição à luz solar, surge a necessidade de estratégias baseadas na produção de alimentos enriquecidos com esses compostos.

Diversos aspectos devem ser considerados no processo de fortificação de alimentos, de forma que a adição do nutriente seja realizada sem alterar as características finais e a qualidade sensorial do produto. A vitamina D, por se tratar de um composto lipossolúvel, é suscetível à oxidação, podendo conferir sabor desagradável ao produto. E os sais de cálcio podem interagir com as proteínas da soja, promovendo a coagulação destas (Casé et al., 2005). Assim, tecnologias para incorporação de nutrientes em alimentos precisam ser estudadas, entre as quais se destaca a emulsão dupla.

Emulsões duplas são conhecidas como “emulsão de emulsão”. Os tipos mais comuns são: A/O/A, quando gotículas de água são dispersas dentro de gotas de óleo presente em uma outra fase aquosa; e O/A/O, quando gotículas de óleo estão dispersas dentro de gotas de água presentes em outra fase oleosa (Heidari et al., 2022; Sonakpuriya et al., 2013; Pal, 2011; Muschiolik, 2007). Esse sistema de dispersão vem sendo amplamente estudado nos últimos anos, nas áreas de alimentos, cosméticos e farmacêutica. Por meio desse sistema é possível reduzir o teor de gordura (Rakshit & Srivastav, 2022; Kumar & Kumar, 2022; Serdaroğlu & Urgu, 2016), proteger e controlar a liberação de ingredientes (Teixé-Roig et al., 2022; Jo & Van der Schaaf, 2021) e prevenir a oxidação de compostos (Serdaroğlu & Urgu, 2016). Além disso, por possuir fases com características distintas, permite incorporar em sua estrutura compostos hidrofílicos e lipofílicos (Rincón-Fontán et al., 2019; Shaddel et al., 2018; Marino et al., 2017; Márquez & Wagner, 2010). Isso faz desse sistema uma alternativa de viabilizar a fortificação de nutrientes (Simiqueli et al., 2019a; Simiqueli et al., 2019b), como cálcio e vitamina D em alimentos, visto que protege a vitamina D da oxidação e impede a interação do cálcio com proteínas da matriz alimentar, mantendo a estabilidade do sistema.

Emulsão dupla tem sido aliada aos estudos de sensorial, pois é uma estratégia tecnológica que pode ser utilizada tanto para mascarar sabor desagradável do produto, decorrente da adição de algum composto (Simiqueli, et al., 2019ab), quanto para realçar o sabor, permitindo reduzir a inserção de compostos maléficis à saúde, como o sal (Paula, et al., 2017).

No processo de aceitação de produtos pelos consumidores, além das características sensoriais, também são levadas em consideração as características não sensoriais. Estas características podem estar associadas ao produto, como, por exemplo: conveniência, utilidade

e praticidade, origem, tipo e tecnologia de produção, marca, valor nutritivo, segurança e estabilidade do produto. Ou podem estar relacionadas aos consumidores, como: idade, sexo, conceitos étnicos, culturais e religiosos, renda familiar e preocupação com a saúde (Minim, 2018). É, portanto, necessário considerar os dois aspectos na avaliação sensorial para obter resultados mais consistentes sobre o comportamento do consumidor.

Nesse contexto, objetivou-se neste estudo avaliar: a influência da proporção de fase aquosa (Ai/Ae) e da concentração de emulsificante (PGPR) na produção de emulsões duplas do tipo A/O/A carreadoras de cálcio e vitamina D; a estabilidade cinética dos sistemas ao longo de 13 dias de armazenamento; e, por fim, a influência da informação sobre a adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde na aceitação de patê de soja adicionado da emulsão A/O/A carreadora dos nutrientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bacchetta, J. et al. Vitamin D and calcium intakes in general pediatric populations: A French expert consensus paper. *Archives de Pédiatrie*, v. 16. 2022.

Bae, J; Park, D. Effect of dietary calcium on the gender-specific association between polymorphisms in the PTPRD locus and osteoporosis. *Clinical Nutrition*, v. 41, p. 680-686, 2022.

Bouillon, R.; Carmeliet, G. Vitamin D insufficiency: Definition, diagnosis and management. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 32, p. 669-684, 2018.

Casé, F. et al. Produção de 'leite' de soja enriquecido com cálcio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, p. 86-91, 2005.

Feng, B. et al. Targeting the T-type calcium channel Cav3.2 in GABAergic arcuate nucleus neurons to treat obesity. *Molecular Metabolism*, v.54, p. 101391, 2021.

Fulgoni, V. L. et al. Nutrients from dairy foods are difficult to replace in diets of Americans: food pattern modeling and an analyses of the National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2006. *Nutrition Research*, v. 31, p. 759–765, 2011.

Hastert, M. et al. Calcium, fiber, iron, and sodium intake in adolescents with intellectual and developmental disabilities and overweight and obesity. *Disability and Health Journal*, v. 14, p. 101155, 2021.

- Heidari, F. et al. Stability and release mechanisms of double emulsions loaded with bioactive compounds; a critical review, *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 299, p. 102567, 2022.
- Hou, Y. et al. Papel da vitamina D nutricional no tratamento da osteoporose. *Clinica Chimica Acta*, v. 484, p. 179-191, 2018.
- Janjusevic, M. et al. The peculiar role of vitamin D in the pathophysiology of cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Life Sciences*, v. 289, p. 120193, 2022.
- Jiang, X. et al. The genetics of vitamin D. *Bone*, v. 8756-3282, p. 30370-30373, 2018.
- Jo, Y.; Van der Schaaf, U. S. Fabrication and characterization of double (W1/O/W2) emulsions loaded with bioactive peptide/polysaccharide complexes in the internal water (W1) phase for controllable release of bioactive peptide. *Food Chemistry*, v. 344, n.15, p. 128619, 2021.
- Khan, M. U. et al. Vitamin D from Vegetable VV Sources: Hope for the Future. *Phytomedicine Plus*. v.2, p. 100248, 2022.
- Kumar, Y.; Kumar, V. Effects of double emulsion (W1/O/W2) containing encapsulated *Murraya koenigii* berries extract on quality characteristics of reduced-fat meat batter with high oxidative stability. *LWT*, v.127, p. 109365, 2021.
- Lichtenstein, A. et al. Vitamina D: ações extraósseas e uso racional. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 59, p. 495–506, 2013.
- Marino, M. et al. Viability of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* in structured emulsions containing saturated monoglycerides. *Journal of Functional Foods*, v. 35, p. 51-59, 2017.
- Márquez, A. L.; Wagner, J. R. Rheology of double (W/O/W) emulsions prepared with soybean milk and fortified with calcium. *Journal of Texture Studies*, v. 41, p. 651–671, 2010.
- Mays, S.; Brickley, M. B. Is dietary deficiency of calcium a factor in rickets? Use of current evidence for our understanding of the disease in the past. *International Journal of Paleopathology*, v.36, p. 36-44, 2022.
- Meschino, J. P. Calcium: Requirements, Bioavailable Forms, Physiology and Clinical Aspects. *Dynamic Chiropractic*, v. 20, 2002.
- Minim, V. P. R. *Análise sensorial: Estudos com consumidores*. 4ª ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2018. 362p.

Muschiolik, G. Multiple emulsions for food use. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 12, p. 213-220, 2007.

Pal, R. Rheology of simple and multiple emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 16, p. 41–60, 2011.

Paula, D. A. et al. Double emulsions (W/O/W): physical characteristics and perceived intensity of salty taste, *International Journal of Food Science and Technology*, v. 53, p. 475-483, 2017.

Potje, S. R. et al. Glypican 1 and syndecan 1 differently regulate noradrenergic hypertension development: Focus on IP3R and calcium. *Pharmacological Research*, v. 172, p. 105813, 2021.

Rakshit, M.; Srivastav, P. P. Sensory evaluation and storage stability of fat reduced shortdough biscuit using hydrolysable tannin encapsulated double emulsion as fat replacer. *LWT*, v. 154, n 15, p. 112816, 2022.

Rincón-Fontán, M. et al. Study of the synergic effect between mica and biosurfactant to stabilize Pickering emulsions containing Vitamin E using a triangular design. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 537, p. 34-42, 2019.

Serdaroğlu, M. et al. Emulsion characteristics, chemical and textural properties of meat systems produced with double emulsions as beef fat replacers. *Meat Science*, v. 117, p. 187–195, 2016.

Shaddel, R. et al. Double emulsion followed by complex coacervation as a promising method for protection of black raspberry anthocyanins. *Food Hydrocolloids*, v. 77, p. 803-816, 2018.

Shen, Q. et al. Modulation of gut microbiota by chondroitin sulfate calcium complex during alleviation of osteoporosis in ovariectomized rats. *Carbohydrate Polymers*, v. 266, p. 118099, 2021.

Simiqueli, A. A. et al. The W/O/W emulsion containing FeSO₄ in the different phases alters the hedonic thresholds in milk-based dessert. *LWT - Food Science and Technology*, v. 99, p. 98–104, 2019a.

Simiqueli, A. A. et al. W/O/W emulsions applied for conveying FeSO₄: Physical characteristics and intensity of metallic taste perception. *LWT - Food Science and Technology*, v. 100, p. 278–286, 2019b.

Soh, V. et al., The Relationship Between Vitamin D Status and Cardiovascular Diseases. *Current Problems in Cardiology*, v. 46, p. 100836, 2021.

Sonakpuriya, P. et al. Formulation and evaluation of multiple emulsion of Valsartan. *International Journal of PharmTech Research*, v. 5, p. 132-146, 2013.

Taylor, H. C; Elbadawy, E. H. Renal Tubular Acidosis Type 2 with Fanconi's Syndrome, Osteomalacia, Osteoporosis, and Secondary Hyperaldosteronism in An Adult Consequent to Vitamin D and Calcium Deficiency: Effect of Vitamin D and Calcium Citrate Therapy. *Endocrine Practice*, v. 12, p. 559-567, 2006.

Teixé-Roig, J. Encapsulation and controlled release of phycocyanin during the in vitro digestion using polysaccharide-added double emulsions (W1/O/W2). *Food Structure*, v. 31, p. 100249, 2022.

Weaver, C. M.; Fleet, J. C. Vitamin D requirements: current and future. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 80, p. 1735S–1739S, 2004.

Emulsões A/O/A para o carreamento de cálcio e vitamina D: formação e estabilidade cinética

1 INTRODUÇÃO

O processo de enriquecimento, fortificação ou adição de compostos bioativos é uma estratégia tecnológica aplicada na formulação de alimentos com o objetivo de amenizar a deficiência na ingestão de diversos nutrientes. É considerado um recurso de baixo custo (Vellozo & Fisberg, 2010), sendo, portanto, aplicado em diversos países, tanto desenvolvidos quanto em desenvolvimento. Dessa forma, diversos estudos têm sido desenvolvidos com o propósito de enriquecer o produto alimentício sem alterar as suas propriedades sensoriais e tecnológicas (Simiqueli et al., 2019a; Simiqueli et al., 2019b; Saito et al., 2019; Lima et al., 2019).

Entre os diferentes mecanismos e sistemas aplicados para o enriquecimento de alimentos com compostos bioativos, destaca-se a emulsão dupla, que é uma emulsão de emulsão, podendo ocorrer do tipo água-óleo-água (A/O/A), quando gotículas de água são dispersas dentro de gotas de óleo presente em uma outra fase aquosa; e O/A/O, quando gotículas de óleo estão dispersas dentro de gotas de água presentes em outra fase oleosa (Heidari et al., 2022; Sonakpuriya et al., 2013; Muschiolik, 2007; Pal, 2011; Pereira & Garcia-Rojas, 2015; Silva, 2016).

Emulsões duplas têm sido amplamente pesquisadas com os objetivos de reduzir o teor de gordura (Serdaroğlu & Urgan, 2016), proteger e controlar a liberação de ingredientes, prevenir a oxidação de compostos (Serdaroğlu & Urgan, 2016), permitir a incorporação de compostos bioativos e nutricionais em novos sistemas alimentares. (Simiqueli et al., 2019a; Simiqueli et al., 2019b). Também é possível utilizar emulsão dupla com a finalidade de aumentar a percepção dos gostos básicos, permitindo reduzir a concentração de sal ou açúcar dos alimentos (Paula et al., 2017). Vale ressaltar que emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis, sendo necessário a avaliação da estabilidade cinética de sistemas emulsionados ao longo de um determinado tempo de armazenamento (McClements, 2010).

A emulsão dupla é um sistema multicompartimentado formado por compostos com características distintas que permite carrear compostos como, por exemplo, vitamina D

(composto lipossolúvel) e cálcio (hidrossolúvel), em um mesmo sistema (Rincón-Fontán et al., 2019; Shaddel et al., 2018; Marino et al., 2017). Nutrientes como cálcio e vitamina D possuem suas particularidades, o que torna seu enriquecimento um desafio para a indústria de alimentos. Exemplificando, a vitamina D, por ser um composto lipossolúvel, é suscetível à oxidação, podendo ocasionar sabor e odor desagradáveis ao alimento, comprometendo a qualidade sensorial do produto. Já estudos realizados com enriquecimento de cálcio apontam que o mineral pode interagir com proteínas da soja, desestabilizando o sistema (Casé et al., 2005). Dessa forma, são necessárias estratégias tecnológicas para impedir tais problemas, e a emulsão dupla surge como uma alternativa promissora para viabilizar o enriquecimento de cálcio e vitamina D em produtos alimentícios, uma vez que as cápsulas formadas protegem a vitamina D da oxidação e impedem a interação entre o cálcio e os compostos da matriz alimentar.

Diversas doenças têm sido associadas à deficiência de vitaminas e minerais. Doenças ósseas, cardiovasculares, autoimunes, câncer e, principalmente, raquitismo e osteomalacia estão relacionadas à carência de vitamina D (Jiang et al., 2018). Já hipertensão, obesidade e osteoporose (Janve & Singhal, 2018), raquitismo (Sun et al., 2016) e osteomalacia têm se associado à deficiência de cálcio. Assim, cálcio e vitamina D exercem funções essenciais na saúde humana, auxiliando no funcionamento de órgãos e mecanismos necessários ao funcionamento do corpo.

Um fator importante a ser considerado é o efeito sinérgico entre o cálcio e a vitamina D. A absorção intestinal de cálcio aumenta entre 30% e 40% na presença de vitamina D (Holick, 2006). Considerando a ingestão inadequada de cálcio e vitamina D, surge a necessidade de estratégias baseadas na produção de alimentos enriquecidos com esses compostos.

Dessa forma, objetivou-se neste estudo avaliar a eficiência de emulsões duplas (A/O/A) para o transporte de vitamina D e cálcio.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

O Cloreto de cálcio e a vitamina D foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O emulsificante polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) (BHL1,5) foi doado pela empresa Granolab/Granotec. O emulsificante tween 80 (BHL 15,0) foi adquirido da Labsynth. Os polímeros gelatina (pele de porco, tipo A, Bloom - 300) e goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O conservante sorbato de potássio foi doado pelo Laticínios Viçosa. O cloreto

de sódio foi adquirido da Sigma-Aldrich. O óleo de girassol (marca comercial - Liza) foi obtido no mercado local. Os demais reagentes químicos utilizados foram de grau analítico.

2.2 Delineamento experimental

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em parcelas subdivididas, sendo nas parcelas um fatorial 3X3, e na subparcela o tempo de armazenamento (1, 4, 7, 10 e 13 dias). Os fatores avaliados foram diferentes proporções entre fase aquosa interna e fase externa (Y_1) e a concentração de PGPR (Y_2). Para este estudo considerou-se o sistema de emulsão simples do tipo O/A como tratamento controle, sem adição de cloreto de cálcio e vitamina D.

As combinações dos níveis dos fatores, ou seja, proporções de fase aquosa interna e externa e a concentração de PGPR, juntamente com a emulsão controle, resultaram em 10 tratamentos (Tabela 1). Os experimentos foram realizados em três repetições.

Os parâmetros de tempo de armazenamento, proporção de fase aquosa e concentração de PGPR foram definidos com base na literatura e também por meio de testes preliminares.

O efeito das proporções de fase aquosa interna e externa, concentração de PGPR e do tempo de armazenamento nos parâmetros físico-químicos em estudo foram analisados por meio da ANOVA seguida da análise de regressão, ao nível de 5% de significância, utilizando o software R. Também foi realizado teste de Dunnet para comparação do controle com os demais tratamentos.

Tabela 1. Tratamentos obtidos a partir das combinações dos níveis de proporção entre as fases aquosas interna e externa (A_i/A_e) e a concentração de PGPR.

Tratamentos	A_i/A_e (%) (Y_1)	Concentração de PGPR (%) (Y_2)	Fração oleosa (%)
1	10/60	2,0	30
2	15/55	2,0	30
3	20/50	2,0	30
4	10/60	2,5	30
5	15/55	2,5	30
6	20/50	2,5	30
7	10/60	3,0	30
8	15/55	3,0	30
9	20/50	3,0	30
10 C	0/70	0,0	30

Na Figura 1 estão apresentados de forma esquemática os sistemas emulsionados ($A_i/O/A_e$ e O/A) avaliados nesse estudo.

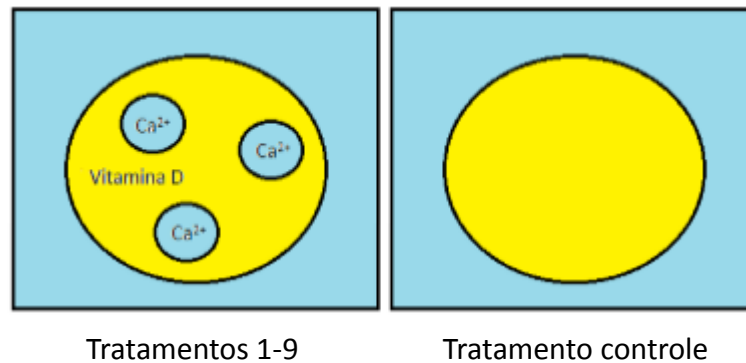


Figura 1. Representação das emulsões duplas (tratamento de 1 a 9) e simples (tratamento controle).

Os tratamentos de 1 a 9 continham as mesmas concentrações de cloreto de cálcio e vitamina D (1000 mg de cloreto de cálcio e 0,0225 mg de vitamina D para cada 100 g de emulsão dupla). Tais concentrações foram estabelecidas baseadas na ingestão diária recomendada (IDR) de ambos os compostos (1000 mg de cálcio e 0,015 mg de vitamina D) e em testes preliminares, nos quais foi possível adicionar até 40% de emulsão dupla no produto. Assim, as concentrações correspondem a 14,4% e 60% da IDR de cálcio e vitamina D, respectivamente, o que permite ser considerado um produto “adicionado” de cálcio e “enriquecido” ou “fortificado” com vitamina D, de acordo com a Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998 que considera os termos “enriquecido” ou “fortificado” para produtos contendo pelo menos 15% e 30% da IDR para líquidos e sólidos, respectivamente (Brasil, 1998).

2.3 Preparo das emulsões

A fração oleosa foi de 30% (m/m) para todos os tratamentos, enquanto a fração aquosa (70%; m/m) foi dividida entre as fases interna e externa nas proporções de 10, 15 e 20% e 60, 55 e 50%, respectivamente.

O preparo das emulsões duplas ($A_i/O/A_e$) carreadoras de cálcio e vitamina D foi realizado em dois estágios, por meio do procedimento de dois passos, conforme a metodologia adaptada de Simiqueli et al. (2019b). Inicialmente foi realizado o preparo da emulsão primária A_i/O e posteriormente essa dispersão foi adicionada como fase dispersa em uma segunda solução aquosa externa (A_e).

2.3.1 Preparo da emulsão A_i/O

Preparo da fração aquosa interna (A_i)

Para obtenção da solução aquosa interna foram adicionados 1.000 mg de cloreto de cálcio, juntamente com sorbato de potássio (0,05%; m/m) e gelatina (0,75%; m/m), preparados com água deionizada a 90 °C. A gelatina foi previamente hidratada durante dez minutos, seguida de agitação magnética por trinta minutos (Sapei et al., 2012; Simiqueli et al., 2019b).

Preparo da fração oleosa (O)

PGPR nas concentrações de (2,0; 2,5 e 3,0 % m/m) foi dissolvido em óleo de girassol, contendo vitamina D (0,075% m/m) e corante vermelho sudã (0,02% m/m). Este sistema foi submetido a uma agitação magnética durante trinta minutos, a temperatura de 90 °C.

Preparo da emulsão A_i/O

Para obter a emulsão A_i/O, diferentes massas da solução aquosa interna (10, 15 ou 20 g) previamente preparada, foram dispersos lentamente em 30 g de fração oleosa (O), sob agitação constante, em homogeneizador de alta velocidade (homogeneizador T18 Ultra Turrax – IKA) a 20.000 rpm durante cinco minutos. Em seguida, as emulsões foram resfriadas a 4° C durante uma hora, a fim de promover a gelificação da gelatina.

2.3.2 Preparo da emulsão A_i/O/A_e

Preparo da fração aquosa externa (A_e)

Para obtenção da fração aquosa externa foi preparada uma solução aquosa contendo 2% (m/m) de tween 80 e 0,5% (m/m) de goma guar. Este sistema foi submetido a agitação magnética durante 30 minutos a 50 °C. Em seguida, foi adicionado sorbato de potássio (0,05% m/m) e cloreto de sódio, a fim de equilibrar a pressão osmótica entre as fases aquosa da emulsão A_i/O/A_e. As concentrações de cloreto de sódio foram 1,35; 0,90 e 0,68 mol/L, referente aos tratamentos com 10, 15 e 20% de fase aquosa interna, respectivamente.

Preparo da emulsão dupla (A_i/O/A_e)

Para obter 100g da emulsão dupla (A_i/O/A_e), foram dispersos lentamente 40, 45 e 50 % (m/m) de emulsão primária (A_i/O) em 60, 55 e 50 % (m/m) de solução aquosa externa (A_e), respectivamente. O processo ocorreu sob agitação em homogeneizador de alta velocidade

(homogenizador T18 Ultra Turrax – IKA) operando a 18.000 rpm durante 4,5 min. Posteriormente as emulsões foram armazenadas a 4 °C.

O tratamento controle, referente à emulsão O/A foi preparado sem adição de cloreto de cálcio e vitamina D, contendo 30% de fração oleosa e 70% de fração aquosa, caracterizando uma emulsão simples do tipo A/O. Assim, 30 g de óleo tingido com corante vermelho sudã foi disperso lentamente em 70 g de solução aquosa contendo 2% (m/m) de tween 80, 0,5% (m/m) de goma guar e 0,05% (m/m) de sorbato de potássio. O sistema foi agitado em homogeneizador de alta velocidade operando a 18000 rpm durante 4,5 minutos, sendo armazenadas a 4 °C até as análises instrumentais.

2.4 Análise e caracterização instrumental das emulsões duplas

2.4.1 Microestrutura

As emulsões foram previamente diluídas (10 vezes) na fase aquosa externa e aplicadas em lâminas específicas cobertas por lamínulas de vidro. Em seguida, foram submetidas a análise em microscópio óptico com aumento de 1000 x (Olympus CX40).

2.4.2 Potencial Zeta

Para avaliar o potencial Zeta (ζ), 1 mL de emulsão foi previamente diluída em 25 mL de água deionizada de acordo com a metodologia adaptada de Wang et al. (2011). Para determinar o potencial Zeta das emulsões foi utilizado o ZetasizerNano-ZS (Malvern Instruments Inc., Southborough, MA) em um ângulo de detecção de 173°, sendo realizada a 25 °C.

2.4.3 Propriedades Reológicas

A determinação das propriedades reológicas das emulsões duplas foi realizada utilizando o reômetro rotacional (Discovery Hybrid Rheometer 1, TA Instruments, EUA), com sensor de placas paralelas de aço inoxidável (diâmetro = 25 mm; gap = 1 mm), a $25,0 \pm 0,1$ °C. O comportamento reológico foi obtido com taxa de deformação de 0,1 a 200 s⁻¹ (rampa ascendente, decrescente e ascendente) durante 180s.

A viscoelasticidade das emulsões foi determinada por meio do teste dinâmico oscilatório. A região de viscoelasticidade linear foi determinada aplicando o teste de varredura de deformação (0,001 a 1%) a uma frequência constante de 1,0 Hz. Posteriormente, foram obtidos

os parâmetros dos módulos de elasticidade (G') e viscoso (G'') por meio do teste de varredura de frequência (0,1 a 10,0 Hz) e stress constante de 0,5 Pa (de acordo com a faixa viscoelástica linear determinada).

2.4.4 pH

O pH das emulsões carreadoras de vitamina D e cálcio foi mensurado com auxílio de um pHmetro digital (SevenExcellence, Mettler Toledo), com inserção do eletrodo diretamente nas amostras (Association of Official Analytical Chemists - AOAC, 1995).

2.4.5 Eficiência do aprisionamento e estabilidade cinética da localização do cálcio

A eficiência do aprisionamento (EA) de cálcio e estabilidade cinética (EC) da localização dos íons de cálcio foram determinados quantificando a concentração de íons Ca^{2+} na fase aquosa externa. Assim, a concentração de Ca^{2+} presente na fase aquosa externa configura a concentração de Ca^{2+} não aprisionada na fase aquosa interna. A EA foi determinada no primeiro dia da formação da emulsão dupla. A EC foi quantificada ao longo dos dias de armazenamento do sistema (4; 7; 10 e 13 dias).

As emulsões foram centrifugadas (Centrifuge 5804R, Eppendorf), a 2100 g durante 60 minutos para separação da fase aquosa externa e oleosa. Posteriormente, foi retirada uma alíquota da fase aquosa externa, e filtrada por meio de filtro de membrana de 0,45 μ m para remoção de gotículas de óleo remanescente (Simiqueli, 2019b).

A determinação de cálcio foi realizada por meio da metodologia de espectroscopia de absorção atômica, conforme Seeger et al. (2019). Uma alíquota de 0,5 g da fase aquosa externa foi diluída 20x em água deionizada e, posteriormente, 1 mL dessa amostra foi adicionado a 1,0 mL de cloreto de estrôncio (16000 ppm) e 8 mL de água deionizada. A solução foi submetida a leitura de cálcio por meio da lâmpada de cátodo oco em espectrofotômetro de absorção atômica (modelo 220FS; marca Varian).

Considerando a concentração de Ca^{2+} adicionada inicialmente, a EA e EC da localização dos íons de cálcio foram determinadas utilizando as equações 1 e 2, respectivamente (Simiqueli et al., 2019b).

$$EA (\%) = \left(1 - \left(\frac{C_w}{C_t} \right) \right) * 100 \quad \text{Eq 1.}$$

$$EC (\%) = \left[\left(1 - \left(\frac{C_w}{C_t} \right) \right) - \left(1 - \left(\frac{EA}{100} \right) \right) \right] * 100 \quad \text{Eq 2.}$$

Onde C_w é a concentração de cálcio na fase aquosa externa e C_t é a concentração total de cálcio

2.4.6 Estabilidade macroscópica

A estabilidade macroscópica das emulsões duplas foi avaliada por meio do índice de cremação dos sistemas emulsionados, de acordo com (Simiqueli, et al., 2019b). Para isso, foi medida, por meio de uma régua, a altura do creme formado ou da fase oleosa, decorrente da coalescência das gotículas oleosas ao longo de 13 dias de armazenamento em temperatura de 4 °C, com medição nos dias 1, 4, 7, 10 e 13.

2.5 Tensão interfacial

A tensão interfacial das soluções que compõem as emulsões primárias (A_i/O) foram avaliadas por tensiometria de análise de perfil de gota PAT-1 (Sinterface Tensiometer eK, Berlin, Germany). A fase contínua, composta de óleo de girassol, emulsificante PGPR e vitamina D foi adicionada à cubeta. A fase dispersa, contendo água, cloreto de cálcio, gelatina e sorbato de potássio fluiu pelo capilar. O experimento foi conduzido à temperatura de 25 ± 0,1 °C e a área da gota foi ajustada para 14 mm². A tensão interfacial foi determinada analisando o perfil da gota e ajustando-o à equação de Laplace, por meio do software do equipamento (Sinterface Tensiometer PAT 1 vers. 8.01).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microestrutura

A microestrutura das emulsões duplas (A/O/A) e controle (O/A) no tempo de armazenamento de um dia é apresentada na Figura 2. Por meio da fotomicrografia das emulsões, foi confirmada a formação da emulsão A/O/A nos tratamentos de 1 a 9 (Figura 2A). É possível observar gotículas de água distribuídas no interior das gotículas de óleo. O tratamento 10

(controle), da forma proposta, tem uma estrutura de emulsão simples do tipo O/A, em que apresenta gotículas de óleo dispersas em água (Figura 2B).

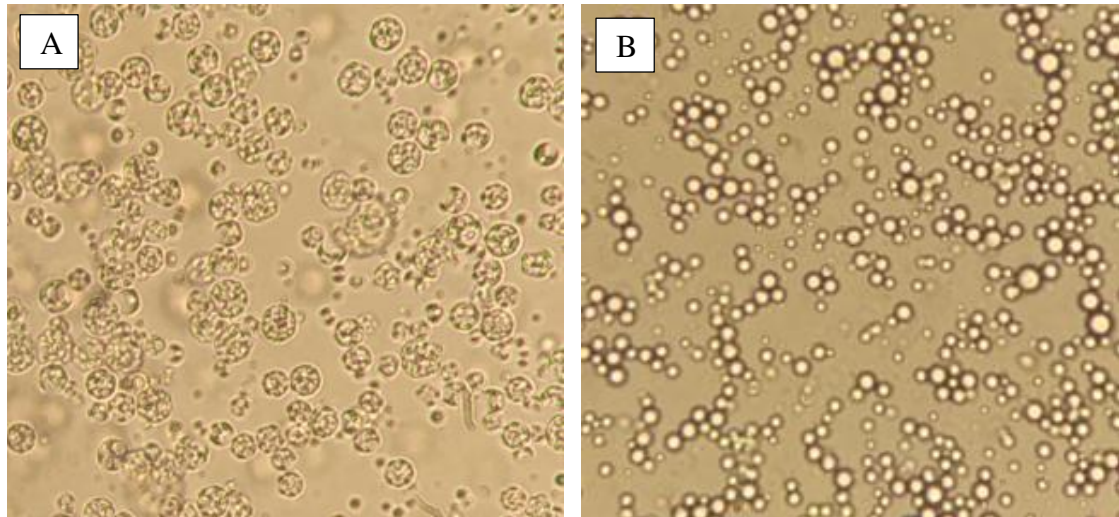


Figura 2. Imagens de microscopia de luz das emulsões duplas A/O/A (A) e da emulsão simples A/O (B) com o aumento de 1000X no tempo de armazenamento de 1 dia.

3.2 Potencial Zeta

O valor do potencial zeta das emulsões duplas variou entre - 5,068 mV e - 6,548 mV. Apesar da baixa densidade de carga elétrica das gotículas, as emulsões mostraram estabilidade durante 13 dias de armazenamento. Isso significa que outros fatores contribuíram para a estabilidade cinética das emulsões, como o aumento da viscosidade do meio por meio da adição de goma guar.

Todas as emulsões apresentaram valores negativos de potencial zeta. Vale ressaltar que o surfactante utilizado na segunda emulsificação foi o tween 80, que é não iônico e, portanto, apresenta neutralidade elétrica. Acredita-se que as cargas negativas possam ser relativas aos ácidos graxos livres presentes no óleo de girassol comercial, o qual apresenta pH próximo a 3,4, além de íons provenientes da goma guar, a qual, embora seja não iônica, pode conter íons que contribuíram para carregar eletricamente a gotícula. Essa hipótese foi levantada por Simiqueli et al. (2019b) após medirem o potencial zeta da solução de goma guar (0,075%, m/m) e encontrarem $\zeta = -16,3$ mV.

O potencial zeta (ζ) não foi influenciado pelo fator tempo de armazenamento ($p > 0,05$) (material suplementar), o que corrobora o estudo de Almeida et al. (2017) e Simiqueli et al.

(2019b) nos quais foi avaliado o potencial zeta de emulsões duplas do tipo A/O/A ao longo de 4 e 28 dias, respectivamente. A proporção de fase aquosa e a concentração de PGPR também não influenciaram de forma significativa no potencial zeta dos sistemas emulsionados (material suplementar). Todas as emulsões duplas diferiram estatisticamente da emulsão controle ($p < 0,05$), que apresentou maior valor em módulo de potencial zeta (material suplementar). Isso pode ter ocorrido pois somente as emulsões duplas continham sais em suas formulações (cloreto de sódio e cloreto de cálcio), capazes de alterar a densidade de cargas elétricas presentes na superfície das gotículas de óleo. O cloreto de cálcio que difundiu da fase aquosa interna para a fase aquosa externa, e o cloreto de sódio, adicionado na fase aquosa externa. Assim, provavelmente os cátions provenientes dos sais dissociados podem ter interagido com os íons negativos da gotícula de óleo, reduzindo a densidade de cargas elétricas negativas, e consequentemente, contribuindo para redução do potencial zeta.

3.3 Propriedades Reológicas

Nenhuma das emulsões apresentou comportamento tixotrópico. Isso foi observado devido à superposição das curvas de escoamento ascendente e descendente para todos os sistemas. O modelo matemático mais adequado ($R^2 > 0,99$) para descrever o escoamento das emulsões foi o de Ostwald-de-Waele ($n < 1$). Portanto, a viscosidade aparente (η_{100}) decresce com o aumento da taxa de deformação. Esse resultado era esperado, uma vez que, em elevadas concentrações de óleo na fase dispersa (30%; m/m), as emulsões tendem a apresentar comportamento pseudoplástico (Campanella et al., 1995).

Observa-se que apenas a interação entre os fatores proporção de fase aquosa e concentração de PGPR influenciou de forma significativa a viscosidade das emulsões ($p < 0,05$) (material suplementar). A maior viscosidade aparente foi obtida quando combinada a menor proporção de fase aquosa interna (10/60) com a maior concentração de PGPR (Figura 3). Sugere-se que o tratamento contendo menor proporção de fase aquosa interna e maior concentração do PGPR tenha formado menor quantidade de gotículas de água e menor tamanho durante a primeira emulsificação. Isso porque a fase aquosa interna era a menor, e em maiores concentrações o PGPR cobriu toda a interface das gotículas, resultando assim, em gotas de menor diâmetro e menor quantidade. Logo ao realizar a segunda etapa de emulsificação para formar a emulsão Ai/O/Ae pode ter propiciado a formação de gotas de óleo de menor diâmetro e maior quantidade de gotas. A maior quantidade de gotas de óleo confere ao sistema maior viscosidade aparente (Simiqueli, et al., 2019b).

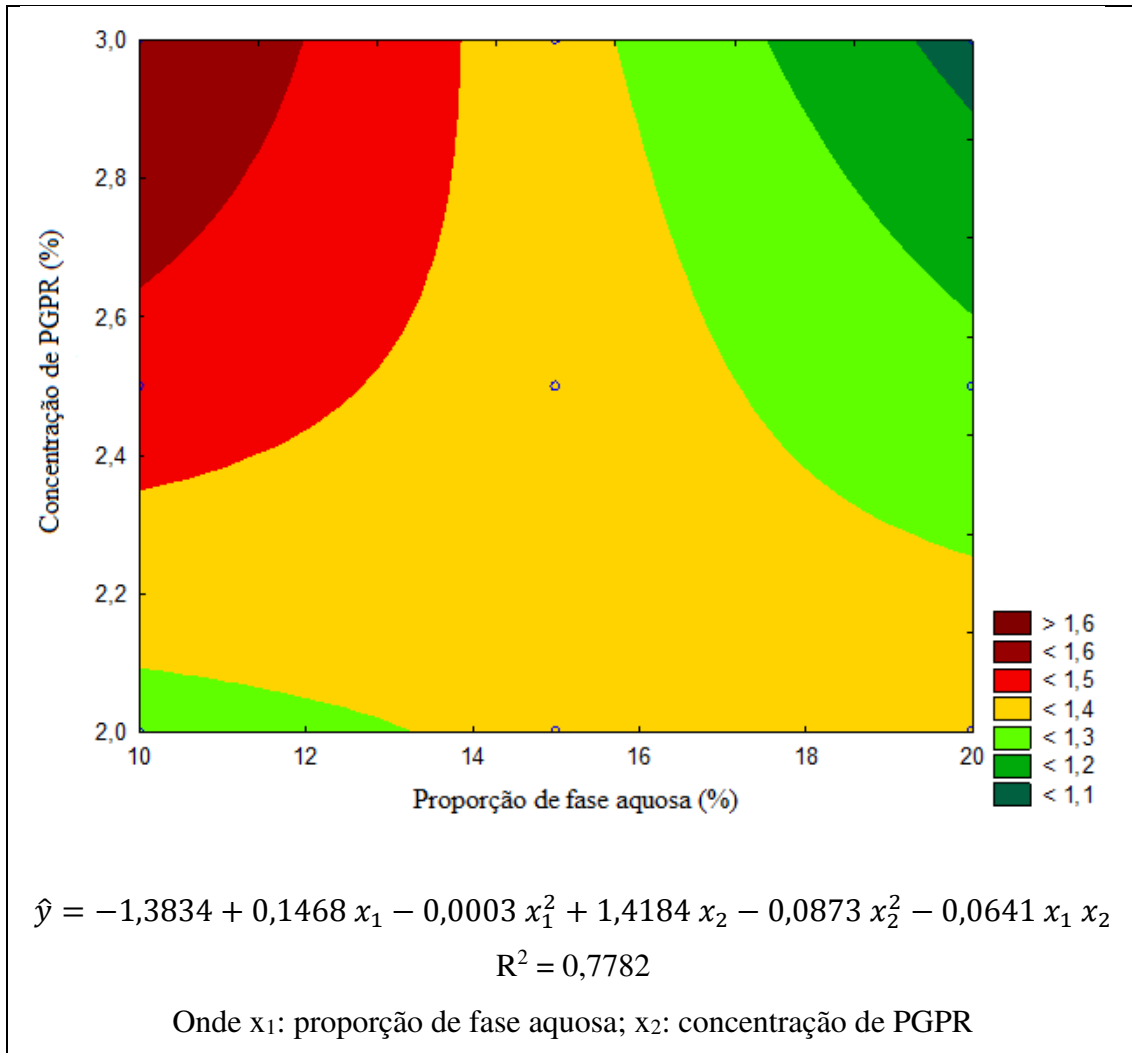


Figura 3. Gráfico de gradiente para viscosidade aparente em função da proporção de água e da concentração de PGPR.

A viscosidade aparente foi alterada significativamente ao longo do tempo de armazenamento ($p < 0,05$) (material suplementar). Observa-se que entre o primeiro e o quarto dia houve queda abrupta da viscosidade, que se manteve constante até o 13º dia (Figura 4). Isso pode ter ocorrido devido a dois fatores: o primeiro, relacionado à difusão de água da fase aquosa interna para a fase aquosa externa, ocasionando a redução da viscosidade. O segundo, relacionado a provável coalescência das gotículas oleosas, que culminou no aumento do diâmetro das gotículas e, portanto, redução da quantidade de gotículas oleosas dispersa na fase aquosa externa. Conseqüentemente, diminuiu a viscosidade aparente da emulsão dupla. Simiqueli et al. (2019b) também observaram redução na viscosidade aparente ao longo do tempo de armazenamento de emulsões A/O/A carreadoras de sulfato ferroso.

De modo geral, a viscosidade aparente da emulsão controle não diferiu da das emulsões duplas (material suplementar), isso pode ter ocorrido pois a proporção de água e óleo (70/30) e a concentração de goma guar (0,5% m/m) eram as mesmas para ambas as emulsões.

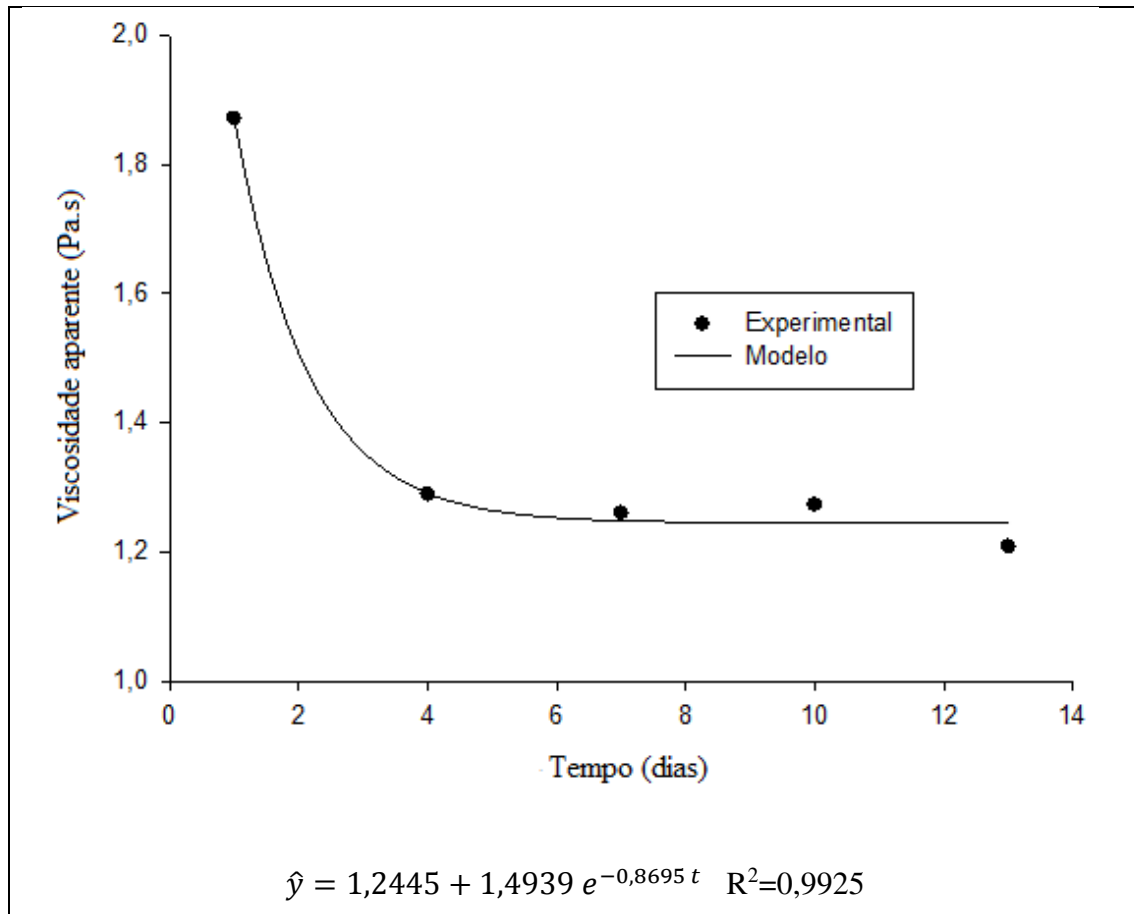


Figura 4. Viscosidade aparente das emulsões ao longo do tempo de armazenamento de 13 dias.

As emulsões duplas também foram analisadas quanto aos parâmetros de viscoelasticidade: módulo de armazenamento (G') e módulo de dissipação (G''). O G' está relacionado à característica elástica do material, e o G'' , à natureza viscosa. Além disso, foi analisada a propriedade de perda ($Tg \delta$), que mede a relação entre os componentes viscoso e elástico do sistema ($Tg \delta = G'' / G'$).

Na Figura 5 encontram-se os gráficos de ambos os parâmetros em função da frequência (Hz). Observa-se que todas as emulsões apresentaram valores de G' maiores que os de G'' , indicando predominância do caráter elástico. Essa característica também pode ser comprovada pelo valor da Tg ($Tg \delta < 1$, para todo o intervalo de frequência avaliado: 0,1 - 10 Hz). Isso indica que as emulsões têm comportamento mais próximo ao de um sólido. Simiqueli et al. (2019b) também verificaram predominância do caráter elástico nas emulsões A/O/A

carreadoras de sulfato ferroso e justificaram esse resultado devido à adição do espessante goma guar, também utilizado no presente estudo. O polissacarídeo em contato com a água apresenta aspecto viscoso em razão da sua habilidade de “arrastar” moléculas de água em sua cadeia e, conseqüentemente, contribui para a estruturação física do sistema.

Para uma mesma proporção de fase aquosa houve incremento nos módulos elástico e viscoso com o aumento da frequência (Figura 5), para todas as proporções de PGPR. No entanto, o maior aumento foi observado no módulo elástico.

A emulsão simples apresentou comportamento semelhante ao das emulsões duplas, com predominância do caráter elástico e elevação de ambos os módulos com o aumento da frequência.

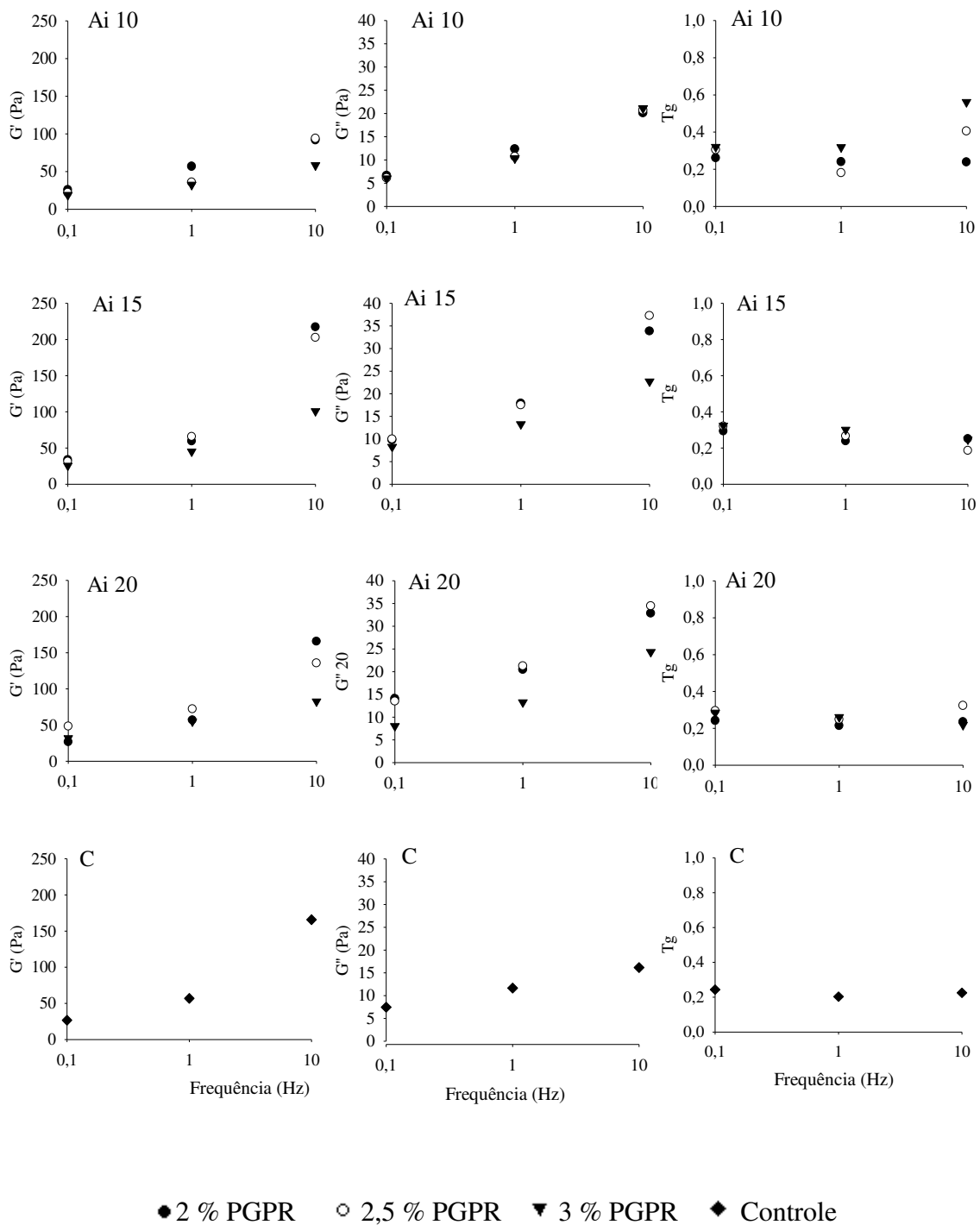


Figura 5. Valores médios dos módulos de viscoelasticidade (G' e G'') e T_g das emulsões em função da frequência, a 25 °C.

3.4 pH

Os valores de pH das emulsões variaram de 7,17 a 7,37. Os fatores proporção de água e concentração de emulsificante influenciaram de forma significativa ($p < 0,05$) o valor de pH das emulsões duplas, tendo a proporção de água exercido maior influência (material suplementar).

Observa-se na Figura 6 que médias proporções de água (15/55), aliadas à maior concentração de emulsificante PGPR (3,0% m/m), acarretaram emulsões com maior valor de pH, ao passo que menor proporção de água na fase interna (10/60) e menor concentração de PGPR (2,0% m/m) apresentaram menor valor de pH. O valor próximo da neutralidade pode ser explicado pelo fato de que a maior parte das emulsões é composta por água.

O tempo de armazenamento não influenciou de forma significativa o valor de pH das emulsões ($p > 0,05$) (material suplementar) pois não houve alteração na composição das emulsões durante os 13 dias de armazenamento. O valor do pH das emulsões duplas não diferiu significativamente do da emulsão simples (controle) (material suplementar). Possivelmente, isso ocorreu porque as proporções de água e óleo (70/30) de ambas as emulsões eram as mesmas.

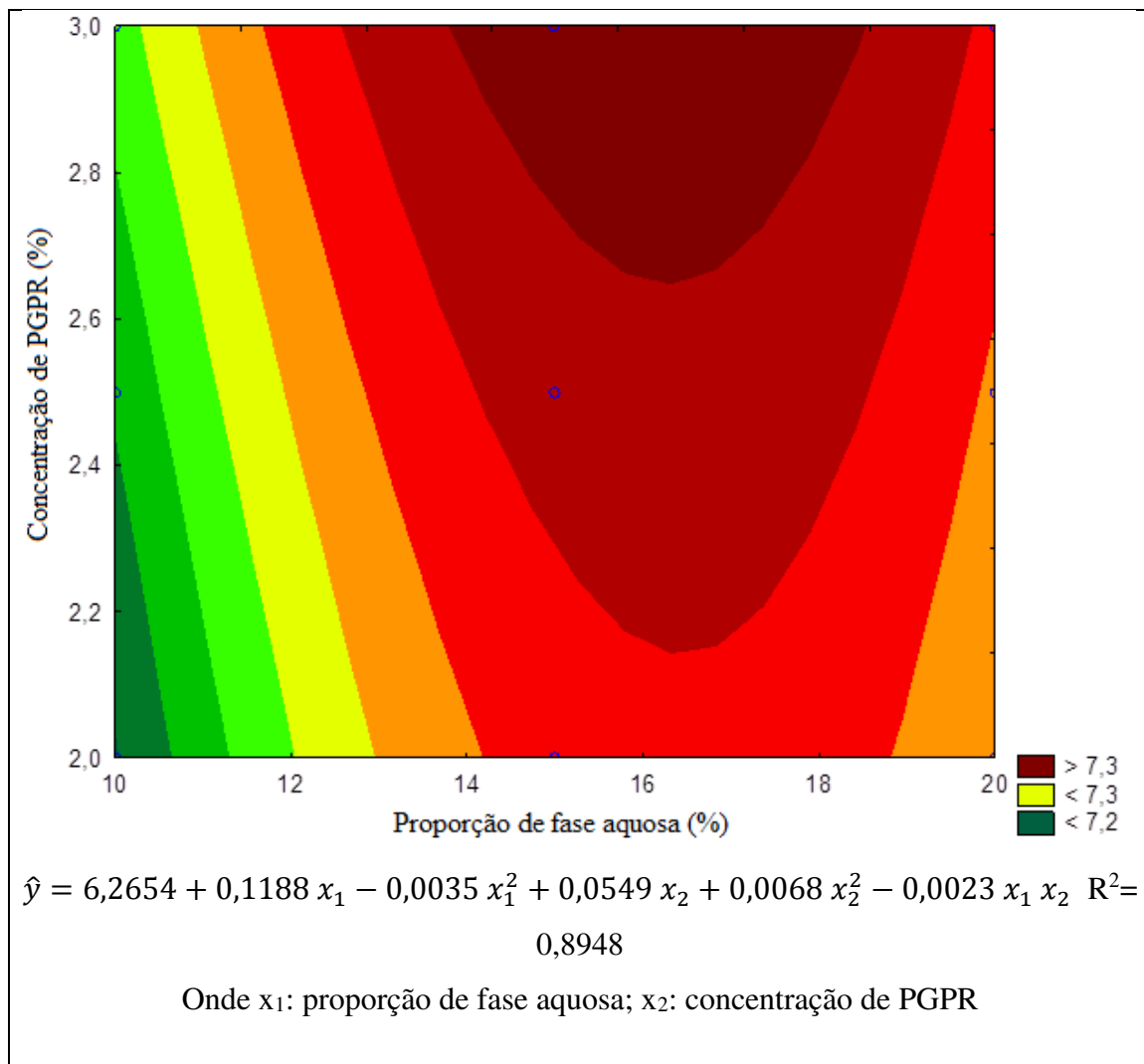


Figura 6. Gráfico de gradiente para o pH das emulsões duplas.

3.5 Eficiência do aprisionamento e estabilidade cinética da localização do cálcio

A eficiência do aprisionamento (EA) e a estabilidade cinética da localização de cálcio (EC) foram avaliadas ao longo dos 13 dias de armazenamento das emulsões duplas.

Observa-se na Figura 7 que todos os tratamentos apresentaram EA superior a 90% e EC superior a 75%. Apenas a proporção de fase aquosa influenciou significativamente ($p < 0,05$) na EA e EC do cálcio (material suplementar). O tratamento contendo proporção de fase aquosa 10/60 apresentaram maior EA e EC da localização do cálcio, independente da concentração de PGPR. A EA foi próximo a 95% (primeiro dia de armazenamento), chegando ao final dos 13 dias de armazenamento com EC superior a 90%. Para Dickinson (2011) a EA de compostos bioativos por meio de emulsões duplas é considerado satisfatório quando ocorre próximo a 95%, e EC próximo a 70 % após algumas semanas. A eficiência completa não é possível de ser atingida, pois durante o segundo processo de emulsificação ocorre ruptura de algumas gotículas internas (Simiqueli, 2019b) e, conseqüentemente, perda de cálcio para o meio externo. Assim, todas as emulsões duplas propostas no presente estudo atendem ao requisito de estabilidade cinética, confirmando o elevado potencial de uso dessas emulsões como carreadoras de cálcio. E ainda, emulsões duplas do tipo A/O/A preparadas com proporção de fase aquosa de 10/60 são as mais indicadas para carrear cálcio.

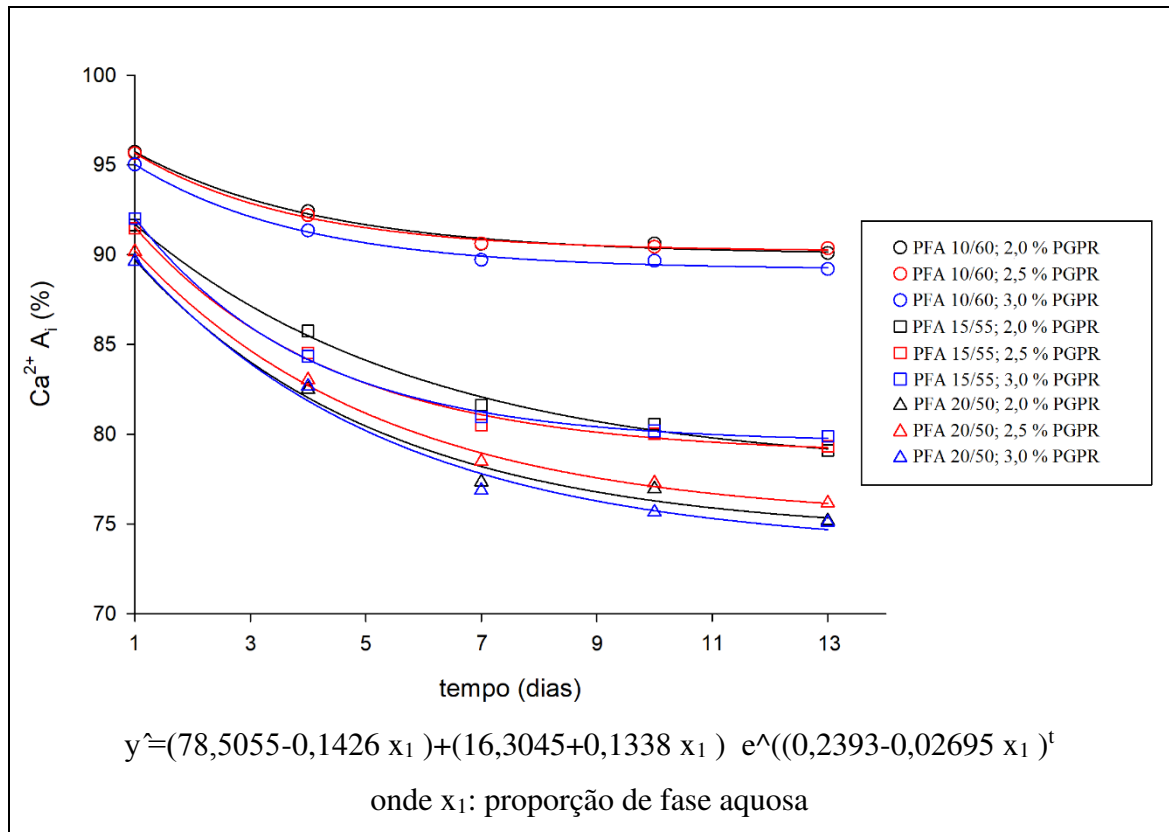


Figura 7. Eficiência de aprisionamento (EA) e estabilidade cinética (EC) da localização do cálcio ao longo do tempo de armazenamento (dias) expresso em porcentagem de Ca^{2+} presente na fase aquosa interna.

3.6 Estabilidade macroscópica

A estabilidade cinética das emulsões foi avaliada em termos macroscópicos. Assim, as emulsões foram fotografadas desde o primeiro dia após sua formação (dia 1) até o final do período de armazenamento (dia 13) (Figura 8). Observa-se que, independentemente da proporção de fase aquosa e da concentração de PGPR, as emulsões permaneceram estáveis durante o período de 13 dias de armazenamento, com o índice de cremação próximo a 0%. Dessa forma, todas as formulações avaliadas foram suficientes para manter a emulsão carreadora de cálcio e vitamina D ao longo de todo o tempo de armazenamento.



Figura 8. Fotografia das emulsões duplas e controle nos tempos 1 e 13 dias de armazenamento.

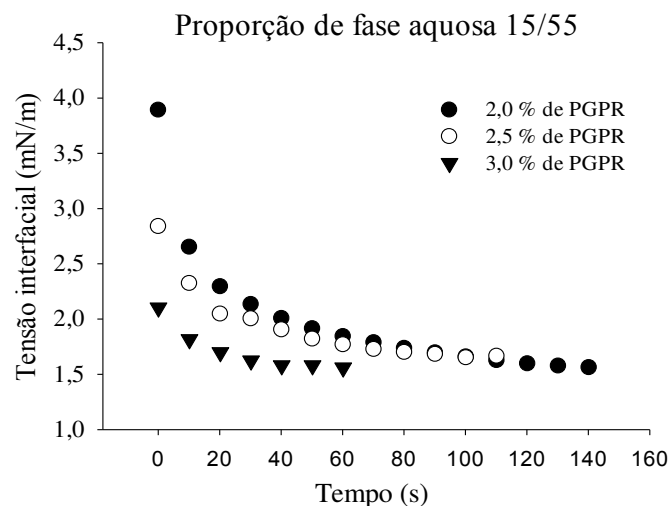
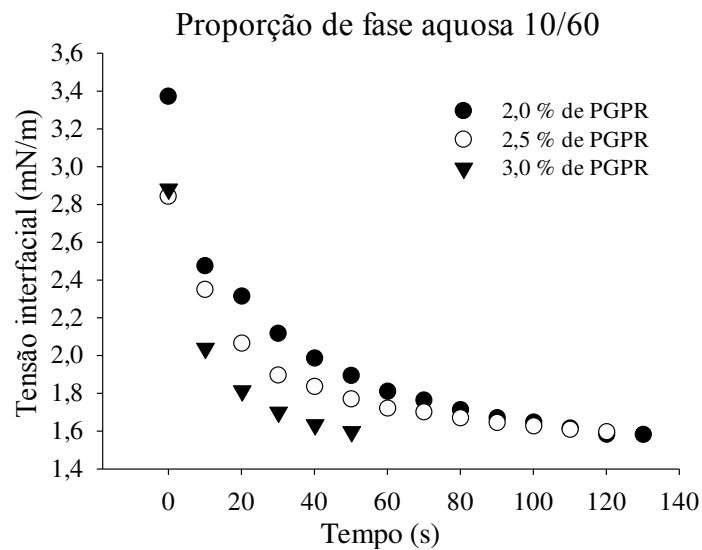
3.7 Tensão interfacial

O decaimento de tensão interfacial das emulsões primárias (A_i/O) em função do tempo foi determinado em tensiômetro de gota pendente, estando os resultados apresentados na Figura 10. Foi observada redução acentuada da tensão interfacial em todos os sistemas avaliados. Isso indica que o emulsificante PGPR é rapidamente adsorvido na interface água/óleo, reduzindo a tensão interfacial e, conseqüentemente, favorecendo o processo de emulsificação. Os tratamentos contendo a maior concentração de PGPR (3% m/m) (tratamentos 7, 8 e 9) mostraram menor taxa de redução da tensão, a qual foi rapidamente reduzida; estes tratamentos apresentaram o menor tempo para desprendimento da gota: entre 50 e 60 s. A menor concentração de PGPR avaliada foi de 2% (m/m); nessa concentração, independentemente da proporção de fase aquosa, houve maior tensão interfacial inicial e levou maior tempo para desprendimento da gota (130 - 140 s). No método da gota pendente, a gota de óleo suspensa na seringa é governada pela força do peso equilibrada pela tensão interfacial multiplicada pela circunferência da gota. Quando a gota é destacada da seringa, nota-se que a ação da força do peso é máxima e, conseqüentemente, a deformação da queda é mais pronunciada.

Esses resultados também foram encontrados por Gülseren & Corredig (2012) e Raviadaran (2019), que constataram redução da tensão interfacial com o aumento da concentração de PGPR.

Vale ressaltar que, mesmo na menor concentração de emulsificante avaliada (2%), a tensão interfacial inicial foi baixa, tendo reduzido rapidamente com o tempo, o que confirma o excelente poder emulsificante do PGPR. No estudo de Gülseren & Corredig (2012) foi observado que, em concentração superior a 1% de PGPR, a tensão foi menor que 2 mN/m.

A concentração micelar crítica (CMC) de PGPR determinada por Raviadaran et al. (2019) foi de 3%. Nessa CMC é obtida a menor tensão interfacial. O aumento da concentração acima da CMC resultou em excesso de emulsificante no óleo, com formação de micelas.



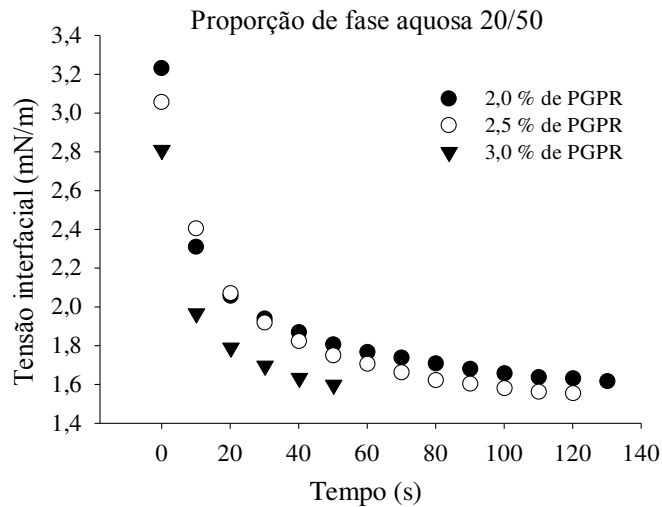


Figura 9. Perfis de decaimento de tensão interfacial dos sistemas que compõem as emulsões primárias Ai/O nas diferentes proporções de fase aquosa.

4 CONCLUSÃO

Foi possível carrear os dois compostos de diferentes características (hidrofílico e lipofílico) numa mesma emulsão dupla A/O/A. As emulsões avaliadas foram excelente alternativa para enriquecer produtos alimentícios com vitamina D e cálcio. O PGPR mostrou-se excelente surfactante, capaz de reduzir rapidamente a tensão interfacial entre as fases, favorecendo o processo de emulsificação. Todas as emulsões permaneceram estáveis ao longo dos 13 dias de armazenamento. Os tratamentos contendo proporção de fase aquosa (10/60) mostraram maior eficiência de aprisionamento (EA) e estabilidade cinética (EC) da localização do cálcio, independentemente da proporção de emulsificante PGPR. Assim, os parâmetros referentes aos tratamentos 1, 4 e 7 podem ser utilizados no preparo de emulsão dupla A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D. Vale ressaltar que o PGPR pode conferir sabor desagradável ao produto, e além disso, por uma questão de custo de produção, recomenda-se a menor concentração do emulsificante. Portanto o tratamento 1 (proporção de fase aquosa de 10/60; 2% de PGPR) é o mais indicado.

5 REFERÊNCIAS

Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 16^a ed. Washington, 1995.

Brasil. Portaria n° 31 de 13 de janeiro de 1998. Regulamento técnico referente a alimentos adicionados de nutrientes essenciais. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Casé, F. et al. Produção de ‘leite’ de soja enriquecido com cálcio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, p. 86-91, 2005.

Dickinson, E. Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. *Food Hydrocolloids*, v. 28, p. 224-241, 2011.

Gülseren, I.; Corredig, M. Interactions at the interface between hydrophobic and hydrophilic emulsifiers: Polyglycerol polyricinoleate (PGPR) and milk proteins, studied by drop shape tensiometry. *Food Hydrocolloids*, v. 29, p. 193-198, 2012.

Heidari, F. et al. Stability and release mechanisms of double emulsions loaded with bioactive compounds; a critical review, *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 299, p. 102567, 2022.

Holick, M. F. High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clinic Proceedings*, v. 81, p. 353-373, 2006.

Janve, M.; Singhal, R. S. Fortification of puffed rice extrudates and rice noodles with diferente calcium salts: Physicochemical properties and calcium bioaccessibility. *LWT - Food Science and Technology*, v. 97, p. 67–75, 2018.

Jena, A. K. et al. Development of lamivudine containing multiple emulsions stabilized by gum odina. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 4, p. 71-79, 2018.

Jiang, X. et al. The genetics of vitamin D. *Bone*, v. 8756-3282, p. 30370-30373, 2018.

Lima, E. M. F. et al. Spray-dried microcapsules of anthocyanin-rich extracts from *Euterpe edulis* M. as an alternative for maintaining color and bioactive compounds in dairy beverages. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, v 56, p. 4147-4157, 2019.

Marino, M. et al. Viability of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* in structured emulsions containing saturated monoglycerides. *Journal of Functional Foods*, v. 35, p. 51-59, 2017.

Márquez, A. L.; Wagner, J. R. Rheology of double (W/O/W) emulsions prepared with soybean milk and fortified with calcium. *Journal of Texture Studies*, v. 41, p. 651–671, 2010.

McClements, D. J. Emulsion Design to Improve the Delivery of Functional Lipophilic Components. *Annual Review of Food Science and Technology*, v. 1, p. 241–269, 2010.

- Muschiolik, G. Multiple emulsions for food use. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 12, p. 213-220, 2007.
- Pal, R. Rheology of simple and multiple emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 16, p. 41–60, 2011.
- Paula, D. A. et al. Double emulsions (W/O/W): physical characteristics and perceived intensity of salty taste, *International Journal of Food Science and Technology*, v. 53, p. 475-483, 2017.
- Pereira, L. J. B.; Garcia-Rojas, E. E. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos. *Ciência Rural*, v. 45, n. 1, p. 155-162, 2015.
- Raviadarana, R. et al. Ultrasound-assisted water-in-palm oil nano-emulsion: Influence of polyglycerol polyricinoleate and NaCl on its stability. *Ultrasonics – Sonochemistry*, v. 52, p. 353–363, 2019.
- Rincón-Fontán, M. et al. Study of the synergic effect between mica and biosurfactant to stabilize Pickering emulsions containing Vitamin E using a triangular design. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 537, p. 34-42, 2019.
- Saito, T. et al. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel extract increases bioactive compounds in petit-suisse cheese. *International Food Research Journal*, v. 26, p. 277-285-285, 2019.
- Sapei, L. et al. Stability and release properties of double emulsions for food applications. *Food Hydrocolloids*, v. 27, p. 316-323, 2012.
- Seeger T. S. et al. Magnesium and calcium determination in desalted crude oil by direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Fuel*, v. 236, p. 1483-1488, 2019.
- Serdaroğlu, M. et al. Emulsion characteristics, chemical and textural properties of meat systems produced with double emulsions as beef fat replacers. *Meat Science*, v. 117, p. 187–195, 2016.
- Shaddel, R. et al. Double emulsion followed by complex coacervation as a promising method for protection of black raspberry anthocyanins. *Food Hydrocolloids*, v. 77, p. 803-816, 2018.
- Silva, B. F. B. et al. Recent advances in multiple emulsions and their application as templates. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 25, p. 98–108, 2016.
- Simiqueli, A. A. et al. The W/O/W emulsion containing FeSO₄ in the different phases alters the hedonic thresholds in milk-based dessert. *LWT - Food Science and Technology*, v. 99, p. 98–104, 2019a.

Simiqueli, A. A. et al. W/O/W emulsions applied for conveying FeSO₄: Physical characteristics and intensity of metallic taste perception. *LWT - Food Science and Technology*, v. 100, p. 278–286, 2019b.

Sonakpuriya, P. et al. Formulation and evaluation of multiple emulsion of Valsartan. *International Journal of PharmTech Research*, v. 5, p. 132-146, 2013.

Sun, N. et al. Food protein-derived calcium chelating peptides: A review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 58, p. 140-148, 2016.

Szodoray, P. et al. The Complex Role of Vitamin D in Autoimmune Diseases. *Scandinavian Journal of Immunology*, v. 68, 261-269, 2008.

Vellozo, E. P.; Fisberg, M. A. O impacto da fortificação de alimentos na prevenção da deficiência de ferro. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 32, p. 134-139, 2010.

Wang, B. et al. Effect of gum Arabic on stability of oil-in-water emulsion stabilized by flaxseed and soybean protein. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, p. 343– 351, 2011.

Informação sobre adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde aumenta a aceitação de patê de soja adicionado de emulsão A/O/A carreadora de nutrientes

1 INTRODUÇÃO

As características sensoriais são fundamentais para escolha e aceitação dos produtos frente aos consumidores. Dessa forma, a análise sensorial tradicional estuda as características sensoriais decorrentes da composição do alimento e as relaciona com a sua qualidade. No entanto, no processo de escolha e aceitação de produtos, os consumidores também são influenciados por outros fatores, chamados de características não sensoriais (Minim, 2018; Della Lucia et al., 2014; Della Lucia et al., 2013).

As características não sensoriais podem ser divididas em dois tipos: associadas ao produto, como conveniência, utilidade e praticidade, origem, tipo e tecnologia de produção, marca, valor nutritivo, segurança e estabilidade do produto; e associadas ao consumidor, como idade, sexo, conceitos étnicos, culturais e religiosos, renda familiar e preocupação com a saúde (Minim, 2018).

Dessa forma, é necessária a avaliação sensorial integrada, capaz de avaliar tanto as características intrínsecas quanto as características extrínsecas do produto, bem como as interações entre elas e suas consequências no comportamento dos consumidores.

Entre as características não sensoriais, destaca-se a preocupação com a saúde, uma vez que tem sido observado crescente interesse da população por alimentos mais saudáveis.

A vitamina D é um nutriente essencial sintetizado pela pele a partir da exposição à luz solar, ingestão alimentar e suplementação (Fischer & Almasri, 2022). Entretanto, existem poucas fontes de alimentos que contêm naturalmente vitamina D, como peixes, leite, ovos e cogumelos (Khan et al., 2022). A maior parte da vitamina D em humanos é sintetizada pela pele após a exposição solar, visto que a ingestão dietética de vitamina D é inferior às necessidades diárias de reposição (Bouillon & Carmeliet, 2018). A deficiência desta vitamina não afeta apenas habitantes de países cuja incidência solar é baixa, mas também indivíduos de países tropicais, constituindo-se assim em um problema global (Khan et al., 2022).

A vitamina D exerce função essencial na saúde humana, uma vez que auxilia no funcionamento do pâncreas, no desenvolvimento fetal, na imunidade, na proliferação celular, na contração muscular e na condução nervosa em todas as células do corpo (Szodoray, 2008). Sua deficiência tem sido associada a diversas doenças ósseas (Fischer et al., 2022), cardiovasculares (Sofianopoulou et al., 2021), autoimunes (Murdaca et al., 2019), câncer (Kitami et al., 2022), entre outras.

O cálcio é um macromineral disponível nos alimentos. Sua principal fonte é o leite, seguida de vegetais e frutas. A deficiência de cálcio tem sido associada a osteoporose, osteomalacia, hipertensão, obesidade, câncer de cólon (Zemel & Miller, 2004), raquitismo em crianças (Sun et al., 2016), além de redução da capacidade de coagulação do sangue e enfraquecimento dos dentes (Meschino, 2002).

Vale ressaltar o efeito sinérgico do cálcio e da vitamina D, pois o metabolismo do cálcio e o da vitamina D estão intimamente relacionados, tendo sido observado que agem em conjunto e não de forma independente (Morvaridzadeh et al., 2021). A absorção de cálcio aumenta em até 40% na presença de vitamina D (Holick, 2006).

Outro fator a ser considerado é que parte da população não consome leite – principal fonte de cálcio e também fonte de vitamina D – por questões de saúde, como é o caso de indivíduos intolerantes a lactose e/ou alérgicos a leite, ou por opção, como é o caso dos veganos e pessoas que não gostam de leite e seus derivados. Dessa forma, a deficiência desses nutrientes é ainda maior nesses indivíduos.

Sabendo da importância do cálcio e da vitamina D, bem como da sua comum deficiência por parte da população, surge como alternativa o enriquecimento de alimentos com esses nutrientes, de forma a minimizar os danos à saúde.

O enriquecimento de alimentos é um desafio para a indústria, que visa manter as características dos produtos mesmo após a adição de compostos. A vitamina D, por se tratar de um composto lipossolúvel, pode sofrer oxidação e, conseqüentemente, conferir sabor e odor desagradáveis ao alimento, comprometendo sua qualidade sensorial. Além disso, sais de cálcio adicionados de forma direta em produtos à base de soja podem promover coagulação das proteínas de leguminosas (Casé et al., 2005).

A emulsão dupla vem sendo estudada nos últimos anos como forma de carrear nutrientes em alimentos (Simiqueli et al., 2019a; Simiqueli et al., 2019b). Emulsão dupla do tipo água-óleo-água (A/O/A) ocorre quando gotículas de água estão presentes em gotas de óleo em água. Por possuírem fases distintas, o sistema permite a adição de compostos com diferentes

características, como cálcio e vitamina D, que são hidrossolúvel e lipossolúvel, respectivamente. Por meio desse sistema, o cálcio adicionado na fase aquosa interna não entra em contato com as proteínas da soja, e a vitamina D adicionada na fase oleosa fica protegida contra a oxidação, o que viabiliza o enriquecimento dos nutrientes em produtos alimentícios.

Dessa forma, objetivou-se caracterizar os patês e avaliar a influência da informação sobre adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde na aceitação de patê de soja adicionado de emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D.

A escolha do patê como alimento para ser adicionado da emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D se baseou no objetivo de disponibilizar mais opções aos indivíduos intolerantes à lactose, veganos, alérgicos a leite ou, ainda, que não gostam de produtos lácteos, visto que o patê pode substituir a manteiga, requeijão e queijos na combinação com pães e biscoitos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Para o preparo das emulsões A/O/A, o cloreto de cálcio e a vitamina D foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O emulsificante ésteres de poliglicerol de ácido polirricinoleico (PGPR) (BHL1,5) foi doado pela empresa Granolab/Granotec. O emulsificante tween 80 (BHL 15,0) foi adquirido da Labsinth. Os polímeros gelatina (pele de porco, tipo A, Bloom - 300) e goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O conservante sorbato de potássio foi doado pelo Laticínios Viçosa. O cloreto de sódio foi adquirido da Sigma-Aldrich. O óleo de girassol (marca comercial - Liza) foi obtido no mercado local. Os demais reagentes químicos utilizados foram de grau analítico.

Quanto ao preparo dos patês, o extrato de soja (marca comercial - Nayná), as ervas finas (marca comercial - Pirata), a pimenta-do-reino (marca comercial - Pirata), o alho em pó (marca comercial - Bem natural) e o óleo de girassol (marca comercial - Liza) foram adquiridos no mercado local da cidade de Viçosa-MG. Na análise sensorial foi utilizado pão de forma tradicional (marca comercial - Líder) como veículo para as amostras de patê.

2.2 Preparo da emulsão A/O/A

A emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D foi preparada de acordo com o procedimento de duas etapas. Inicialmente foi preparada a emulsão simples A_i/O (emulsão primária) e, posteriormente, essa emulsão foi adicionada como fase dispersa em outra fase aquosa, formando a emulsão dupla $A_i/O/A_e$, conforme a metodologia de Simiqueli et al. (2019b). A proporção de fase aquosa interna e externa foi de 10/60, respectivamente, e 30% (m/m) de óleo de girassol contendo 2% (m/m) de surfactante PGPR. Esses parâmetros foram determinados com base em estudo prévio, no qual a proporção de fase aquosa de 10/60 apresentou elevada capacidade de aprisionamento de cálcio na emulsão A/O/A.

Para obtenção da solução aquosa interna, foram adicionados 1.000 mg de cloreto de cálcio, juntamente com sorbato de potássio (0,05%; m/m) e gelatina (0,75%; m/m), preparados com água deionizada a 90 °C. A gelatina foi previamente hidratada durante dez minutos, seguida de agitação magnética por trinta minutos (Sapei et al., 2012; Simiqueli et al., 2019b). A fração oleosa foi preparada com óleo de girassol contendo 2% (m/m) de PGPR e 0,075% (m/m) de vitamina D. Este sistema foi submetido a uma agitação magnética durante 30 min, em temperatura de 90 °C.

Para obter a emulsão primária (A_i/O), 10 g da solução aquosa interna (A_i) foram dispersos lentamente em 30 g de fração oleosa (O), sob agitação constante, em homogeneizador de alta velocidade (homogeneizador T18 Ultra Turrax – IKA) a 20.000 rpm durante cinco minutos. Em seguida, as emulsões foram resfriadas a 4° C durante uma hora, a fim de promover a gelificação da gelatina.

A fração aquosa externa (A_e) foi preparada por meio da dispersão de 2% (m/m) do surfactante tween 80 e 0,5% (m/m) de goma guar. O polissacarídeo (goma guar) foi adicionado com os objetivos de espessar o meio, reduzir o movimento browniano das gotículas de óleo e, conseqüentemente, contribuir para maior estabilidade. O sistema foi submetido a agitação magnética durante 30 minutos a 50 °C. Em seguida, foi adicionado 0,05% (m/m) de sorbato de potássio e 1,35 mol/L de cloreto de sódio, a fim de equilibrar a pressão osmótica entre as fases aquosas da emulsão A/O/A. Para obter a emulsão dupla ($A_i/O/A_e$), foram dispersos lentamente 40 g de emulsão primária (A_i/O) em 60 g de solução aquosa externa (A_e). O processo ocorreu sob agitação em homogeneizador de alta velocidade (homogeneizador T18 Ultra Turrax – IKA), operando a 18.000 rpm durante 4,5 min. Posteriormente, as emulsões foram armazenadas a 4 °C até o preparo do patê.

2.3 Preparo dos patês

O patê de soja controle, sem adição de sistema emulsionado, foi composto de água (56,1%), extrato de soja (32%), óleo de girassol (7,7%), sal (1,8%), ervas finas (1,2%), pimenta-do-reino (0,16%) e alho em pó (1%). Primeiramente, foi misturado em um recipiente o extrato de soja, sal, ervas finas, pimenta-do-reino e alho em pó. Depois foi acrescentado o óleo e a água, misturando bem, para evitar formação de grumos.

O patê de soja contendo emulsão A/O/A carreadora de cálcio de vitamina D foi composto de água (25,6%), extrato de soja (32%), emulsão A/O/A (40%), ervas finas (1,2%), pimenta-do-reino (0,16%) e alho em pó (1%). Observa-se que o óleo foi completamente substituído pela emulsão A/O/A. O procedimento de preparo foi semelhante ao do patê controle, misturando primeiramente todos os componentes secos. Depois foi acrescentada água e, posteriormente, a emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D. Os patês foram acondicionados a 4°C até momentos antes das análises. Os patês foram formulados com base em testes preliminares.

2.4 Caracterização instrumental dos patês

Os patês contendo emulsão carreadora de cálcio e vitamina D e o patê sem adição do sistema emulsionado (controle) foram caracterizados quanto à eficiência de aprisionamento de cálcio, pH e cor após um dia de preparo. As análises foram realizadas em três repetições e os resultados foram analisados por meio do teste t utilizando o software R.

2.4.1 Eficiência de aprisionamento de cálcio

A eficiência do aprisionamento (EA) de cálcio foi determinada quantificando-se a concentração de íons Ca^{2+} na fase aquosa externa. Assim, a concentração de Ca^{2+} presente na fase aquosa externa configura a concentração de Ca^{2+} não aprisionada na fase aquosa interna.

Os patês foram centrifugados (Centrifuge 5804R, Eppendorf) a 2.100 g durante 60 minutos. Posteriormente, foi retirada uma alíquota da fase aquosa e filtrada por meio de filtro de membrana de 0,45 μm , para remoção de gotículas de óleo remanescentes (Simiqueli, 2019b).

A determinação de cálcio foi realizada por meio da metodologia de espectroscopia de absorção atômica, conforme Seeger et al. (2019). Uma alíquota de 0,5 g da fase aquosa externa foi diluída 20x em água deionizada e, posteriormente, 1 mL dessa amostra foi adicionado a 1,0 mL de cloreto de estrôncio (16.000 ppm) e 8 mL de água deionizada. A solução foi submetida

a leitura de cálcio por meio da lâmpada de cátodo oco do espectrofotômetro de absorção atômica (modelo 220FS; marca Varian).

Considerando a concentração de Ca^{2+} adicionada inicialmente, as EAs dos íons de cálcio foram determinadas, utilizando a equação 1 apresentada no capítulo 1.

$$EA (\%) = \left(1 - \left(\frac{C_w}{C_t}\right)\right) * 100 \quad \text{Eq 1}$$

C_w : Concentração de cálcio na fase aquosa externa

C_t : Concentração total de cálcio

2.4.2 pH

Para determinação do valor de pH, os patês foram previamente diluídos em água destilada (10 g em 100 mL) e submetidos a uma agitação magnética durante 10 min. Posteriormente, foi feita a leitura do pH, utilizando o pHmetro digital (SevenExcellence, marca Mettler Toledo), conforme a metodologia descrita pela Association of Official Analytics Chemists - AOAC (1995).

2.4.3 Cor

A coloração dos patês foi determinada por meio da leitura direta em colorímetro Color Quest XE (Hunter Lab). Foi empregado o sistema de leitura CIELAB (Commission Internationale de l'Eclairage), em que foram obtidos os valores de "L" (luminosidade), a^* (intensidade de vermelho e verde) e b^* (intensidade de amarelo e azul), e, por meio destes, foram calculados os valores de h^* (ângulo de tonalidade cromática) e C^* (cromaticidade ou saturação da cor), utilizando as equações 2 e 3.

$$C^* = \left[(a^*)^2 + (b^*)^2 \right]^{1/2} \quad \text{Eq. 2}$$

$$h = \arctan(b^*/a^*) \quad \text{Eq. 3}$$

2.5 Avaliação da influência da informação sobre adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde na aceitação do patê de soja

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Propriedades Tecnológicas e Sensoriais dos Alimentos da UFV, sob aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa – UFV, pelo parecer de número 077164/2019.

Como a análise sensorial ocorreu durante o período pandêmico do Covid-19, foi adotado protocolo de segurança. Dessa forma, apenas 40% das cabines foram utilizadas, de forma a aumentar a distância entre os consumidores. Após cada análise, as cabines e utensílios foram higienizados. Cada cabine dispunha de álcool 70% para utilização dos consumidores, que foram orientados a usar antes e após a análise. Era permitida a retirada da máscara quando os consumidores já estavam nas cabines individuais, após a explicação do teste.

2.5.1 Consumidores

Os painéis sensoriais em ambas as sessões (cega e com informação) foram compostos por 110 consumidores de patê, recrutados na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. A mesma equipe de consumidores nas duas sessões foi composta de 65 mulheres e 45 homens, com idade entre 18 e 72 anos.

2.5.2. Teste de aceitação - Sessão Cega

Os consumidores receberam duas amostras de patê de soja: uma contendo emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D e outra sem adição dos nutrientes (controle). Ambas foram codificadas com número de três dígitos e servidas de forma monádica. A ordem de apresentação das amostras foi balanceada e casualizada. Como veículo para o patê, foi servido pão de forma tradicional. O teste de aceitação foi aplicado utilizando escala de nove pontos, variando entre “desgostei extremamente” e “gostei extremamente” (Minim, 2018), em que foi avaliada a impressão global do produto.

Nessa sessão não foi dada nenhuma informação aos consumidores a respeito da formulação dos patês de soja. Dessa forma, eles não tinham conhecimento sobre a adição dos nutrientes.

A sessão ocorreu em cabines individuais, sob luz branca, com escotilhas para comunicação entre o analista sensorial e o consumidor. As cabines dispunham de lápis, borrachas e cuspidadeiras. Foi orientado aos consumidores tomarem água e esperarem 30 segundos entre as avaliações das duas amostras.

2.5.3. Teste de aceitação - Sessão com informação

A sessão com informação da adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde foi aplicado de forma análoga à sessão cega. No entanto, quando os consumidores recebiam a amostra contendo os nutrientes, foram instruídos a ler o informativo sobre os benefícios do cálcio e da vitamina D (Figura 11), que permaneceu na cabine dos consumidores durante a avaliação.

Além do informativo, outra diferença na aplicação da sessão foi a codificação dos recipientes contendo as amostras. A amostra controle recebeu a identificação de “patê”, e a amostra contendo os nutrientes, “patê com cálcio e vitamina D”.

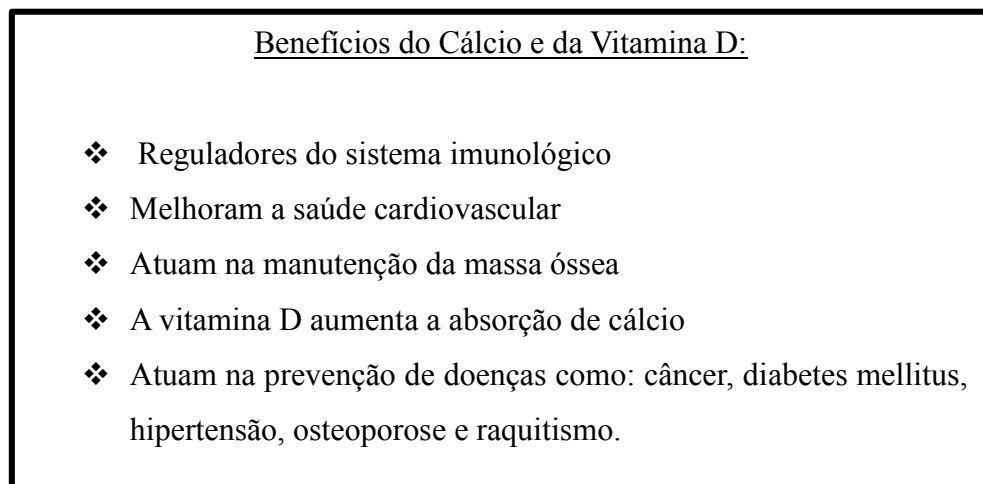


Figura 10. Informativo sobre os benefícios do cálcio e vitamina D.

Fonte: Elaborado pela autora.

2.5.4 Análise estatística

Por meio do teste t, foi comparada a aceitação dos patês em cada sessão (amostra controle e amostra contendo emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D), e a mesma amostra nas diferentes sessões. Foi utilizado o software livre R, versão 3.5.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio de testes preliminares foi possível adicionar 40% de emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D ao patê de soja. Considerando o consumo de 100g de patê, bem como a ingestão diária recomendada (IDR) dos nutrientes, as concentrações equivalem a 14,4% e 60% da IDR de cálcio e vitamina D, respectivamente, o que permite ser considerado um produto “adicionado” de cálcio e “enriquecido” ou “fortificado” de vitamina D. A Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998, considera os termos “enriquecido” e “fortificado” para produtos contendo pelo menos 15% e 30% da IDR para líquidos e sólidos, respectivamente (Brasil, 1998). Esse resultado foi considerado satisfatório, visto que boa parte da IDR está presente em apenas um alimento. A proposta de alimentos adicionados ou enriquecidos com nutrientes é fornecer parte da IDR, pois sabe-se que ao longo do dia são ingeridos diversos alimentos e, portanto, outras fontes nutritivas.

Além disso, a soja é um alimento rico em proteínas. Segundo Guo (2014), a composição de aminoácidos da proteína da soja tem valor nutricional equivalente ao da proteína animal. Alimentos à base de soja têm sido amplamente estudados devido ao seu papel na redução de colesterol e regulação da imunidade e por ela ser anticancerígena, anticoagulante, anti-hipertensiva e antiobesidade. Acredita-se que alimentos à base de soja serão inseridos cada vez mais nas culturas e dietas ocidentais (Guo, 2014).

Por agregar os benefícios do cálcio e da vitamina D aos benefícios presentes na soja, o patê de soja adicionado de cálcio e enriquecido de vitamina D é uma excelente opção para a população, principalmente para os que apresentam essa deficiência nutricional.

3.1 Caracterização dos patês

3.1.1 Cor

Todos as coordenadas de cor dos patês, sem adição de nutrientes (controle) e patê com cálcio e vitamina D, diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste t (Tabela 2). Os patês apresentaram baixa luminosidade (L^*), o que indica que eles exibem coloração escura. Essa escala varia de 0 a 100, sendo zero correspondente ao preto e 100 ao branco. Maior valor de L^* pode ser observado no patê enriquecido de cálcio e vitamina D, mostrando que ele possui coloração mais clara em relação ao controle. Isso indica que a adição de emulsão A/O/A, que apresenta cor branca, contribuiu para aumentar a luminosidade do patê.

A coordenada a^* , que indica a intensidade do verde ao vermelho, por apresentar valor positivo, mostrou uma tendência à cor vermelha. Já a coordenada b^* , que relaciona a intensidade do azul ao amarelo, indicou tendência para coloração amarela. Dessa forma, nos dois patês avaliados, predomina a cor amarela e vermelha.

O croma, ou índice de saturação da cor (C^*), refere-se à intensidade da coloração do produto. Valores menores indicam padrão de cor mais fraco, enquanto valores maiores correspondem ao padrão de cor mais forte. O patê controle apresentou maior valor de C^* , indicando, portanto, o de maior intensidade da cor.

Os ângulos de tonalidade (h) dos patês diferiram estatisticamente ($p < 0,05$). No entanto, ambos os valores de h se encontram no primeiro quadrante no sólido de cor (entre amarelo e vermelho). A influência da cor amarela em relação à cor vermelha pode ser comprovada pelo ângulo de tonalidade, que se apresenta mais próximo ao ângulo de 90° . Essa influência do amarelo foi ainda maior no patê com cálcio e vitamina D. A adição de emulsão A/O/A, por esta ter cor branca, contribuiu para aumentar a intensidade do amarelo no patê adicionado de cálcio e enriquecido de vitamina D.

Tabela 2. Medidas de cor dos patês controle e adicionado de cálcio e enriquecido com vitamina D.

	Patê controle	Patê com cálcio e vitamina D
L^*	$27,33 \pm 0,009^b$	$27,40 \pm 0,008^a$
a^*	$1,41 \pm 0,006^a$	$1,06 \pm 0,008^b$
b^*	$1,98 \pm 0,007^a$	$1,68 \pm 0,009^b$
C^*	$2,43 \pm 0,005^a$	$1,99 \pm 0,004^b$
h	$54,54 \pm 0,042^b$	$57,75 \pm 0,008^a$

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

3.1.2 Eficiência do aprisionamento de cálcio

Considerando apenas o cálcio incorporado na emulsão A/O/A, pode-se dizer que o patê adicionado de emulsão carreadora de cálcio e vitamina D apresentou 94,82% de eficiência do aprisionamento de cálcio. O aprisionamento de compostos por meio de emulsões duplas deve ser considerado satisfatório quando ocorre próximo a 95% (Dickinson, 2011). Assim, pode-se dizer que houve eficiência satisfatória no carregamento de cálcio utilizando as emulsões A/O/A propostas no presente estudo. A completa eficiência não é possível de ser atingida, pois durante

a segunda emulsificação ocorre ruptura de algumas gotículas internas e, conseqüentemente, perda de cálcio (Simiqueli, 2019b).

3.1.3 pH

Houve diferença entre os valores de pH dos patês controle e adicionado de emulsão carreadora de cálcio e vitamina D ($p < 0,05$) pelo teste t. O patê controle apresentou valor médio de pH de 5,83, e o patê enriquecido com cálcio e vitamina D, de 6,06. Essa diferença pode ser explicada pela diferença na composição do produto. A adição de 40% de emulsão A/O/A altera consideravelmente a composição, em razão dos materiais usados na produção da emulsão.

3.2 Avaliação da influência da informação sobre adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde na aceitação do patê de soja

Foi avaliada a aceitação dos patês de soja em ambas as sessões: cega e com informação (Tabela 3). O patê sem adição de nutrientes (controle) não apresentou diferença significativa quanto à aceitação nas sessões cega e com informação ($p > 0,05$). O escore médio do patê controle na sessão cega foi de 6,1, e na sessão com informação, de 6,3, situando-se entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Observa-se que o patê controle foi aceito pelos consumidores em ambas as sessões.

O patê com adição de emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D apresentou diferença significativa quanto à aceitação entre as duas sessões ($p < 0,05$). Na sessão cega a média hedônica foi de 6,5, posicionando-se entre os termos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Contudo, quando os consumidores foram informados sobre a adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde, o escore médio foi de 7,6, situando-se entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

Esse aumento da média hedônica comprova a influência positiva da informação da adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde na aceitação do patê.

Diversos estudos já constataram a influência das características não sensoriais, sobretudo da informação de adição de compostos benéficos à saúde, na aceitação de produtos, mostrando que, quando os consumidores são informados sobre a presença de tais compostos, a aceitação tende a aumentar (Vidigal et al., 2011; Monahan et al., 2017). Madalão et al. (2021) observaram

que é possível aumentar em até 21% a quantidade de ômega 3 em sobremesa láctea sem provocar rejeição ao produto, após informar os consumidores sobre a adição do composto e seus benefícios à saúde

Tabela 3. Médias de aceitação dos patês de soja, controle e adicionado de emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D, nas sessões cega e com informação

	Sessão 1 (Teste Cego)	Sessão 2 (Teste com Informação)
Patê (controle)	6,1 aB	6,3 aB
Patê com cálcio e vitamina D	6,5 bA	7,6 aA

Pares de médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na linha, diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$). Pares de médias seguidas por letras maiúsculas diferentes, na coluna, diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$).

Também foram comparadas as duas amostras de patê, com adição de emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D e controle, dentro da mesma sessão (Tabela 3). Na sessão cega, as duas amostras diferiram quanto à aceitação ($p < 0,05$). O patê adicionado de cálcio e enriquecido com vitamina D foi mais aceito pelos consumidores que o patê controle. O patê com nutrientes apresentou escore médio de 6,5, situando-se entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Já o patê controle apresentou escore médio de 6,1, próximo ao termo hedônico “gostei ligeiramente”. Embora os dois patês tenham sido aceitos pelos consumidores, a aceitação do patê contendo cálcio e vitamina D foi ainda maior comparado ao controle. Acredita-se que a adição de 40% de emulsão A/O/A tenha alterado positivamente as propriedades do patê, de forma a contribuir para melhor aceitação.

Na sessão com informação, as duas amostras de patê diferiram quanto à aceitação ($p < 0,05$). O patê contendo emulsão carreadora de cálcio e vitamina D foi mais aceito pelos consumidores que o patê controle, tendo apresentado escore médio de 7,6, situando-se entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”. Já o patê controle apresentou escore médio de 6,3, entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”.

Embora na sessão cega o patê adicionado de cálcio e enriquecido com vitamina D já tenha sido o mais aceito, a aceitação aumentou no teste com informação. Isso confirma a influência da informação da adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde na aceitação do produto. Ou seja, além das características sensoriais, a característica não sensorial também influenciou a aceitação. Sabe-se que a população tem se preocupado cada vez mais com a saúde

e buscado viver de forma mais saudável, estando, portanto, disposta a consumir alimentos mais saudáveis (Euromonitor International, 2017).

Sabe-se que a deficiência nutricional é comum em toda a população mundial. Sabendo dos riscos associados a essa deficiência, sobretudo de cálcio e vitamina D, a produção de alimentos adicionados de nutrientes é uma alternativa promissora para reverter este quadro de deficiência.

4 CONCLUSÃO

Foi adicionado 40% de emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D no patê de soja. Considerando a ingestão de 100g de patê, isso corresponde a 14,4% e 60% da ingestão diária recomendada (IDR) de cálcio e vitamina D, respectivamente. Dessa forma, de acordo com a legislação vigente, o patê contendo os nutrientes pode ser chamado de patê adicionado de cálcio e enriquecido com vitamina D.

O sistema de emulsão dupla apresenta potencial para carrear simultaneamente os nutrientes íons de cálcio e vitamina D, podendo ser aplicado na produção de patê de soja sem influenciar na aceitabilidade sensorial

O patê contendo cálcio e vitamina D teve sua aceitação maior na sessão com informação. O aumento da aceitação após os consumidores serem informados sobre a adição de cálcio e vitamina D e seus benefícios à saúde comprova a influência positiva da informação. Ou seja, além das características sensoriais, a característica não sensorial também influenciou a aceitação do patê.

5 REFERÊNCIAS

Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 16^a ed. Washington, 1995.

Bouillon, R.; Carmeliet, G. Vitamin D insufficiency: Definition, diagnosis and management. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 32, p. 669-684, 2018.

Brasil. Portaria n° 31 de 13 de janeiro de 1998. Regulamento técnico referente a alimentos adicionados de nutrientes essenciais. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. <http://www.anvisa.gov.br> [accessed 11 november 2020].

Casé, F. et al. Produção de 'leite' de soja enriquecido com cálcio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, p. 86-91, 2005.

Della Lucia, S. M. et al. Use of relative risk test to evaluate the influence of the brand on beer acceptability. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 35, p. 267-276, 2014.

Della Lucia, S. M. et al. Ordered probit regression analysis of the effect of brand name on beer acceptance by consumers. *Food Science and Technology*, v. 33, p. 586-591, 2013.

Dickinson, E. Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. *Food Hydrocolloids*, v. 28, p. 224-241, 2011.

EUROMONITOR INTERNATIONAL, Top 10 Global Consumer Trends 2019, https://go.euromonitor.com/white-paper-EC-2019-Top-10-Global-Consumer-Trends.html?fclid=IwAR3QvOWw5rxxRQt_JwMCG_qM0TASpKpMGqNE5hOd0Gvhe-01qXe7H9RKe-U#download-link . [accessed 11 August 2020].

Fischer, P. R.; Almasri, N.I. Nutritional rickets - Vitamin D and beyond. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v. 219. p. 106070. 2022.

Guo, M. Soy food products and their health benefits. *Functional Foods*. Book Chapter 7 p.237-277. 2022.

Holick, M. F. High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clinic Proceedings*, v. 81, p. 353-373, 2006.

Khan, M. U. et al. Vitamin D from Vegetable VV Sources: Hope for the Future. *Phytomedicine Plus*. v.2, p. 100248, 2022.

Kitami, K. Peritoneal Restoration by Repurposing Vitamin D Inhibits Ovarian Cancer Dissemination via Blockade of the TGF- β 1/Thrombospondin-1 Axis. *Matrix Biology*, 2022.

Madalão, M. C. M. et al. Effect of a health claim on consumer acceptance of milk-based dessert containing omega-3. *Research, Society and Development*. v.10, p. e289101522660, 2021.

Meschino, J. P. Calcium: Requirements, Bioavailable Forms, Physiology and Clinical Aspects. *Dynamic Chiropractic*, v. 20, 2002.

Minim, V. P. R. *Análise sensorial: Estudos com consumidores*. 4ª ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2018. 362p.

- Monahan, F. J. et al. The effect of health claim information disclosure on the sensory characteristics of plant sterol-enriched turkey as assessed using the Check-All-That-Apply (CATA) methodology. *Food Quality and Preference*, v.57, p. 69-78, 2017.
- Morvaridzadeh, M. et al. Effects of Calcium and Vitamin D Co-supplementation on the Lipid Profile: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Therapeutics*, v. 43, p. 274-296, 2021.
- Murdaca G. et al. Emerging role of vitamin D in autoimmune diseases: An update on evidence and therapeutic implications. *Autoimmunity Reviews*, v. 18, p. 102350, 2019.
- Sapei, L. et al. Stability and release properties of double emulsions for food applications. *Food Hydrocolloids*, v. 27, p. 316-323, 2012.
- Seeger T. S. et al. Magnesium and calcium determination in desalted crude oil by direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Fuel*, v. 236, p 1483-1488, 2019.
- Simiqueli, A. A. et al. The W/O/W emulsion containing FeSO₄ in the different phases alters the hedonic thresholds in milk-based dessert. *LWT - Food Science and Technology*, v. 99, p. 98–104, 2019a.
- Simiqueli, A. A. et al. W/O/W emulsions applied for conveying FeSO₄: Physical characteristics and intensity of metallic taste perception. *LWT - Food Science and Technology*, v. 100, p. 278–286, 2019b.
- Sofianopoulou, E. et al. Estimating dose-response relationships for vitamin D with coronary heart disease, stroke, and all-cause mortality: observational and Mendelian randomisation analyses. *The Lancet*, v. 9. p. 837-846.2021.
- Sun, N. et al. Food protein-derived calcium chelating peptides: A review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 58, p. 140-148, 2016.
- Szodoray, P. et al. The Complex Role of Vitamin D in Autoimmune Diseases. *Scandinavian Journal of Immunology*, v. 68, 261-269, 2008.
- Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO. 4 ed. Campinas, São Paulo. 2011.
- Vidigal M.C.T.R et al. Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açaí (*Euterpe oleracea Mart.*), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea L.*) and Umbu (*Spondias tuberosa Arruda*). *Food Res Int* 2011; 44: 1988-96.
- Zemel, M. B.; Miller, S. L. Dietary Calcium and Dairy Modulation of Adiposity and Obesity Risk. *Nutrition Reviews*, v. 62, p. 125–131, 2004.

CONCLUSÃO GERAL

Foi possível carrear cálcio e vitamina D por meio da emulsão dupla A/O/A proposta. Isso mostra que esse sistema pode ser utilizado para enriquecer alimentos com os nutrientes, suprimindo a deficiência destes na população. Todas as emulsões avaliadas mostraram estabilidade cinética durante os 13 dias de armazenamento. O PGPR mostrou-se um excelente surfactante, capaz de reduzir rapidamente a tensão interfacial entre as fases e favorecer o processo de emulsificação. A maior eficiência de aprisionamento (EA) e estabilidade cinética (EC) da localização do cálcio foi observada nos tratamentos com menores proporções de fase aquosa interna, independentemente da concentração de PGPR. Assim, considerando o melhor desempenho e o menor custo de produção, sugere-se o tratamento 1 (proporção de fase aquosa de 10/60; 2% de PGPR) para obtenção de emulsão dupla A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D.

Foram adicionados ao patê de soja 40% de emulsão dupla A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D, indicando, em termos de ingestão diária recomendada (IDR), 14,4% e 60% de cálcio e vitamina D, respectivamente. Dessa forma, de acordo com a legislação vigente, o patê contendo os nutrientes pode ser chamado de patê adicionado de cálcio e enriquecido com vitamina D.

O patê contendo emulsão A/O/A carreadora de cálcio e vitamina D foi avaliado quanto à aceitação em sessão cega e sessão com informação sobre adição de vitamina D e cálcio e seus benefícios à saúde. Esse patê apresentou aceitação em ambas as sessões. No entanto, foi observada maior aceitação na sessão com informação, o que comprova a influência positiva da informação sobre adição de vitamina D e cálcio e seus benefícios à saúde.

Dessa forma, o sistema de emulsão dupla apresenta potencial para carrear cálcio e vitamina D sendo aplicado na produção de alimentos como patê de soja, influenciando positivamente a aceitação sensorial do produto.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 4. ANOVA geral para as variáveis pH, potencial zeta, viscosidade aparente e aprisionamento de cálcio.

		G.L.	Q.M.	F	p
pH	Tempo (t)	4	0,011	0,7 ^{ns}	0,622694
	Formulação(F)	9	0,060	3,7*	0,000505
	txF	36	0,006	0,3 ^{ns}	0,999698
	Resíduo	100	0,016		
	Total	149			
Potencial Zeta	Tempo (t)	4	1,55	0,369 ^{ns}	0,830159
	Formulação(F)	9	958,58	228,053*	0,000000
	txF	36	5,34	1,271 ^{ns}	0,176857
	Resíduo	100	4,20		
	Total	149			
Viscosidade aparente	Tempo (t)	4	2,2887	8,114*	0,000010
	Formulação(F)	9	0,7918	2,807*	0,005570
	txF	36	0,2234	0,792 ^{ns}	0,783742
	Resíduo	100	0,2821		
	Total	149			
Aprisionamento de cálcio	Tempo (t)	3	380,3	41,95*	0,000000
	Formulação(F)	8	128,5	14,17*	0,000000
	txF	24	3,3	0,36 ^{ns}	0,996578
	Resíduo	72	9,1		
	Total	107			

*: Significativo ($p < 0,05$); ^{ns}: Não significativo ($p > 0,05$); GL: grau de liberdade; QM: quadrado médio.

Tabela 5. Comparação das emulsões duplas com a emulsão controle por meio do teste de Dunnet.

Tratamentos	Aprisionamento de Cálcio	pH	Potencial zeta	Viscosidade aparente
1	91,8903*	7,178*	-5,551*	1,302
2	83,7323*	7,360	-5,944*	1,188*
3	80,3150*	7,297	-6,307*	1,449
4	91,8503*	7,238	-5,664*	1,524
5	83,1698*	7,373	-6,224*	1,308
6	81,0271*	7,300	-5,568*	1,203*
7	90,9880*	7,273	-5,228*	1,492
8	83,4758*	7,355	-5,068*	1,510
9	79,9802*	7,369	-6,548*	0,999*
10 (Controle)	0,0000	7,326	-31,024	1,822

Média seguidas por * diferem do controle ($p < 0,05$), dentro de uma mesma coluna, pelo teste de Dunnet.

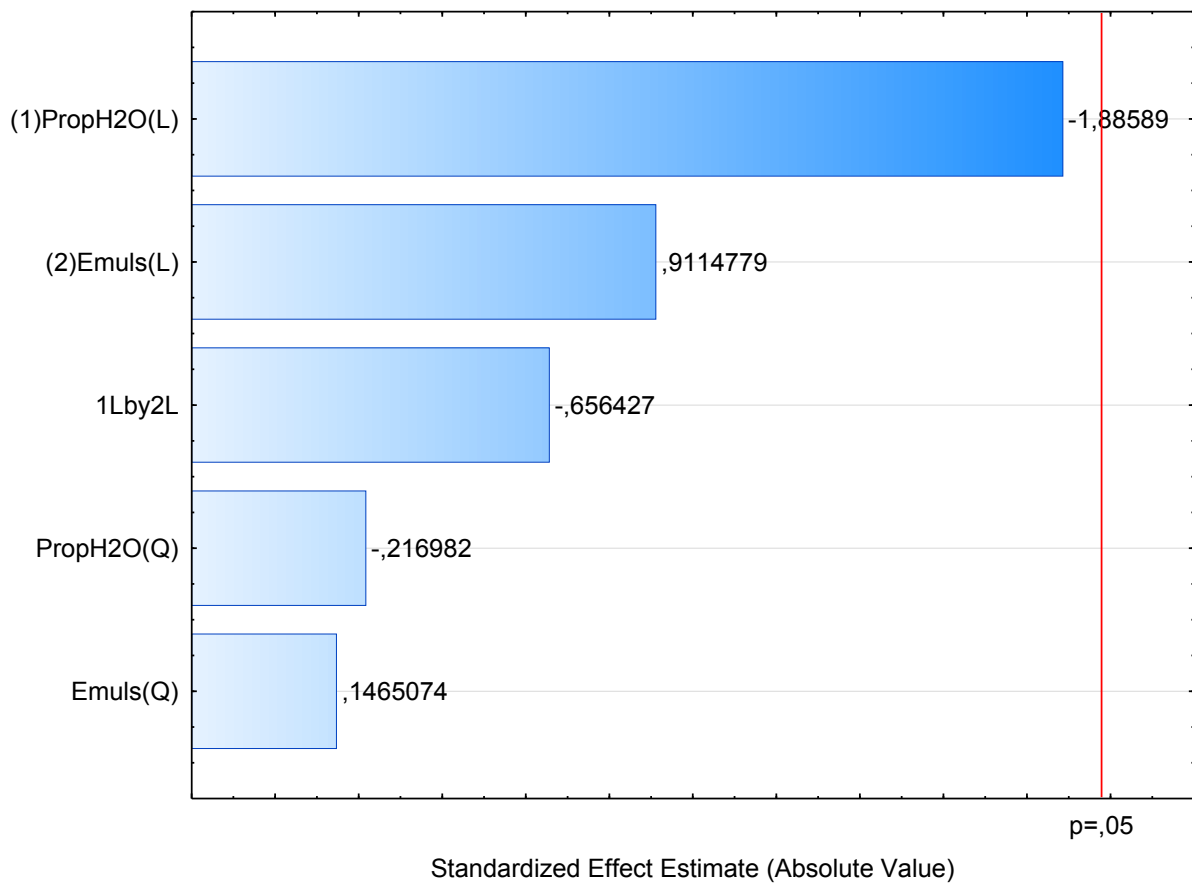


Figura 11. Diagrama de Pareto para os efeitos lineares, quadráticos e de interação para potencial zeta.

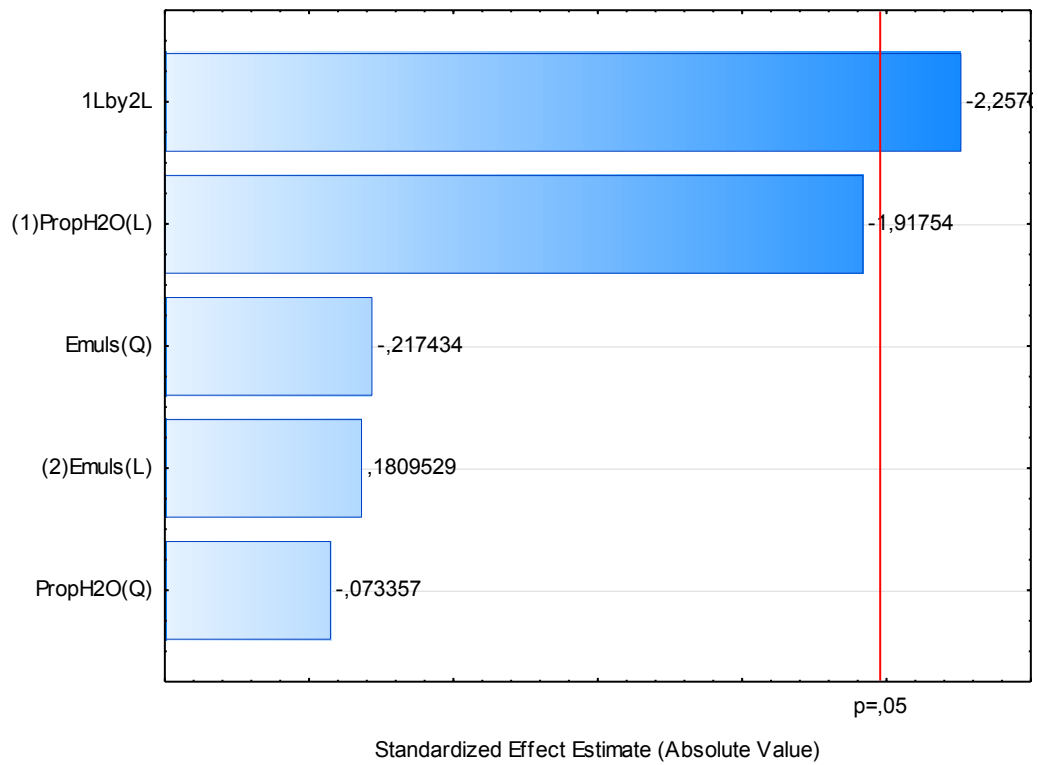


Figura 12. Diagrama de Pareto para os efeitos lineares, quadráticos e de interação para viscosidade aparente

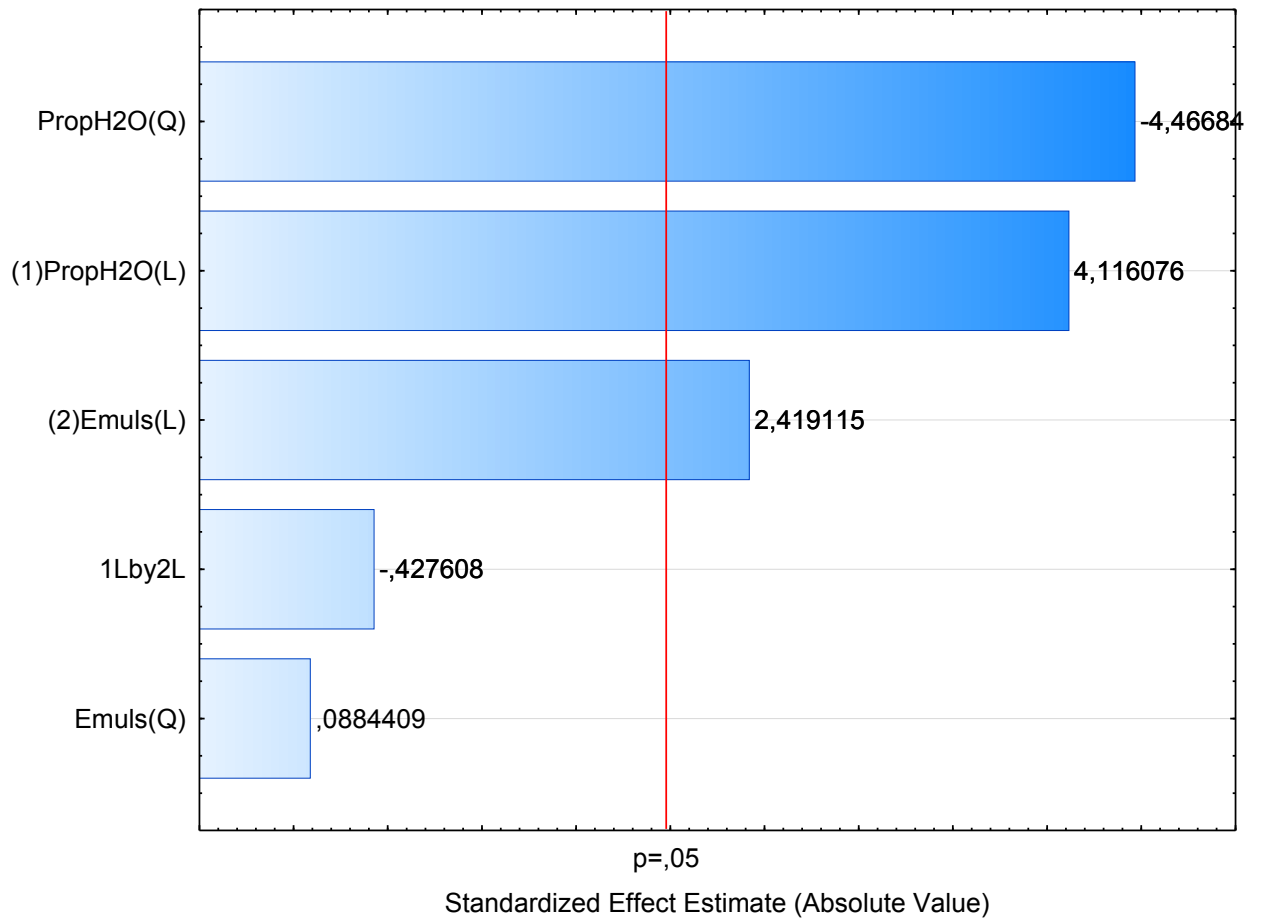


Figura 13. Diagrama de Pareto para os efeitos lineares, quadráticos e de interação para pH.

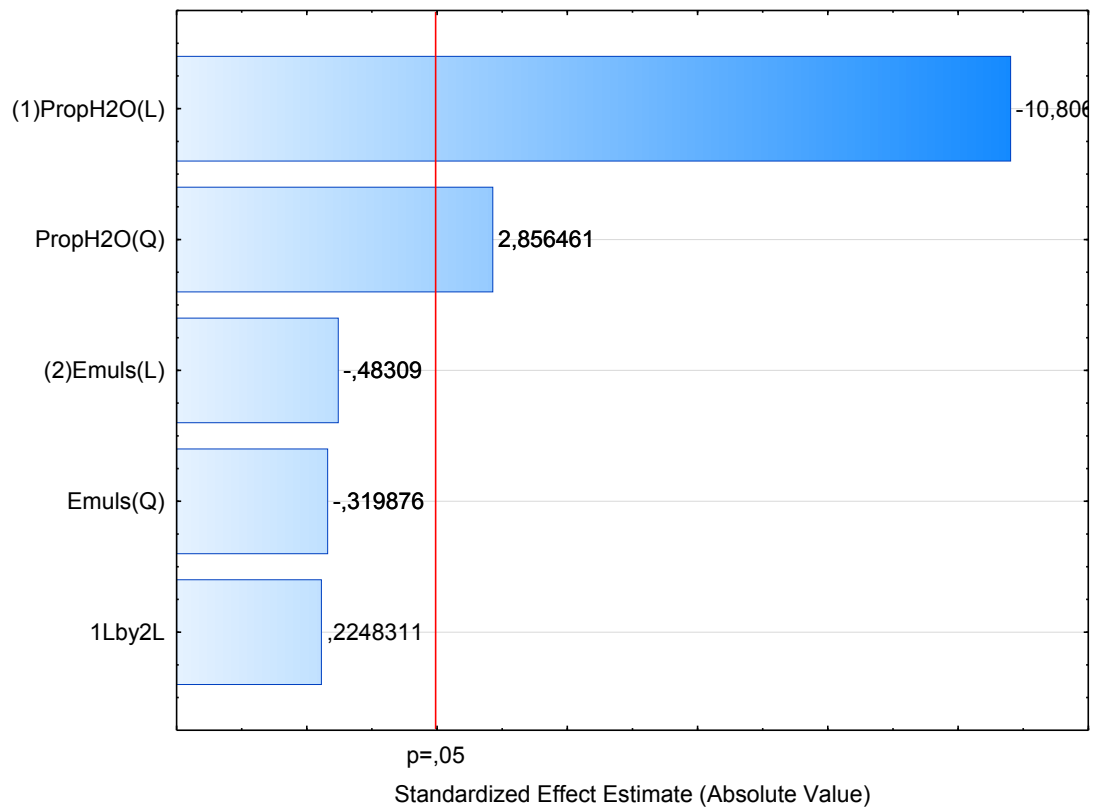


Figura 14. Diagrama de Pareto para os efeitos lineares, quadráticos e de interação para aprisionamento de cálcio.