



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO E ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CHIA COM
APLICAÇÃO EM BISCOITO

SIBELE SANTOS FERNANDES

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do
título de doutor em Engenharia e
Ciência de Alimentos.

MYRIAM DE LAS MERCEDES SALAS-MELLADO

Orientador

CARLOS PRENTICE-HERNÁNDEZ

Co-orientador

RIO GRANDE, RS

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO E ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CHIA COM
APLICAÇÃO EM BISCOITO

SIBELE SANTOS FERNANDES

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do
título de doutor em Engenharia e
Ciência de Alimentos.

MYRIAM DE LAS MERCEDES SALAS-MELLADO

Orientador

CARLOS PRENTICE-HERNÁNDEZ

Co-orientador

RIO GRANDE, RS

2020

Ficha Catalográfica

F363a Fernandes, Sibebe Santos.

Avaliação da extração e encapsulação de óleo de chia com aplicação em biscoito / Sibebe Santos Fernandes. – 2020.
224 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2020.

Orientadora: Dra. Myriam de las Mercedes Salas-Mellado.
Coorientador: Dr. Carlos Prentice-Hernández.

1. Semente de Chia 2. *Spray Drying* 3. Nanoemulsão 4. Avaliação
I. Salas-Mellado, Myriam de las Mercedes II. Prentice-Hernández,
Carlos III. Título.

CDU 664.3

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

APROVAÇÃO

Tese defendida por Sibeles Santos Fernandes e aprovada em 18 de fevereiro de 2020, pela Comissão Examinadora constituída pelos membros:

M Salas M

Profa. Dra. Myriam de las Mercedes Salas-Mellado - FURG

Cláudia Severo da Rosa

Profa. Dra. Cláudia Severo da Rosa - UFSM

Janaina F. de Medeiros Burkert

Profa. Dra. Janaina Fernandes de Medeiros Burkert - FURG

Eliana Badiale Furlong

Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong - FURG

Juliana Machado Latorres

Dra. Juliana Machado Latorres - FURG

Dedico aos meus pais, Jesus e Gilca,
e à minha madrinha Gládis.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, que tornou tudo isso possível e real, guiando e abençoando meus passos. Com certeza, nada aconteceu por acaso ou por sorte, mas sim, por vontade Dele.

Aos meus pais, Jesus e Gilca, pelo apoio nas minhas escolhas e decisões, pela educação e valores transmitidos e acima de tudo pelo amor incondicional, que sempre buscaram o melhor e sem medir esforços para a minha formação pessoal e profissional.

A minha madrinha e segunda mãe Gládis, companheira de muitos congressos, por toda força, apoio, incentivo, parceria e afeto.

Ao meu afilhado, amor da minha vida, João Pedro, que só pela sua existência faz eu crer em um mundo melhor.

A minha orientadora, Myriam Salas-Mellado pela paciência, confiança, motivação, carinho e afeto. Obrigada por esses 6 anos de orientação, amizade e por teres acreditado em mim.

Ao meu co-orientador, Carlos Prentice, pelas palavras de apoio e por ter fundado o nosso laboratório aonde foi possível desenvolver esse estudo.

Aos meus amigos Cristina, Nininho, Lorena, Francine, Heitor, Natália e Walesca que entenderam todas as minhas ausências para que hoje eu pudesse completar esta etapa. Eles me incentivaram, estiveram ao meu lado me dando força, carinho, atenção e amor.

Aos meus tios, Geovanir e Lediani, aos amigos Darci e família, meus tios-avôs Albertina e Alberto que foram os maiores incentivadores para que eu virasse “doutora”.

As amigas Juliana Latorres, Michele Coelho e Sabrine Aquino, as quais foram fundamentais na minha caminhada acadêmica e agora são amigas para toda a vida. Vocês foram minhas inspirações!

Aos amigos de FURG, Andressa Jantzen, Daiane Nogueira, Camila Quadros, Karina Lima, Paola Chaves, Helena Gouveia, Débora Craveiro, Jonathan Huch, Wesclen Nogueira e Aline Mássia que estiveram, seja com uma palavra de apoio, um abraço ou seja com um sorriso para que o meu dia fosse melhor. Obrigada por toda amizade e carinho!

Aos amigos, em especial Gabrielle Victória e Gabriel Filipini. À Gabrielle por estar ao meu lado desde o primeiro ano de graduação, compartilhando, nesses 11 anos de amizade, angústias, estresses, conquistas e felicidades. Ao Gabriel, que foi a luz no meu caminho, que se fez presença em momentos difíceis e bons, que fez eu manter meu sorriso diário e a esperança de uma carreira profissional maravilhosa.

A todos os colegas do Laboratório de Tecnologia de Alimentos pela amizade, apoio e as risadas diárias.

A Universidad Autonoma de Yucatán, aonde realizei meu doutorado sanduíche, em especialmente a Prof^a Maira Segura-Campos que permitiu que eu pudesse realizar meu sonho.

A CAPES pela concessão da bolsa de doutorado e da bolsa do doutorado sanduíche.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para parte da minha formação, para que eu pudesse subir mais esse degrau e conquistar esse sonho.

A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro.

Albert Einstein

LISTA DE TABELAS

CAPITULO II – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

ARTIGO I: EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E BENEFÍCIOS DO ÓLEO DE CHIA (*SALVIA HISPANICA* L.): UMA REVISÃO

Tabela 1 – Estudos de extração de óleo de chia por extração supercrítica.....	53
Tabela 2 - Resumo dos métodos analíticos para a caracterização do óleo de chia.....	56

ARTIGO II: RENDIMENTO E QUALIDADE DO ÓLEO DE CHIA EXTRAÍDO POR DIFERENTES MÉTODOS

Tabela 1 – Rendimento para a extração com solvente a frio em diferentes tempos de pré-tratamento da amostra em banho ultrassônico.....	87
Tabela 2 – Rendimento e recuperação de óleos de chia obtidos por extração com CO ₂ pressurizado com diferentes pressões, temperaturas, tempo de ultrassom, concentração de co-solvente e tempo de extração, bem como do óleo obtido por extração em Soxhlet.....	89
Tabela 3 – Parâmetros de qualidade dos óleos obtidos através dos diferentes métodos de extração.....	92
Tabela 4 – Resumo do método para determinação da composição de ácidos graxos no óleo de chia por RMN de ¹ H.....	98
Tabela 5 – Comparação da composição de ácidos graxos determinada por espectroscopia de RMN de ¹ H em óleo de chia comercial e os óleos de chia obtidos por solvente a frio, supercrítico e prensado.....	99
Tabela 6 – Variação da composição de ácidos graxos do óleo de chia obtido por prensagem à temperatura ambiente e teste em estufa (60 °C).....	101

ARTIGO III: ESTUDO DA MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CHIA UTILIZANDO GOMA ARÁBICA E MALTODEXTRINA POR *SPRAY DRYING*

Tabela 1 – Condições utilizadas para o <i>spray dryer</i>	113
Tabela 2 – Avaliação físico-química e térmica das micropartículas de óleo de chia obtidas sob diferentes condições por <i>spray drying</i>	119
Tabela 3 – Índice de peróxido e parâmetros de cor nas temperaturas de 4 °C, ambiente e 60 °C para micropartículas obtida por diferentes tratamentos por <i>spray drying</i> durante os tempos de armazenamento de 0, 15 e 30 dias.....	131

ARTIGO IV: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÕES OBTIDAS COM ÓLEO E MUCILAGEM CHIA

Tabela 1 – Formulações de encapsulamento de óleo de chia por nanoemulsões.....	148
Tabela 2 – Respostas do planejamento experimental para a variações de mucilagem de chia e óleo de chia.....	154
Tabela 3 – Resultados do estresse térmico das nanoemulsões avaliadas.....	159
Tabela 4 – Sinérese a 4 °C e tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta das nanoemulsões em diferentes temperaturas e em diferentes dias de armazenamento.....	163
Tabela 5 – Parâmetros de cor das nanoemulsões a diferentes temperaturas em diferentes intervalos de armazenamento.....	171

ARTIGO V: SUBSTITUIÇÃO DA GORDURA EM BISCOITOS POR NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE CHIA

Tabela 1 – Formulações do biscoito controle e do biscoito teste.....	190
Tabela 2 – Composição proximal dos biscoitos.....	193
Tabela 3 – Avaliação físico-química, tecnológica e parâmetros de cor dos biscoitos.	195
Tabela 4 – Notas e valores obtidos na análise sensorial dos biscoitos.....	199

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO II – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

ARTIGO II: RENDIMENTO E QUALIDADE DO ÓLEO DE CHIA EXTRAÍDO POR DIFERENTES MÉTODOS

- Figura 1** – Cinética de extração do óleo de chia para o método de extração supercrítica (a) comparado com as diferentes condições testadas e (b) utilizando a 40 °C, 25 MPa e 15 min em banho ultrassônico em diferentes concentrações do co-solvente etanol..... 90
- Figura 2** – Espectro de RMN de ¹H da amostra de óleo de chia, mostrando a unidade de glicerol e os diferentes tipos de ácidos graxos que podem ser os grupos R (acima), com a respectiva atribuição dos sinais da unidade de glicerol e as cadeias de ácidos graxos (abaixo). 98
- Figura 3** – Comparação da composição de ácidos linolênico nas amostras de óleo de chia por análise de RMN de ¹H e GC-FID (ES = Extração por supercrítico; EP = Extração por prensagem; SF = Extração por solvente a frio). 99

ARTIGO III: ESTUDO DA MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CHIA UTILIZANDO GOMA ARÁBICA E MALTODEXTRINA POR *SPRAY DRYING*

- Figura 1** – Curvas de distribuição do tamanho de partícula: (a) tratamento 1 (T1), (b) tratamento 2 (T2), (c) tratamento 3 (T3), (d) tratamento 4 (T4) e (e) tratamento 5 (T5). 122
- Figura 2** – Micrografias da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das micropartículas obtidas por *spray drying*. 123
- Figura 3** – (a) Calorimetria de Diferencial de Varredura (DSC), (b) Análise termogravimétrica (TGA) e (c) dTG do óleo de chia *in natura* e das micropartículas em diferentes condições por *spray drying*. 128
- Figura 4** – Espectro de RMN de ¹H a partir de sementes de chia (A, HR-MAS, 10 mg; CDCl₃, 40 µL; 400,13 MHz), óleo de chia (B, solução NMR, 200 µL de óleo; CDCl₃, 600 µL; 400,13 MHz) e das micropartículas do tratamento T5 (C, HR-MAS; 10 mg; D₂O, 40 µL; 400,13 MHz). 135

ARTIGO IV: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÕES OBTIDAS COM ÓLEO E MUCILAGEM CHIA

- Figura 1** – Fotografias das nanoemulsões durante a análise de estresse térmico em diferentes temperaturas testadas. 160
- Figura 2** – Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) do óleo de chia, da mucilagem de chia, e das nanoemulsões T4 (sem etanol) e T4E (com etanol). 161
- Figura 3** – Micrografias por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das nanoemulsões a) T4 (sem etanol) e b) T4E (com etanol). 162
- Figura 4** – (a) Viscosidade das nanoemulsões T4 (sem etanol) e T4E (com etanol) em função da taxa de cisalhamento; e (b) varredura de tensão em diferentes frequências: elástica (módulo de armazenamento - G') e viscosa (módulo de perda - G'') em diferentes temperaturas e tempos de armazenamento. 167

APÊNDICE

- Figura 1** – Gráficos de respostas resultante da análise de fatores. 179
- Figura 2** – Distribuição de tamanho por volume dos tratamentos testadas. 180

ARTIGO V: SUBSTITUIÇÃO DA GORDURA EM BISCOITOS POR NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE CHIA

Figura 1 – Fotografias do biscoito controle (a) e biscoito adicionado da nanoemulsão (b). 200

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$\dot{\gamma}$ - Taxa de cisalhamento ou taxa de deformação

ΔH - Entalpia

a* e b* - Coordenadas de cromaticidade

AA - Ácido araquidônico

AGPI - Ácido graxo poli-insaturado

ALA - Ácido α -linolênico

AOCS - American Oil Chemists Society

ASTM - American Society for Testing and Materials

C* - Intensidade ou pureza da cor

C18:1 - Ácidos graxos oleico

C18:2, ômega-3 - Ácido graxo linoleico

C18:3, ômega-6 - Ácido graxo linolênico

CDCl₃ - Clorofórmio deuterado

CG - Cromatografia gasosa

CIE - Comissão Internacional de Iluminação

CO₂ - Dióxido de carbono

CRA - Capacidade de retenção de água

D₂O - Óxido de deutério

DE - Dextrose equivalente

DHA - Ácido docosahexaenóico

DLS - Espalhamento dinâmico de luz

DSC - Calorimetria Diferencial de Varredura

DTC - Diferença total de cor

EAU - Extração assistida por ultrassom

EP - Extração por prensagem

EPA - Ácido eicosapentaenoico

ES - Extração por supercrítico

FID - *Free induction decay*

FTIR - Infravermelho com transformada de Fourier

G' - Módulo elástico ou de armazenamento

G'' - Módulo viscoso ou de perda

GA - Goma arábica

GLP - Gás liquefeito de petróleo

GRAS - *Generally Recognized as Safe*

HDL - *High Density Lipoprotein*

h° - Ângulo *hue*

HPMC - Hidroxipropilmetilcelulose

HR-MAS - *High Resolution Magic Angle Spinning*

IA - Índice de aceitabilidade

IA - Índice de acidez

IC - Índice de Carr

II - Índice de iodo

IP - Índice de peróxido

IPD - Índice de polidispersão

IS - Índice de saponificação

ISO - International Standard Organization

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

K - Índice de consistência

K_{232} - Coeficiente de extinção a 232 nm

K_{270} - Coeficiente de extinção a 270 nm

L^* - Luminosidade

LDL - *Low Density Lipoprotein*

m - Massa total de óleo extraído

M - Modificado, com separação de fases

m_{biscoito} - Massa dos biscoitos após o forneamento

MD - Maltodextrina

m_e - Massa total de óleo extraído

meq - Miliequivalente

MET - Microscopia Eletrônica de Transmissão

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

m_i - Massa inicial de sementes de chia

m_{massa} - Massa dos biscoitos antes o forneamento

m_{Soxhlet} - Massa do óleo extraído pelo método de Soxhlet

n - Índice de comportamento

NaCl - Cloreto de sódio

NR - Normal, inalterado, homogêneo

Oléo_{Superfície} - Quantidade de óleo na superfície (não encapsulado)
Oléo_{Total} - Quantidade total de óleo
PDSC - Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada
pH - Potencial hidrogeniônico
PPAR - Receptores ativados por proliferadores de peroxissomos
RH - Razão de Hausner
RMN - Ressonância Magnética Nuclear
SF - Extração por solvente a frio
SFE - Extração por fluido supercrítico
SM - Levemente modificado, não homogêneo
Spray drying - Secagem por atomização
T ambiente - Temperatura ambiente
T₀ - Temperatura de início
T1 - Tratamento 1 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,1 L.h⁻¹
T2 - Tratamento 2 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,3 L.h⁻¹
T3 - Tratamento 3 com temperatura de entrada de 110 °C e taxa de alimentação de 0,2 L.h⁻¹
T4 - Tratamento 4 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,1 L.h⁻¹
T5 - Tratamento 5 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,3 L.h⁻¹
T4/ Tratamento 4 sem etanol - 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia
T4E/ Tratamento 4 com etanol: 0,375 g de mucilagem, 0,233 mL de óleo de chia e 4 mL de etanol
TBA - Teste do ácido tiobarbitúrico
Temp. - Temperatura de armazenagem
T_f - Temperatura final
TGA - Análise termogravimétrica
TMS - Tetrametilsilano
T_p - Temperatura de pico (fusão)
Trat - Tratamento
Tratamento 1 - 0,125 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia
Tratamento 2 - 0,375 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia
Tratamento 3 - 0,125 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia
Tratamento 4 - 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia
Tratamento 5, 6 e 7 - 0,250 g de mucilagem de chia e 0,1 mL de óleo de chia
UR - Umidade relativa

X_1 - Mucilagem de chia

X_2 - Óleo de chia

ρ_{aparente} - Densidade aparente

$\rho_{\text{compactada}}$ - Densidade compactada

τ - Tensão de cisalhamento

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	25
RESUMO GERAL	27
GENERAL ABSTRACT	29
1 INTRODUÇÃO GERAL	31
2 OBJETIVOS	33
2.1 OBJETIVO GERAL	33
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	33
CAPÍTULO II	35
APRESENTAÇÃO	37
ARTIGO I: EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E BENEFÍCIOS DO ÓLEO DE CHIA (<i>SALVIA HISPANICA</i> L.): UMA REVISÃO	39
RESUMO	41
1 INTRODUÇÃO	43
2 ÁCIDOS GRAXOS	44
3 SEMENTE DE CHIA	45
4 ÓLEO DE CHIA	45
5 BENEFÍCIOS DO CONSUMO DA SEMENTE E DO ÓLEO DE CHIA	46
6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA	49
6.1 EXTRAÇÃO POR Prensagem	50
6.2 EXTRAÇÃO POR SOLVENTE.....	51
6.3 EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO	52
6.4 OUTROS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	54
6.5 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA A AVALIAÇÃO DE ÓLEOS	55
6.6 ENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA	65
7 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS	68
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ARTIGO II: RENDIMENTO E QUALIDADE DO ÓLEO DE CHIA EXTRAÍDO POR DIFERENTES MÉTODOS	77
RESUMO	79
1 INTRODUÇÃO	81
2 MATERIAL E MÉTODOS	83
2.1 MATERIAL	83
2.2 MÉTODOS	83
2.2.1 Extração de óleo de sementes de chia	83
2.2.1.1 Extração com solvente	83
2.2.1.2 Extração por prensagem	83
2.2.1.3 Extração por fluido supercrítico.....	84
2.2.2 Rendimento e recuperação	84
2.2.3 Determinações físico-químicas do óleo de chia	85
2.2.4 Análise de RMN	85
2.2.5 Monitoramento da degradação dos ácidos graxos no óleo sob aquecimento ou a temperatura ambiente	86
2.2.6 Análise estatística	87

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.1 ESTUDO DO RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO	87
3.1.1 Extração com solvente	87
3.1.2 Extração por prensagem	88
3.1.3 Extração com fluido supercrítico	88
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA EXTRAÍDO	91
3.3 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA POR RMN DE ¹ H.....	97
4 CONCLUSÃO	102
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102

ARTIGO III: ESTUDO DA MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CHIA UTILIZANDO GOMA ARÁBICA E MALTODEXTRINA POR SPRAY DRYING..... 107

RESUMO

1 INTRODUÇÃO

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL.....

2.2 MÉTODOS

2.2.1 *Spray drying*

2.2.2 *Avaliação das micropartículas*.....

2.2.2.1 Umidade.....

2.2.2.2 Eficiência de encapsulação

2.2.2.3 Análises morfológicas

2.2.2.4 Tamanho médio das partículas e distribuição do tamanho de partícula

2.2.2.5 Solubilidade

2.2.2.6 Densidade aparente e a densidade compactada

2.2.2.7 Compressibilidade e fluxo

2.2.2.8 Higroscopicidade

2.2.2.9 Cor

2.2.2.10 Análise térmica

2.2.2.11 Estabilidade oxidativa ao armazenamento.....

2.2.3 *Análise espectroscópica HR-MAS de ¹H e RMN de ¹H*.....

2.2.4 *Análise estatística*.....

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RENDIMENTO.....

3.2 UMIDADE

3.3 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO.....

3.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA E TAMANHO MÉDIO DAS PARTÍCULAS

3.5 SOLUBILIDADE

3.6 DENSIDADE APARENTE E DENSIDADE COMPACTADA

3.7 COMPRESSIBILIDADE E FLUXO

3.8 HIGROSCOPICIDADE

3.9 ANÁLISES TÉRMICAS.....

3.10 ESTABILIDADE OXIDATIVA DURANTE O ARMAZENAMENTO

3.10.1 *Índice de peróxido*.....

3.10.2 *Cor*.....

3.11 ANÁLISE DE RMN DE ¹H HR-MAS PARA AS MICROPARTÍCULAS E RMN DE ¹H DO ÓLEO DE CHIA

4 CONCLUSÃO

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTIGO IV: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÕES OBTIDAS COM ÓLEO E MUCILAGEM CHIA	141
RESUMO.....	143
1 INTRODUÇÃO.....	145
2 MATERIAL E MÉTODOS	146
2.1 MATERIAL	146
2.2 MÉTODOS	147
2.2.1 Obtenção da mucilagem de chia.....	147
2.2.2 Preparo das nanoemulsões	147
2.2.3 Tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta.....	148
2.2.4 Eficiência de encapsulação	148
2.2.5 Teste de centrifugação.....	149
2.3 AVALIAÇÃO DAS NANOEMULSÕES	149
2.3.1 pH.....	149
2.3.2 Propriedades térmicas	149
2.3.2.1 Teste de estresse térmico.....	149
2.3.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura – DSC.....	150
2.3.3 Morfologia.....	150
2.3.4 Estabilidade ao armazenamento	150
2.3.4.1 Sinérese	150
2.3.4.2 Cor.....	151
2.3.4.3 Reologia	151
2.3.5 Análise estatística	152
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	152
3.1 DESENVOLVIMENTO DA NANOEMULSÃO.....	152
3.1.1 Tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta.....	153
3.1.2 Eficiência de encapsulação	156
3.1.3 Teste de centrifugação.....	156
3.1.4 Determinação das nanoemulsões para avaliação tecno-funcional.....	157
3.2 AVALIAÇÃO DAS NANOEMULSÕES ESCOLHIDAS	157
3.2.1 pH.....	157
3.2.2 Propriedades térmicas	158
3.2.2.1 Teste do estresse térmico.....	158
3.2.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	159
3.2.3 Morfologia.....	161
3.2.4 Avaliação das nanoemulsões durante o armazenamento	162
3.2.4.1 Sinérese	162
3.2.4.2 Tamanho das partículas, índice de polidispersão e potencial zeta	165
3.2.4.3 Reologia	166
3.2.4.4 Cor.....	170
4 CONCLUSÃO.....	174
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	175

ARTIGO V: SUBSTITUIÇÃO DA GORDURA EM BISCOITOS POR NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE CHIA	183
RESUMO.....	185
1 INTRODUÇÃO.....	187
2 MATERIAL E MÉTODOS	188
2.1 MATERIAL	188
2.2 MÉTODOS	189

2.2.1	Desenvolvimento de nanoemulsão de óleo de chia	189
2.2.1.1	Obtenção da mucilagem de chia	189
2.2.1.2	Preparo da nanoemulsão	189
2.2.2	Preparação dos biscoitos	190
2.2.3	Avaliação dos biscoitos	190
2.2.3.1	Composição proximal e valor calórico	190
2.2.3.2	Características físicas.....	191
2.2.3.3	Textura.....	191
2.2.3.4	Cor	192
2.2.3.5	Análise sensorial.....	192
2.2.4	Análise estatística	193
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	193
3.1	CARACTERIZAÇÃO DOS BISCOITOS	193
3.1.1	Composição proximal	193
3.1.2	Características tecnológicas	195
3.1.2.1	Fator de expansão	196
3.1.2.2	Perda de cocção	196
3.1.2.3	Textura.....	196
3.1.2.4	Cor	197
3.2	ANÁLISE SENSORIAL	198
4	CONCLUSÃO	200
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	201
CAPÍTULO III		205
3 CONCLUSÃO GERAL		207
CAPÍTULO IV		209
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		211

CAPÍTULO I

RESUMO GERAL, GENERAL ABSTRACT, INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

RESUMO GERAL

O presente estudo teve como objetivo geral obter e encapsular óleo da semente de chia (*Salvia hispanica* L.) a partir dos processos de encapsulação por *spray drying* e nanoemulsão, e aplicar a nanoemulsão em biscoito. Foram estudadas as técnicas de extração por fluido supercrítico, solvente a frio e prensagem, e os óleos obtidos foram caracterizados em relação as propriedades físico-químicos e perfil graxo. Posteriormente, o óleo obtido por prensagem foi submetido a microencapsulação por *spray drying* e nanoencapsulação por nanoemulsão. Na microencapsulação foram testadas a temperatura de entrada (100 a 120 °C) e a vazão de alimentação (0,1 a 0,3 L.h⁻¹) e as microcápsulas foram caracterizadas através das propriedades físico-químicas, eficiência de encapsulação, morfologia, propriedades térmicas e estabilidade ao armazenamento. Em relação as nanoemulsões, foram avaliadas a relação óleo de chia/surfactante Tween 20 (30 a 70%), quantidade de mucilagem de chia (0,125 a 0,375 g) e o uso ou não de etanol, e as mesmas foram avaliadas frente as propriedades físico-químicas. Nas nanoemulsões com melhores características foram determinadas as propriedades químicas, térmicas e ópticas, bem como estabilidade ao armazenamento. Por fim, a nanoemulsão sem etanol foi utilizada na substituição total da gordura e água em biscoito, e os mesmo foram avaliados pelas propriedades físico-químicas, tecnológicas e sensoriais. Na microencapsulação, foi constatada que uma ligeira alteração nas condições do processo produz micropartículas com características diferentes, mas a maioria dos tratamentos apresentou alta eficiência de encapsulação (>87%), tamanho médio de partícula menor que 4,1 µm e boas características térmicas, sendo o tratamento 4, nas condições de temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,1 L.h⁻¹, o mais indicado para aplicação em produtos alimentícios. Em relação as nanoemulsões, o estudo preliminar indicou que as maiores quantidades testadas das variáveis (0,375g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia com e sem etanol) apresentaram melhores respostas de tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, eficiência de encapsulação e agitação. As nanoemulsões escolhidas foram caracterizadas verificando-se que a encapsulação foi eficiente, assim como a possível aplicação em uma gama de alimentos, tais como sorvetes e produtos de panificação. Além disso, durante a avaliação da estabilidade ao armazenamento, verificou-se que o tratamento sem etanol apresentou menor tamanho de partícula e menor variação no índice de polidispersão ao final do tempo de armazenamento em todas as temperaturas testadas. O desenvolvimento desse estudo demonstrou que tanto a encapsulação por *spray drying* como por nanoemulsão, foram técnicas eficientes para a proteção e manutenção dos componentes bioativos do óleo de chia. Além disso, foi demonstrado pela da adição em biscoitos, que é possível a aplicação em alimentos, facilitando a incorporação do óleo de chia nas formulações alimentares, tornando-as mais nutritivas.

Palavras-chave: Semente de chia. *Spray drying*. Nanoemulsão. Avaliação.

GENERAL ABSTRACT

EVALUATION OF EXTRACTION AND ENCAPSULATION CHIA OIL WITH APPLICATION IN CRACKERS

The present study aimed to obtain and encapsulate chia seed oil (*Salvia hispanica* L.) from the spray drying and nanoemulsion encapsulation processes, and to apply the nanoemulsion in cracker. The techniques of supercritical fluid, cold and pressing extraction were studied, and the obtained oils were characterized in relation to the physicochemical properties and fatty profile. Subsequently, the oil obtained by pressing was subjected to spray drying microencapsulation and nanoemulsion nanoencapsulation. In the microencapsulation the inlet temperature (100 to 120 °C) and the feed rate (0.1 to 0.3 L.h⁻¹) were tested and the microcapsules were characterized by the physicochemical properties, encapsulation efficiency, morphology, properties thermal and storage stability. Regarding nanoemulsions, the ratio of chia oil/surfactant Tween 20 (30 to 70%), amount of chia mucilage (0.125 to 0.375 g) and the use or not of ethanol were evaluated, and they were evaluated against the physicochemical properties. The best nanoemulsions were further characterized by chemical, thermal and optical properties as well as storage stability. Finally, nanoemulsion without ethanol was used in the total replacement of fat and water in crackers, that were evaluated against physicochemical, technological and sensory properties. In microencapsulation, it was found that a slight change in the process conditions produces microparticles with different characteristics, but most of the treatments presented high encapsulation efficiency (>87%), average particle size less than 4.1 µm and good thermal characteristics. Treatment 4, with inlet temperature 120 °C and feed rate of 0.1 L.h⁻¹, was most suitable for application in food products such as ice cream and bakery products. Regarding nanoemulsions, the preliminary study indicated that the highest tested amounts of the variables (0.375g of chia mucilage and 0.233 mL of chia oil with and without ethanol) produced the best particle size, polydispersion index, zeta potential, encapsulation efficiency and agitation. The chosen nanoemulsions were characterized by verifying that the encapsulation was efficient and possible application in several foods. In addition, during the storage stability evaluation, it was found that the treatment without ethanol presented smaller particle size and smaller variation in the polydispersion index at the end of the storage time at all temperatures tested. The development of this study demonstrated that both spray drying and nanoemulsion encapsulation were efficient techniques for the protection and maintenance of chia oil bioactive components. In addition, it has been shown in the crackers, that application to foods is possible by facilitating the incorporation of chia oil in food formulations and making them more nutritious.

Key words: Chia seed. Spray drying. Nanoemulsion. Evaluation.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A crescente demanda de consumidores preocupados com a saúde está pressionando a indústria alimentícia para desenvolver alimentos saudáveis ou que contenham componentes funcionais, tais como óleos com elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados, afim de melhorar a ingestão alimentar de ômega-3 e ômega-6, os quais são essenciais ao organismo pois este não é capaz de sintetizá-los (ROJAS et al., 2019). Dentre os óleos vegetais, o óleo de semente de chia destaca-se devido ao elevado teor de ômega-3 (ácido linolênico, ~68%) e ômega-6 (ácido linoleico, ~19%), além de apresentar outros compostos bioativos, como tocoferóis, polifenóis, fitoesteróis, carotenóides e fosfolípidios (FERNANDES et al., 2019; JULIO et al., 2019).

No entanto, a aplicação deste óleo é limitada na indústria de alimentos, devido à alta sensibilidade à oxidação oriunda dos ácidos graxos poli-insaturados (IXTAINA et al., 2015). A encapsulação é uma técnica viável para a preservação de óleos contra a exposição atmosférica, protegendo-os da oxidação e degradação, evitando a formação de sabores e odores indesejáveis, além de facilitar a manipulação e incorporação destes em alimentos (CAMPO et al., 2017). Existem muitos sistemas de encapsulação, sendo os mais populares, atualmente, o *spray drying* e as nanoemulsões.

A microencapsulação por *spray drying* (secagem por atomização) apresenta-se como uma tecnologia importante para proteger a matriz do óleo de processos oxidativos, além de ser a mais utilizada industrialmente. A microencapsulação converte o óleo em um pó (óleo circundado por um material de parede formando partículas micrométricas) de fluxo livre que pode ser facilmente manuseado e utilizado para fins nutracêuticos e/ou fortificação de alimentos (DORDEVIC et al., 2014; GALLARDO et al., 2013). A maltodextrina e a goma arábica, devido à sua alta solubilidade, boa biocompatibilidade, ótima viscosidade e segurança para a aplicação alimentícia, estão entre os materiais mais comumente usados como veículos para o encapsulamento por *spray drying* de compostos bioativos (KANG et al., 2019).

Embora alguns estudos já tenham investigado a microencapsulação do óleo de chia por *spray drying* (ALCÂNTARA et al., 2019; IXTAINA et al., 2015; NOELLO et al., 2016; TIMILSENA et al., 2016a; US-MEDINA et al., 2018), a maioria destes verificaram que a técnica, bem como os materiais de parede utilizados não foram eficazes na manutenção da estabilidade oxidativa do óleo de chia, devido às altas temperaturas em que a emulsão foi exposta durante a formação da microcápsula. Por isso, temperaturas mais baixas de operação

associadas a outras variáveis de secagem, como a vazão de alimentação, bem como novos materiais de parede, devem ser estudados.

Outra técnica de encapsulação, porém em âmbito nanométrico e que vem atraindo a atenção no campo dos alimentos, são as nanoemulsões. As nanoemulsões são sistemas de entrega de compostos lipofílicos em gotículas, com tamanho menor em comparação às emulsões convencionais e às técnicas de microencapsulação. Como um novo veículo da substância ativa, a nanoemulsão resolveu os problemas de baixa solubilidade dos compostos lipofílicos em água, a fácil oxidação e a dificuldade de absorção de componentes funcionais solúveis em óleo (WANG et al., 2020). Entre os agentes encapsulantes para as nanoemulsões, a mucilagem de chia, por ser um composto biodegradável de ocorrência natural, composta principalmente por fibras solúveis e com excelentes propriedades funcionais, torna-se uma nova alternativa eficaz para a preservação do óleo de chia (FERNANDES; MELLADO, 2018; MENDONÇA et al., 2019; STEFANI et al., 2019).

O uso de nanoemulsões é um exemplo de como a nanotecnologia pode ser aplicada a um processo já existente, revelando-se benéfica para a indústria de alimentos (CUSHEN et al., 2012). A utilização de nanoemulsões em produtos alimentares permite o uso de menos de gordura, oferecendo assim ao consumidor uma opção mais saudável, além de aumentar o valor nutricional do mesmo (CHAUDHRY et al., 2008). Um exemplo, seria a substituição total do teor de água e óleo adicionado a biscoitos pela nanoemulsão, uma vez que os biscoitos apresentam elevado consumo pela população.

Existe, portanto, a necessidade de desenvolver sistemas de distribuição à base de óleo de chia que possuam estabilidade física e química, além de manutenção da sua bioatividade para que possam ser aplicados com o intuito de se obter alimentos mais saudáveis. Diante disso, este estudo teve por objetivo avaliar a extração de óleo de semente de chia, encapsular o mesmo por duas técnicas diferentes, bem como avaliar as partículas obtidas e aplicar a nanoemulsão em um produto alimentício.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter e encapsular óleo da semente de chia (*Salvia hispanica* L.) a partir dos processos de encapsulação por *spray drying* e nanoemulsão, e aplicar o material encapsulado na formulação de biscoito.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Extrair óleo de chia por diferentes técnicas;
- Caracterizar os óleos obtidos por suas propriedades físico-químicas;
- Testar e avaliar a encapsulação de óleo de chia pela técnica de *spray drying*, variando a temperatura de entrada do ar de secagem e o fluxo da emulsão de alimentação;
- Caracterizar as micropartículas através das propriedades físico-químicas, eficiência de encapsulação, morfologia, propriedades térmicas e estabilidade ao armazenamento;
- Testar e avaliar a encapsulação de óleo de chia pela técnica de nanoemulsão, variando a relação óleo de chia/ surfactante Tween 20, a quantidade de mucilagem de chia e o uso de etanol frente as propriedades físico-químicas;
- Caracterizar as melhores nanoemulsões através das propriedades químicas, térmicas e ópticas, bem como estabilidade ao armazenamento;
- Elaborar um biscoito contendo nanoemulsão do óleo de chia;
- Avaliar o biscoito desenvolvido mediante propriedades físicas, tecnológicas e sensoriais.

CAPÍTULO II

DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

APRESENTAÇÃO

A tese, em sua maioria, foi desenvolvida no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), pertencente a Escola de Química e Alimentos (EQA) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). A extração supercrítica do óleo de chia foi desenvolvida no Laboratório de Bioprocessos, da Escola de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). O estudo da nanoemulsão e a aplicação da mesma em biscoito foram desenvolvidos no Laboratorio de Ciencia de los Alimentos da Universidad Autónoma de Yucatán em Mérida/México durante o período do doutorado sanduíche. Para descrever o conhecimento gerado, as atividades ficaram relatadas em 5 artigos:

ARTIGO 1: Extração, caracterização e benefícios do óleo de chia (*Salvia hispanica* L.): uma revisão;

ARTIGO 2: Rendimento e qualidade do óleo de chia extraído por diferentes métodos;

ARTIGO 3: Estudo da microencapsulação de óleo de chia utilizando goma arábica e maltodextrina por *spray drying*;

ARTIGO 4: Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões obtidas com óleo e mucilagem chia;

ARTIGO 5: Substituição da gordura em biscoitos por nanoemulsão de óleo de chia.

ARTIGO I:
EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E BENEFÍCIOS DO ÓLEO DE CHIA (*Salvia hispanica* L.):
UMA REVISÃO

RESUMO

O óleo de chia é rico em ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs), como o ácido linolênico e o ácido linoleico, os quais são essenciais para a saúde, uma vez que o corpo humano não é capaz de sintetizar esses componentes e devem ser ingeridos através da dieta. Portanto, é importante compreender melhor a extração do óleo de chia e avaliar a sua qualidade, a fim de fornecer aos consumidores um óleo de boa qualidade e que possa adicionar nutrientes à dieta. Neste estudo foram revisados os recentes avanços na extração e avaliação do óleo de chia, bem como seus benefícios à saúde. Os estudos de extração de óleo de chia proporcionaram um aumento no rendimento de extração quando comparado aos resultados iniciais, o que é industrialmente favorável. Além disso, vários métodos estão disponíveis para a determinação da qualidade do óleo. Logo, para melhor informar pesquisadores, engenheiros e tecnólogos, foram descritos os métodos analíticos disponíveis para a caracterização do óleo de chia. Estudos recentes mostraram que a prensagem mecânica produz óleo de chia de alta qualidade, mas o potencial de outras técnicas de extração também deve ser investigado.

Palavras-chave: Chia. Ácidos graxos. Componentes. Análise química.

1 INTRODUÇÃO

A busca por alimentos funcionais com efeitos benéficos à saúde, em geral, vem ganhando interesse nos últimos anos, seja por parte dos consumidores ou pelos pesquisadores, bem como pela indústria. Evidências epidemiológicas e experimentais mostram uma forte correlação entre o consumo regular de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) na dieta e a menor incidência de doenças cardiovasculares, diabetes e outras síndromes metabólicas. Além disso, a fortificação alimentar de ácido α -linolênico (ALA) e AGPI de cadeia longa em animais de laboratório mostrou efeitos cardioprotetores. Isso motiva os estudos de novas fontes promissoras de AGPI e ômega-3, bem como estudos de consumo e aplicação destes em alimentos (GAZEM et al., 2016).

Há muita demanda por óleos, tanto para consumo humano quanto para usos industriais. Isso leva à busca de novas fontes de óleos vegetais. Os óleos vegetais de oleaginosas (por exemplo, óleo de semente de abóbora, soja, linhaça e uva) representam cerca de 80% da produção mundial para fins comestíveis, enquanto os 20% restantes são compartilhados entre as indústrias de ração animal e de processos químicos. Além do uso como alimento, a maioria dos óleos de sementes vegetais pode ser utilizada na produção de sabões, tintas, vernizes, lubrificantes, fluidos hidráulicos, tintas, corantes, pesticidas e inseticidas (UZOH; ONUKWULI; NWABANNE, 2014). Um ponto importante é a extração do óleo que pode ser realizada por muitos métodos, sendo que as diferenças dos métodos e das condições utilizadas causam variações no rendimento e na qualidade química final do óleo. A escolha do método de extração depende do uso final do óleo, por exemplo, para fins farmacológicos ou alimentares (CORREA et al., 2016).

O alto teor de óleo presente em sementes de chia (30-40%) é rico em AGPI [principalmente ácidos graxos ômega-3 (ácido linolênico, 54-67%) e ômega-6 (ácido linoleico, 12 –21%)], o que faz dessa semente uma fonte atraente para obtenção deste óleo (ERATTE et al., 2015). Para seus efeitos benéficos à saúde, a proporção de ácidos graxos ômega-6/ ômega-3 é importante mais que a quantidade isolada de cada um deles. Uma dieta baseada em uma proporção de ômega-6/ ômega-3 abaixo de 1:1 não é recomendada, porque inibe a transformação do ácido linoleico em AGPI de cadeia longa, com isso o óleo de chia é uma alternativa, pois essa proporção é, em média, 1:3 (MELLO; GARCIA; SILVA, 2017; SILVA; GARCIA; ZANETTE, 2016; TIMILSENA et al., 2017).

Além desses ácidos graxos, o ácido oleico, o ácido palmítico e o ácido esteárico também estão presentes em pequenas quantidades, além de outros componentes bioativos,

como tocoferóis, polifenóis, carotenoides e fosfolipídios. Assim, o óleo de chia pode ser considerado um óleo *gourmet*, pois é reconhecido como um óleo de alta qualidade e apreciado por seu sabor, cor e características saudáveis (IXTAINA et al., 2015).

Logo, com base nos estudos disponíveis na literatura, fornecemos informações importantes sobre o óleo de chia nesta revisão. Nosso objetivo foi realizar uma pesquisa detalhada sobre extração de óleo de semente de chia, avaliação de sua qualidade e benefícios à saúde. Estas informações ajudarão na produção de óleo de chia de alta qualidade.

2 ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos linolênico (ômega-3) e linoleico (ômega-6) pertencem a dois grupos diferentes de AGPI que não são sintetizados pelo organismo, mas são indispensáveis para manter a saúde humana e por isso necessitam que sejam complementados pela alimentação (AHMED et al., 2009). Estes ácidos graxos são essenciais porque as duplas ligações, situadas no terceiro e no sexto átomos de carbono, respectivamente, não podem ser produzidas pelo organismo humano, logo precisam ser adquiridos pela dieta. E a partir destes são sintetizados no organismo outros AGPI de fundamental importância para o metabolismo humano: o ácido araquidônico (AA) a partir do ácido linoleico (ômega-6) e os ácidos eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) ambos formados a partir do ácido linolênico (EL-BADRY; GRAF; CLAVIEN, 2007).

Os ácidos ômega-3 e ômega-6 são fundamentais na prevenção e no tratamento das doenças cardiovasculares, além de outras atuações importantes prevenindo a hipertensão arterial, diabetes, artrites e doenças autoimunes. Esses ácidos graxos são também empregados em terapia farmacológica, potencializando o efeito de certas drogas e no crescimento e no desenvolvimento de crianças (CARVALHO et al., 2003).

Os óleos derivados de peixes gordos (como atum, salmão e sardinha) e alguns óleos vegetais (incluindo sementes de chia, linhaça, gergelim e sementes de cânhamo) são boas fontes de ácidos graxos essenciais. Os óleos de peixe contêm ácidos graxos de cadeia longa altamente poli-insaturados, como EPA e DHA, que são considerados superiores aos óleos vegetais em termos de benefícios à saúde (CARVALHO et al., 2003; EL-BADRY; GRAF; CLAVIEN, 2007).

3 SEMENTE DE CHIA

A semente de chia (*Salvia hispanica* L.) é uma planta herbácea cultivada anualmente, pertencente à família *Lamiaceae*, sendo nativa do sul do México e norte da Guatemala (IXTAINA; NOLASCO; TOMÁS, 2012). A semente de chia é cultivada principalmente no México, Peru, Bolívia, Colômbia, Equador e Guatemala. Na Argentina, principalmente no norte do país, nas províncias de Salta e Jujuy, esta cultura se transformou em uma atividade econômica muito importante (MARTÍNEZ et al., 2012).

A semente pode ser usada de várias maneiras, tanto em alimentos quanto em ração animal (COATES; AYERZA, 2009; ANTRUEJO et al., 2011), e existem vários estudos relatando o uso comercial dela. As sementes de chia podem ser usadas inteiras, moídas, na forma de farinha ou embebidas em água. Além disso, os produtos de sementes de chia podem ser consumidos, como óleo puro ou óleo adicionado em alimentos, fibras pela da mucilagem de chia e proteínas pelos de hidrolisados e isolados proteicos. Os alimentos já adicionados compreendem produtos de panificação, como pão de trigo (PUIG; HAROS, 2011; COSTANTINI et al., 2014; COELHO; SALAS-MELLADO, 2015; FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2017), pão sem glúten (STEFFOLANI et al., 2014; HUERTA et al., 2016), bolos (PIZARRO et al., 2013; FERNANDES et al., 2017) e biscoito (INGLETT et al., 2014), além de margarina (NADEEM et al., 2017) e sorvete (CAMPO et al., 2017).

4 ÓLEO DE CHIA

O óleo de chia é rico em ácidos graxos ômega-3, contendo mais do que qualquer outra fonte vegetal conhecida (AYERZA; COATES, 2011). O óleo de linhaça, por muito tempo dito como a única fonte mais rica de ácido linolênico, contém cerca de 59%. Outras fontes de ácido linolênico incluem o óleo de soja (8%) (BELLALLOUI; MENGISTU; KASSEM, 2013) e óleo de noz (15%) (MARTÍNEZ et al., 2015). Enquanto que, o ácido graxo ômega-6 é encontrado em óleos vegetais como de soja em 54% (BELLALLOUI; MENGISTU; KASSEM, 2013).

O óleo de chia, como outros óleos vegetais, não contém colesterol, o que é uma vantagem sobre os produtos derivados de peixe, que contêm quantidades significativas deste composto. Ao contrário de outras fontes de ácido graxo ômega-3, a semente de chia tem um baixo teor de sódio, o que a torna uma excelente opção alimentar para pessoas que sofrem de pressão alta (BUSILACCHI et al., 2013). O óleo de chia pode ser usado para tratar diabetes e

pressão alta e pode reduzir o risco de doenças cardíacas e derrames, servindo como precursor de um grande número de moléculas de sinalização, como a prostaglandina (COATES, 2011).

Do ponto de vista nutricional, é importante que o perfil de ácidos graxos da semente de chia disponível no mercado não varie significativamente. Embora a semente de chia e o óleo de chia estejam sendo consumidos como alimentos funcionais, poucos produtos comercializados relatam o conteúdo proteico e lipídico ou o perfil de ácidos graxos. Geralmente, as sementes de chia são vendidas com base no peso, independentemente do genótipo, teor de óleo ou perfil de ácidos graxos (AYERZA; COATES, 2011).

Estudos anteriores que caracterizam o óleo de chia foram realizados principalmente no México (IXTAINA et al., 2010), Argentina (IXTAINA et al., 2011) e em outros países da América do Sul. No entanto, o conhecimento do óleo de chia está centrado na região chilena, devido à sua origem geográfica, que tem impactos significativos na composição das sementes e na concentração de compostos bioativos (AYERZA; COATES, 2011).

Ayerza e Coates (2011) detectaram diferenças na composição de ácidos graxos, teor de proteínas e teor de óleo em sementes de chia cultivadas em diferentes regiões. Os autores descobriram que o teor de proteínas diminuiu com o aumento da altitude e que as composições dos ácidos graxos foram significativamente afetadas pela localização. Além disso, o teor de ácido linoleico tendia a diminuir à medida que o teor de ácido linolênico aumentava. A interação entre a composição de ácidos graxos e a saturação do óleo de chia provavelmente está relacionada a uma interação negativa entre temperatura e altitude.

Outro fator que pode contribuir para diferenças na composição química das sementes de chia é o estágio de desenvolvimento da planta. Foi demonstrado que o conteúdo de ômega-3 diminuiu cerca de 23% desde o estágio inicial até o estágio de maturação das sementes. Isso é acompanhado por um aumento de ômega-6 e do conteúdo de lignina (PEIRETTI; GAI, 2009).

5 BENEFÍCIOS DO CONSUMO DA SEMENTE E DO ÓLEO DE CHIA

A maioria dos estudos realizados com sementes de chia demonstraram efeitos benéficos na saúde humana e animal. Os estudos se concentram na avaliação do benefício nutricional do óleo presente na semente de chia e não apenas no óleo puro.

Em relação à saúde humana, foi demonstrado que a suplementação de 50 g de sementes de chia por dia aumenta significativamente o conteúdo de ácido linolênico

plasmático, mas não reduz o peso quando este está em excesso (NIEMAN et al., 2009); a ingestão de 25 g de sementes de chia por dia por mulheres saudáveis na pós-menopausa aumenta significativamente os níveis de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido linolênico plasmático (JIN et al., 2012); e dietas diárias de 35 a 37 g de sementes de chia podem ser usadas por diabéticos para controlar a hiperglicemia e reduzir a pressão arterial sistólica (TOSCANO et al., 2014; VUKSAN et al., 2007). Nieman et al. (2015) verificaram que a ingestão de 7 kcal por kg de óleo de chia puro por atletas cerca de 30 min antes da corrida resultou em um aumento de 3,4 vezes do ácido α -linolênico nos níveis de plasma, mas não melhorou o desempenho deles.

O aumento dos níveis plasmáticos de ácido linolênico é de grande importância, pois ajuda no desempenho das membranas celulares, nas funções cerebrais e na transmissão de impulsos nervosos, bem como na transferência de oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, síntese de hemoglobina e divisão celular. O aumento dos níveis de ácido eicosapentaenóico contribui para a prevenção de doenças alérgicas, inflamatórias e cardiovasculares (KAUR; CHUGH; GRUPTA, 2014).

Um fato ainda não comprovado, mas levantado por alguns autores, é que o óleo de chia por ser caracterizado por uma alta proporção de AGPI e ácidos graxos saturados, o torna altamente favorável para a redução do colesterol sérico e aterosclerose, bem como a prevenção de doenças cardiovasculares. Shen et al. (2018) obtiveram a relação AGPI/saturados do óleo de chia de 8,85 e esses autores sugeriram que a incorporação do óleo de chia na dieta poderia trazer efeitos benéficos ao sistema cardiovascular devido ao alto teor de AGPI.

De acordo com dados da literatura, o óleo e as sementes de chia possuem alto potencial antioxidante confirmada por ensaios *in vitro* (MARINELI et al., 2014; REYES-CAUDILLO; TECANTE; VALDIVIA-LÓPEZ, 2008). *In vivo*, Marineli et al. (2015) avaliaram o potencial antioxidante do óleo e da semente de chia em ratos com obesidade induzida por dieta. Os autores verificaram que um consumo diário de sementes e óleo de chia melhorou o estado do plasma e a ação antioxidante no fígado, com diminuição da peroxidação lipídica no plasma, e, além disso, promoveu um efeito protetor contra o estresse oxidativo decorrente da obesidade. As propriedades antioxidantes *in vivo* obtidas, independentemente do tempo de tratamento, foram justificadas provavelmente devido à presença de polifenóis, ácido linolênico e outros compostos ativos. Assim, a semente de chia e a ingestão de óleo poderiam melhorar a defesa do sistema antioxidante em ratos obesos induzidos por dieta, protegendo contra danos oxidativos e doenças relacionadas com a obesidade.

Gazem et al. (2016) examinaram a propriedade anti-inflamatória do óleo de semente de chia puro e em sinergia com os outros óleos vegetais que empregam sistemas *in vitro*. Os autores utilizaram a fortificação com outros óleos vegetais, pois é um método obrigatório de avaliação da atividade no caso de produtos pouco utilizados, como o óleo de chia, e esse método revela os efeitos complementares desses componentes da dieta. Ocorreu um aumento na atividade anti-inflamatória à medida que a dose de óleo de chia aumentou na concentração de 10 a 40 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$. Os resultados do ensaio de estabilização de membrana de glóbulos vermelhos humanos indicaram claramente a potente propriedade estabilizadora de membrana do óleo de semente de chia (63%) e do azeite de oliva (82%) quando comparado ao óleo de girassol (54%), óleo de palma (69%) e óleo de soja (58%). Além disso, a inibição da desnaturação proteica foi evidente com o óleo de semente de chia (65%), no entanto, foi semelhante ao de outros óleos como o azeite de oliva (65%), óleo de girassol (58%), óleo de palma (68%) e óleo de soja (58%).

Além disso, o óleo e a semente de chia são considerados novas fontes de antioxidantes naturais, devido ao alto teor de tocoferóis, fitoesteróis, carotenoides e compostos fenólicos (IXTAINA et al., 2011; REYES-CAUDILLO; TECANTE; VALDIVIA-LÓPEZ, 2008), os quais apresentam um potencial para proteger contra muitas doenças, promovendo efeitos benéficos para a saúde humana. O óleo de chia pode ser uma fonte alternativa de ômega-3 para vegetarianos e pessoas com alergias a pescado, uma vez que tanto o óleo como a semente de chia, não demonstraram problemas associados como outras fontes nutricionais, tais como linhaça e produtos marinhos, incluindo o sabor do pescado, perda de peso dos animais e problemas digestivos (ALI et al., 2012).

A maioria dos estudos se concentram em provar os benefícios da semente de chia em todas as suas formas, mas existem alguns estudos que se concentram apenas nos benefícios do óleo na dieta de animais. Os estudos iniciais foram desenvolvidos por Ayerza e Coates (2005). Esses autores iniciaram os estudos com a adição de baixa concentração de óleo de chia puro (5%) e, adicionando também sementes de chia inteiras e moídas à dieta de ratos *Wistar* saudáveis. Houve uma redução significativa nos níveis séricos de triacilgliceróis e colesterol total, um aumento nos níveis de colesterol HDL, sem alteração na concentração sérica do colesterol LDL.

Após esse estudo, a concentração de óleo de chia nas dietas foi aumentada, a fim de verificar mais benefícios. González-Mañán et al. (2012) encontraram um aumento na concentração de ALA, EPA e DHA no plasma, fígado e tecido adiposo de ratos *Sprague-Dawley* saudáveis com a suplementação de 10% de óleo de chia nas dietas. Além disso, houve

uma melhora na proporção de ácidos graxos ômega-6/ ômega-3 e um aumento da expressão de PPAR (receptores ativados por proliferadores de peroxissomos) e das enzimas lipolíticas no fígado, responsáveis pelo aumento da β -oxidação de ácidos graxos, sendo está uma possível explicação para os efeitos hipolipidêmicos da chia.

Na mesma linha dos autores mencionados acima, Valenzuela et al. (2014) demonstraram que a ingestão de 10% de óleo de chia alterou a composição de ácidos graxos em vários tecidos de ratos *Wistar* saudáveis. O óleo de chia foi capaz de aumentar as concentrações de EPA nos eritrócitos, fígado, rins, intestino delgado, coração e músculo, mas não no cérebro. Os níveis de DHA foram aumentados no fígado, intestino e cérebro. Assim, os autores sugerem que a conversão de ALA em ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 é eficaz, mas bastante seletiva, dependendo do tecido estudado.

Sierra et al. (2015) avaliaram os efeitos da suplementação dietética de óleo de chia na função vascular e alterações morfológicas no desenvolvimento durante condições hipercolesterolêmicas. Os dados demonstraram que o óleo de chia pode proteger a função vascular contra os efeitos deletérios da hipercolesterolemia precoce e pode melhorar o relaxamento vascular mesmo na presença de níveis elevados de colesterol. A capacidade de proteger a função vascular reforça a ideia de que o óleo de chia poderia servir como um alimento funcional e ser uma estratégia dietética para limitar a progressão da disfunção vascular.

6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA

Os óleos vegetais são geralmente extraídos por prensagem mecânica e extração com solventes orgânicos. A eficácia desses métodos depende do teor de umidade da semente e da temperatura durante o processo de extração do óleo. Os processos de extração química são perigosos e inaceitáveis porque empregam solventes, como o hexano, prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana. Um dos principais objetivos da pesquisa com óleo de chia é identificar um método adequado para recuperar o óleo das sementes, preservando sua qualidade.

Nos últimos anos, tem ocorrido muito interesse no uso de prensas para recuperar o óleo de chia a partir de sementes (MARTÍNEZ et al., 2012), embora vários outros métodos estejam sendo utilizados, que produzem diferentes rendimentos, qualidade química, conteúdo de ácidos graxos e atividade antioxidante (ALI et al., 2012). A escolha do método de extração dependerá do uso pretendido do óleo (por exemplo, para fins farmacológicos ou alimentares).

6.1 EXTRAÇÃO POR PRENSAGEM

A prensagem é um processo verde e um dos métodos mais tradicionais de extração de óleo, que é realizado esmagando as sementes. A prensagem mecânica pode ser realizada por uma prensa hidráulica, de parafuso ou de rolo, e a recuperação por essa técnica geralmente fica entre 86 e 92% do óleo após até duas passagens das sementes pelo equipamento. O segmento orgânico da indústria de óleo comestível proíbe o uso de certas tecnologias de processo, especialmente a extração de óleo por solventes de petróleo. Isso acarretou no aumento do uso da prensagem, que é comercialmente viável, de baixo custo e relativamente eficiente (SINGH et al., 2002).

O método por prensagem da semente de chia promove uma melhor preservação do conteúdo de antioxidantes (quercetina e mircetina) do que a extração por solvente, entretanto obtém-se apenas uma recuperação parcial do óleo (ALI et al., 2012). Os estudos de extração de óleo de chia por prensagem utilizando prensa de parafuso Komet de um único passo visam estudar os parâmetros de extração, tais como umidade da semente, distância, temperatura e velocidade de prensagem (MARTÍNEZ et al., 2012); comparar o rendimento e parâmetros de qualidade físico-químicos do óleo obtido com a extração utilizando solvente (IXTAINA et al., 2011); ou avaliar a eficácia de antioxidantes naturais sozinhos e/ou combinados durante o armazenamento no escuro e à temperatura ambiente na estabilidade oxidativa do óleo de chia obtido (BODOIRA et al., 2017).

Um dos parâmetros mais importantes na extração por prensagem é a umidade da semente, sendo que 10% é o melhor valor para a extração. Martínez et al. (2012) verificaram que o ocorre um aumento no rendimento do óleo conforme ocorre a diminuição da umidade das sementes. Esses autores obtiveram um rendimento máximo de 48% quando o menor teor de umidade, de 13,6%, foi testado. Os autores explicam que o aumento da umidade dificulta a extração do óleo devido à formação de uma mucilagem externa da chia que reduz o rendimento do óleo obtido.

Dąbrowski et al. (2017) realizaram a extração a quente de óleo de chia e obtiveram 26,3% de rendimento, sendo que antes da prensagem as sementes foram condicionadas por 1 h a 110 °C. O rendimento aumentou em relação à prensagem a frio (24,1%), no entanto, a composição de ácidos graxos e o teor de fitoesteróis não diferiram significativamente entre as duas técnicas.

Recentemente, Özcan et al. (2019) determinaram o efeito dos tratamentos de aquecimento por micro-ondas em sementes de chia antes da prensagem a frio. Esses autores

verificaram que o aquecimento por micro-ondas ocasionou consideráveis perdas nos atributos de qualidade do óleo de chia extraído das sementes aquecidas em diferentes potências. Assim, eles concluíram que, embora o pré-aquecimento possa facilitar a extração do óleo de chia, há uma perda dos compostos bioativos.

6.2 EXTRAÇÃO POR SOLVENTE

A extração por solvente protege as características funcionais do óleo, como retenção de água, capacidade de absorção e estabilidade emulsificante, mas reduz a atividade antioxidante do óleo. Além disso, devido ao uso de hexano, a extração por solvente promove alguns problemas ambientais e de segurança à saúde (ALI et al., 2012).

Devido às desvantagens citadas acima, existem poucos estudos que abordam a extração de óleo de chia por solventes. Dentre os estudos disponíveis, os solventes utilizados são o hexano (CASTEJÓN; LUNA; SEÑORANS, 2017; DĄBROWSKI et al., 2017; IXTAINA et al., 2011; NOSHE; AL-BAYYAR, 2017; SILVA; GARCIA; ZANETTE, 2016; SOUZA et al., 2017a), a acetona (DĄBROWSKI et al., 2017), o éter de petróleo (TIMILSENA et al., 2017), o acetato de etila e o isopropanol (SILVA; GARCIA; ZANETTE, 2016).

Ixtaina et al. (2011) obtiveram maiores teores de tocoferóis e rendimentos de extração utilizando extração a quente (Soxhlet) com hexano a 80 °C por 8 h (33,6% com semente da Argentina e 26,7% com semente da Guatemala) comparado a extração por prensagem mecânica (24,8% com semente da Argentina e 20,3% com semente da Guatemala). Entretanto, parâmetros de qualidade importantes, como índice de iodo, índice de saponificação e matéria insaponificável não apresentaram diferença significativa entre as amostras tratadas com essas técnicas.

O uso da extração por solvente proporciona um rendimento maior que as outras técnicas, o que foi comprovado pelo estudo de Dąbrowski et al. (2017). Os autores encontraram rendimentos similares (32,6% para hexano e 31,5% para acetona) usando extração com Soxhlet, e maiores teores quando comparados à prensagem a frio (mencionados acima) e extração supercrítica (29,9% a 70 °C e 23,9% a 90 °C). Nesta mesma linha, Noshe e Al-Bayyar (2017) encontraram rendimento de 34,6% (sementes de chia brancas) e 35,6% (sementes de chia escuras) para extração de Soxhlet e 9,5% (sementes de chia brancas) e 9,0% (sementes de chia escuras) por prensagem.

6.3 EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO

O óleo vegetal de sementes é tradicionalmente produzido por extração com hexano a partir de sementes moídas. O processo é muito eficiente, porém as principais desvantagens são a eliminação incompleta do hexano após a extração e a possível degradação térmica do óleo. Como alternativa aos métodos convencionais de extração utilizando solvente e prensagem, a extração de óleos vegetais utilizando fluidos pressurizados sob condições sub ou supercríticas vem ganhando grande interesse (TRENTINI et al., 2017).

A extração por fluido supercrítico (SFE) é um processo de transferência de massa sob condições de pressão e temperatura acima do ponto crítico do solvente, a fim de alterar a densidade do solvente e com isso aumentar a seletividade frente ao soluto. Além disso, os fluidos supercríticos apresentam viscosidade e difusividade da mesma ordem de grandeza que os gases. Com base nessas propriedades, pode-se considerar que os fluidos supercríticos se movem como gases e dissolvem substratos de forma semelhante a um líquido (MANTELL et al., 2013).

Outras técnicas podem estar associadas à extração supercrítica a fim de aumentar o rendimento final da extração, que é o caso da aplicação da energia ultrassônica, que aumenta o coeficiente de transferência de massa e, conseqüentemente, acelera a cinética do processo, causando uma ruptura física do material (RIERA et al., 2004); e o uso de co-solventes para melhorar a solubilidade dos compostos desejados e/ou aumentar a seletividade da extração (alterando a polaridade do fluido supercrítico) (PATIL et al., 2018).

Poucos estudos estão apresentados na literatura sobre a extração de óleo de chia por extração supercrítica, sendo que todos se concentram na utilização do dióxido de carbono como fluido supercrítico, com exceção de Scapin et al. (2017) que utilizaram gás liquefeito de petróleo (GLP). Além disso, as condições de extração utilizadas são diferentes. A Tabela 1 apresenta os estudos de extração de óleo de chia com as condições utilizadas e os rendimentos obtidos.

Ixtaina et al. (2010) indicaram que o tempo e a pressão de extração tiveram o maior impacto sobre o rendimento do óleo. Uribe et al. (2011) verificaram que a pressão tem um efeito mais significativo que a temperatura sobre o rendimento da extração, quando um tempo de extração é fixado. Ixtaina et al. (2010) e Uribe et al. (2011) utilizaram condições semelhantes de temperatura e pressão, e concluíram que: (a) o rendimento aumenta com a pressão nas temperaturas testadas; (b) a baixa pressão, o rendimento permanece constante ou,

Tabela 1 – Estudos de extração de óleo de chia por extração supercrítica.

Autores	Amostra	Solvente	Temperatura (°C)	Pressão (MPa)	Tempo (min)	Vazão de solvente (g. min⁻¹)	Célula de extração (L)	Condição de maior rendimento	Rendimento (%)
Ixtaina et al. (2010)	Semente de chia	CO ₂	40, 60 e 80	25, 35 e 45	60 a 240	30,3	0,5	80 °C, 45 MPa e 240 min	29,1
Uribe et al. (2011)	Semente de chia	CO ₂	40, 60 e 80	13,6; 27,2 e 40,8	30	1,8	0,1	80 °C e 40,8 MPa	7,2
Guindani et al. (2016)	Resíduo industrial	CO ₂	40 e 50	15, 20, 25 e 30	210	8,3	0,1	50 °C e 30 MPa	10,6
Dąbrowski et al. (2017)	Semente de chia	CO ₂	70 e 90	28	300	-	0,05	70 °C	29,9
Scapin et al. (2017)	Semente de chia	CO ₂	20, 40 e 60	10; 17,5 e 25	150	4,0	0,1	60 °C e 25 MPa	21,9
		GLP*	20, 30 e 40	0,5; 1,5 e 2,5	5			40 °C e 2,5 MPa	27,1
Villanueva- Bermejo et al. (2019)	Semente de chia	CO ₂	40 e 60	25 e 45	240	40,0	0,5	60 °C e 45 MPa	22,7

GLP: Gás Liquefeito de Petróleo. *Composto por uma mistura de propano (50,3%), n-butano (28,4%), isobutano (13,7%), etanol (4,8% em massa) e menor constituintes (metano, pentano, isopentano).

diminui com o incremento de temperatura; (c) em pressões superiores a 30 MPa, o rendimento aumenta com a temperatura.

Guindani et al. (2016) realizando a extração de óleo de chia proveniente do resíduo industrial gerado para extração do óleo comercial, verificaram que em pressões de extração maiores que 20 MPa, o rendimento de extração é maior em temperaturas inferiores (40 °C), isto porque a massa específica do solvente exerce maior influência sobre a solubilidade, enquanto que em pressões maiores que 20 MPa, o efeito da pressão de vapor do soluto sobre a solubilidade é dominante.

Scapin et al. (2017) concluíram que a utilização de gás liquefeito de petróleo (GLP) comprimido mostrou-se como um solvente promissor quanto à extração de óleo de chia devido a obtenção de altos rendimentos em tempos extremamente reduzidos e também maior atividade antioxidante. Entretanto, ambos os solventes foram eficientes na extração de óleo contendo altos níveis de ácido α -linolênico e compostos bioativos.

Dąbrowski et al. (2017) obtiveram um rendimento maior que os demais estudos, no entanto, para isso, foi necessária uma temperatura de extração mais alta. Além disso, os autores compararam com outras técnicas (Soxhlet usando hexano e acetona, prensagem a frio e a quente). Embora a extração por Soxhlet utilizando acetona tenha proporcionado o maior rendimento, o uso de supercrítico com extração a 90 °C resultou em um maior conteúdo de ácido graxo α -linolênico.

6.4 OUTROS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Guindani et al. (2016), além da extração supercrítica, testaram o método de extração por maceração, com hexano, acetato de etila e etanol, e extração assistida por ultrassom (EAU) de resíduos industriais gerados para extração de óleo de chia comercial. Esses autores compararam os resultados, e a extração EAU com hexano gerou valores de rendimento (10,6%) estatisticamente iguais aos rendimentos proporcionados pela maceração com etanol (9,6%) e EAU usando acetato de etila (11,2%).

Zanqui et al. (2015) extraíram óleo de chia por fluido subcrítico com n-propano, sob diferentes condições de pressão (8, 10 e 12 MPa) e temperatura (30, 45 e 60 °C), e compararam com diferentes métodos convencionais de extração lipídica. Esses autores obtiveram 28,1% de óleo a 45 °C, 12 MPa e 60 min, e o óleo foi menos oxidado quando comparado aos óleos obtidos por *Bligh e Dyer*, Soxhlet e Folch, Less e Stanley, além de possuir maior pureza.

Rosas-Mendoza et al. (2017) e Mello, Garcia e Silva (2017) investigaram o uso de EAU para obter óleo de sementes de chia. Rosas-Mendoza et al. (2017) não usaram solventes e obtiveram um rendimento de 25% com 90 min de agitação. Mello, Garcia e Silva (2017) usaram acetato de etila como solvente e verificaram que o rendimento de óleo aumentou com o aumento da razão solvente/ sólido, devido a uma força motriz mais alta na solução mais diluída, de modo que os rendimentos de extração aumentaram. Com isso, os autores concluíram que o rendimento máximo do óleo foi obtido em 40 min, a 50 °C e a relação solvente/ semente de 12 (mL.g⁻¹), com valor em torno de 27%.

Castejón, Luna e Señorans (2017) e Villanueva-Bermejo et al. (2019) extraíram óleo de chia pela técnica de líquido pressurizado. Castejón, Luna e Señorans (2017) utilizaram diferentes solventes: acetato de etila, hexano e etanol em diferentes temperaturas (60, 90, 120 e 150 °C). Enquanto que Villanueva-Bermejo et al. (2019) utilizaram diclorometano/ metanol e etanol em diferentes temperaturas (40, 60 e 80 °C).

6.5 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA A AVALIAÇÃO DE ÓLEOS

A maioria dos métodos utilizados para a avaliação da qualidade de óleos é normatizada por órgãos de padronização, como a *International Union of Pure and Applied Chemistry* – IUPAC, *International Standard Organization* – ISO, *Codex Alimentarius*, *American Oil Chemists Society* – AOCS e a *American Society for Testing and Materials* – ASTM. Entretanto, cada país pode ter normas oficiais específicas, tais como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no Brasil, e a União Européia.

A avaliação do estado de oxidação de óleos é uma determinação de suma importância industrialmente, sendo que óleos com maior grau de insaturação, como óleo de chia, são altamente suscetíveis à oxidação (KALEEM et al., 2015). As alterações causadas pela oxidação são irreversíveis e incluem não apenas a perda de sabor ou o desenvolvimento de aromas, mas também a perda de cor e de nutrientes, além da acumulação de compostos que podem prejudicar a saúde dos consumidores. Os fenômenos de oxidação dos lipídios dependem de mecanismos reacionais diversos e extremamente complexos, sendo que já foi reconhecido três mecanismos diferentes: radicais livres, foto-oxidação e processo relacionado à atividade da lipoxigenase, todos produzindo diferentes produtos de oxidação (WASOWICZ et al., 2004).

Diversos métodos físicos, químicos e físico-químicos são apresentados na literatura para a avaliação de óleos. A Tabela 2 apresenta um resumo dos métodos disponíveis

Tabela 2 - Resumo dos métodos analíticos para a caracterização do óleo de chia.

Método analítico	Objetivo	Expressão do resultado	Referências para óleo de chia
Índice de peróxido	Caracterizar o estágio inicial da degradação oxidativa, através da formação dos hidroperóxidos	Miliequivalentes de oxigênio por quilograma de óleo	(BODOIRA et al., 2017; DAȔBROWSKI et al., 2017; GAZEM et al., 2016; IXTAINA et al., 2010, 2015; JULIO et al., 2015; MARTÍNEZ et al., 2012; NADEEM et al., 2017; SCAPIN et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017)
Índice de iodo	Medir a redução no grau de insaturações dos ácidos graxos devido à oxidação	Gramas de iodo absorvido por 100 gramas de óleo	(BODOIRA et al., 2017; GAZEM et al., 2016; IXTAINA et al., 2010, 2011, 2015; MARTÍNEZ et al., 2012; NADEEM et al., 2017; SCAPIN et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017)
Índice de acidez	Verificar a formação de ácidos graxos livres decorrentes da rancidez hidrolítica	Miligramas de hidróxido de potássio necessária para neutralizar os ácidos graxos livres de 1 grama de óleo	(BODOIRA et al., 2017; DAȔBROWSKI et al., 2017; GAZEM et al., 2016; IXTAINA et al., 2010, 2011, 2015; MARTÍNEZ et al., 2012; NADEEM et al., 2017; SCAPIN et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017)

Tabela 2 – Resumo dos métodos analíticos para a caracterização do óleo de chia (continuação).

Método analítico	Objetivo	Expressão do resultado	Referências para óleo de chia
Índice de saponificação	Indicar a quantidade relativa de ácidos graxos de alta e baixa massa molecular	Miligramas de hidróxido de potássio para saponificar 1 grama de óleo	(GAZEM et al., 2016; IXTAINA et al., 2011, 2015; NADEEM et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017)
Matéria insaponificável	Determinar substâncias insaponificáveis	Porcentagem	(BODOIRA et al., 2017; IXTAINA et al., 2011; NADEEM et al., 2017; SEGURA-CAMPOS et al., 2014)
Umidade	Influência da umidade na estabilidade	Porcentagem	(TIMILSENA et al., 2017)
Teste do ácido tiobarbitúrico (TBA)	Avaliar produtos secundários (malondialdeído) da oxidação lipídica	Miligramas de malondialdeído para cada quilograma de óleo	(MARINELI et al., 2015)
Extinção específica no ultravioleta	Determinar os parâmetros K_{232} e K_{270}	-	(BODOIRA et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017)
Índice de p-Anisidina	Determinar os aldeídos insaturados devido a degradação dos hidroperóxidos	-	(JULIO et al., 2015)
Tocoferóis	Determinar a presença de tocoferóis	Miligramas de tocoferol específico para cada quilograma de óleo	(BODOIRA et al., 2017; DĄBROWSKI et al., 2017; IXTAINA et al., 2011, 2015; MARTÍNEZ et al., 2012; NOSHE; AL-BAYYAR, 2017)

Tabela 2 – Resumo dos métodos analíticos para a caracterização do óleo de chia (continuação).

Método analítico	Objetivo	Expressão do resultado	Referências para óleo de chia
Polifénóis	Determinar a presença de polifenóis	Composto equivalente, porcentagem ou número de mols por quilograma de óleo	(BODOIRA et al., 2017; DAŁBROWSKI et al., 2017; GUINDANI et al., 2016; IXTAINA et al., 2011; MARINELI et al., 2014)
Estabilidade oxidativa	Analisar os produtos secundários da oxidação	Horas	(BODOIRA et al., 2017; DAŁBROWSKI et al., 2017; SHEN et al., 2018; TIMILSENA et al., 2017)
Índice de refração	Medir o grau de saturação	-	(GAZEM et al., 2016; IXTAINA et al., 2011, 2015; SCAPIN et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017)
Ressonância magnética nuclear (RMN)	Determinar estruturalmente as moléculas orgânicas	% de ácido graxo específico	(IXTAINA et al., 2011; TIMILSENA et al., 2017)
Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) Analisador	Determinar as propriedades térmicas	-	(SOUZA et al., 2017b; TIMILSENA et al., 2017)
termogravimétrico (TGA)	Analisar as propriedades termogravimétricas	-	(TIMILSENA et al., 2017)

Tabela 2 – Resumo dos métodos analíticos para a caracterização do óleo de chia (continuação).

Método analítico	Objetivo	Expressão do resultado	Referências para óleo de chia
Infravermelho (FTIR)	Comparar características moleculares comuns entre óleos	-	(TIMILSENA et al., 2017)
Viscosidade	Determinar resistência do óleo ao escoamento	MiliPascal x segundos	(IXTAINA et al., 2011; TIMILSENA et al., 2017)
Cor	Determinar os parâmetros L*, a* e b* de cor	-	(IXTAINA et al., 2011; SHEN et al., 2018; TIMILSENA et al., 2017)
Metais	Determinar metais	Miligramas de componente por quilograma de óleo	(IXTAINA et al., 2011)
pH	Determinar a concentração do íon hidrogênio	-	(TIMILSENA et al., 2017)

-: adimensional.

para determinar a qualidade de óleos, assim como objetivo da técnica e a forma de expressão do resultado determinado.

Os processos de oxidação primária (auto-oxidação) nos óleos surgem principalmente dos hidroperóxidos, que são medidos pelo índice do peróxido. Em geral, quanto menor o índice de peróxido, melhor a qualidade do óleo. De acordo com Marineli et al. (2014), os compostos bioativos presentes no óleo de chia (tocoferóis, polifenóis e carotenóides) podem ser os responsáveis por manter baixo o índice de peróxido e, assim, proporcionar ao produto uma melhor estabilidade oxidativa. A técnica de extração por solvente, geralmente, é a que apresenta alto índice de peróxidos devido ao elevado tempo de contato da amostra com o solvente a uma elevada temperatura.

Timilsena et al. (2017) encontraram 4,33 meq de O₂ por kg de óleo por extração com solvente, valor superior ao encontrado por Scapin et al. (2017), que encontraram 1,6 meq de O₂ por kg de óleo usando extração supercrítica com CO₂. Em relação à técnica de prensagem, o índice de peróxido varia de acordo com as condições utilizadas, conforme foi apresentado por Martínez et al. (2012), que obtiveram uma variação de 0,14 a 2,67 meq de O₂ por kg de óleo variando o teor de umidade das sementes, temperatura de prensagem e velocidade do parafuso. No entanto, todos os estudos exibiram níveis mais baixos de subprodutos de oxidação primária do que o limite superior (15 meq de O₂. kg⁻¹ de óleo) estabelecido pelo *Codex Alimentarius* (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 1999) para consumo humano de óleos não restringidos por padrões individuais.

A determinação do teor de iodo no óleo de chia é de suma importância, pois expressará se as insaturações foram mantidas durante a extração. Para o óleo de chia extraído com solvente, os valores reportados de iodo variam de 145,9 g de I₂ por 100 g de óleo (SCAPIN et al., 2017) a 215,0 g de I₂ por 100 g de óleo (IXTAINA et al., 2011). Foi relatado que o óleo de chia prensado possui um valor de iodo de cerca de 210,0 g de I₂ por 100 g de óleo. Como o índice de iodo é baseado no fato que o iodo adicionado se liga as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados e o iodo apresentar massa molecular de 253,8 g. mol⁻¹, os índices de iodo do óleo de chia indicam o elevado grau de insaturações dos ácidos graxos.

A rancidez hidrolítica ocasiona a quebra da molécula de triglicerídeos na ligação éster com a formação de ácidos graxos livres, os quais podem contribuir com odor, sabor e outras características desagradáveis. Os sabores resultantes do desenvolvimento de ácidos graxos livres dependem da composição da gordura. Ácidos graxos de cadeia curta, como ácido butírico, caprício e cáprico, causam odores e sabores particularmente desagradáveis.

No caso do óleo de chia, que contém mais de doze carbonos, os ácidos graxos livres produzem um sabor a sabão (O'BRIEN, 2004).

Maiores teores de ácidos graxos livres são obtidos quando se utiliza solvente para a extração do óleo de chia (IXTAINA et al., 2010, 2011; SCAPIN et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017), com valores acima de 2,0 mg de KOH. g⁻¹ de óleo. Ao passo que a extração por prensagem garante um menor teor, de 0,26 mg de KOH. g⁻¹ de óleo (BODOIRA et al., 2017). Um fator importante a ser considerado é que sementes danificadas ou armazenadas incorretamente podem produzir óleos vegetais brutos com altos níveis de ácidos graxos livres (O'BRIEN, 2004).

O índice de saponificação é uma medida dos grupos reagentes alcalinos em óleos, sendo que glicerídeos contendo ácidos graxos de cadeia curta possuem maiores valores de saponificação do que aqueles com ácidos graxos de cadeia longa. O óleo de chia apresenta índice de saponificação próximo a faixa de óleos vegetais comestíveis, que é de 180 a 200 mg de KOH. g⁻¹ de óleo (O'BRIEN, 2004). Nadeem et al. (2017) verificaram que o óleo de chia apresenta índice de saponificação (188 mg de KOH. g⁻¹ de óleo) menor que óleo de palma (194 mg de KOH. g⁻¹ de óleo) e óleo de palmiste (216 mg de KOH. g⁻¹ de óleo), o que remete que o óleo de chia apresenta ácidos graxos de maior cadeia que outros os óleos estudados.

A matéria insaponificável consiste nas substâncias que não podem ser saponificadas e, em relação ao óleo de chia, corresponde a cerca de 1% da sua composição (IXTAINA et al., 2011). Isso inclui esteróis, carotenóides, pigmentos, vitaminas lipossolúveis e hidrocarbonetos. Em relação ao óleo de chia, alguns autores determinam o percentual de matéria insaponificável total, outros, tais como Ixtaina et al. (2011) e Bodoira et al. (2017), determinam especificamente o teor de carotenoides e clorofilas. A presença de pigmentos, como a clorofila, e de carotenoides pode impactar na coloração do produto atuando como sensibilizante da oxidação (O'BRIEN, 2004). Logo, a determinação de matéria insaponificável, a partir de clorofila e carotenoides, pode ser confirmada pela determinação da cor do óleo.

O teor de umidade é um fator importante na determinação da qualidade dos óleos. No entanto, para o óleo de chia, encontramos apenas um estudo que relatou esse parâmetro. De acordo com Timilsena et al. (2017), o alto teor de umidade aumenta a tendência ao ranço hidrolítico, resultando em um maior teor de ácidos graxos livres e um sabor rançoso. Embora esses autores tenham encontrado um conteúdo de umidade das amostras de óleo de chia de 0,08 g por 100 g de óleo, esse valor está dentro do conteúdo de umidade de 0,05-0,3 g por 100 g de óleo, relatado na maioria dos óleos vegetais.

Embora o teste do ácido tiobarbitúrico (TBA) seja um dos ensaios químicos mais utilizados para determinar produtos de oxidação secundária, esse método apresenta falta de especificidade e sensibilidade. Além do malonaldeído, algumas outras substâncias podem reagir com o reagente TBA e contribuir para a absorção, causando uma superestimação da intensidade do complexo de cores (PIGNITTER; SOMOZA, 2012). Marineli et al. (2014) encontraram 17,5 mg de malondialdeído. kg^{-1} de óleo, valor este maior quando comparado a semente inteira, de 9,6 malondialdeído. kg^{-1} de óleo, provavelmente ocasionado pelas etapas de extração.

O coeficiente de extinção a 232 nm (K_{232}) está associado aos estágios primário e intermediário da oxidação do óleo, caracterizados por peróxidos e hidroperóxidos no sistema conjugado de dieno. O coeficiente de absorção a 270 nm (K_{270}) está relacionado ao estágio de oxidação secundária do óleo e forma estruturas mais estáveis, onde ocorre a formação de trienos conjugados e compostos carbonílicos, como álcoois, cetonas e aldeídos (TIMILSENA et al., 2017). Timilsena et al. (2017) obtiveram valores mais elevados de coeficientes de extinção (K_{232} de 1,62 e K_{270} de 0,35) no óleo de chia extraído por solvente frio do que Bodoira et al. (2017) quando analisaram o óleo de chia extraído por prensagem (K_{232} de 1,35 e K_{270} de 0,15), indicando que a extração com solvente, mesmo a frio, se intensifica nos estágios de oxidação.

O método da p-Anisidina é um método empregado para detectar produtos secundários da oxidação, e, portanto, é útil para determinar a qualidade dos óleos brutos e a eficiência dos procedimentos de extração, mas não é adequado para a detecção da oxidação de gordura (O'BRIEN, 2004). Julio et al. (2015) estudaram a incorporação de óleo de chia em emulsões funcionais utilizando caseinato de sódio e lactose como agentes emulsionantes. Os autores verificaram o teor de hidroperóxidos lipídicos nas emulsões através do índice de p-Anisidina e índice de peróxido, apresentando baixos níveis de p-anisidina (<1) em todos os casos.

Os óleos vegetais contêm tocoferóis e polifenóis, que são antioxidantes naturais que retardam a rancidez oxidativa. Altas proporções de tocoferóis são necessárias que permaneçam após todas as etapas de extração do óleo para a obtenção de uma estabilidade de oxidação ótima (O'BRIEN, 2004). O óleo de chia apresenta em maior quantidade o γ -tocoferol e menor quantidade de δ -tocoferol, além de traços de α -tocoferol (BODOIRA et al., 2017). No óleo de chia, os principais compostos fenólicos são os ácidos clorogênicos e cafeicos, seguidos de mircetina, quercetina e kaempferol, os quais não estão presentes em outras oleaginosas (IXTAINA et al., 2011). Oliveira-Alves et al. (2017) identificaram dois

ácidos hidroxicinâmicos (ácido cafeoilquinóico e derivado de danshensu) e um terpeno nos extratos brutos do óleo de chia, e no extrato hidrolisado do óleo foram identificados três ácidos hidroxicinâmicos. Além disso, esses autores verificaram um aumento no conteúdo fenólico total e na atividade antioxidante do extrato bruto para o extrato hidrolisado.

A determinação da estabilidade oxidativa consiste em um método condutimétrico para a avaliação de subprodutos da oxidação de equipamentos comercialmente disponíveis (*Rancimat* ou *Omnion Instrument*), envolvendo o monitoramento de compostos voláteis produzidos a partir de uma amostra de óleo aquecido sob aeração constante. Esse método fornece dados rápidos de estabilidade à oxidação, exigindo menos tempo e manipulação comparado a outras técnicas (O'BRIEN, 2004). Estudos recentes de óleo de chia utilizaram esta metodologia visando descobrir maneiras de protegê-lo da oxidação. Timilsena et al. (2017) verificaram uma baixa estabilidade oxidativa do óleo de chia (2,4 h), devido a elevada concentração de ácidos graxos insaturados, quando comparado a outros óleos, como de canola (12 a 17 h) e de coco (33 h). No entanto, Dąbrowski et al. (2017) demonstraram que a extração com solvente usando acetona aumenta a estabilidade oxidativa (8,4 h).

O índice de refração está relacionado ao grau de saturação, o qual está linearmente relacionado à análise do índice de iodo, mas pode ser afetado por fatores como ácidos graxos livres, oxidação e polimerização (O'BRIEN, 2004). Como o índice de refração depende da temperatura da análise e do conteúdo de ácidos graxos insaturados, altas temperaturas de análise acarretam em valores mais baixos do índice de refração, enquanto uma porcentagem maior de ácidos graxos no óleo aumenta os valores do índice de refração (GAZEM et al., 2016). Para o óleo de chia, o índice de refração varia de 1,47 a 1,48 (IXTAINA et al., 2011; SCAPIN et al., 2017; TENG et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017).

Todos os estudos publicados sobre o perfil de ácidos graxos do óleo de chia utilizaram cromatografia gasosa. No entanto, a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é cada vez mais utilizada na análise de lipídios. Isso é vantajoso porque a RMN permite análises estruturais para controlar a qualidade dos alimentos. A RMN pode ser usada para obter informações sobre a composição de glicerídeos e ácidos graxos em óleos (IXTAINA et al., 2011). Associada à cromatografia gasosa, as informações de RMN buscam a distribuição posicional de ácidos graxos (TIMILSENA et al., 2017).

A Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) é utilizado para estudar os processos termo-oxidativos que ocorrem no óleo de chia em função da temperatura e do tempo. À temperatura ambiente, o óleo de chia é líquido puro (sem cristais sólidos detectáveis). O óleo de chia pode ser aquecido a mais de 215 °C sem degradação térmica

significativa, sugerindo sua adequação como óleo de fritura (TIMILSENA et al., 2017). Souza et al. (2017b) verificaram através do encapsulamento do óleo de chia, um aumento (145 °C antes e 259 °C após o encapsulamento) na estabilidade oxidativa utilizando DSC.

O infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é utilizado para comparar características comuns presentes em óleos através de espectros. Timilsena et al. (2017) verificaram que o óleo de chia apresenta maior grau de insaturação que óleo de canola, de oliva e de mostarda. Outro fato verificado pelos autores, foi que o espectro do óleo de chia não apresentou a banda referente a ligação O-H indicando a presença de apenas uma quantidade insignificante de umidade, a qual foi confirmada pela determinação de umidade.

A viscosidade é uma propriedade física que caracteriza a resistência de um fluido ao fluxo. Timilsena et al. (2017) encontraram uma viscosidade mais baixa no óleo de chia à medida que a temperatura de extração aumentou, sugerindo que o óleo de chia contém quantidades menores de ácidos graxos saturados do que os outros óleos estudados.

A cor de óleos vegetais está associada com o conteúdo total de pigmentos (IXTAINA et al., 2011). O intenso amarelo remete a presença de altas quantidades de carotenoides e a tendência ao verde pode ser atribuída a presença de clorofilas ou algum pigmento extraído a partir da semente de chia juntamente com óleo (TIMILSENA et al., 2017).

Os metais são absorvidos pelas plantas durante o estágio de crescimento e durante o processamento, sendo a maioria prejudicial à qualidade do produto e à saúde. As quantidades de traços de cobre, ferro, manganês e níquel reduzem substancialmente a estabilidade oxidativa do óleo (O'BRIEN, 2004), atuando como pro-oxidantes. A extração de óleo de chia por solvente apresenta concentrações similares de cobre e maiores concentrações de ferro do que os óleos extraídos por prensagem (IXTAINA et al., 2015).

O pH (potencial hidrogeniônico) é afetado pela formação de radicais livres, os quais são determinados através do índice de acidez. O pH do óleo de chia é maior (5,4) que outros óleos, como de girassol (4,3), gergelim (4,8) e soja (4,1), indicando uma menor acidez titulável (TIMILSENA et al., 2017).

Recentemente, alguns estudos estão avaliando a eficácia antioxidante do óleo de chia. Noshe e Al-Bayyar (2017) estudaram o efeito das diferentes concentrações de óleo de chia brancas e escuras na porcentagem de atividade antioxidante em comparação com o ácido ascórbico como grupo controle. Para sementes de chia brancas, a porcentagem de inibição foi de 88,4, 83,6, 72,5 e 57,2% nas concentrações 400, 200, 100 e 50 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectivamente.

Já para as sementes de chia escuras, a porcentagem de inibição foi aumentada, sendo de 94,5, 86,4, 72,6 e 39,7 nas concentrações 400, 200, 100 e 50 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectivamente.

A densidade relativa do óleo também pode ser determinada, uma vez que quanto maior a densidade relativa, maior o conteúdo de ácidos graxos insaturados. O óleo de chia apresentou densidade relativa de 0,924 (GAZEM et al., 2016; SEGURA-CAMPOS et al., 2014), que foi semelhante ao relatado em óleos de girassol, de 0,918 (TODOROVIC et al., 2019).

Outras determinações como ponto de fumaça, *Headspace* e análise sensorial, também são indicadas para determinar a qualidade de óleos. Entretanto, para o óleo de chia ainda não se tem estudos.

6.6 ENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA

Embora o perfil de ácidos graxos do óleo de semente de chia seja nutricionalmente favorável, o alto grau de insaturação de ômega-3 o torna suscetível à oxidação. Portanto, a incorporação de ácidos graxos ômega-3 em alimentos é desafiadora devido à sua suscetibilidade à oxidação e ao desenvolvimento de sabores estranhos que afetam as propriedades sensoriais e nutricionais dos alimentos (IXTAINA et al., 2015). A encapsulação tem sido utilizada para superar a suscetibilidade do óleo de chia à oxidação.

A encapsulação é um processo utilizado para aprisionar uma substância (chamada material principal ou agente ativo) em outra (material de revestimento ou suporte/parede). As técnicas de encapsulação podem prolongar a vida útil dos produtos, protegendo os componentes ativos contra a degradação, além de mascarar sabores ou odores indesejados. A escolha do método de encapsulação e do material da parede depende de vários fatores, incluindo o tamanho de partícula necessário, propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, aplicação do produto final, mecanismos de liberação desejados, escala de produção e custo (RÉ, 1998).

Técnicas de micro e nanoencapsulação foram desenvolvidas relativamente há pouco tempo. No entanto, novos métodos estão sendo desenvolvidos rapidamente. A maioria dos estudos sobre o óleo de chia se concentrou na microencapsulação (pela técnica de secagem por atomização – *spray drying*), embora algumas técnicas de nanoencapsulação estejam sendo investigadas.

Vários materiais de parede para microencapsulação por *spray drying* de óleo de chia foram testados, incluindo caseinato de sódio e lactose (IXTAINA et al., 2015); hidroximetilcelulose e maltodextrina (MARTÍNEZ et al., 2015); concentrado de proteína de soro de leite e goma mesquite (ESCALONA-GARCÍA et al., 2016; RODEA-GONZÁLEZ et al., 2012); proteína isolada de soja e maltodextrina (GONZÁLEZ et al., 2016); concentrado de proteína de soro de leite, pectina, maltodextrina e amido modificado (NOELLO et al., 2016); isolado de proteína de semente de chia e mucilagem de chia (TIMILSENA et al., 2016a); caseinato de sódio, lactose, maltodextrina, mucilagem de chia e fração rica em proteínas de chia (US-MEDINA et al., 2018); e ácido esteárico (ROJAS et al., 2019).

Alta eficiência de encapsulação, baixo conteúdo de óleo na superfície e maior estabilidade do núcleo são considerações importantes para uma microencapsulação bem-sucedida. Com exceção de Martínez et al. (2015), González et al. (2016) e Us-Medina et al., (2018), todos os autores acima mencionados relataram eficiências de encapsulação superiores a 97% e um diâmetro de partícula inferior a 10,7 μm .

Além da técnica de *spray drying*, Timilsena et al. (2016a), González et al. (2016) e Copado et al. (2017) relataram microencapsulação de óleo de chia por liofilização. A técnica de *spray drying* envolve altas temperaturas de secagem, enquanto a liofilização mantém as estruturas pré-formadas intactas, sob baixas temperaturas e na ausência de ar.

Timilsena et al. (2016a) encontraram um menor tamanho de partícula, maior eficiência de encapsulação e maior vida útil do óleo quando a técnica de *spray drying* foi utilizada em comparação com a liofilização. Enquanto que González et al. (2016) não detectaram diferença significativa na eficiência do encapsulação entre as duas técnicas, apresentando as amostras por *spray drying* uma superfície contínua e homogênea na forma esférica e as amostras de liofilização exibiram flocos com microcápsulas individuais formando parte das superfícies. Já, Copado et al. (2017) investigaram os efeitos dos produtos da reação de Maillard, a concentração de óleo de chia e a razão caseinato de sódio:lactose como material de parede sobre as características físico-químicas e a estabilidade oxidativa para a aplicação como ingrediente funcional em alimentos.

Com o objetivo de aumentar a gama de técnicas de microencapsulação envolvendo óleo de chia, alguns autores recentemente concentraram sua atenção em outras técnicas já aplicadas a outros óleos, como Us-Medina et al. (2017) e Heck et al. (2019). Heck et al. (2019) focaram seu estudo apenas na aplicação das microcápsulas desenvolvidas. Já Us-Medina et al. (2017) avaliaram o potencial da mucilagem de chia combinada com alginato como um material alternativo para encapsular o óleo de chia por gelificação iônica. Os autores

estudaram o efeito da concentração de mucilagem de chia-alginato, concentração de cloreto de cálcio e tempo de reticulação, obtendo a eficiência de encapsulação variando de 71 a 89% e o diâmetro das cápsulas úmidas apresentou médias variando de 2,72 a 3,09 mm.

Uma técnica que está ganhando destaque é a técnica de homogeneização a quente. Souza et al. (2017b) encapsularam óleo de chia em micropartículas de ácido esteárico pela técnica de homogeneização a quente, obtendo eficiência de encapsulação de 95,4% de ômega-3 e 92,3% de ômega-6. Além disso, os autores indicaram que essas micropartículas são adequadas para formular produtos alimentícios, onde é necessária uma vida útil longa ou quando o aquecimento é aplicado durante a produção, como em produtos assados.

Almeida et al. (2018) e Guimarães-Inácio et al. (2018) estudaram a encapsulação de óleo de chia por meio da técnica de homogeneização a quente, utilizando cera de carnaúba como lipídeo encapsulado e caseinato de sódio como surfactante. Guimarães-Inácio et al. (2018) estudaram as características das micropartículas formadas, como eficiência de encapsulação (em torno de 97%), eficácia da encapsulação na proteção dos tocoferóis presentes no óleo e estabilidade. Almeida et al. (2018) aplicaram as micropartículas (diâmetro médio igual a 20,8 μm), em biscoitos, mostrando que a cera de carnaúba protegia efetivamente o óleo de chia em relação a oxidação e a avaliação sensorial mostrou que os biscoitos suplementados com micropartículas carregadas com óleo de chia foram bem aceitos.

Campo et al. (2017) desenvolveram nanoemulsão de óleo de chia utilizando mucilagem extraída da semente de chia como material encapsulante. Os autores obtiveram uma eficiência de encapsulação de 82,8%, com tamanho de partícula de 205 nm e alta estabilidade térmica, além de uma melhora na estabilidade oxidativa do óleo durante o armazenamento. Teng et al. (2017) também desenvolveram nanoemulsões de óleo de chia, porém através de microfluidização e emulsificação espontânea com polissorbato 80 (Tween 80) e monooleato de sorbitano (Span 80), caseinato de sódio ou monoésteres de sacarose como emulsificante. Esses autores verificaram que a nanoemulsão de óleo de chia pode ser fabricada por microfluidização com todos os emulsificantes estudados, no entanto, apenas o óleo de chia com Tween 80 e Span 80 podem ser fabricados por emulsificação espontânea, o que sugere que o método de microfluidização tem uma gama de aplicação mais ampla que a emulsificação espontânea.

Embora a encapsulação do óleo de chia tenha ganhado destaque, existem poucos estudos que envolvem a aplicação dessas partículas nos alimentos. Heck et al. (2019) avaliaram os compostos voláteis e o perfil sensorial de hambúrgueres com substituição de gordura de porco por 50% de micropartículas de óleo de chia enriquecidas com alecrim. O

óleo de chia encapsulado não teve um grande impacto no perfil volátil de hambúrgueres crus e cozidos, tanto para as formas não encapsuladas quanto para as microencapsuladas, com exceção quando o alecrim foi adicionado. A incorporação direta de compostos bioativos do alecrim no óleo de chia foi eficaz para resolver os impactos sensoriais da oxidação. Portanto, pode-se concluir que a reformulação lipídica proposta é uma alternativa promissora para incorporar óleos saudáveis em produtos de carne cozida.

Outra aplicação foi realizada por Rojas et al. (2019), os quais desenvolveram maionese contendo óleo de chia, de sementes de abóbora e de baru microencapsulados. Os autores verificaram que a maionese contendo micropartículas de chia apresentou maior teor de ômega-3 e os resultados foram semelhantes para todas as formulações testadas em relação às características tecnológicas e sensoriais, sendo que os consumidores não foram capazes de diferenciar as amostras da amostra controle (maionese sem micropartículas) para todos os óleos testados.

7 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Alguns estudos envolvendo o óleo de chia foram revisados e foram apresentadas várias informações que esclarecem o leitor sobre a origem do óleo de chia, formas de extração, benefícios à saúde, formas de avaliação e resultados encontrados para esse óleo. Foi verificado que a popularidade das sementes de chia aumentou rapidamente. No passado a semente de chia era usada apenas pelos povos indígenas do México e da Guatemala, mas agora é amplamente cultivada para a produção de óleo de chia, devido ao seu alto teor de ácido linolênico (ômega-3), uma vez que é importante para o bom funcionamento do corpo humano e não é sintetizado pelo organismo humano.

Embora as técnicas de extração de óleo de semente de chia sejam importantes, os métodos de avaliação da qualidade do óleo devem ser o foco de pesquisas futuras. Isso ocorre porque, pelas técnicas citadas, é possível verificar o processo de oxidação e se compostos importantes como ômega-3, tocoferóis e carotenoides ainda estão presentes no óleo. Nesta revisão, foram apresentadas inúmeras técnicas de avaliação para garantir a qualidade do óleo, para que ele seja eficiente em relação aos seus benefícios à saúde.

Os benefícios comprovados, tais como o aumento do ácido linolênico plasmático e os níveis de ácido eicosapentaenóico (EPA), controle da hiperglicemia, redução da pressão arterial sistólica e dos potenciais antioxidantes, induzem ao crescente interesse em mostrar

que este é um óleo relativamente novo que apresenta um grande potencial de produção e consumo, por seu perfil de ácidos graxos que é benéfico para a saúde humana.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, S. U.; REDDY, K. K.; SWATHY, S. L.; SINGH, S. K.; KANJILAL, S.; PRASAD, R. B. N.; PANDEY, A. Enrichment of γ -linolenic acid in the lipid extracted from *Mucor zychae* MTCC 5420. **Food Research International**, v. 42, n. 4, p. 449–453, 2009.

ALI, N. M.; YEAP, S. K.; HO, W. Y.; BEH, B. K.; TAN, S. W.; TAN, S. G. The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, p. 1–9, 2012.

ALMEIDA, M. M. C. DE; FRANCISCO, C. R. L.; OLIVEIRA, A. DE; CAMPOS, S. S. DE; BILCK, A. P.; FUCHS, R. H. B.; GONÇALVES, O. H.; VELDERRAMA, P.; GENENA, A. K.; LEIMANN, F. V. Textural , Color , Hygroscopic , Lipid Oxidation , and Sensory Properties of Cookies Containing Free and Microencapsulated Chia Oil. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, p. 926–939, 2018.

ANTRUJO, A.; AZCONA, J. O.; GARCIA, P. T.; GALLINGER, C.; ROSMINI, M.; AYERZA, R.; COATES, W.; PEREZ, C. D. Omega-3 enriched egg production: the effect of α -linolenic ω -3 fatty acid sources on laying hen performance and yolk lipid content and fatty acid composition. **British Poultry Science**, v. 52, p. 750–760, 2011.

AYERZA, R.; COATES, W. Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. **Nutrition Research**, v. 25, n. 11, p. 995–1003, 2005.

AYERZA, R.; COATES, W. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 2, p. 1366–1371, 2011.

BELLALOU, N.; MENGISTU, A.; KASSEM, M. A. Effects of Genetics and Environment on Fatty Acid Stability in Soybean Seed. **Food and Nutrition Sciences**, v. 4, n. 9, p. 165–175, 2013.

BODOIRA, R. M.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D.; MARTÍNEZ, M. L. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 107–113, 2017.

BUSILACCHI, H.; QUIROGA, M.; BUENO, M.; DI SAPIO, O.; FLORES, V.; SEVERIN, C. Evaluación de *Salvia hispanica* L. cultivada em el Sur de Santa Fe (Republica Argentina). **Cultivos Tropicales**, v. 34, n. 4, p. 55–59, 2013.

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

CARVALHO, P. DE O.; CAMPOS, P. R. B.; NOFFS, M. D.; OLIVEIRA, J. G. DE; SHIMIZU, M. T.; SILVA, D. M. DA. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, v. 181, n. 25, p. 344, 2003.

CASTEJÓN, N.; LUNA, P.; SEÑORANS, F. J. Ultrasonic removal of mucilage for pressurized liquid extraction of omega-3 rich oil from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 12, p. 2572–2579, 2017.

COATES, W. **Whole and Ground Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds, Chia Oil - Effects on Plasma Lipids and Fatty Acids**. [s.l.] Elsevier Inc., 2011.

COATES, W.; AYERZA, R. Chia (*Salvia hispanica* L.) seed as an n-3 fatty acid source for finishing pigs: Effects on fatty acid composition and fat stability of the meat and internal fat, growth performance, and meat sensory characteristics. **American Society of Animal Science**, v. 87, p. 3798–3804, 2009.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex Standard for Named Vegetable Oils**. Codex Stan 210, 1999.

COELHO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 729-736, 2015.

COPADO, C. N.; DIEHL, B. W. K.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Application of Maillard reaction products on chia seed oil microcapsules with different core/wall ratios. **LWT - Food Science and Technology**, v. 86, p. 408–417, 2017.

CORREA, M.; MESOMO, M. C.; PIANOSKI, K. E.; TORRES, Y. R.; CORAZZA, M. L. Extraction of inflorescences of *Musa paradisiaca* L. using supercritical CO₂ and compressed propane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 113, p. 128–135, 2016.

COSTANTINI, L.; LUKŠIĆ, L.; MOLINARI, R.; KREFT, I.; BONAFACCIA, G.; MANZI, L.; MERENDINO, L. Development of gluten-free bread using tartary buckwheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. **Food Chemistry**, v. 165, p. 232–240, 2014.

DAŃBROWSKI, G.; KONOPKA, I.; CZAPLICKI, S.; TAŃSKA, M. Composition and oxidative stability of oil from *Salvia hispanica* L. seeds in relation to extraction method. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, n. 5, p. 1–9, 2017.

EL-BADRY, A. M.; GRAF, R.; CLAVIEN, P. A. Omega 3 - Omega 6: What is right for the liver? **Journal of Hepatology**, v. 47, n. 5, p. 718–725, 2007.

ERATTE, D.; MCKNIGHT, S.; GENGENBACH, T. R.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. P. Co-encapsulation and characterisation of omega-3 fatty acids and probiotic bacteria in whey protein isolate – gum Arabic complex coacervates. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 882–892, 2015.

ESCALONA-GARCÍA, L. A.; PEDROZA-ISLAS, R.; NATIVIDAD, R.; RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E.; CARRILLO-NAVAS, H.; PÉREZ-ALONSO, C. Oxidation kinetics and thermodynamic analysis of chia oil microencapsulated in a whey protein concentrate-polysaccharide matrix. **Journal of Food Engineering**, v. 175, p. 93–103, 2016.

FERNANDES, S. S.; SALAS-MELLADO, M. de las M. Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. **Food Chemistry**, v. 227, 2017.

GAZEM, R. A. A.; PUNEETH, H. R.; MADHU, C. S.; SHARADA, A. C. Physicochemical Properties and in Vitro Anti-Inflammatory Effects of Indian Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 11, n. 2, p. 1–8, 2016.

GONZÁLEZ-MAÑÁN, D.; TAPIA, G.; GORMAZ, G.; ESPESSAILLES, A. D.; ESPINOSA, A.; MASSON, L.; VARELA, P.; VALENZUELA, A.; VALENZUELA, R.

Bioconversion of α -linolenic acid to n-3 LCPUFA and expression of PPAR- α , acyl coenzyme A oxidase 1 and carnitine acyl transferase I are incremented after feeding rats with α -linolenic acid-rich oils n. **Food & Function**, v. 3, p. 765–772, 2012.

GONZÁLEZ, A.; MARTÍNEZ, M. L.; PAREDES, A. J.; LEÓN, A. E.; RIBOTTA, P. D. Study of the preparation process and variation of wall components in chia (*Salvia hispanica* L.) oil microencapsulation. **Powder Technology**, v. 301, p. 868–875, 2016.

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

GUINDANI, C.; PODESTÁ, R.; BLOCK, J. M.; ROSSI, M. J.; MEZZOMO, N.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of chia (*Salvia hispanica*) seed cake by means of supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 67–75, 2016.

HECK, R. T.; FAGUNDES, M. B.; CICHOSKI, A. J.; DE MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; LORENZO, J. M.; WAGNER, R.; CAMPAGNOL, P. C. B. Volatile compounds and sensory profile of burgers with 50% fat replacement by microparticles of chia oil enriched with rosemary. **Meat Science**, v. 148, p. 164–170, 2019.

HUERTA, K. M.; ALVES, J. S.; SILVA, A. F. C.; KUBOTA, E. H.; ROSA, C. S. Sensory response and physical characteristics of gluten-free and gum-free bread with chia flour. **Food Science and Technology**, 36, 15-18, 2016.

IXTAINA, V. Y.; JULIO, L. M.; WAGNER, J. R.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physicochemical characterization and stability of chia oil microencapsulated with sodium caseinate and lactose by spray-drying. **Powder Technology**, v. 271, p. 26–34, 2015.

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166–174, 2011.

IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Oxidative Stability of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil: Effect of Antioxidants and Storage Conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, p. 1077–1090, 2012.

IXTAINA, V. Y.; VEGA, A.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C.; GIMENO, M.; BÁRZANA, E.; TECANTE, A. Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.): Characterization and process optimization. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 192–199, 2010.

JIN, F.; NIEMAN, D. C.; SHA, W.; XIE, G.; QIU, Y.; JIA, W. Supplementation of Milled Chia Seeds Increases Plasma ALA and EPA in Postmenopausal Women. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 105–110, 2012.

JULIO, L. M.; IXTAINA, V. Y.; FERNÁNDEZ, M. A.; SÁNCHEZ, R. M. T.; WAGNER, J. R.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Chia seed oil-in-water emulsions as potential delivery systems of ω -3 fatty acids. **Journal of Food Engineering**, v. 162, p. 48–55, 2015.

KALEEM, A.; AZIZ, S.; IQTEDAR, M.; ABDULLAH, R.; AFTAB, M.; RASHID, F.; SHAKOORI, F. R.; NAZ, S. Investigating Changes and Effect of Peroxide Values in Cooking Oils Subject To Light and Heat. **FUFAST Journal of Biology**, v. 5, n. 2, p. 191–196, 2015.

KAUR, N.; CHUGH, V.; GRUPTA, A. K. Essential fatty acids as functional components of foods- a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 2289-2303, 2014.

MANTELL, C.; CASAS, L.; RODRÍGUEZ, M.; OSSA, E. M. DE LA. Supercritical fluid extraction. In: **Separation and Purification Technologies in Biorefineries**. John Wiley & Sons, 2013, p. 79–100.

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

MARINELI, R. DA S.; MORAES, É. A.; LENQUISTE, S. A.; GODOY, A. T.; EBERLIN, M. N.; MARÓSTICA, M. R. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P2, p. 1304–1310, 2014.

MARTÍNEZ, M. L.; CURTI, M. I.; ROCCIA, P.; LLABOT, J. M.; PENCI, M. C.; BODOIRA, R. M.; RIBOTTA, P. D. Oxidative stability of walnut (*Juglans regia* L.) and chia (*Salvia hispanica* L.) oils microencapsulated by spray drying. **Powder Technology**, v. 270, p. 271–277, 2015.

MARTÍNEZ, M. L.; MARÍN, M. A.; SALGADO FALLER, C. M.; REVOL, J.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 78–82, 2012.

MELLO, B. T. F.; GARCIA, V. A. DOS S.; SILVA, C. DA. Ultrasound-Assisted Extraction of Oil from Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds: Optimization Extraction and Fatty Acid Profile. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 1, p. 1–8, 2017.

NADEEM, M.; IMRAN, M.; TAJ, I.; AJMAL, M.; JUNAID, M. Omega-3 fatty acids, phenolic compounds and antioxidant characteristics of chia oil supplemented margarine. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 1, p. 1–12, 2017.

NIEMAN, D. C.; CAYEA, E. J.; AUSTIN, M. D.; HENSON, D. A.; MCANULTY, S. R.; JIN, F. Chia seed does not promote weight loss or alter disease risk factors in overweight adults. **Nutrition Research**, v. 29, n. 6, p. 414–418, 2009.

NIEMAN, D. C.; GILLITT, N. D.; MEANEY, M. P.; DEW, D. A. No positive influence of ingesting chia seed oil on human running performance. **Nutrients**, v. 7, n. 5, p. 3666–3676, 2015.

NOELLO, C.; CARVALHO, A. G. S.; SILVA, V. M.; HUBINGER, M. D. Spray dried microparticles of chia oil using emulsion stabilized by whey protein concentrate and pectin by electrostatic deposition. **Food Research International**, v. 89, p. 549–557, 2016.

NOSHE, A. S.; AL-BAYYAR, A. H. Effect of extraction method of Chia seeds Oil on its content of fatty acids and antioxidants. **International Research Journal of Engineering and Technology**, p. 545–551, 2017.

O'BRIEN, R. D. **Fats and oils: formulating and processing for applications**. CRC Press LLC, 2004.

OLIVEIRA-ALVES, S. C.; VENDRAMINI-COSTA, D. B.; BETIM CAZARIN, C. B.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; BORGES FERREIRA, J. P.; SILVA, A. B.; PRADO, M. A.; BRONZE, M. R. Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. **Food Chemistry**, v. 232, p. 295–305, 2017.

- ÖZCAN, M. M.; AL-JUHAIMI, F. Y.; MOHAMED AHMED, I. A.; OSMAN, M. A.; GASSEM, M. A. Effect of different microwave power setting on quality of chia seed oil obtained in a cold press. **Food Chemistry**, v. 278, p. 190–196, 2019.
- PATIL, P. D.; DANDAMUDI, K. P. R.; WANG, J.; DENG, Q.; DENG, S. Extraction of bio-oils from algae with supercritical carbon dioxide and co-solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 60–68, 2018.
- PEIRETTI, P. G.; GAI, F. Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, n. 2–4, p. 267–275, 2009.
- PIGNITTER, M.; SOMOZA, V. Critical Evaluation of Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity in Vegetable Oils. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 20, n. 3, p. 772–777, 2012.
- PUIG, E. I.; HAROS, M. La chia em Europa: El nuevo ingrediente en productos de panadería. **Alimentaria**, 420, 73-77, 2011.
- RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195–1236, 1998.
- REYES-CAUDILLO, E.; TECANTE, A.; VALDIVIA-LÓPEZ, M. A. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 656–663, 2008.
- RIERA, E.; GOLÁS, Y.; BLANCO, A.; GALLEGRO, J. A.; BLASCO, M.; MULET, A. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 3–4, p. 241–244, 2004.
- RODEA-GONZÁLEZ, D. A.; CRUZ-OLIVARES, J.; ROMÁN-GUERRERO, A.; RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E.; VERNON-CARTER, E. J.; PÉREZ-ALONSO, C. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 102–109, 2012.
- ROJAS, V. M.; MARCONI, L. F. DA C. B.; GUIMARÃES-INÁCIO, A.; LEIMANN, F. V.; TANAMATI, A.; GOZZO, Â. M.; FUCHS, R. H. B.; BARREIRO, M. F.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; TANAMATI, A. A. C.; GONÇALVES, O. H. Formulation of mayonnaises containing PUFAs by the addition of microencapsulated chia seeds, pumpkin seeds and baru oils. **Food Chemistry**, v. 274, p. 220–227, 2019.
- ROSAS-MENDOZA, M. E.; CORIA-HERNÁNDEZ, J.; MELÉNDEZ-PÉREZ, R.; LUIS ARJONA-ROMÁN, J. Characteristics of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil extracted by ultrasound assistance. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 61, n. 4, p. 326–335, 2017.
- SCAPIN, G.; ABAIDE, E. R.; NUNES, L. F.; MAZUTTI, M. A.; VENDRUSCOLO, R. G.; WAGNER, R.; DA ROSA, C. S. Effect of pressure and temperature on the quality of chia oil extracted using pressurized fluids. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 127, p. 90–96, 2017.
- SEGURA-CAMPOS, M. R.; CIAU-SOLÍS, N.; ROSADO-RUBIO, G.; CHEL-GUERRERO, L.; BETANCUR-ANCONA, D. Chemical and Functional Properties of Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) Gum. **International Journal of Food Science**, v. 2014, p. 1–5, 2014.
- SHEN, Y.; ZHENG, L.; JIN, J.; LI, X.; FU, J.; WANG, M. Phytochemical and Biological Characteristics of Mexican Chia Seed Oil. **Molecules**, v. 23, p. 1–16, 2018.

SIERRA, L.; ROCO, J.; ALARCON, G.; MEDINA, M.; VAN NIEUWENHOVE, C.; PERAL DE BRUNO, M.; JEREZ, S. Dietary intervention with *Salvia hispanica* (Chia) oil improves vascular function in rabbits under hypercholesterolaemic conditions. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 641–649, 2015.

SILVA, C.; GARCIA, V. A. S.; ZANETTE, C. M. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction using different organic solvents: Oil yield, fatty acids profile and technological analysis of defatted meal. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 3, p. 998–1004, 2016.

SINGH, K. K.; WIESENBERN, D. P.; TOSTENSON, K.; KANGAS, N. Influence of moisture content and cooking on screw pressing of crambe seed. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 79, n. 2, p. 165–170, 2002.

SOUZA, A. L.; MARTÍNEZ, F. P.; FERREIRA, S. B.; KAISER, C. R. A complete evaluation of thermal and oxidative stability of chia oil. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1307–1315, 2017a.

SOUZA, M. F.; FRANCISCO, C. R. L.; SANCHEZ, J. L.; GUIMARÃES-INÁCIO, A.; VALDERRAMA, P.; BONA, E.; TANAMATI, A. A. C.; LEIMANN, F. V.; GONÇALVES, O. H. Fatty acids profile of chia oil-loaded lipid microparticles. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 34, n. 3, p. 659–669, 2017b.

STEFFOLANI, E.; HERA DE LA, E.; PÉREZ, G.; GÓMEZ, M. Effect of chia (*Salvia hispanica* L.) addition on the quality of gluten-free bread. **Journal of Food Quality**, v. 37, p. 309–317, 2014.

TENG, J.; HU, X.; WANG, M.; TAO, N. Fabrication of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil nanoemulsions using different emulsifiers. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. March, p. 1–9, 2017.

TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, R.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 347–357, 2016a.

TIMILSENA, Y. P.; VONGSVIVUT, J.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. **Food Chemistry**, v. 228, p. 394–402, 2017.

TODOROVIC, Z. B.; TROTTER, D. Z.; ĐOKIĆ-STOJANOVIĆ, D. R.; VELIČKOVIĆ, A. V.; AVRAMOVIĆ, J. M.; STAMENKOVIĆ, O. S.; VESELINOVIĆ, L. M.; VELJKOVIĆ, V. B. Optimization of CaO-catalyzed sunflower oil methanolysis with crude biodiesel as a cosolvent. **Fuel**, v. 237, p. 903–910, 2019.

TOSCANO, L. T.; DA SILVA, C. S. O.; TOSCANO, L. T.; DE ALMEIDA, A. E. M.; DA CRUZ SANTOS, A.; SILVA, A. S. Chia Flour Supplementation Reduces Blood Pressure in Hypertensive Subjects. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 4, p. 392–398, 2014.

TRENTINI, C. P.; SANTOS, K. A.; ANTONIO DA SILVA, E.; GARCIA, V. A. DOS S.; CARDOZO-FILHO, L.; DA SILVA, C. Oil extraction from macauba pulp using compressed propane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 126, p. 72–78, 2017.

URIBE, J. A. R.; PEREZ, J. I. N.; KAUIL, H. C.; RUBIO, G. R.; ALCOCER, C. G. Extraction of oil from chia seeds with supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 56, n. 2, p. 174–178, 2011.

US-MEDINA, U.; JULIO, L. M.; SEGURA-CAMPOS, M. R.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Development and characterization of spray-dried chia oil microcapsules using by-products from chia as wall material. **Powder Technology**, v. 334, p. 1–8, 2018.

US-MEDINA, U.; RUIZ-RUIZ, J. C.; QUINTANA-OWEN, P.; SEGURA-CAMPOS, M. R. *Salvia hispanica* mucilage-alginate properties and performance as an encapsulation matrix for chia seed oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 6, p. 1–9, 2017.

UZOH, C. F.; ONUKWULI, O. D.; NWABANNE, J. T. Characterization, kinetics and statistical screening analysis of gmelina seed oil extraction process. **Materials for Renewable and Sustainable Energy**, v. 3, n. 4, 2014.

VALENZUELA, R.; BARRERA, C.; GONZÁLEZ-ASTORGA, M.; SANHUEZ, J.; VALENZUELA, A. Alpha linolenic acid (ALA) from *Rosa canina*, *sacha inchi* and chia oils may increase ALA accretion and its conversion into n -3 LCPUFA in diverse tissues of the rat. **Food & Function**, v. 5, p. 1564–1572, 2014.

VILLANUEVA-BERMEJO, D.; FONTECHA, J.; CALVO, M. V.; CASTRO-GÓMEZ, P.; FORNARI, T. Production of omega 3-rich oils from underutilized chia seeds. Comparison between supercritical fluid and pressurized liquid extraction methods. **Food Research International**, v. 115, p. 400–407, 2019.

VUKSAN, V.; WHITHAM, D.; SIEVENPIPER, J. L.; JENKINS, A. L.; ROGOVIK, A. L.; BAZINET, R. P.; VIDGEN, E.; HANNA, A. Supplementation of Conventional Therapy With the Novel Grain Salba (*Salvia hispanica* L.) Improves Major and Emerging Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, v. 30, n. 11, p. 2804-2810, 2007.

WASOWICZ, E.; GRAMZA, A.; HÉS, M.; JELÉN, H. H.; KORCZAK, J.; MALECKA, M.; MILDNER-SZKUDLARZ, S.; RUDZINSKA, M.; SAMOTYJA, U.; ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R. Oxidation of Lipids in Foods. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 13, n. 54, p. 87–100, 2004.

ZANQUI, A. B.; DE MORAIS, D. R.; DA SILVA, C. M.; SANTOS, J. M.; CHIAVELLI, L. U. R.; BITTENCOURT, P. R. S.; EBERLIN, M. N.; VISENTAINER, J. V.; CARDOZO-FILHO, L.; MATSUSHITA, M. Subcritical extraction of *Salvia hispanica* L. oil with n-propane: Composition, purity and oxidation stability as compared to the oils obtained by conventional solvent extraction methods. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 2, p. 282–289, 2015.

ARTIGO II:
RENDIMENTO E QUALIDADE DO ÓLEO DE CHIA EXTRAÍDO POR DIFERENTES
MÉTODOS

FERNANDES, S.S.; TONATO, D.; MAZUTTI, M.A.; ABREU, B.R.; CABRERA, D.C.; DOCA, C.R.M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SALAS-MELLADO, M.M. Yield and quality of chia oil extracted via different methods. **Journal of Food Engineering**, v. 262, p. 200-208, 2019

RESUMO

As sementes de chia apresentam um elevado teor de óleo, composto principalmente por ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, os quais são essenciais para o organismo humano. A técnica usada para a extração do óleo de chia pode influenciar a qualidade final do óleo; assim, é muito importante estudar diferentes técnicas de extração afim de se obter um óleo com excelentes propriedades. Este estudo teve como objetivo determinar o rendimento de extração de diferentes técnicas e avaliar os óleos obtidos. Os óleos de chia foram extraídos por prensagem, solvente a frio e fluido supercrítico (CO₂) com/sem ultrassom e co-solvente (etanol), e foram avaliados por suas características químicas e físico-químicas. Além disso, os óleos extraídos foram comparados com uma amostra comercial. Com a utilização prévia de uma etapa em banho ultrassônico e a adição de um co-solvente, foi possível aumentar o rendimento, para até cerca de 25%, por extração supercrítica. Entre todas as técnicas estudadas, a extração por prensagem (rendimento de 20%), mesmo apresentando um maior valor de índice de peróxido, foi a técnica que produziu um óleo de melhor qualidade química. Além disso, um método simples para determinação da composição de ácidos graxos do óleo de chia por espectroscopia de RMN de ¹H foi aplicada com sucesso, sem necessidade de etapas de pré-tratamento da amostra, como a derivatização. Portanto, avaliando as características dos óleos de chia extraídos, determinamos que eles possam ser uma excelente fonte de ácidos graxos ômega-3 para alimentos, medicamentos e cosméticos.

Palavras-chave: Semente de chia. Extração. Ácidos graxos ômega-3. Fluido supercrítico.

1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos linolênico (ômega-3) e linoleico (ômega-6) são fundamentais para a prevenção e tratamento do câncer, doenças cardiovasculares e patologias metabólicas ou imunológicas (ZANOAGA et al., 2017). Esses ácidos graxos poli-insaturados são consumidos principalmente a partir de óleos derivados de peixe gordo; no entanto, certos óleos vegetais são boas fontes de ácidos graxos essenciais, como de linhaça, sementes de gergelim, sementes de cânhamo e sementes de chia.

As sementes de chia (*Salvia hispanica* L.) têm um alto teor de óleo (30-40%), rico em ácidos graxos poli-insaturados, principalmente ômega-3 (ácido linolênico, 54-67%) e ômega-6 (ácido linoleico, 12-21%) (COOREY; TJOE; JAYASENA, 2014). Devido ao alto teor de óleo, o consumo de sementes de chia fornece alguns benefícios à saúde já comprovados (JIN et al., 2012; NIEMAN et al., 2009; TOSCANO et al., 2014; VUKSAN et al., 2007).

Muitos métodos podem ser utilizados para extrair o óleo de chia e as diferenças dos métodos e das condições utilizadas causam variações no rendimento e na qualidade química final do óleo. A escolha do método de extração depende do uso final do óleo, por exemplo, para fins farmacológicos ou alimentares (CORREA et al., 2016). O uso da extração por prensagem promove uma melhor preservação do conteúdo antioxidante, mas obtém-se apenas uma recuperação parcial do óleo e, dependendo do tipo da prensa utilizada, pode acelerar o processo de oxidação (ALI et al., 2012). Em relação à extração do óleo de chia, estudos de extração por prensagem relataram os parâmetros de extração, como umidade, velocidade, temperatura, e velocidade de prensagem (MARTÍNEZ et al., 2012), outros estudos compararam os parâmetros de rendimento, qualidade e parâmetros físico-químicos do óleo obtido por extração com solvente (IXTAINA et al., 2011). Outro estudo avaliou a eficácia de antioxidantes naturais isoladamente e em combinação durante o armazenamento (BODOIRA et al., 2017).

A extração com solvente favorece as características funcionais do óleo, como retenção de água, capacidade de absorção e estabilidade emulsificante, embora cause uma pequena perda no conteúdo de antioxidantes (ALI et al., 2012). Entre os estudos disponíveis sobre o óleo de chia, os solventes utilizados incluíram hexano (DĄBROWSKI et al., 2017; IXTAINA et al., 2011; SILVA; GARCIA; ZANETTE, 2016; SOUZA et al., 2017a), éter de petróleo (TIMILSENA et al., 2017), acetona (DĄBROWSKI et al., 2017), acetato de etila e isopropanol (SILVA; GARCIA; ZANETTE, 2016).

Como alternativa aos métodos com solvente e prensagem, a extração de óleos vegetais que utilizam fluidos pressurizados em condições sub ou supercríticas vem ganhando grande interesse (TRENTINI et al., 2017). Estudos de obtenção de óleo de chia através de extração supercrítica usaram dióxido de carbono (CO₂) como fluido supercrítico (DĄBROWSKI et al., 2017; GUINDANI et al., 2016; IXTAINA et al., 2010; URIBE et al., 2011), exceto Scapin et al. (2017) que usaram gás liquefeito de petróleo (GLP).

A aplicação de energia ultrassônica é uma alternativa para aumentar o rendimento da extração ou a qualidade do óleo extraído, porque aumenta o coeficiente de transferência de massa e, conseqüentemente, acelera a cinética do processo, uma vez que causa uma ruptura física no material (RIERA et al., 2004). Além disso, estudos têm utilizado co-solventes para melhorar a solubilidade dos compostos desejados e/ ou aumentar a seletividade da extração (alterando a polaridade do fluido supercrítico) (PATIL et al., 2018). Entre os co-solventes disponíveis, o etanol destaca-se como um solvente GRAS (geralmente reconhecido como seguro), que promove interações covalentes (ligação de hidrogênio) e dipolo-dipolo aumentando a solubilidade dos compostos fenólicos (SERRA et al., 2010).

Tradicionalmente, a composição de ácidos graxos nos óleos comestíveis tem sido determinada por cromatografia gasosa (CG), que é o método oficial da AOCS (*American Oil Chemist's Society*) para a determinação do teor de ácidos graxos (AOCS, 2009). No entanto, esse método emprega procedimentos trabalhosos, demorados e químicos, uma vez que envolve hidrólise de triacilglicerol, derivatização, seguida de separação, identificação e quantificação por CG por meio de ácidos graxos padrões e certificados. Além disso, vários problemas relacionados à oxidação da amostra durante a manipulação química, especialmente dos poli-insaturados, de óleos comestíveis como o óleo de chia, encorajaram a explorar a espectroscopia de RMN de ¹H para a determinação da composição de ácidos graxos deste óleo, empregando um método que relaciona as áreas de sinais, visando um método mais simples, mais rápido e mais barato, com pouco ou nenhum pré-tratamento da amostra (BARISON et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi extrair o óleo de chia através dos métodos de prensagem, extração por solvente a frio e fluido supercrítico, e comparar e estabelecer as condições que proporcionarem um alto rendimento. Além disso, os óleos de chia obtidos foram caracterizados quimicamente e fisicamente pelos métodos tradicionalmente empregadas e usando espectroscopia de RMN.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Sementes de chia comerciais (8,7% de umidade) foram adquiridas em mercado local de Rio Grande, Brasil. As sementes foram embaladas em sacos plásticos e armazenados a 4 °C até o uso e estabilizadas à temperatura ambiente antes de cada técnica ser testada. Todos os reagentes utilizados nas determinações químicas foram de grau analítico.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Extração de óleo de sementes de chia

2.2.1.1 Extração com solvente

A extração do óleo de chia utilizando solvente a frio foi realizada de acordo com Timilsena et al. (2017). A semente de chia moída foi misturada com n-hexano na proporção de 1:10 (semente de chia: solvente). Para intensificar o rendimento da extração a frio, o pré-tratamento da amostra foi realizado por 15, 30 e 60 min em banho ultrassônico. O recipiente com a amostra foi coberto com papel alumínio para minimizar o efeito da luz sobre a oxidação lipídica e depois agitada mecanicamente utilizando incubadora com agitação orbital (Cientec, modelo CT-712RNT, Brasil) por 4 h em temperatura ambiente. Posteriormente, a suspensão foi centrifugada (Hanil, Supra 22 K, Coreia) a 4000 ×g por 10 min a 4 °C. A fase solvente (sobrenadante) contendo o óleo de semente de chia extraído foi filtrada em papel de filtro e, posteriormente, o solvente foi recuperado por destilação utilizando um evaporador rotativo (Quimis, modelo Q344B, Brasil) a 70 °C.

2.2.1.2 Extração por prensagem

O óleo de chia foi extraído à temperatura ambiente através de uma prensa contínua, composta por um parafuso infinito com rosca em um cilindro com o óleo sendo extraído da semente através do atrito da rosca com a parede do cilindro. O cilindro sendo perfurado exala o óleo extraído e o bolo gerado foi recolhido no final do cilindro.

2.2.1.3 Extração por fluido supercrítico

Primeiramente, as sementes de chia foram secas a 55 °C por 24 h (SCAPIN et al., 2017) e, em seguida, moídas usando gral e pistilo. Aproximadamente 5 g de amostra seca e moída foram carregadas no recipiente de extração. O solvente dióxido de carbono (CO₂) foi bombeado para o leito, com uma taxa de fluxo ajustada em 4 g. min⁻¹. As faixas de pressão e temperatura foram de 15, 20 e 25 MPa e 20, 40 e 60 °C com um tempo de extração definido em 60 min (SCAPIN et al., 2017). Utilizando a condição que proporcionou o maior rendimento, a cinética de extração foi realizada com a coleta de amostras a cada 5 min até que o rendimento da extração de óleo se tornasse constante, e verificou-se que em 75 min houve extração completa do óleo. Portanto, os próximos experimentos foram realizados com 75 min de extração.

Para aumentar o rendimento da extração, foi utilizado o pré-tratamento da amostra com ultrassom e co-solvente (TRENTIN et al., 2011). Antes de serem adicionadas ao vaso de extração, as amostras foram submetidas a banho ultrassônico (Unique, modelo USC - 1800, Brasil) com 40 kHz por 15, 30 e 60 min e após o carregamento em condições de 40 °C, 25 MPa e extração de 75 min. A partir da condição que forneceu um aumento na extração foi realizada a cinética de extração e estudada a adição de concentrações de 10, 30 e 50% (m/m) de etanol. A cinética de extração de todas as concentrações testadas foi realizada e o etanol foi evaporado à temperatura ambiente.

2.2.2 Rendimento e recuperação

Após as extrações, foi determinado o rendimento total do óleo extraído de acordo com a Equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{m_e}{m_i} \times 100 \quad (1)$$

Onde “m_e” é a massa total de óleo extraído e “m_i” é a massa inicial de sementes de chia utilizada em cada extração. A recuperação do óleo extraído pela técnica de extração supercrítica foi calculada pela razão entre a massa total do óleo extraído (m) e a massa do óleo extraído pelo método de Soxhlet (m_{Soxhlet}), seguindo o método padrão da AOAC (AOAC, 2005), utilizando n-hexano a 70 °C por 6 h. Após o período de extração, o excesso de solvente

foi evaporado em evaporador rotativo (Quimis, modelo Q344B, Brasil), e a recuperação determinada de acordo com a Equação 2.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{m}{m_{\text{soxhlet}}} \times 100 \quad (2)$$

2.2.3 Determinações físico-químicas do óleo de chia

A composição de ácidos graxos foi verificada por cromatografia gasosa de acordo com Massarolo et al. (2016). O índice de acidez (IA), peróxido (IP), iodo (II) e saponificação (IS) foram determinados de acordo com os métodos padrões da American Oil Chemist's Society (AOCS, 2009). A viscosidade foi medida utilizando reômetro (DV-III Ultra, Brookfield, EUA) com *spindle* 51 e taxa de cisalhamento de 5–100 s⁻¹, a qual foi determinada a partir das viscosidades médias por 300 s. Os índices de refração dos óleos de chia extraídos foram medidos a 21,5 ± 1,6 °C usando um refratômetro Abbe (HI 96801, Hanna, EUA).

Os valores específicos de absorção foram determinados utilizando uma solução a 1% (m/v) de óleo de chia em ciclohexano utilizando um espectrofotômetro UV (modelo IL-592, Kasuaki, Japão), onde os coeficientes de extinção foram medidos pela leitura das absorvâncias a 232 nm (K₂₃₂) e 270 nm (K₂₇₀).

A determinação da cor dos óleos de chia obtidos foi realizada em colorímetro (Minolta, modelo CR400, Japão) utilizando os parâmetros de cor de L*, a* e b*. As análises foram baseadas no sistema L*a*b* CIE definido pela CIE (Comissão Internacional de Iluminação) em 1976 para determinar os valores de L* (luminosidade), a* e b* (coordenadas de cromaticidade). O valor do ângulo *hue* ou h° foi determinado utilizando a Equação 3.

$$h^\circ = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (3)$$

2.2.4 Análise de RMN

As determinações da composição de ácidos graxos por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H foram realizadas em um espectrômetro Bruker ASCEND 400 RMN operando a 9,4 T observando os núcleos ¹H a 400,13 MHz. Para isso, alíquotas de aproximadamente 200 µL de amostra de óleo de chia foram transferidas

diretamente para tubos de RMN de 5 mm e o volume foi ajustado para 600 μL com CDCl_3 (clorofórmio deuterado) contendo 0,05% de TMS (tetrametilsilano). Os espectros de RMN de ^1H foram registrados à temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C) acumulando oito médias, um atraso de relaxamento de 1 s, uma largura espectral de $\pm 9,0$ ppm e pontos de dados de 64 K, fornecendo uma resolução digital de 0,05 Hz utilizando uma sonda multinuclear de 5 mm de detecção direta. Os espectros de RMN de ^1H foram processados aplicando como multiplicação exponencial dos FIDs (*free induction decay*) por um fator de 0,3 Hz antes da transformação de Fourier com enchimento zero a 64 K. O atraso de relaxamento para uso na aquisição dos espectros quantitativos de RMN de ^1H foi determinado por medições T_1 com o auxílio da recuperação da inversão da sequência de pulsos, com parâmetros semelhantes aos dos espectros de ^1H alterando os valores de τ de 0,1 a 20 s. Os desvios químicos de RMN de ^1H são expressos em ppm relacionados ao sinal TMS a 0,00 ppm como referência interna. A Bruker BioSpin forneceu todas as sequências de pulsos e as análises foram realizadas em triplicada.

2.2.5 Monitoramento da degradação dos ácidos graxos no óleo sob aquecimento ou a temperatura ambiente

Para o teste de forno, o óleo de chia extraído por prensagem foi avaliado de acordo com a literatura, com pequenas modificações (SOUZA et al., 2017a). O óleo de chia foi mantido em um recipiente de vidro e armazenado em 60 °C por um total de 30 dias. Alíquotas de aproximadamente 200 μL da amostra, após 0, 2, 4, 7, 14, 21 e 30 dias de exposição ao calor, foram transferidas diretamente para tubos de RMN de 5 mm e o volume foi ajustado para 600 μL com CDCl_3 contendo 0,05% TMS para realizar a variação de ácidos graxos do perfil por RMN de ^1H (SOUZA et al., 2017a). Além disso, com o objetivo de avaliar a influência da temperatura no perfil de ácidos graxos, uma amostra de óleo de chia extraída por prensagem foi mantida em um recipiente de vidro e armazenada à temperatura ambiente e alíquotas foram analisadas ao mesmo tempo que a amostra do forno e comparado os resultados.

2.2.6 Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata. Os dados foram comparados usando a análise de variância (ANOVA), e os valores médios obtidos foram comparados pelo teste de Tukey com nível de significância (α) em $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ESTUDO DO RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO

3.1.1 Extração com solvente

A extração com solvente a frio forneceu um menor rendimento de extração comparado às outras técnicas. Uma maneira de aumentar a quantidade de óleo extraído foi o pré-tratamento da amostra em banho ultrassônico. Ondas ultrassônicas causam alterações físicas e químicas devido ao aquecimento e ruptura de sólidos, facilitando a extração de óleo (KENTISH; ASHOKKUMAR, 2011). A Tabela 1 apresenta os rendimentos para diferentes tempos de pré-tratamento da amostra em banho ultrassônico com extração subsequente com solvente a frio (hexano). O pré-tratamento com o menor tempo testado (15 min) foi o que promoveu um rendimento maior, resultando um aumento de 42% comparado ao tempo 0.

Tabela 1 – Rendimento para a extração com solvente a frio em diferentes tempos de pré-tratamento da amostra em banho ultrassônico.

Tempo (min)	0	15	30	60
Rendimento (%)	13,7±0,59 ^c	19,3±0,74 ^a	16,7±0,27 ^b	16,9±0,02 ^b

Média de três valores com desvio padrão. Letras iguais na linha indicam que não há diferença significativa entre as médias pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Embora o uso de pré-tratamento com banho ultrassônico tenha aumentado o rendimento de extração, o valor encontrado nesse estudo foi menor que o apresentado por Silva, Garcia e Zanette (2016), os quais obtiveram aproximadamente 30% de rendimento utilizando hexano e acetato de etila, e de Timilsena et al. (2017), que obtiveram 26,6% de rendimento com éter de petróleo utilizando extração de óleo de chia por agitação orbital.

Portanto, o pré-tratamento da amostra por 15 min em um banho ultrassônico proporcionou o maior rendimento em comparação com os demais tempos estudados.

3.1.2 Extração por prensagem

Para a extração do óleo de chia por prensagem, o rendimento obtido foi $20,01 \pm 0,95\%$. Embora a prensa utilizada fosse do tipo artesanal, o rendimento foi semelhante ao obtido em outras prensas, como a prensa Komet de parafuso utilizada por Ixtaina et al. (2011), que obtiveram aproximadamente 24,8% para sementes da Argentina e 20,3% para sementes da Guatemala, e por Dąbrowski et al. (2017), que obtiveram 24,1%.

3.1.3 Extração com fluido supercrítico

A Tabela 2 apresenta os resultados de rendimento e recuperação de óleo de chia em diferentes condições através da extração supercrítica. Através dos 5 primeiros experimentos foi possível perceber que a temperatura e a pressão utilizadas apresentaram uma relação inversa entre si. À medida que a temperatura diminuiu e a pressão aumentou, o teor de óleo extraído aumenta, isto ocorre devido ao aumento da densidade e do poder de solvatação do CO₂. Assim, utilizando a temperatura de 40 °C, pressão de 25 MPa e tempo de 60 min de extração, obtém-se o maior rendimento de extração por supercrítico, 17,47%, a qual corresponde a uma recuperação de 51,53% em relação à extração por Soxhlet.

A temperatura de extração influencia a densidade do solvente, e a pressão do vapor influencia o soluto, dependendo da intensidade da pressão operacional (SCAPIN et al., 2017). A pressão de 15 MPa, um aumento de temperatura de 40 para 60 °C promoveu uma alta redução no rendimento do óleo devido à diminuição da densidade do solvente com o aumento da temperatura. Isso ocorre porque quando são usadas pressões próximas à pressão crítica, a solubilidade do óleo em CO₂ tende a diminuir.

No entanto, a pressões mais altas, um aumento na temperatura causa um aumento na pressão de vapor do soluto, aumentando a solubilidade do solvente (SCAPIN et al., 2017). Assim, o fluxo de CO₂ transporta mais óleo durante o processo de extração (URIBE et al., 2011). Uribe et al. (2011) estudaram temperaturas de extração de óleo de chia de 40 a 80 °C e pressões de 13,6 a 40,8 MPa. Os autores observaram que, com o aumento da temperatura a pressão constante, o rendimento tendia a aumentar, e esse efeito foi mais pronunciado em altas pressões. Entretanto, como pode ser observado neste estudo, a pressões baixas (15 MPa) e altas (25 MPa), o rendimento diminuiu com o aumento da temperatura com o efeito mais pronunciado a uma pressão de 15 MPa.

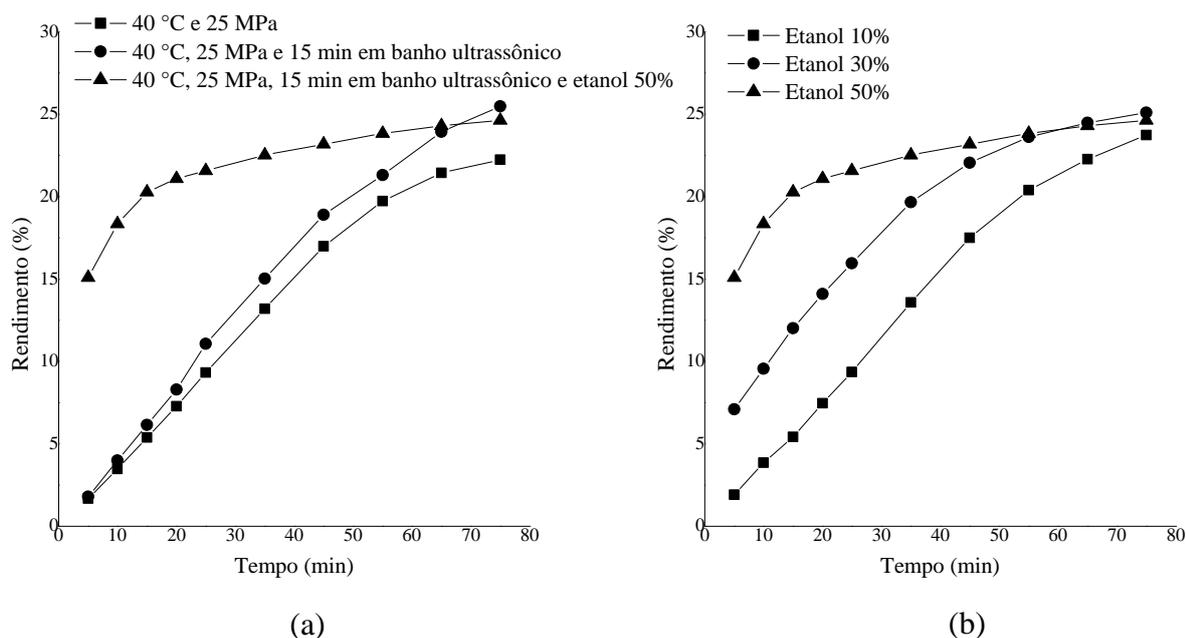
Tabela 2 – Rendimento e recuperação de óleos de chia obtidos por extração com CO₂ pressurizado com diferentes pressões, temperaturas, tempo de ultrassom, concentração de co-solvente e tempo de extração, bem como do óleo obtido por extração em Soxhlet.

Experimento	Solvente	Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Ultrassom (min)	Co-solvente* (% m/m)	Tempo (min)	Rendimento (%)	Recuperação (%)
1	CO ₂	15	40	-	-	60	3,85	11,36
2	CO ₂	25	40	-	-	60	17,47	51,53
3	CO ₂	15	60	-	-	60	0,57	1,68
4	CO ₂	25	60	-	-	60	11,96	35,28
5	CO ₂	20	50	-	-	60	7,19	21,21
6	CO ₂	25	40	-	-	75	22,24	65,60
7	CO ₂	25	40	15	-	75	24,50	72,27
8	CO ₂	25	40	30	-	75	24,51	72,31
9	CO ₂	25	40	60	-	75	24,56	72,44
10	CO ₂	25	40	15	10	75	23,73	69,99
11	CO ₂	25	40	15	30	75	25,10	74,04
12	CO ₂	25	40	15	50	75	24,64	72,68
Soxhlet	n-hexano	-	Ebulição	-	-	360	33,90	100,00

*Co-solvente etanol P.A.

Neste trabalho, o maior rendimento obtido foi de 25,1% com o pré-tratamento das sementes de chia por 15 min em banho ultrassônico, com adição de 30% de etanol como co-solvente, tempo de extração de 75 min a 40 °C e 25 MPa. A Figura 1 apresenta as cinéticas de extração nas diferentes condições.

Figura 1 – Cinética de extração do óleo de chia para o método de extração supercrítica (a) comparado com as diferentes condições testadas e (b) utilizando a 40 °C, 25 MPa e 15 min em banho ultrassônico em diferentes concentrações do co-solvente etanol.



Para as condições que produziram um rendimento mais elevado (40 °C e 25 MPa), a cinética de extração foi determinada, cuja curva está apresentada na Figura 1a. Foi verificado que, após 75 min de extração, o teor de óleo de chia extraído permaneceu constante, com um rendimento de aproximadamente 22%. Portanto, o tempo de extração foi fixado para as determinações subsequentes de 75 min.

O uso do banho ultrassônico como pré-tratamento da amostra foi utilizado com o intuito de acelerar a cinética do processo, que normalmente é lenta, como mostrado na Figura 1a. Como apresenta a Tabela 2, verificou-se que o pré-tratamento (banho ultrassônico) da semente de chia em diferentes tempos forneceu quantidades semelhantes de extração de óleo de chia (aproximadamente 24,5%) para todos os tempos testados. Como o rendimento foi semelhante para todos os pré-tratamentos testados, a cinética de extração foi determinada com o pré-tratamento de 15 min em banho ultrassônico porque foi o menor tempo testado. A cinética de extração é mostrada na Figura 1a, onde é possível observar que embora tenha ocorrido um aumento no rendimento total de extração de óleo quando o banho ultrassônico foi

utilizado, não ocorreu aceleração na cinética de extração. Verificou-se então que o tempo da amostra no banho ultrassônico não influencia o desempenho, mas sim se utiliza ou não o banho ultrassônico.

Além do uso do banho ultrassônico, o co-solvente foi utilizado com o intuito de extrair outros compostos que não podem ser extraídos usando CO₂ puro. Conforme mostrado na Tabela 2, um aumento na concentração de etanol resultou em um rendimento de extração semelhante ao extraído usando apenas o banho ultrassônico. No entanto, a cinética de extração para as três concentrações testadas, apresentadas na Figura 1b, foi determinada para verificar se o rendimento total da extração foi mantido, porém com a cinética inicialmente acelerada. A concentração de 50% (m/m) de etanol acelerou o estágio inicial de extração, com um rendimento significativo obtido com 25 min de extração. Posteriormente, o rendimento aumentou lentamente e permaneceu constante. Uma concentração maior que 70% foi testada, no entanto, a amostra apresentou-se muito aquosa, impossibilitando a inserção no cilindro extrator.

Com base na Figura 1a, uma comparação pode ser feita entre as condições e os pré-tratamentos testados. Evidentemente, o co-solvente combinado ao banho ultrassônico acelerou a cinética do processo, e o rendimento obtido em 5 min de extração com o uso de etanol e banho ultrassônico foi semelhante ao rendimento obtido em 35 min apenas com banho ultrassônico e em 40 min sem banho ultrassônico e sem etanol.

Portanto, as condições que proporcionaram o maior rendimento de extração e uma aceleração da cinética do processo para extração supercrítica foram 40 °C, 25 MPa e pré-tratamento da amostra com etanol a 50% e 15 min em banho ultrassônico.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA EXTRAÍDO

Após estudar as condições que proporcionaram o maior rendimento de extração em combinação com os métodos testados, determinamos os parâmetros de qualidade dos óleos, apresentados na Tabela 3.

Como apresentado na Tabela 3, o perfil de ácidos graxos foi semelhante para todas as amostras extraídas e o teor de ácido linolênico foi maior do que no óleo comercial. A diferença em relação ao óleo comercial pode ser devida à origem das sementes de chia utilizadas na extração do óleo (o óleo comercial era de sementes brasileiras e as utilizadas neste estudo eram sementes argentinas).

Tabela 3 – Parâmetros de qualidade dos óleos obtidos através dos diferentes métodos de extração.

Parâmetros	Comercial	Solvente a frio	Supercrítico	Prensagem	
Rendimento (%)	-	19,3 ± 0,74	24,6	20,0 ± 0,95	
Ácidos graxos*	α -linolênico	61,45 ± 0,21 ^b	67,87 ± 0,41 ^a	68,26 ± 0,03 ^a	67,89 ± 0,23 ^a
	Linoleico	20,90 ± 0,08 ^a	17,63 ± 0,07 ^d	18,56 ± 0,05 ^c	19,07 ± 0,15 ^b
	Oleico	9,03 ± 0,08 ^a	6,06 ± 0,07 ^b	4,72 ± 0,07 ^c	4,66 ± 0,08 ^c
	Saturados	8,72 ± 0,29 ^a	8,44 ± 0,40 ^a	8,46 ± 0,05 ^a	8,37 ± 0,39 ^a
Índice de iodo (g de I₂. 100 g⁻¹ de óleo)	178,52 ± 1,14 ^b	180,35 ± 0,82 ^b	179,85 ± 1,58 ^b	183,40 ± 0,14 ^a	
Índice de acidez (mg de KOH. g⁻¹ de óleo)	1,58 ± 0,00 ^a	1,13 ± 0,21 ^{a,b}	1,41 ± 0,46 ^a	1,18 ± 0,06 ^{a,b}	
Índice de peróxido (meq de O₂. kg⁻¹ de óleo)	3,05 ± 0,10 ^b	ND	0,37 ± 0,00 ^c	10,98 ± 0,61 ^a	
Índice de saponificação (mg de KOH. g⁻¹ de óleo)	191,48 ± 0,82 ^b	148,36 ± 0,52 ^d	147,33 ± 0,35 ^d	195,28 ± 0,70 ^a	
Coefficiente de extinção específica	K ₂₃₂	2,42 ± 0,02 ^b	0,92 ± 0,10 ^d	2,07 ± 0,01 ^c	2,78 ± 0,09 ^a
	K ₂₇₀	0,48 ± 0,01 ^b	0,25 ± 0,02 ^d	0,43 ± 0,00 ^c	0,71 ± 0,03 ^a
Índice de refração	1,4830 ± 0,0003 ^a	1,4821 ± 0,0003 ^{a,b}	1,4820 ± 0,0001 ^b	1,4818 ± 0,0001 ^b	
Viscosidade (mPa.s)	32,07 ± 0,72 ^a	30,35 ± 0,96 ^b	28,57 ± 1,03 ^c	29,59 ± 0,76 ^b	
Cor	L*	66,29 ± 0,02 ^d	67,77 ± 0,05 ^a	67,05 ± 0,02 ^b	65,97 ± 0,01 ^e
	a*	-3,28 ± 0,01 ^e	-1,31 ± 0,03 ^c	-0,92 ± 0,02 ^a	-2,82 ± 0,02 ^d
	b*	11,56 ± 0,03 ^b	5,66 ± 0,02 ^c	4,36 ± 0,01 ^d	14,60 ± 0,39 ^a
	h (°)	74,15	76,97	78,08	79,06

ND: Não detectado. *Perfil de ácidos graxos determinado por cromatografia gasosa. Média de três valores com desvio padrão; mesma letra na linha indica que não há diferenças significativas entre as médias pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Ayerza e Coates (2011) detectaram diferenças na composição de ácidos graxos de sementes de chia cultivadas em diferentes regiões e verificaram que as sementes de chia da Argentina apresentaram maior teor de lipídios e ácidos graxos ômega-6 do que os da Bolívia e do Equador. Outro fator que pode contribuir para as diferenças é o estágio de desenvolvimento da planta.

Os conteúdos de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 foram inversamente proporcionais. O óleo comercial produziu o menor conteúdo de ácidos graxos ômega-3 (61,45%), porém o teor mais alto de ácidos graxos ômega-6 (20,90%), enquanto a extração supercrítica produziu o conteúdo mais alto teor de ômega-3 (68,26%) e o menor teor de ômega-6 (18,56%). Esse fato também foi relatado por Ayerza e Coates (2011). O conteúdo de ácidos graxos ômega-3 encontrado em todas as técnicas foi superior ao de outros estudos na literatura, que apresentaram um conteúdo médio de 60 a 65% e conteúdos semelhantes de ácido esteárico e ácido palmítico (DĄBROWSKI et al., 2017; MELLO; GARCIA; SILVA, 2017; ZANQUI et al., 2015).

Dentre as técnicas testadas, nas condições de maior rendimento de cada técnica estudada, a extração supercrítica foi determinada como o método que promoveu um maior rendimento de extração. As diferenças obtidas nos rendimentos foram devidas à base de extração de cada técnica. As condições da amostra também influenciam, mas em todas as técnicas, as sementes de chia foram moídas para a sua utilização. Além disso, a temperatura de extração afeta diretamente o rendimento da extração.

A prensagem utiliza forças de compressão e depende do tipo de prensa utilizada bem como da força aplicada. A extração por solvente utiliza interações intermoleculares, onde o óleo, por difusão, migra para a fase líquida (solvente). Como na extração por solvente, a extração supercrítica é uma extração sólido-líquido, baseada nas propriedades de um solvente em seu estado supercrítico.

Nesta condição, o solvente apresenta valores intermediários de difusividade que promovem maior facilidade no transporte de massa, resultando em uma diminuição nos custos. Os altos valores de densidade, combinados com o poder de solvatação, dependem da pressão, conferem alta solubilidade e seletividade ao processo. Além disso, a ausência da tensão superficial permite a rápida penetração do solvente na matriz da amostra, aumentando a eficiência da extração. Devido a essa maior seletividade na extração de óleo, a extração supercrítica foi a que promoveu um maior rendimento de extração neste estudo.

As propriedades físicas e químicas dos óleos obtidos estão principalmente relacionadas à sua composição de ácidos graxos. Neste estudo, verificou-se a alteração de alguns parâmetros de qualidade em relação ao perfil graxo nas diferentes técnicas de extração.

A determinação do índice de iodo no óleo de chia é de suma importância, porque expressa se o grau de insaturação foi mantido durante a extração e o índice de acidez representa a rancidez hidrolítica. O elevado teor de ácidos graxos insaturados (ômega-3 e ômega-6) resultou em altos valores de índice de iodo, sendo o maior valor encontrado para a amostra obtida por prensagem (183,40 g de I_2 . 100 g⁻¹ de óleo), enquanto os índices de iodo obtidos para solvente frio e extração supercrítica apresentaram valores ligeiramente inferiores (180,35 g de I_2 . 100 g⁻¹ de óleo e 179,85 g de I_2 . 100 g⁻¹ de óleo, respectivamente). Esses valores estão de acordo com o observado na literatura, que relatou índices de iodo que variaram de 145,9 g de I_2 . 100 g⁻¹ de óleo (SCAPIN et al., 2017) a 215,0 g de I_2 . 100 g⁻¹ de óleo (IXTAINA et al., 2011). O índice de iodo obtido para a extração com solvente a frio e supercrítica apresentaram o menor valor, possivelmente porque as amostras foram mantidas em contato com o solvente, causando decomposição térmica do composto alvo.

Os resultados obtidos para o índice de acidez demonstram que a hidrólise dos ácidos graxos durante a extração do óleo foi baixa. O óleo de chia extraído com solvente apresentou o menor teor de ácidos graxos livres (1,18 mg de KOH. g⁻¹ de óleo), enquanto que o extraído com fluido supercrítico apresentou o maior valor (1,41 mg de KOH. g⁻¹ de óleo). Isso foi diferente aos estudos anteriores de extração do óleo de chia com solvente, nos quais foi encontrado um teor mais alto, tipicamente mais de 2 mg de KOH. g⁻¹ de óleo (IXTAINA et al., 2010, 2011; SCAPIN et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017).

Não foi observada diferença significativa para o índice de peróxido entre os óleos obtidos por solvente a frio e supercrítico, e estes apresentaram o menor grau de oxidação entre as amostras. Entretanto, foi observado o maior índice de peróxido para o óleo obtido por prensagem (10,98 meq de O_2 . kg⁻¹ de óleo), demonstrando maior vulnerabilidade dessa técnica de extração à oxidação lipídica embora este óleo tenha apresentado elevado índice de iodo. Este processo é baseado na força de atrito da prensa durante a extração do óleo, o que sugere que este efeito seja o principal fator para a formação de hidroperóxidos durante o processo de extração. Os hidroperóxidos foram possivelmente formados pelo aumento da temperatura (notada ao tocar no cilindro extrator de óleo) durante o processo de extração devido à força de atrito da prensa durante a extração do óleo. Apesar disso, o valor encontrado está abaixo do permitido pelo *Codex Alimentarius* (CODEX ALIMENTARIUS

COMMISSION, 2012), que afirma que os óleos obtidos por prensagem a frio devem conter no máximo 15 meq de O_2 . kg^{-1} de óleo.

Além disso, os coeficientes de extinção K_{232} e K_{270} foram maiores para a técnica de prensagem. O K_{232} indica a presença de peróxidos e hidroperóxidos em sistemas de dieno conjugado como produtos de oxidação primária. Isto porque a peroxidação dos ácidos graxos insaturados acompanha a alteração da ligação dupla na formação dos hidroperóxidos conjugados. Essa estrutura conjugada absorve fortemente a luz ultravioleta em um comprimento de onda a 232 nm. Já o coeficiente de absorção a 270 nm (K_{270}) está relacionado ao estágio de oxidação secundária do óleo e forma estruturas mais estáveis, onde ocorre a formação de trienos conjugados e compostos carbonílicos, como álcoois, cetonas e aldeídos (TIMILSENA et al., 2017).

O índice de saponificação indica a quantidade relativa de ácidos graxos de alta e baixa massa molecular. O maior índice de saponificação obtido foi para a prensagem (195,28 mg de KOH. g^{-1} de óleo), resultado semelhante a Ixtaina et al. (2011) com 193,00 mg de KOH. g^{-1} de óleo. Os resultados para as amostras de óleo comercial e obtido por prensagem demonstram uma elevada proporção de ácidos graxos de baixa massa molecular devido ao elevado valor de saponificação. O óleo obtido por solvente a frio e supercrítico apresentaram baixo índice de saponificação (148,36 mg de KOH. g^{-1} de óleo e 147,33 mg de KOH. g^{-1} de óleo, respectivamente), indicando a presença de ácidos graxos de maior massa molecular do que nos demais óleos, devido ao uso de solventes para extração.

O alto índice de refração dos óleos foi devido ao elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados, o que provou que o óleo de semente de chia tem a qualidade de um óleo comestível. O valor obtido (aproximadamente 1,48) é semelhante ao encontrado na literatura para o óleo de chia, que pode permanecer na faixa de 1,47-1,48 (SCAPIN et al., 2017; TENG et al., 2017; TIMILSENA et al., 2017).

A viscosidade é a resistência de um líquido ao fluxo, e quanto maior a atração entre as cadeias, mais os óleos saturados e gorduras são viscosos, enquanto que quanto mais insaturados, menos viscosos. Viscosidades menores foram obtidas quando foram utilizados solventes (28,57 mPa.s para supercrítico e 30,35 mPa.s para solvente a frio) na extração. Timilsena et al. (2017) encontraram uma viscosidade mais alta, de 43,23 mPa.s, para óleo de chia obtido através de solvente a frio. Segundo os autores, as diferenças nas viscosidades em comparação com outros estudos ocorrem possivelmente devido às diferenças na composição do óleo de chia e aos ácidos graxos menos saturados, logo menor viscosidade do óleo.

Portanto, devido às baixas viscosidades obtidas, sugere que o óleo de chia continha quantidades menores de ácidos graxos saturados.

A cor dos óleos vegetais está associada ao conteúdo total de pigmentos (IXTAINA et al., 2011). Em relação à cor dos óleos, o óleo obtido por prensagem apresentou uma cor mais escura, indicando que ocorreu a extração de algum pigmento da semente de chia junto com o óleo. A luminosidade (L^*) foi semelhante à encontrada por Timilsena et al. (2017) (L^* de 67,48). O parâmetro a^* apresentou tendência ao verde devido ao seu valor negativo, assim como no estudo de Ixtaina et al. (2011), atribuído à presença de clorofilas ou de outros pigmentos que foram extraídos das sementes de chia (TIMILSENA et al., 2017).

A cor amarela dos óleos de chia, representada pelo parâmetro $+b^*$, é devida à presença de grandes quantidades de carotenoides. Em comparação com outros estudos Timilsena et al. (2017) encontraram um valor de b^* de 28,27, o que mostra que neste trabalho a intensidade da coloração amarela foi menor, indicando que as técnicas não extraíram quantidades significativas de carotenoides ou que o conteúdo destes foi menor devido a origem da semente de chia.

O ângulo *hue* (h°) é a quantidade associada aos comprimentos de onda do espectro visível, representando a qualidade da cor (azul, vermelho, amarelo etc.). Neste estudo, o ângulo *hue* variou de $74,15^\circ$ a $79,06^\circ$ e, quando se aproxima de 90° , a cor tende para o amarelo.

Comparando os parâmetros de caracterização e o perfil de ácidos graxos, verificou-se que o óleo de chia comercial apresentou menor teor de ácido linolênico e maior de ácido linoleico, portanto, menor valor de iodo quando comparado às demais amostras. Nesse caso, esses resultados podem estar associados a diferença de origem das sementes de chia. Outro motivo pode estar associado ao processo de oxidação, resultando em diminuição dos níveis de ácido linolênico e, conseqüentemente, em maior quantidade de ácido linoleico. Além disso, embora o valor de peróxido desta amostra não tenha sido o maior, possivelmente porque a amostra já estava no final da oxidação, o maior índice de acidez indica o elevado nível de oxidação entre as amostras.

Como não há informações a partir do momento em que o óleo comercial foi exposto às condições do ambiente à venda, foi testada se as condições de armazenamento poderiam interferir na degradação dos ácidos graxos no óleo, pela exposição à luz e ao oxigênio de meio ambiente, uma vez que os ácidos graxos insaturados são mais reativos e mais suscetíveis à oxidação. Além disso, foram realizados experimentos testando a degradação de ácidos graxos na presença de luz, oxigênio e calor (60°C).

Apesar dos parâmetros físico-químicos encontrados neste estudo estarem de acordo com os relatados na literatura por diferentes autores, as alterações observadas em cada óleo não podem ser associadas apenas ao método de extração, uma vez que o óleo de chia possui grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, em especial ômega-3 e ômega-6, que proporcionam menor estabilidade às amostras.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE CHIA POR RMN DE ^1H

A eficiência e precisão do método de RMN foram comparados e confirmados na determinação do perfil de ácidos graxos de vários óleos de chia obtidos de diferentes técnicas de extração investigadas neste trabalho. Nesta abordagem, as amostras de RMN foram preparadas tomando alíquotas de aproximadamente 200 μL de óleo e 400 μL de solvente deuterado, uma vez que o método é independente da quantidade e da concentração da amostra. No entanto, concentrações mais altas da amostra podem dificultar o ajuste da homogeneidade do campo magnético e da resolução espectral, principalmente para a quantificação do ácido linolênico através do sinal a 0,98 ppm (Sinal E, Figura 2).

Como a área dos sinais nos espectros de RMN de ^1H é proporcional ao número de hidrogênios de cada tipo na amostra, a composição de ácidos graxos pode ser determinada através da relação entre as áreas dos sinais característicos de cada cadeia de grupos acila e uma de aqueles do esqueleto de glicerol nos espectros de RMN de ^1H (Tabela 4). As atribuições gerais de mudança de RMN de ^1H para os diferentes tipos de hidrogênios das cadeias acilas já estão estabelecidas na literatura e são ilustradas na Figura 2.

A Tabela 4 apresenta o resumo do método utilizado para determinar a composição de ácidos graxos no óleo de chia por RMN de ^1H . Assim, calibrando a área de α glicerol para 22,2, o valor encontrado para a área do sinal em 0,98 ppm no espectro de RMN de ^1H fornece diretamente a porcentagem de ácido linolênico na amostra, e a mesma ideia pode ser aplicada para encontrar porcentagens de todos os outros ácidos graxos.

Para verificar a precisão da caracterização do óleo de chia por RMN de ^1H , o conteúdo das cadeias graxas linolênicas (C18:3) obtidas a partir dos espectros de RMN de ^1H foram comparados com a composição de ácidos graxos obtida pelo método oficial de CG. Os métodos demonstraram similaridade em níveis de confiança superiores a 95% para todas as amostras extraídas, independente do procedimento de extração, apresentado na Figura 3. Além disso, em relação ao CG, o uso da espectroscopia de RMN tem a vantagem de não exigir nenhum pré-tratamento da amostra, como a derivatização, a qual é trabalhosa, consome

tempo e produtos químicos e, além disso, pode diminuir os erros experimentais, uma vez que é baseada na determinação de ácidos graxos da amostra *in natura*.

Figura 2 – Espectro de RMN de ^1H da amostra de óleo de chia, mostrando a unidade de glicerol e os diferentes tipos de ácidos graxos que podem ser os grupos R (acima), com a respectiva atribuição dos sinais da unidade de glicerol e as cadeias de ácidos graxos (abaixo).

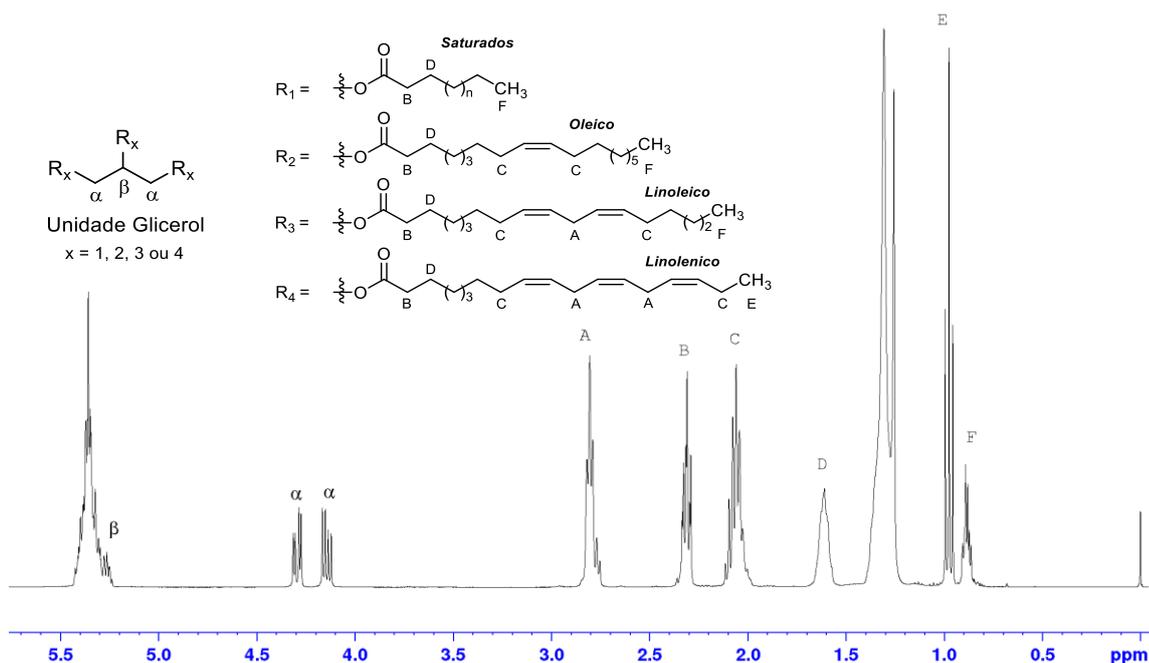


Tabela 4 – Resumo do método para determinação da composição de ácidos graxos no óleo de chia por RMN de ^1H .

Ácido graxo (éster)	Sinal correspondente	Área de referência*	Subtração
Linolênico (C18:3)	E (~0,98 ppm)	22,2	-
Linoleico (C18:2)	A (~2,74 ppm)	33,3	2 x [C18:3]
Oleico (C18:1)	C (~2,02 ppm)	16,7	[C18:3] + [C18:2]
Saturado	B (~2,28 ppm)	33,3	[C18:3] + [C18:2] + [C18:1]

*Área de referência do sinal do α glicerol.

O conteúdo das cadeias dos ácidos graxos linolênico, linoleico, oleico e saturados nas amostras de óleos de chia extraídos foram determinados a partir de RMN de ^1H (em triplicata) e comparados com o óleo de chia comercial, e estão apresentados na Tabela 5.

Figura 3 – Comparação da composição de ácidos linolênico nas amostras de óleo de chia por análise de RMN de ^1H e GC-FID (ES = Extração por supercrítico; EP = Extração por prensagem; SF = Extração por solvente a frio).

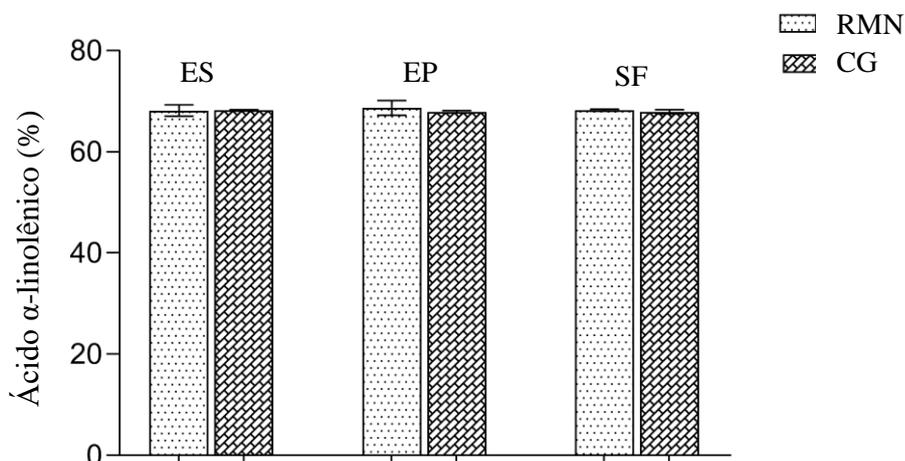


Tabela 5 – Comparação da composição de ácidos graxos determinada por espectroscopia de RMN de ^1H em óleo de chia comercial e os óleos de chia obtidos por solvente a frio, supercrítico e prensado.

	Comercial	Solvente a frio	Supercrítico	Prensagem
Linolênico	55,80 \pm 0,89 ^b	68,23 \pm 0,19 ^a	68,15 \pm 1,14 ^a	68,66 \pm 1,46 ^a
Linoleico	22,35 \pm 1,66 ^a	17,51 \pm 0,34 ^b	19,26 \pm 1,15 ^b	17,95 \pm 0,10 ^b
Oleico	10,35 \pm 1,25 ^a	7,68 \pm 0,26 ^b	6,63 \pm 0,80 ^b	7,71 \pm 0,33 ^b
Saturados	12,29 \pm 0,61 ^a	12,73 \pm 0,31 ^a	11,04 \pm 0,60 ^a	12,84 \pm 0,42 ^a

Média de três valores com desvio padrão. Mesma letra na linha indica que não houve diferença significativa entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($p > 0,05$).

A composição de ácidos graxos observada na Tabela 5 apresentou resultados semelhantes para todas as técnicas de extração, com o conteúdo de ácido linolênico (C18:3) em torno de 68% e ácido linoleico (C18:2) entre 17,51 e 19,26%. O teor de ácido oleico (C18:1) foi obtida calibrando o sinal de α glicerol para 16,7 e correlacionando com a integração do sinal a 2,02 ppm (C, Figura 2), considerando a relação de dois hidrogênios α do glicerol para doze possíveis hidrogênios alílicos. O conteúdo de ácido oleico foi então obtido subtraindo-se o valor encontrado das contribuições dos ácidos linolênico e linoleico, previamente calculados. Além disso, o sinal a $\sim 2,02$ ppm do hidrogênio alílico é correspondente ao parâmetro do valor do iodo, que tradicionalmente envolve a manipulação química da amostra.

A composição de ácidos graxos do óleo de chia comercial utilizado como padrão neste estudo mostrou diferenças significativas com o perfil de ácidos graxos observado no

óleo de chia obtido neste estudo. Essa diferença, observada anteriormente pela análise de CG (Tabela 3), pode estar associada à origem das sementes de chia utilizadas na produção do óleo comercial e às utilizadas no estudo de extração.

O grande apelo do óleo de chia é devido ao alto teor de ácido linolênico e a boa proporção de ômega-6/ ômega-3. No entanto, essas características tornam o óleo altamente suscetível à degradação oxidativa com perda de propriedades nutricionais. Estudos descritos na literatura demonstraram através do RMN, que quando o óleo de chia é mantido a 60 °C, não ocorre degradação oxidativa nas condições oxidantes do experimento, mesmo por longos períodos (SOUZA et al., 2017a).

Para avaliar os efeitos do tempo de exposição e do calor no perfil de ácidos graxos do óleo de chia, a amostra de óleo obtido por prensagem foi submetida à exposição em condições similares às do supermercado (luz e temperatura ambiente) e mantida sob aquecimento a 60 °C (teste em forno). Para esse fim, alíquotas dessas amostras foram coletadas periodicamente, adicionadas de cerca de 400 µL de solvente deuterado e analisadas diretamente por RMN de ¹H. Geralmente, a avaliação da estabilidade oxidativa dos óleos vegetais, monitorando a decomposição de ácidos graxos, é realizada através de testes em forno e cromatografia em fase gasosa, mas requer pré-tratamento da amostra e, juntamente a avaliação através dos índices de iodo, acidez, peróxido, dieno e anisidina, que podem não ser reproduzíveis (SOUZA et al., 2017a).

A Tabela 6 apresenta a variação da composição de ácidos graxos do óleo de chia extraído por prensagem e mantido à temperatura ambiente e em teste no forno (60 °C). A amostra obtida por prensagem foi escolhida porque já possuía algum grau de oxidação, representado pelo maior valor de peróxido comparado com as outras técnicas. O mesmo controle foi realizado para a amostra mantida a 60 °C (teste em forno). Nesse caso, o conteúdo de ácido linolênico apresentou diferença significativa após 4 dias de armazenagem, reduzindo de 68,45% para 64,47% do tempo inicial para o 4º dia do experimento, respectivamente. Esse intervalo mudou novamente após 21 dias de exposição ao aquecimento, de 63,13% no 14º dia para 61,71% no 21º dia. Além das alterações observadas no teor de ácido graxo linolênico, a amostra submetida ao aquecimento apresentou variações nas cadeias do ácido linoleico, oleico e saturados após os 21 dias de armazenagem. Apesar das variações observadas, esses resultados estão de acordo com os relatados na literatura, demonstrando o bom desempenho comercial de óleos comestíveis ricos em ácidos graxos poli-insaturados, como o óleo de chia, que mesmo após 30 dias expostos ao aquecimento a 60 °C, forneceram um conteúdo de ácidos linolênico e linoleico acima de 75%.

Tabela 6 – Variação da composição de ácidos graxos do óleo de chia obtido por prensagem à temperatura ambiente e teste em estufa (60 °C).

Temperatura	Dias	Linolênico	Linoleico	Oleico	Saturados
~25 °C	0	68,45 ± 1,27 ^{a,A}	18,68 ± 1,46 ^{ab,A}	7,50 ± 0,50 ^{a,C}	13,10 ± 0,62 ^{a,C}
	2	68,01 ± 0,05 ^a	21,29 ± 0,09 ^a	6,34 ± 0,01 ^a	12,50 ± 0,02 ^a
	4	67,51 ± 0,87 ^{ab}	20,42 ± 1,15 ^{ab}	8,86 ± 0,83 ^a	13,05 ± 0,37 ^a
	7	65,44 ± 0,01 ^b	20,96 ± 0,03 ^{ab}	6,56 ± 0,01 ^a	13,25 ± 0,02 ^a
	14	64,39 ± 0,04 ^b	21,48 ± 0,09 ^a	6,39 ± 0,05 ^a	13,19 ± 0,03 ^a
	21	65,00 ± 0,16 ^b	20,46 ± 0,36 ^{ab}	6,86 ± 0,21 ^a	13,68 ± 0,16 ^a
	30	64,89 ± 0,08 ^b	18,55 ± 0,18 ^{ab}	7,74 ± 0,10 ^a	13,54 ± 0,04 ^a
60 °C	2	66,39 ± 0,94 ^A	17,73 ± 1,57 ^{BC}	8,55 ± 1,20 ^B	12,20 ± 0,50 ^C
	4	64,47 ± 0,80 ^B	19,12 ± 1,12 ^{AB}	8,01 ± 0,79 ^B	12,38 ± 0,37 ^C
	7	64,10 ± 0,03 ^B	19,88 ± 0,01 ^{AB}	7,87 ± 0,02 ^B	14,89 ± 0,29 ^B
	14	63,13 ± 0,08 ^B	18,42 ± 0,21 ^{AB}	8,86 ± 0,13 ^B	15,59 ± 0,11 ^B
	21	61,71 ± 0,90 ^C	17,48 ± 1,39 ^{BC}	10,61 ± 0,90 ^A	15,79 ± 0,50 ^B
	30	60,68 ± 0,13 ^C	15,74 ± 0,30 ^C	11,02 ± 0,20 ^A	17,13 ± 0,15 ^A

Média de três valores com desvio padrão. Mesma letra na coluna indica que não houve diferença significativa entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($p > 0,05$).

Muitos estudos utilizam a técnica de RMN para avaliar possíveis alterações no perfil graxo quando as amostras são submetidas a diferentes temperaturas. No entanto, não há estudos que relacionem os parâmetros de oxidação. Em relação ao óleo de chia, apenas Souza et al. (2017a) estudaram a estabilidade do óleo de chia por RMN. A maioria dos estudos verifica a estabilidade do óleo de chia através do uso de *Rancimat* (DĄBROWSKI et al., 2017; SHEN et al., 2018; TIMILSENA et al., 2017).

Em relação ao estudo de Souza et al. (2017a), os autores relataram a estabilidade do óleo de chia adicionado com diferentes antioxidantes naturais e sintéticos por RMN em experimentos térmicos e oxidativos. Os autores verificaram que o óleo de chia é estável até a temperatura de 60 °C (teste do forno e avaliação do perfil graxo por RMN) e confirmaram essa estabilidade juntamente com a Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada (PDSC). Como no estudo citado, o presente estudo teve como objetivo avaliar a modificação do perfil de ácidos graxos nas condições testadas, que procuraram reproduzir as condições de armazenamento do óleo de chia quando comercializado, por um período de 30 dias, expostos a variações de luz, exposição à temperatura, oxigênio e umidade. De maneira semelhante ao relatado na literatura, o aquecimento a 60 °C do óleo de chia mostrou a manutenção da

relação ômega-3/ ômega-6 mesmo após 30 dias de armazenagem e, além disso, as condições do ambiente de comercialização foram reproduzidas e monitoradas pelo mesmo período.

4 CONCLUSÃO

Este estudo determinou as condições de processo que fornecem o maior rendimento de extração do óleo de chia. A extração supercrítica foi a técnica que proporcionou o maior rendimento de extração e todas as técnicas de extração resultaram em óleos com conteúdo de ácidos graxos ômega-3 maiores que o óleo comercial. A caracterização química e física dos óleos obtidos apresentou boa qualidade química associando todos os parâmetros avaliados e os limites estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* em relação à caracterização de óleos. Isso indica que eles podem ser aplicados em produtos alimentícios, medicamentos e cosméticos. Embora o óleo comercial tenha sido obtido por prensagem, em muitos parâmetros de caracterização do óleo obtido por prensagem neste estudo houve diferença entre ambos óleos.

De acordo com os resultados, a determinação da composição de ácidos graxos nas amostras de óleo de chia por RMN de ^1H foi equivalente ao método padrão (cromatografia gasosa). A partir dessa metodologia, os teores de ácidos graxos linolênico (C18:3), linoleico (C18:2), oleico (C18:1) e saturados foram rapidamente e facilmente determinados para todas as amostras, não mostrando diferenças significativas entre eles, independentemente da técnica de extração utilizada. Este estudo permitiu demonstrar a viabilidade do uso da espectroscopia de RMN para determinar o perfil do óleo comestível de maneira simples, rápida e direta, sem manipulação química do substrato e preparação das amostras.

Com isso, aliando todas as propriedades avaliadas dos óleos de chia extraídos, o óleo obtido por prensagem apresentou maior destaque para a sua utilização.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, N. M.; YEAP, S. K.; HO, W. Y.; BEH, B. K.; TAN, S. W.; TAN, S. G. The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, p. 1–9, 2012.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**[Gaithersburg, Md.] : AOAC International, , 2005. Disponível em: <<https://search.library.wisc.edu/catalog/999794307402121>>

AOCS. Official method Cd 18–90. In: FIRESTONE, D. (Ed.). . **Official methods and recommended practices of the AOCS - American Oil Chemists' Society**. 6th ed ed., 2009.

AYERZA, R.; COATES, W. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 2, p. 1366–1371, 2011.

BARISON, A.; PEREIRA, W.; CAMPOS, F. R.; SIMONELLI, F.; LENZ, A.; GILBERTO, A. A simple methodology for the determination of fatty acid composition in edible oils through ¹H NMR spectroscopy. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 48, p. 642–650, 2010.

BODOIRA, R. M.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D.; MARTÍNEZ, M. L. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 107–113, 2017.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Edible fats and oils not covered by individual standards**. Codex Stan 19, 2012.

COOREY, R.; TJOE, A.; JAYASENA, V. Gelling Properties of Chia Seed and Flour. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 5, 2014.

CORREA, M.; MESOMO, M. C.; PIANOSKI, K. E.; TORRES, Y. R.; CORAZZA, M. L. Extraction of inflorescences of *Musa paradisiaca* L. using supercritical CO₂ and compressed propane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 113, p. 128–135, 2016.

DĄBROWSKI, G.; KONOPKA, I.; CZAPLICKI, S.; TAŃSKA, M. Composition and oxidative stability of oil from *Salvia hispanica* L. seeds in relation to extraction method. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, n. 5, p. 1–9, 2017.

GUINDANI, C.; PODESTÁ, R.; BLOCK, J. M.; ROSSI, M. J.; MEZZOMO, N.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of chia (*Salvia hispanica*) seed cake by means of supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 67–75, 2016.

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166–174, 2011.

IXTAINA, V. Y.; VEGA, A.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C.; GIMENO, M.; BÁRZANA, E.; TECANTE, A. Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.): Characterization and process optimization. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 192–199, 2010.

JIN, F.; NIEMAN, D. C.; SHA, W.; XIE, G.; QIU, Y.; JIA, W. Supplementation of Milled Chia Seeds Increases Plasma ALA and EPA in Postmenopausal Women. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 105–110, 2012.

KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. The Physical and Chemical Effects of Ultrasound. In: **Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing**. Springer Science, 2011, p. 1–12.

MARTÍNEZ, M. L.; MARÍN, M. A.; SALGADO FALLER, C. M.; REVOL, J.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 78–82, 2012.

MASSAROLO, K. C.; DE SOUZA, T. D.; RIBEIRO, A. C.; FURLONG, E. B.; DE SOUZA SOARES, L. A. Influence of cultivation *Rhizopus oryzae* on rice bran on lipid fraction: Fatty

acids and phospholipids. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 8, n. July, p. 204–208, 2016.

MELLO, B. T. F.; GARCIA, V. A. DOS S.; SILVA, C. DA. Ultrasound-Assisted Extraction of Oil from Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds: Optimization Extraction and Fatty Acid Profile. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 1, p. 1–8, 2017.

NIEMAN, D. C.; CAYEA, E. J.; AUSTIN, M. D.; HENSON, D. A.; MCANULTY, S. R.; JIN, F. Chia seed does not promote weight loss or alter disease risk factors in overweight adults. **Nutrition Research**, v. 29, n. 6, p. 414–418, 2009.

PATIL, P. D.; DANDAMUDI, K. P. R.; WANG, J.; DENG, Q.; DENG, S. Extraction of bio-oils from algae with supercritical carbon dioxide and co-solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 60–68, 2018.

RIERA, E.; GOLÁS, Y.; BLANCO, A.; GALLEGO, J. A.; BLASCO, M.; MULET, A. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 3–4, p. 241–244, 2004.

SCAPIN, G.; ABAIDE, E. R.; NUNES, L. F.; MAZUTTI, M. A.; VENDRUSCOLO, R. G.; WAGNER, R.; DA ROSA, C. S. Effect of pressure and temperature on the quality of chia oil extracted using pressurized fluids. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 127, n. March, p. 90–96, 2017.

SERRA, A. T.; SEABRA, I. J.; BRAGA, M. E. M.; BRONZE, M. R.; DE SOUSA, H. C.; DUARTE, C. M. M. Processing cherries (*Prunus avium*) using supercritical fluid technology. Part 1: Recovery of extract fractions rich in bioactive compounds. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 184–191, 2010.

SHEN, Y.; ZHENG, L.; JIN, J.; LI, X.; FU, J.; WANG, M. Phytochemical and Biological Characteristics of Mexican Chia Seed Oil. **Molecules**, v. 23, p. 1–16, 2018.

SILVA, C.; GARCIA, V. A. S.; ZANETTE, C. M. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction using different organic solvents: Oil yield, fatty acids profile and technological analysis of defatted meal. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 3, p. 998–1004, 2016.

SOUZA, A. L.; MARTÍNEZ, F. P.; FERREIRA, S. B.; KAISER, C. R. A complete evaluation of thermal and oxidative stability of chia oil. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1307–1315, 2017a.

TENG, J.; HU, X.; WANG, M.; TAO, N. Fabrication of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil nanoemulsions using different emulsifiers. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. March, p. 1–9, 2017.

TIMILSENA, Y. P.; VONGSVIVUT, J.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. **Food Chemistry**, v. 228, p. 394–402, 2017.

TOSCANO, L. T.; DA SILVA, C. S. O.; TOSCANO, L. T.; DE ALMEIDA, A. E. M.; DA CRUZ SANTOS, A.; SILVA, A. S. Chia Flour Supplementation Reduces Blood Pressure in Hypertensive Subjects. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 4, p. 392–398, 2014.

TRENTIN, C. M.; LIMA, A. P.; ALKIMIM, I. P.; SILVA, C.; CASTILHOS, F.; MAZUTTI, M. A.; OLIVEIRA, J. V. Continuous production of soybean biodiesel with compressed ethanol in a microtube reactor using carbon dioxide as co-solvent. **Fuel Processing Technology**, v. 92, p. 952–958, 2011.

TRENTINI, C. P.; SANTOS, K. A.; ANTONIO DA SILVA, E.; GARCIA, V. A. DOS S.; CARDOZO-FILHO, L.; DA SILVA, C. Oil extraction from macauba pulp using compressed propane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 126, p. 72–78, 2017.

URIBE, J. A. R.; PEREZ, J. I. N.; KAUIL, H. C.; RUBIO, G. R.; ALCOCER, C. G. Extraction of oil from chia seeds with supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 56, n. 2, p. 174–178, 2011.

VUKSAN, V.; WHITHAM, D.; SIEVENPIPER, J. L.; JENKINS, A. L.; ROGOVIK, A. L.; BAZINET, R. P.; VIDGEN, E.; HANNA, A. Supplementation of Conventional Therapy With the Novel Grain Salba (*Salvia hispanica* L.) Improves Major and Emerging Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, v. 30, n. 11, p. 2804-2810, 2007.

ZANOAGA, O.; JURJ, A.; RADULY, L.; COJOCNEANU-PETRIC, R.; FUENTES-MATTEI, E.; WU, O.; BRAICU, C.; GHERMAN, C.; BERINDAN-NEAGOE, I. Implications of dietary ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids in breast cancer (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, p. 1167–1176, 2017.

ZANQUI, A. B.; DE MORAIS, D. R.; DA SILVA, C. M.; SANTOS, J. M.; CHIAVELLI, L. U. R.; BITTENCOURT, P. R. S.; EBERLIN, M. N.; VISENTAINER, J. V.; CARDOZO-FILHO, L.; MATSUSHITA, M. Subcritical extraction of *Salvia hispanica* L. oil with n-propane: Composition, purity and oxidation stability as compared to the oils obtained by conventional solvent extraction methods. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 2, p. 282–289, 2015.

ARTIGO III:
ESTUDO DA MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE CHIA UTILIZANDO GOMA ARÁBICA
E MALTODEXTRINA POR SPRAY DRYING

RESUMO

O óleo de chia tem um alto teor de ácidos linolênico e linoleico, essenciais para o corpo humano. No entanto, seu alto grau de insaturação o torna muito suscetível à oxidação, sendo necessário o uso de técnicas de encapsulação, como a secagem por atomização (*spray drying*), que auxiliam no processo de incorporação e preservação destes em alimentos. Assim, o objetivo deste estudo foi produzir e avaliar micropartículas de óleo de chia encapsuladas utilizando maltodextrina e goma arábica através de diferentes condições de *spray drying*. As micropartículas foram obtidas, na sua maioria, um rendimento de 50%, apresentando eficiência de encapsulação superior a 87%, baixo teor de umidade (0,19 a 2,07%) e tamanho médio de partícula variando de 3,01 a 4,11 μm . A avaliação térmica e o armazenamento evidenciaram o aumento da estabilidade das micropartículas. A técnica de RMN de ^1H mostrou que as micropartículas mantinham o perfil característico de ácidos graxos do óleo e sementes de chia. Portanto, o óleo de chia foi preservado utilizando maltodextrina e goma arábica por *spray drying*.

Palavras-chave: Semente de chia. Micropartícula. Avaliação. Oxidação.

1 INTRODUÇÃO

A semente de chia apresenta cerca de 28 a 32% de óleo, sendo composta principalmente por ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (ácido linolênico, ~68%) e ômega-6 (ácido linoleico, ~19%), o que faz dessa semente uma fonte atraente para obtenção de óleo (FERNANDES et al., 2019). Os ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 são fundamentais na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, além de ter outras ações importantes em relação a hipertensão, diabetes, artrite e doenças autoimunes (BILINSKI et al., 2019). Além disso, o corpo humano não é capaz de sintetizá-los, exigindo sua ingestão através dos alimentos (AHMED et al., 2009).

Embora o perfil de ácidos graxos do óleo de semente de chia seja nutricionalmente favorável, a incorporação de ômega-3 nos alimentos é desafiadora devido à sua suscetibilidade à oxidação (alto grau de insaturação) e ao desenvolvimento de sabores estranhos que afetam as propriedades sensoriais dos alimentos (IXTAINA et al., 2015). Uma maneira de superar a suscetibilidade do óleo de chia à oxidação é o uso de técnicas de encapsulação.

Entre as técnicas de microencapsulação, a secagem por atomização (*spray drying*) tem grande apelo, pois é um processo econômico e flexível que converte líquidos em pós com facilidade de manuseio, armazenamento e transporte, facilitando sua mistura uniforme nas formulações de alimentos (BOGER; GEORGETTI; KUROZAWA, 2018). Além da alta retenção de nutrientes e sabor, essa técnica promove rápida evaporação da água durante a conversão do material líquido para pó seco, levando a alta estabilidade do pó e maior resistência à degradação microbológica e oxidativa (SAGAR; SURESH KUMAR, 2010; TAN et al., 2011). Outro fator a ser mencionado é o seu custo operacional, que é mais baixo em comparação com outras técnicas, especificamente oito vezes mais econômico que a liofilização e quatro vezes mais econômico que a secagem a vácuo (LEE; TAIP; ABDULLA, 2018).

Os estudos de microencapsulação existentes do óleo de chia via *spray drying* incluem como material de parede caseinato de sódio e lactose (IXTAINA et al., 2015); hidroximetilcelulose e maltodextrina (MARTÍNEZ et al., 2015); concentrado proteico de soro e goma de mesquite (ESCALONA-GARCÍA et al., 2016; RODEA-GONZÁLEZ et al., 2012); proteína isolada de soja e maltodextrina (GONZÁLEZ et al., 2016); concentrado proteico de soro de leite, pectina, maltodextrina e amido modificado (NOELLO et al., 2016); isolado da proteína da semente de chia e mucilagem de chia (TIMILSENA et al., 2016a); caseinato de

sódio, lactose, maltodextrina, mucilagem de chia e fração rica em proteínas de chia (US-MEDINA et al., 2018); e ácido esteárico (ROJAS et al., 2019). A maltodextrina e a goma arábica, devido à sua alta solubilidade, boa biocompatibilidade, ótima viscosidade e segurança para a aplicação alimentícia, apresentam-se como promissores materiais de parede (KANG et al., 2019). No entanto, a mistura de goma arábica e maltodextrina como material de parede para microencapsulação do óleo de chia ainda não foi avaliada.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo produzir e avaliar micropartículas carregadas com óleo de chia utilizando goma arábica e maltodextrina como transportadores protetores por *spray drying* em diferentes condições do processo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O óleo de chia foi obtido por prensagem utilizando uma prensa hidráulica, composta por uma rosca infinita em um cilindro, sendo o óleo extraído das sementes por atrito da rosca com a parede do cilindro. A maltodextrina (DE-20) foi adquirida da Pryme Foods (Sorocaba, Brasil) e a goma arábica pura (GA) adquirida da Instantgum BA® da Colloides Naturels (São Paulo, Brasil). Todos os reagentes utilizados nas determinações químicas foram de grau analítico.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 *Spray drying*

As suspensões foram produzidas com 10% de material de parede formado pela mistura de maltodextrina (MD) e goma arábica (GA) na proporção de 1:3 (MD:GA). No mesmo recipiente, os dois materiais da parede foram mantidos sob agitação em agitador magnético por cerca de 1 h para promover a dissolução total e a solução foi mantida sob refrigeração (4 °C) por 24 h para garantir homogeneidade total (MARTÍNEZ et al., 2015). As emulsões foram produzidas a partir da adição lenta de óleo de chia às suspensões do material da parede na proporção de 1:2 (óleo de chia: material da parede) em Ultraturrax (IKA, T25

digital, Brasil) a 14000 rpm por 10 min. Todas as relações, bem como as escolhas dos materiais de parede, foram determinadas por testes preliminares.

As emulsões foram secas por atomização em mini *Spray dryer* (Labmaq, Modelo PS1, Brasil), equipado com bico de 1,0 mm de diâmetro. A taxa de alimentação e a temperatura de entrada variaram de acordo com os tratamentos apresentados na Tabela 1. Para todos os experimentos, o fluxo do ar de secagem foi de $1,65 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, pressão de atomização do ar de 4 bar e ar de secagem com 40% de umidade relativa (UR).

As micropartículas de cada tratamento foram armazenadas em frascos escuros, forrados com papel alumínio e selados hermeticamente à temperatura ambiente. O rendimento foi calculado como a razão entre o peso do pó (micropartículas) coletado após cada experimento de secagem por *spray dryer* e a quantidade inicial de sólidos no volume da dispersão pulverizada (MARTÍNEZ et al., 2015).

Tabela 1 – Condições utilizadas para o *spray dryer*.

Tratamento	Temperatura de entrada (°C)	Taxa de alimentação (L.h⁻¹)
T1	100	0,1
T2	100	0,3
T3	110	0,2
T4	120	0,1
T5	120	0,3

2.2.2 Avaliação das micropartículas

2.2.2.1 Umidade

O teor de umidade das micropartículas foi determinado pelo método gravimétrico, a temperatura de 105 °C até massa constante (AOAC, 2005).

2.2.2.2 Eficiência de encapsulação

A eficiência da encapsulação foi determinada de acordo com Noello et al. (2016). Para extrair o óleo encapsulado, à 1,5 mg de micropartículas foram adicionados 15 mL de hexano e a suspensão foi agitada por 2 min à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e o retido foi lavado mais duas vezes com 20 mL de hexano. O filtrado (solvente) foi primeiro

evaporado em evaporador rotativo (Quimis, modelo Q344B, Brazil) e depois submetido a uma temperatura de 60 °C até massa constante. O óleo que não foi encapsulado foi determinado pela diferença entre massa inicial do balão vazio e a massa do balão após a evaporação. A eficiência de encapsulação foi determinada de acordo com a Equação 1, onde “Óleo_{Total}” corresponde à quantidade total de óleo utilizada na emulsão e “Óleo_{Superfície}” corresponde à quantidade de óleo na superfície (não encapsulado).

$$\text{Eficiência de encapsulação (\%)} = \frac{\text{Óleo}_{\text{Total}} - \text{Óleo}_{\text{Superfície}}}{\text{Óleo}_{\text{Total}}} \times 100 \quad (1)$$

2.2.2.3 Análises morfológicas

A morfologia das micropartículas de óleo de chia foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em microscópio Jeol JSM-6610LV (Tóquio, Japão). As amostras de microcápsulas foram distribuídas em uma fita de carbono dupla face presa a um suporte de metal (*stubs*). O MEV foi operado a 15 kV com ampliações de 1000x.

A visualização da morfologia interna das micropartículas de óleo de chia foi realizada na Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), em microscópio Tecnai G2-12 SpiritBiotwin FEI (Oregon, EUA), com tensão de aceleração de 120 kV. As micropartículas foram diluídas em solvente hexano (1:100, m/v) e a suspensão foi mantida em banho ultrassônico (Unique, modelo USC - 1800, Brasil) por 30 min. Posteriormente, foi depositada em uma grade de cobre revestida com filme de carbono. As imagens foram observadas com uma ampliação de 100k.

2.2.2.4 Tamanho médio das partículas e distribuição do tamanho de partícula

O tamanho médio das partículas foi determinado utilizando o *software* SigmaScan Pro 5 nas micrografias obtidas pelo MEV. Foram feitas pelo menos 300 medições do diâmetro das partículas de cada tratamento mesma ampliação e uma média foi obtida. A curva de distribuição de tamanho de partícula foi realizada com base nas medições de tamanho de partícula.

2.2.2.5 Solubilidade

A solubilidade foi determinada de acordo com Cano-Chauca et al. (2005) com algumas modificações. As micropartículas (aproximadamente 0,5 g) foram agitadas com 15 mL de água destilada por 30 min a 100 rpm. A solução foi então centrifugada (MPW, modelo 350/350-R, Brasil) a 3381 \times g por 5 min. O sobrenadante foi cuidadosamente recolhido e seco a 105 °C. A solubilidade foi determinada como a porcentagem de sobrenadante seco em relação à quantidade original da amostra.

2.2.2.6 Densidade aparente e a densidade compactada

A densidade aparente (ρ_{aparente}) foi determinada de acordo com Goula e Adamopoulos (2004), medindo o volume absorvido por 2 g de micropartículas em uma proveta graduada. A densidade aparente foi determinada como a razão entre a massa de micropartículas e o volume ocupado.

Para calcular a densidade compactada ($\rho_{\text{compactada}}$), 2 g das micropartículas foram adicionadas em proveta graduada e esta foi batida em uma superfície sólida por 50 vezes consecutivas para compactação e o volume ocupado foi verificado. A densidade compactada foi determinada como a razão entre a massa de micropartículas e o volume ocupado após as batidas (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014).

2.2.2.7 Compressibilidade e fluxo

A compressibilidade das micropartículas de óleo de chia foi determinada a partir do Índice de Carr (IC), que é apresentado na Equação 2, em que “ $\rho_{\text{compactada}}$ ” corresponde à densidade compactada e “ ρ_{aparente} ” corresponde à densidade aparente.

$$IC = \frac{\rho_{\text{compactada}} - \rho_{\text{aparente}}}{\rho_{\text{compactada}}} \times 100 \quad (2)$$

O fluxo das micropartículas de óleo de chia foi determinado a partir da razão de Hausner (RH), que está apresentada na Equação 3, e é determinada pela razão entre a densidade compactada ($\rho_{\text{compactada}}$) e a densidade aparente (ρ_{aparente}).

$$RH = \frac{\rho_{compactada}}{\rho_{aparente}} \quad (3)$$

2.2.2.8 Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada de acordo com Cai e Corke (2000) com algumas modificações. Amostras de cada tratamento (cerca de 1 g) foram colocadas em um recipiente com uma solução saturada de NaCl (75% UR), a 25 °C por uma semana. Em seguida, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade (%) foi determinada como a massa, em g, de água adsorvida por 100 g de micropartículas secas. Para verificar o comportamento de adsorção de água das micropartículas, o teor de água absorvido foi verificado por 1 h, 24 h e 7 dias.

2.2.2.9 Cor

A cor das micropartículas foi determinada através de colorímetro (Minolta, modelo CR400, Japão). A análise foi baseada no sistema CIE L*a*b* que foi definido pela CIE (Comissão Internacional de Iluminação) em 1976 para determinar os valores L* (luminosidade), a* e b* (coordenadas de cromaticidade).

2.2.2.10 Análise térmica

As características térmicas do óleo de chia *in natura* e das micropartículas carregadas com óleo foram determinadas por calorímetro diferencial de varredura – DSC (Shimadzu, modelo DSC-60, Japão) e por Analisador Termogravimétrico - TGA (Shimadzu, modelo TGA-50, Japão). A análise de DSC foi realizada com taxa de aquecimento de 10 °C. min⁻¹, na faixa de temperatura de 25 a 300 °C e vazão atmosférica de nitrogênio de 50 mL. min⁻¹, e de TGA foi realizada utilizando a taxa de aquecimento de 10 °C. min⁻¹, de 25 a 600 de °C e vazão atmosférica de nitrogênio de 100 mL. min⁻¹.

2.2.2.11 Estabilidade oxidativa ao armazenamento

A estabilidade ao armazenamento das micropartículas carregadas com óleo foi medida em função do tempo de armazenamento (COPADO et al., 2017; TIMILSENA et al., 2016a) sob três condições de temperatura: 4 °C, temperatura ambiente (23 ± 2 °C) e 60 °C. As amostras foram analisadas quanto à oxidação lipídica, pelo índice de peróxido, e cor, ao 0, 15 e 30 dias. A cor foi determinada conforme item 2.2.2.9. O óleo das micropartículas foi extraído de acordo com o método proposto por Partanen et al. (2008) e o índice de peróxido correspondente ao óleo de chia microencapsulado e ao *in natura* foi determinado de acordo com González et al. (2016).

2.2.3 Análise espectroscópica HR-MAS de ^1H e RMN de ^1H

A análise por RMN de ^1H do material microencapsulado e das sementes de chia foi realizada por RMN de ^1H HR-MAS (*High Resolution Magic Angle Spinning*), a partir de espectrômetro Bruker Avance de 400 a 298 K, operando a 9,4 T, observando ^1H a 400,13 MHz, equipado com uma sonda HR-MAS de 4 mm (^1H , ^{13}C , ^{15}N e ^2H). Os espectros foram adquiridos a partir de 10 mg de amostra (microcápsulas), inseridos em um rotor semi-esférico de zircônio (55 mm^3), seguido pela adição de 40 μL de CDCl_3 (clorofórmio deuterado) contendo 0,05% de TMS (tetrametilsilano), seguindo os parâmetros de aquisição: sequência de pulsos (zg), pontos de dados no domínio do tempo de 64 K distribuído em uma largura espectral de 8503,401 Hz, tempo de recicde 1,0 s, tempo de aquisição de 6,99 s e 16 transientes.

A determinação no óleo de chia produzido sob extração por prensagem (Fernandes et al., 2019) foi realizada em um espectrômetro Bruker Avance de 400 a 298 K, operando a 9,4 T, observando ^1H a 400,13 MHz. Aproximadamente 200 μL de amostra foi transferida diretamente para tubos de RMN de 5 mm e o volume foi completado para 600 μL com CDCl_3 contendo 0,05% de TMS. Os parâmetros de aquisição do material microencapsulado e das sementes de chia por RMN de ^1H HR-MAS foram os mesmos realizados no óleo de chia por RMN de ^1H . Os espectros foram processados aplicando multiplicação exponencial dos FIDs (*free induction decay*) por um fator de 0,3 Hz antes da transformação de Fourier com preenchimento zero para 64 K. Os desvios químicos foram expressos em ppm relacionados ao TMS a 0,00 ppm como referência interna.

2.2.4 Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata. Os dados foram comparados usando a análise de variância (ANOVA), e os valores médios obtidos foram comparados pelo teste de Tukey com nível de significância (α) em $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RENDIMENTO

A Tabela 2 apresenta o rendimento de encapsulação, bem como as características avaliadas das micropartículas. O rendimento por *spray drying* variou de 50,3% a 50,5%, com exceção do tratamento 2, no qual o rendimento foi de 40,3%. O tratamento 2 foi a condição que utilizou a temperatura mais baixa (100 °C) e a maior taxa de alimentação da emulsão (0,3 L. h⁻¹), evidenciando que as condições foram insuficientes para promover uma secagem eficiente da emulsão e, portanto, manteve-se aderida na parede do cilindro de secagem, reduzindo o rendimento final.

O rendimento obtido neste estudo foi superior ao de González et al. (2016), que obtiveram rendimentos de 38,7% e 46,6% em *spray drying* de óleo de chia utilizando proteína isolada de soja e maltodextrina, e também ao de Martínez et al. (2015), que obtiveram rendimento de 39,7% por *spray drying* de óleo de chia com HPMC (hidroxipropilmetilcelulose) e maltodextrina. Além desses, também foi maior que o estudo de Cano-Higueta et al. (2015), que encapsularam oleorresina de açafraão em misturas binárias de goma arábica e maltodextrina, na mesma concentração deste estudo, mas a uma temperatura mais elevada (170 °C), obtendo um rendimento de 43,3%.

Portanto, baixas temperaturas associadas a elevadas taxas de alimentação resultam em menores rendimentos de secagem devido ao baixo tempo de contato do ar de secagem com a emulsão, além da temperatura insuficiente para promover a secagem.

3.2 UMIDADE

O teor de umidade das micropartículas de óleo de chia foi muito baixa, variando de 0,2 a 2,1%. Segundo Copado et al. (2017), a umidade das micropartículas de óleo de

Tabela 2 – Avaliação físico-química e térmica das micropartículas de óleo de chia obtidas sob diferentes condições por *spray drying*.

		Óleo de chia	T1	T2	T3	T4	T5
Rendimento (%)	-		50,3 ± 1,47 ^a	40,3 ± 1,23 ^b	50,5 ± 1,62 ^a	50,5 ± 0,42 ^a	50,5 ± 0,35 ^a
Umidade (%)	-		2,1 ± 0,02 ^a	0,9 ± 0,01 ^c	0,2 ± 0,04 ^c	1,7 ± 0,13 ^b	0,7 ± 0,03 ^d
Eficiência de encapsulação (%)	-		87,5 ± 0,10 ^{a,b}	88,4 ± 0,31 ^a	88,2 ± 0,25 ^{a,b}	87,1 ± 0,98 ^b	88,0 ± 0,74 ^{a,b}
Tamanho de partícula (µm)	-		3,54 ± 1,63 ^b	4,09 ± 1,94 ^a	3,50 ± 1,82 ^b	3,01 ± 1,51 ^c	4,11 ± 1,99 ^a
Solubilidade (%)	-		14,9 ± 0,49 ^b	16,2 ± 0,49 ^a	16,1 ± 0,43 ^a	13,1 ± 0,36 ^c	15,3 ± 0,56 ^{a,b}
Densidade aparente (g. cm⁻³)	-		0,30 ± 0,01 ^b	0,36 ± 0,00 ^a	0,30 ± 0,01 ^b	0,26 ± 0,01 ^c	0,29 ± 0,01 ^b
Densidade compactada (g. cm⁻³)	-		0,38 ± 0,00 ^a	0,40 ± 0,00 ^a	0,34 ± 0,01 ^c	0,34 ± 0,00 ^c	0,37 ± 0,01 ^b
Compressibilidade (IC)	-		23,50 ± 0,05 ^a	10,12 ± 1,03 ^b	13,82 ± 1,25 ^b	23,03 ± 0,93 ^a	20,29 ± 0,42 ^a
Fluxo (RH)	-		1,28 ± 0,04 ^a	1,11 ± 0,01 ^b	1,12 ± 0,05 ^b	1,33 ± 0,05 ^a	1,28 ± 0,05 ^a
Higroscopicidade (%)	1 h	-	4,95 ± 0,16 ^b	5,29 ± 0,20 ^b	6,05 ± 0,01 ^{a,b}	7,90 ± 0,20 ^a	5,07 ± 0,12 ^b
	24 h	-	13,70 ± 0,05 ^a	13,62 ± 0,14 ^a	11,36 ± 0,19 ^b	14,02 ± 0,69 ^a	10,98 ± 0,24 ^b
	7 dias	-	12,86 ± 0,18 ^{b,c}	12,70 ± 0,12 ^c	13,54 ± 0,23 ^a	12,34 ± 0,44 ^c	13,48 ± 0,47 ^{a,b}
Propriedades térmicas	T₀ (°C)	49,67	66,57	161,55	152,98	184,09	153,56
	T_p (°C)	51,68	99,19	161,63	153,40	188,77	156,44
	T_f (°C)	49,39	119,61	166,79	157,97	190,56	159,70
	ΔH (J. g⁻¹)	5,45	28,65	109,37	137,30	217,41	100,08

IC: índice de Carr; RH: razão de Hausner; T₀: temperatura de início; T_p: temperatura de pico (fusão); T_f: temperatura final; ΔH: entalpia. T1: Tratamento 1 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; T2: Tratamento 2 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹; T3: Tratamento 3 com temperatura de entrada de 110 °C e taxa de alimentação de 0,2 L. h⁻¹; T4: Tratamento 4 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; T5: Tratamento 5 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹. Média de três valores com desvio padrão. A mesma letra da linha indica que não houve diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste de Tukey (p > 0,05).

chia deve estar entre 3 a 4% para o armazenamento, evidenciando que todos os tratamentos proporcionaram excelente umidade para armazenamento.

O menor teor de umidade (0,2%) foi obtido quando foram testadas as condições intermediárias de temperatura de entrada (110 °C) e de taxa de alimentação (0,2 L. h⁻¹). Os resultados mostraram que, quanto menor a vazão de alimentação, maior o teor de umidade das micropartículas de óleo de chia, pois, a menor vazão resulta em mais tempo para a atomização de toda a emulsão, absorvendo mais umidade.

Os resultados de umidade das micropartículas de óleo de chia foram semelhantes aos estudos que também utilizaram maltodextrina como um dos agentes encapsulantes. Martínez et al. (2015) obtiveram uma variação de 0,9 a 2,1% no teor de umidade das micropartículas de óleo de chia com HPMC e maltodextrina, e Noello et al. (2016) obtiveram um teor de umidade de 1,52% para micropartículas de óleo de chia contendo proteína de soro de leite, pectina e maltodextrina.

Embora este estudo tenha utilizado goma arábica, que possui propriedade de retenção de água, o teor de umidade obtido em todos os tratamentos foi menor do que em outros estudos com goma arábica (RODEA-GONZÁLEZ et al., 2012) e outros tipos de goma, como goma mesquite (RODEA-GONZÁLEZ et al., 2012) e mucilagem de chia (US-MEDINA et al., 2018) para microencapsulação de óleo de chia.

Portanto, as micropartículas apresentaram baixa umidade, sendo que podem então apresentar alguma seguridade em relação ao crescimento de micro-organismos e podem ser armazenadas por um longo período.

3.3 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO

Para que um processo de microencapsulação seja bem-sucedido, as micropartículas devem ter uma quantidade mínima de óleo na superfície, mostrando retenção máxima de óleo dentro da partícula (IXTAINA et al., 2015). De acordo com a Tabela 2, a eficiência de encapsulação variou de 87,1% a 88,4%, o que significa que as emulsões foram eficazes na manutenção do óleo de chia nas micropartículas durante o processo de microencapsulação e houve pouca perda de óleo na superfície. Embora tenha havido uma diferença significativa entre os tratamentos, os valores foram muito próximos.

As eficiências de encapsulação obtidas neste trabalho foram superiores às obtidas por Rodea-González et al. (2012), Martínez et al. (2015), González et al. (2016), Timilsena et al. (2016a), Copado et al. (2017) e Us-Medina et al. (2018) ao microencapsular óleo de chia

por *spray drying*. Portanto, a quantidade utilizada da mistura maltodextrina e goma arábica foi adequada para fornecer uma matriz estrutural que reteve as partículas lipídicas encapsuladas.

3.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA E TAMANHO MÉDIO DAS PARTÍCULAS

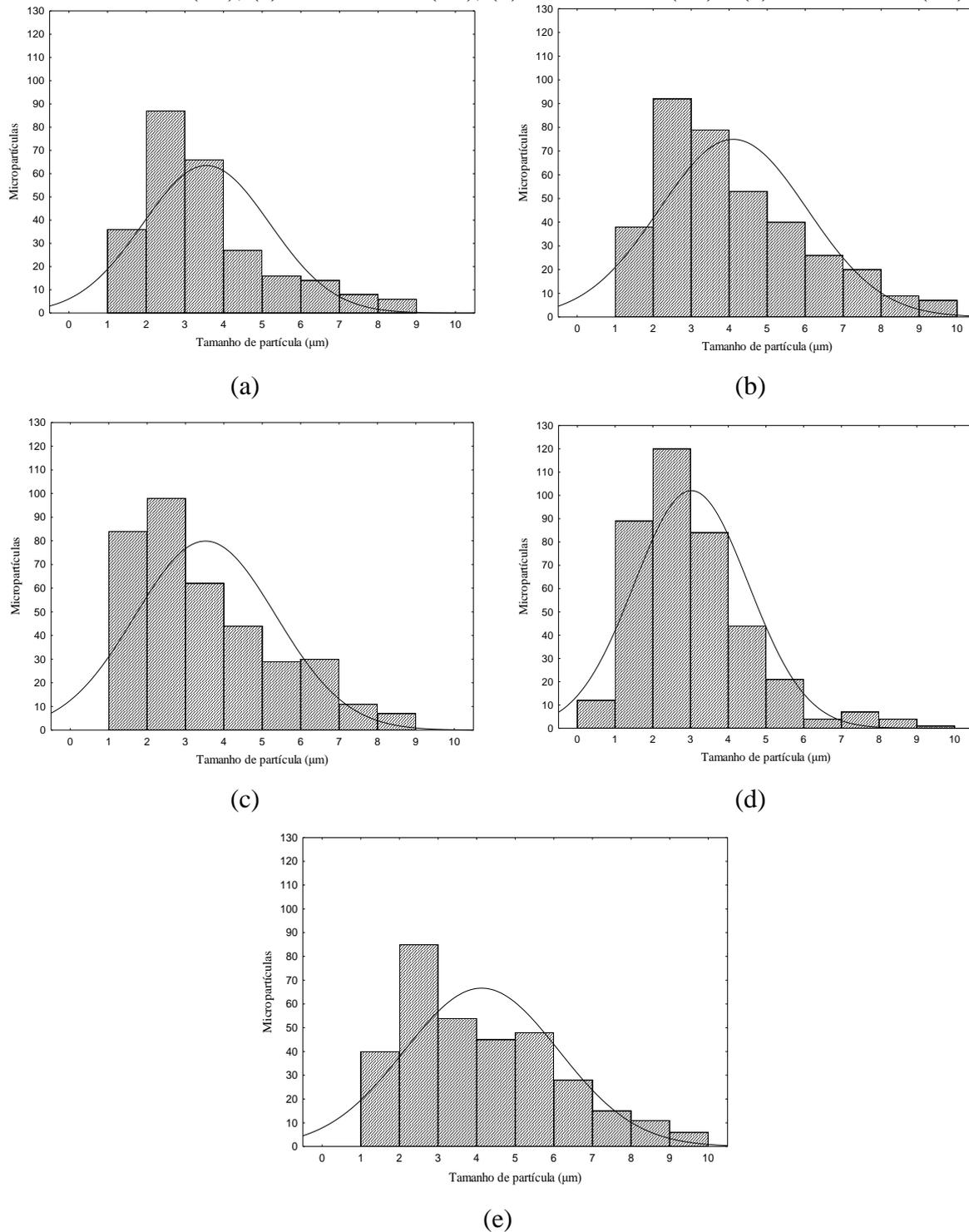
De acordo com a Tabela 2, os tratamentos apresentaram baixo diâmetro médio das partículas, o tratamento T4 foi o que promoveu partículas com menor diâmetro médio (3,01 μm), variando de 0,62 a 9,03 μm . Os tratamentos nos quais a taxa de alimentação foi o maior valor testado (0,3 L. h⁻¹), foram aqueles que promoveram os maiores tamanhos médios de partículas (cerca de 4,1 μm). As curvas de distribuição do tamanho de partícula são mostradas na Figura 1. Pode-se notar pelas curvas que todos os tratamentos apresentaram uma distribuição heterogênea, com um pico representando um tamanho predominante, mas indicando apenas a presença de partículas micrométricas e exibindo um comportamento monomodal.

A Figura 2 apresenta as micrografias das micropartículas de óleo de chia obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). As micropartículas apresentaram morfologia semelhante e tamanhos variados de dimensão micrométrica (diâmetro na faixa de 0,6 a 12 μm), independentemente das condições testadas. As micropartículas eram aproximadamente esféricas, apresentando-se individualmente ou formando aglomerados ou agregados. As partículas obtidas no presente estudo não apresentaram fissuras ou sulcos na superfície.

Uma estrutura superficial homogênea contínua com baixa rugosidade e sem poros ou fraturas aparentes foi obtida para as micropartículas, exceto para as micropartículas obtidas pelo tratamento 2 (T2) (100 °C e 0,3 L. h⁻¹), que apresentaram alguns poros pequenos definidos por superfícies côncavas e encolhidas. Tais poros são típicos em micropartículas produzidas por *spray drying* (TONON; GROSSO; HUBINGER, 2011) e podem ter surgido na aeração da emulsão devido à contração do material durante o período final de secagem (POLAVARAPU et al., 2011); ou devido a algum colapso sofrido pelas gotículas durante os estágios iniciais de secagem (RÉ, 1998).

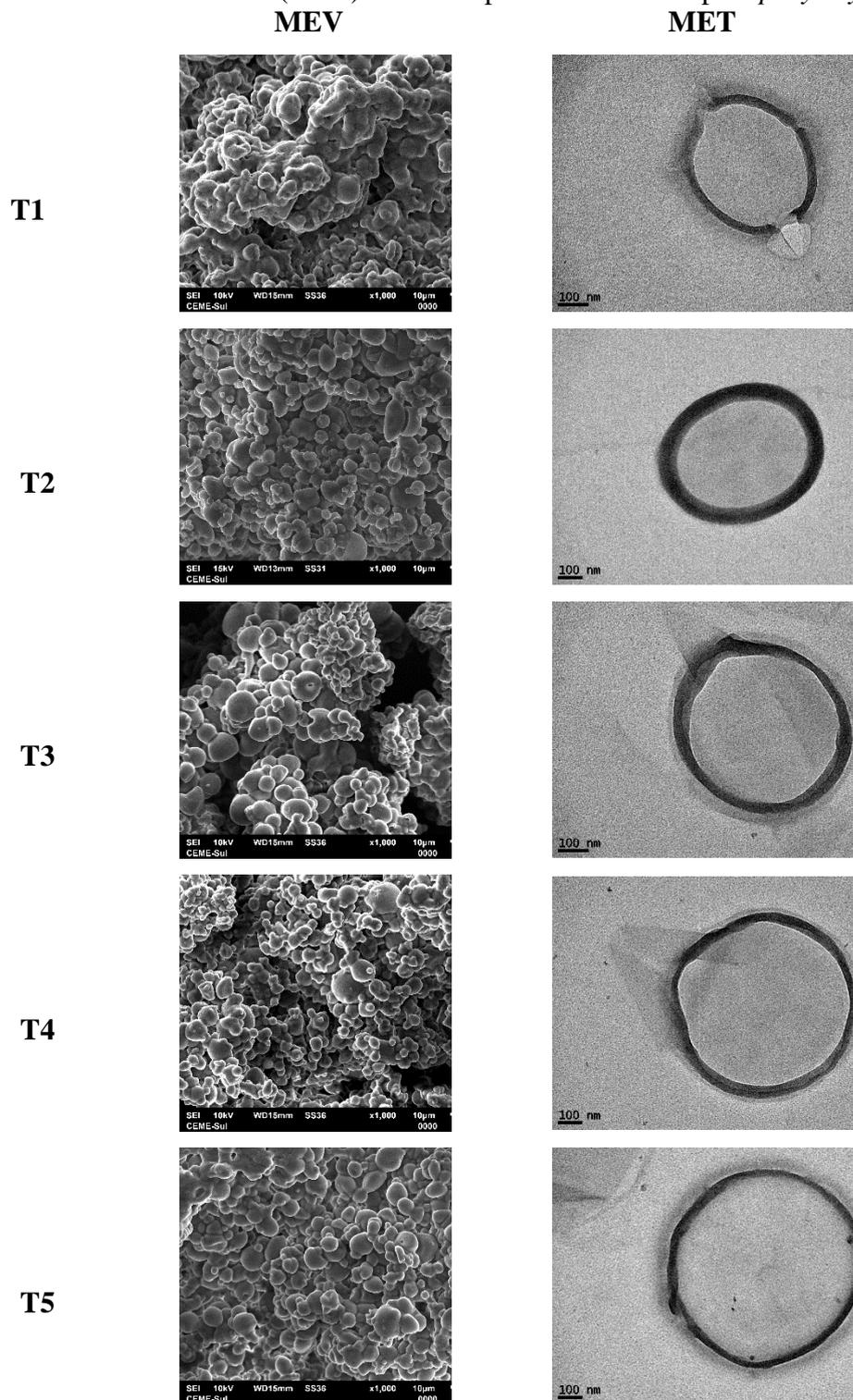
A Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) permite uma compreensão qualitativa da estrutura interna, distribuição espacial e dispersão de partículas na matriz do material da parede (ZAVAREZE et al., 2014). As micrografias das micropartículas de óleo de chia através do MET mostram a seção transversal das partículas para observar a distribuição do óleo de chia dentro da matriz polimérica (goma arábica e maltodextrina). É possível

Figura 1 – Curvas de distribuição do tamanho de partícula: (a) tratamento 1 (T1), (b) tratamento 2 (T2), (c) tratamento 3 (T3), (d) tratamento 4 (T4) e (e) tratamento 5 (T5).



T1: Tratamento 1 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; T2: Tratamento 2 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹; T3: Tratamento 3 com temperatura de entrada de 110 °C e taxa de alimentação de 0,2 L. h⁻¹; T4: Tratamento 4 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; T5: Tratamento 5 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹.

Figura 2 – Micrografias da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das micropartículas obtidas por *spray drying*.



T1: Tratamento 1 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; T2: Tratamento 2 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹; T3: Tratamento 3 com temperatura de entrada de 110 °C e taxa de alimentação de 0,2 L. h⁻¹; T4: Tratamento 4 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; T5: Tratamento 5 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹.

visualizar que o óleo de chia (cor cinza no interior) mostrou concentração no centro da partícula e ao redor do óleo de chia está o material da parede (cor escura). Essas imagens confirmam as observações do MEV em relação à forma esférica das micropartículas. As imagens corroboram com os dados de eficiência de encapsulação, onde uma grande quantidade de óleo foi protegida através do material da parede.

3.5 SOLUBILIDADE

Devido à baixa solubilidade do óleo na água, a incorporação de óleos vegetais nos alimentos é um fator limitante (SHAMAEI et al., 2017). Não existem estudos na literatura que avaliem a solubilidade das micropartículas de óleo de chia. Portanto, foi de suma importância determinar esse parâmetro neste estudo.

Na Tabela 2, é possível perceber que as mudanças nas condições do processo afetam a solubilidade das micropartículas. A solubilidade variou de 13,1 a 16,2%. Menores taxas de alimentação produziram micropartículas com menores solubilidades (Tratamento 1 - T1 e 4 - T4). Embora a maltodextrina e a goma arábica sejam solúveis, verificou-se que, como material de parede, elas permanecem ligadas ao óleo de chia, mantendo sua proteção.

3.6 DENSIDADE APARENTE E DENSIDADE COMPACTADA

A densidade é um parâmetro importante de determinação porque avalia o volume que uma determinada massa de um produto ocupa. Na Tabela 2, é possível verificar que a densidade aparente das micropartículas de óleo de chia variou de 0,52 a 0,71 g. cm⁻³. Esses resultados foram positivos quando comparados, por exemplo, às micropartículas de óleo de chia obtidas por Timilsena et al. (2016a), que obtiveram densidade aparente de 0,16 a 0,28 g. cm⁻³, porque materiais de baixa densidade requerem mais espaço para armazenamento, o que gera um aumento de custo.

A densidade compactada é importante para a logística de transporte, pois verifica a quantidade de micropartículas que podem ser transportadas em um determinado volume, considerando a agitação das partículas ocasionada pelo movimento do transporte. Além disso, influencia as características pós-armazenamento, uma vez que os produtos de menor densidade têm uma tendência a uma maior quantidade de ar entre as partículas, o que aumenta a possibilidade de oxidação e, conseqüentemente, reduz a estabilidade do produto

(MARTYSIAK-ZUROWSKA et al., 2017). É possível verificar que a densidade compactada das micropartículas variou de 0,34 a 0,40 g. cm⁻³ (Tabela 2). Copado et al. (2017) obtiveram valores semelhantes, variando de 0,32 a 0,55 g. cm⁻³.

Foi possível concluir que a menor temperatura testada (100 °C) e a maior vazão (0,3 L. h⁻¹) foi a que produziu as micropartículas com maior densidade aparente e densidade compactada. A maior temperatura testada (120 °C) e a menor vazão (0,1 L. h⁻¹) foi a que apresentou menor densidade aparente e densidade compactada. Quanto maior a densidade, menor o volume ocupado para o transporte e também tem tendência a apresentar menos ar no interior.

3.7 COMPRESSIBILIDADE E FLUXO

Parâmetros que descrevem a capacidade de fluxo de produtos em pó relacionados à densidade são amplamente utilizados em estudos de microencapsulação. A compressibilidade de pós é uma medida de coesão, fluidez e deformabilidade, e de grande importância para o caráter homogêneo e aplicação das micropartículas quando elas forem incluídas em produtos alimentícios (COPADO et al., 2017).

O índice de Carr (IC) é um valor adimensional que indica a compressão do material particulado e a tendência ao fluxo. De acordo com a classificação de Jinapong, Suphantharika e Jamnong (2008), verificou-se que os tratamentos T2 e T3 apresentaram boa compressibilidade (compreende a faixa de 15 a 20%), enquanto os tratamentos T1, T4 e T5 apresentaram média compressibilidade (compreende a faixa de 20 a 35%) sendo pouco fluidos quando embalados e armazenados.

Em relação ao fluxo das micropartículas, a razão de Hausner é um parâmetro utilizado para determinar a fluidez de um material granular ou de um pó. A fluidez foi classificada como baixa (quando menor que 1,2) nos tratamentos T2 e T3 e intermediária (quando entre 1,2 e 1,4) nos tratamentos T1, T4 e T5. A baixa fluidez obtida pelas micropartículas pode ser devida ao pequeno tamanho das partículas que possuem superfícies de contato maiores, o que causa maior interação entre partículas e forças de atrito entre elas, causando resistência ao fluxo. Como as micropartículas têm um material hidrofóbico em sua superfície (goma arábica e maltodextrina), elas tendem a ter mais interações entre as partículas, dificultando a fluidez (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014). Portanto, as micropartículas apresentaram características de compressibilidade de boas a intermediária e fluidez de baixa a intermediária.

Os valores encontrados neste estudo foram superiores aos estudos da literatura sobre micropartículas de óleos. Us-Medina et al. (2017) avaliaram o potencial de mucilagem de chia combinada com alginato de sódio como um material alternativo para encapsular o óleo de chia por gelificação iônica, e esses autores obtiveram razão de Hausner variando de 1,27 a 1,67 e o índice de Carr de 21,43 a 40,0 (aceitável a péssimo). Chew, Tan e Nyam (2018) estudaram a combinação de ciclodextrina com goma arábica e caseinato de sódio como materiais de parede nas características físicas e químicas de óleo de semente de kenaf (*Hibiscus cannabinus*) refinado microencapsulado. Esses autores obtiveram o índice de Carr na faixa de 40,9 a 48,9, indicando péssima fluidez, e a razão de Hausner na faixa de 1,7 a 2,0 (péssima).

3.8 HIGROSCOPICIDADE

Como ainda não existem estudos que determinaram a higroscopicidade de micropartículas de óleo de chia, é importante estudar como ocorre a adsorção da água nas partículas, a fim de contribuir com informações para o seu armazenamento. Através da Tabela 2, verifica-se que em 1 h as micropartículas de óleo de chia absorveram uma quantidade significativa de água, isto porque moléculas de carboidratos (material da parede) tendem a adsorver rapidamente a água (FAN et al., 2017).

As micropartículas do tratamento T4 (120 °C e 0,1 L. h⁻¹) foram as que absorveram o maior teor de umidade em 1 h e em 24 h expostas as condições de armazenamento, porém ao final dos 7 dias apresentaram o menor teor de umidade absorvido. Isso indica que as micropartículas obtidas neste tratamento absorveram maior umidade no período inicial de armazenamento, mas ao longo do armazenamento absorveram menos quantidade que as demais.

As micropartículas que apresentaram menor umidade foram as que absorveram mais água, o que também foi obtido por Fan et al. (2017). Embora tenha ocorrido diferença significativa entre os tratamentos, esta foi muito pequena, indicando que a temperatura de secagem e a taxa de alimentação não exercem grande influência na capacidade de adsorção de água dessas partículas. Nawi, Muhamad e Marsin (2015) obtiveram 15,18% de higroscopicidade ao utilizar goma arábica e maltodextrina como agentes encapsulantes de antocianinas de *Ipomoea batatas*.

Assim, a partir dos valores encontrados no presente estudo, pode-se concluir que é possível produzir micropartículas de óleo de chia com menor higroscopicidade do que outras micropartículas de outras matérias-primas.

3.9 ANÁLISES TÉRMICAS

A Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) é um método eficiente para a caracterização física de partículas, pois fornece informações sobre sua cristalinidade. O grau de cristalinidade de uma partícula é extremamente importante porque afetará a eficiência da encapsulação, a taxa de liberação do composto ativo e a liberação do composto ativo durante o processo de armazenamento. Além disso, é muito importante, pois fornece a temperatura de fusão e a entalpia das partículas (ZAVAREZE et al., 2014).

As propriedades térmicas obtidas pelo DSC estão apresentadas na Tabela 2 e na Figura 3a. A curva de DSC do óleo de chia *in natura* (antes do encapsulamento) apresenta um pico endotérmico relacionado à transição da fase sólido-líquido ($T_p = 51,68\text{ °C}$ e $\Delta H = -5,45\text{ J. g}^{-1}$). A partir dessa temperatura, começa a oxidação, momento em que os principais produtos de degradação térmica, os hidroperóxidos, começam a se formar. Diferenças de outros estudos (GUIMARÃES-INÁCIO et al., 2018; IXTAINA; NOLASCO; TOMÁS, 2012) em relação à temperatura de oxidação do óleo de chia podem ser devido ao uso de oxigênio como atmosfera oxidante (neste estudo utilizamos atmosfera inerte de nitrogênio) em maior velocidade e ao perfil de ácidos graxos do óleo.

As micropartículas obtidas nos tratamentos T2, T3 e T4 mostraram um pico endotérmico bem definido (Figura 3a). As transições de fusão das micropartículas foram deslocadas para temperaturas mais altas, com um pico endotérmico de $99,19\text{ °C}$ para o tratamento T1, $161,63\text{ °C}$ para o tratamento T2, $153,40\text{ °C}$ para o tratamento T3, $188,77\text{ °C}$ para o tratamento T4 e $156,44\text{ °C}$ para o tratamento T5. Esses resultados indicam que a microencapsulação promoveu uma transição sólido-líquido a temperaturas mais altas. O tratamento T4 ($\Delta H = 217,41\text{ J. g}^{-1}$), entre todos os outros tratamentos, promoveu um pico de deslocamento de cerca de 137 °C em relação ao óleo de chia *in natura*, portanto mostrou melhor estabilidade térmica e isso indica que as micropartículas desse tratamento podem ser aplicadas a alimentos que possuam temperaturas de processamento menores que 188 °C , tais como produtos de panificação, sorvetes e massas.

Além disso, as micropartículas apresentaram um elevado valor de entalpia de fusão. Isso sugere que ocorreu uma elevada organização no interior das partículas porque a

fusão de um material altamente organizado requer mais energia para quebrar as forças coesivas do interior do que a fusão de um material ligeiramente ordenado ou desordenado (ZAVAREZE et al., 2014). A temperatura inicial (T_0) das micropartículas mudou com as diferentes condições utilizadas, indicando que há uma mudança em relação a interação física entre o óleo de chia e os materiais da parede durante o processo de encapsulação.

Figura 3 – (a) Calorimetria de Diferencial de Varredura (DSC), (b) Análise termogravimétrica (TGA) e (c) dTG do óleo de chia *in natura* e das micropartículas em diferentes condições por *spray drying*.

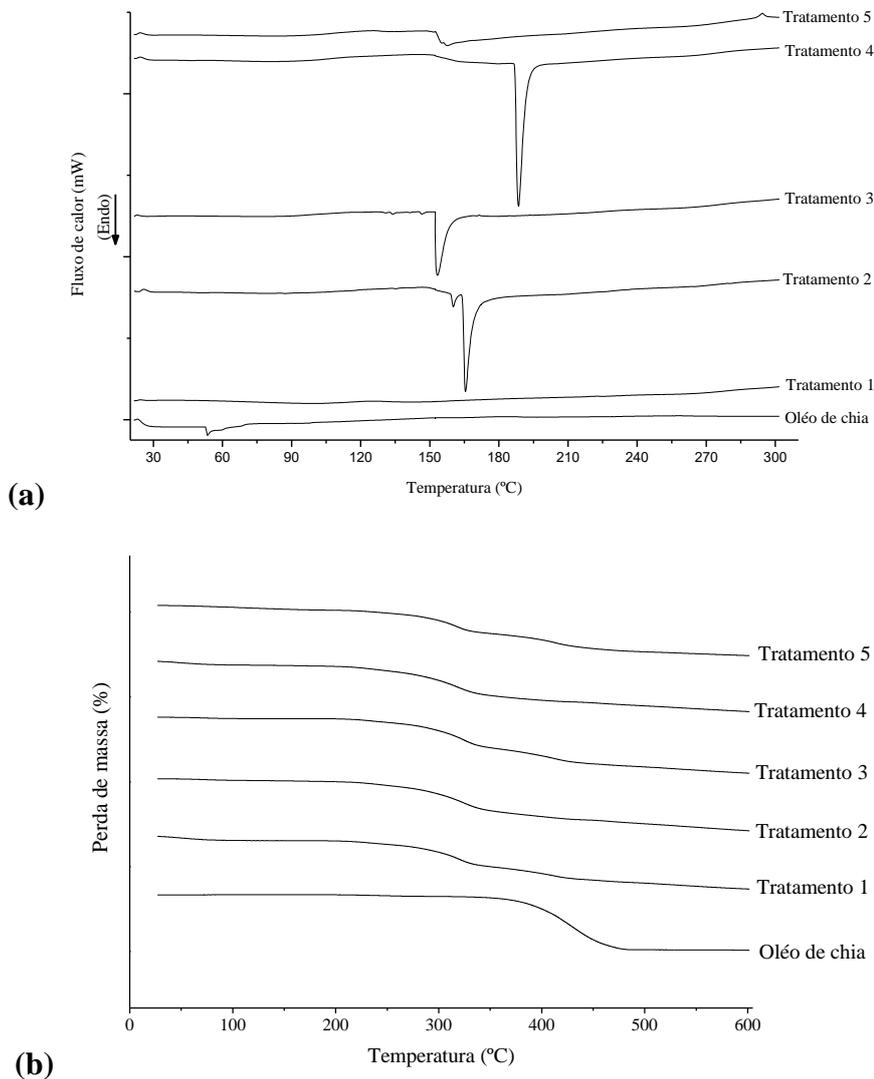
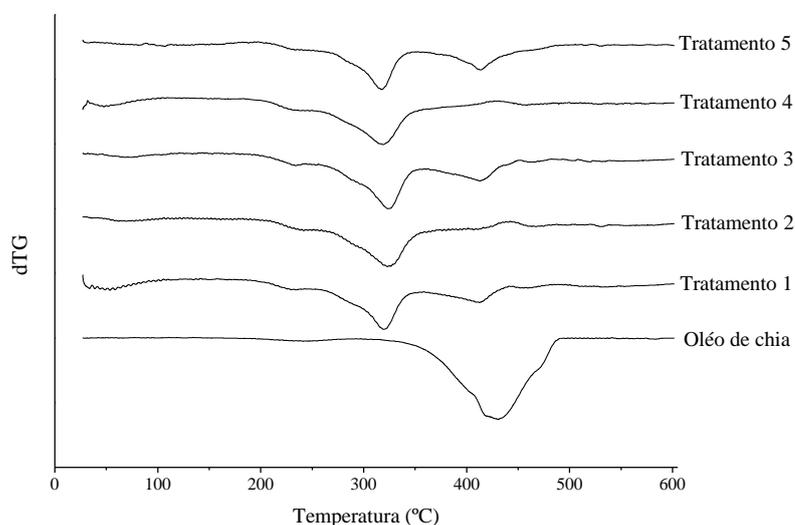


Figura 3 - (a) Calorimetria de Diferencial de Varredura (DSC), (b) Análise termogravimétrica (TGA) e (c) dTG do óleo de chia *in natura* e das micropartículas em diferentes condições por *spray drying* (continuação).



(c)

Tratamento 1 (T1) com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; Tratamento 2 (T2) com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹; Tratamento 3 (T3) com temperatura de entrada de 110 °C e taxa de alimentação de 0,2 L. h⁻¹; Tratamento 4 (T4) com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; Tratamento 5 (T5) com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹.

As Figuras 3b e 3c apresentam o termograma de TGA e sua derivada para óleo de chia e micropartículas. Nas curvas de TGA, o estágio de 25 a 120 °C refere-se a perdas de água livre. As curvas da Figura 3c não identificam esse estágio porque a umidade das amostras foi muito baixa. A partir de 120 °C começa o estágio da decomposição dos polissacarídeos que compõem o material da parede.

A Figura 3b apresentou a perda de peso com o aumento da temperatura. É possível verificar que o óleo de chia *in natura* apresentou uma variação de perda de compostos orgânicos maior que a das micropartículas, estando em uma temperatura inicial de 343,3 °C e final de 482,2 °C, resultando em uma perda total de 90,0%. O tratamento T1 apresentou perda de compostos orgânicos de 64,8% (228,9 a 437,2 °C), o tratamento T2 de 64,4% (216,0 a 420,5 °C), o tratamento T3 de 75,4% (236,6 a 451,3 °C), o tratamento T4 de 59,3% (208,3 a 401,2 °C) e tratamento T5 de 66,1% (244,3 a 465,5 °C). Embora a temperatura inicial de decomposição tenha sido maior para o óleo de chia, a porcentagem total de compostos orgânicos degradados foi maior que nas micropartículas.

Além disso, a 600 °C, o óleo de chia e as micropartículas apresentaram massa residual de 2,3% para o óleo de chia, 6,7% no tratamento T1, 7,8% no tratamento T2, 0,7% no

tratamento T3 e 10,9% no tratamento T4 e T5, correspondendo ao resíduo de carbono. O resíduo é o resultado de materiais que não volatilizaram na temperatura final de análise (600 °C), como as cinzas.

Os resultados do TGA corroboraram com as conclusões obtidas pelo DSC, de que o material de parede utilizado auxiliou na preservação do óleo de chia. Portanto, pode-se observar que os materiais das paredes (goma arábica e maltodextrina) deslocaram o ponto de fusão, aumentaram a entalpia de fusão e reduziram a perda de compostos orgânicos das micropartículas em comparação com o óleo de chia *in natura*, confirmando que foi possível melhorar a estabilidade térmica do composto ativo.

3.10 ESTABILIDADE OXIDATIVA DURANTE O ARMAZENAMENTO

O tempo de armazenamento testado foi de 30 dias, com base nos resultados encontrados por Timilsena et al. (2016a), que descobriram que após 15 dias as micropartículas já apresentavam diferença em sua estabilidade, e por Copado et al. (2017), que mostraram que ao final de 30 dias a estabilidade era estatisticamente diferente do tempo inicial.

3.10.1 Índice de peróxido

A Tabela 3 apresenta os valores de índice de peróxido e os parâmetros de cor nas temperaturas de 4 °C, ambiente (23 ± 2 °C) e 60 °C para micropartículas durante os tempos de armazenamento de 0, 15 e 30 dias. Em relação ao índice de peróxido, no tempo zero, todas as micropartículas apresentaram baixo nível de oxidação, cerca de 0,12 meq de O₂. kg⁻¹ de óleo.

Com exceção das micropartículas armazenadas por 15 dias em temperatura ambiente e a 60 °C, nas demais condições de armazenamento, não houve diferença significativa em relação ao índice de peróxido entre os tratamentos na mesma temperatura de armazenamento. Analisando um mesmo tratamento em diferentes temperaturas e dias de armazenamento, verificou-se que a maioria dos tratamentos sofreu um aumento significativo da oxidação quando armazenados à temperatura de 60 °C, independentemente do tempo de armazenamento.

As micropartículas armazenadas à temperatura ambiente sofreram maior variação de resultados entre os tratamentos devido às variações de temperatura durante os dias. Embora

Tabela 3 – Índice de peróxido e parâmetros de cor nas temperaturas de 4 °C, ambiente e 60 °C para micropartículas obtida por diferentes tratamentos por *spray drying* durante os tempos de armazenamento de 0, 15 e 30 dias.

		0 dia	15 dias			30 dias		
			4 °C	T ambiente	60 °C	4 °C	T ambiente	60 °C
Índice de peróxido (meq de O₂. kg⁻¹ de óleo)	T1	0,12±0,00 ^{c,A}	0,24±0,00 ^{b,A}	0,15±0,04 ^{c,B}	0,24±0,00 ^{b,B}	0,36±0,00 ^{a,A}	0,25±0,00 ^{b,A}	0,43±0,08 ^{a,A}
	T2	0,12±0,00 ^{c,A}	0,24±0,00 ^{b,A}	0,24±0,00 ^{b,AB}	0,34±0,04 ^{ab,AB}	0,30±0,08 ^{b,A}	0,31±0,09 ^{b,A}	0,43±0,08 ^{a,A}
	T3	0,12±0,00 ^{c,A}	0,25±0,00 ^{abc,A}	0,18±0,08 ^{bc,B}	0,30±0,09 ^{ab,AB}	0,37±0,00 ^{a,A}	0,37±0,17 ^{a,A}	0,37±0,00 ^{a,A}
	T4	0,12±0,00 ^{c,A}	0,26±0,03 ^{bc,A}	0,31±0,09 ^{b,A}	0,24±0,00 ^{bc,B}	0,31±0,09 ^{b,A}	0,37±0,08 ^{a,A}	0,37±0,18 ^{a,A}
	T5	0,11±0,03 ^{d,A}	0,25±0,00 ^{c,A}	0,25±0,00 ^{c,AB}	0,37±0,00 ^{ab,A}	0,30±0,09 ^{bc,A}	0,24±0,00 ^{c,A}	0,43±0,05 ^{a,A}
L*	T1	68,33±1,00 ^{e,D}	85,29±0,35 ^{bc,C}	88,25±0,54 ^{a,C}	83,81±0,17 ^{d,D}	88,04±0,10 ^{a,B}	86,47±0,02 ^{b,C}	84,68±0,41 ^{cd,D}
	T2	72,42±1,18 ^{e,C}	83,89±0,02 ^{b,D}	89,43±0,41 ^{a,B}	80,64±0,01 ^{d,E}	88,21±0,39 ^{a,B}	83,01±0,01 ^{bc,E}	82,21±0,16 ^{cd,E}
	T3	74,67±0,25 ^{g,B}	85,22±0,36 ^{e,C}	93,44±0,00 ^{a,A}	87,34±0,02 ^{d,B}	87,87±0,14 ^{c,B}	84,51±0,02 ^{f,D}	90,43±0,11 ^{b,B}
	T4	77,72±0,95 ^{e,A}	90,46±0,03 ^{c,A}	93,03±0,11 ^{a,A}	84,79±0,02 ^{d,C}	92,21±0,15 ^{ab,A}	89,63±0,12 ^{c,A}	91,54±0,02 ^{b,A}
	T5	74,81±0,97 ^{b,B}	88,28±0,60 ^{a,B}	89,17±0,23 ^{a,B}	88,11±0,04 ^{a,A}	88,28±0,11 ^{a,B}	87,75±0,61 ^{a,B}	85,96±0,03 ^{a,C}
Cor a*	T1	-0,62±0,03 ^{d,D}	-0,26±0,00 ^{b,B}	-0,08±0,01 ^{a,A}	-1,09±0,01 ^{e,D}	-0,60±0,02 ^{d,C}	-0,39±0,00 ^{c,C}	-1,19±0,09 ^{f,B}
	T2	-0,16±0,04 ^{b,B}	-0,39±0,02 ^{d,C}	-0,27±0,01 ^{c,B}	-1,45±0,00 ^{f,E}	-0,46±0,08 ^{d,B}	0,16±0,02 ^{a,A}	-0,65±0,04 ^{e,A}
	T3	-0,10±0,03 ^{b,B}	-0,21±0,03 ^{c,A}	-0,38±0,01 ^{e,C}	-0,32±0,02 ^{de,A}	-0,29±0,00 ^{cd,A}	0,12±0,00 ^{a,B}	-1,91±0,08 ^{f,C}
	T4	-0,25±0,05 ^{a,C}	-0,85±0,01 ^{c,D}	-0,73±0,01 ^{b,D}	-0,85±0,02 ^{c,B}	-1,12±0,04 ^{d,D}	0,81±0,01 ^{c,D}	-1,78±0,01 ^{e,C}
	T5	0,02±0,02 ^{a,A}	-0,44±0,03 ^{c,C}	-0,25±0,05 ^{b,B}	-0,92±0,01 ^{e,C}	-0,57±0,02 ^{d,C}	-0,41±0,01 ^{c,C}	-1,86±0,02 ^{f,C}

Tabela 3 – índice de peróxido e parâmetros de cor nas temperaturas de 4 °C, ambiente e 60 °C para micropartículas obtidas por diferentes tratamentos por *spray drying* durante os tempos de armazenamento de 0, 15 e 30 dias (continuação).

	0 dia	15 dias			30 dias			
		4 °C	T ambiente	60 °C	4 °C	T ambiente	60 °C	
	T1	9,99 ± 0,27 ^{e,A}	13,26±0,01 ^{c,B}	12,89±0,14 ^{c,B}	14,66±0,04 ^{b,B}	12,24±0,02 ^{d,C}	11,81±0,01 ^{d,C}	19,35±0,39 ^{a,AB}
	T2	10,89±0,22 ^{e,A}	13,44±0,01 ^{d,A}	14,06±0,11 ^{c,A}	15,41±0,01 ^{b,A}	13,23±0,32 ^{d,AB}	14,44±0,01 ^{c,A}	19,85±0,16 ^{a,A}
b*	T3	10,26±0,69 ^{c,A}	13,46±0,02 ^{b,A}	9,64±0,01 ^{c,E}	14,18±0,00 ^{b,C}	13,67±0,02 ^{b,A}	13,33±0,00 ^{b,B}	18,84±0,52 ^{a,B}
	T4	10,10±0,55 ^{e,A}	11,23±0,00 ^{c,D}	10,43±0,08 ^{de,D}	13,38±0,01 ^{b,D}	11,09±0,18 ^{cd,D}	10,95±0,12 ^{cd,D}	16,36±0,01 ^{a,D}
	T5	10,46±0,48 ^{d,A}	12,99±0,11 ^{b,C}	11,97±0,22 ^{c,C}	13,04±0,01 ^{b,E}	12,90±0,05 ^{b,B}	11,76±0,05 ^{c,C}	17,60±0,05 ^{a,C}

T ambiente: temperatura ambiente de 23 ± 2 °C; L*: luminosidade; a* e b*: cromaticidade; T1: Tratamento 1 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; T2: Tratamento 2 com temperatura de entrada de 100 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹; T3: Tratamento 3 com temperatura de entrada de 110 °C e taxa de alimentação de 0,2 L. h⁻¹; T4: Tratamento 4 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,1 L. h⁻¹; T5: Tratamento 5 com temperatura de entrada de 120 °C e taxa de alimentação de 0,3 L. h⁻¹. Média de três valores com desvio padrão. A mesma letra minúscula na linha indica que não houve diferenças significativas entre as médias cada tratamento em diferentes tempos e em diferentes temperaturas, e a mesma letra maiúscula na coluna indica que não houve diferenças significativas entre as médias de cada tratamento no mesmo parâmetro avaliado, segundo teste de Tukey (p > 0,05).

as micropartículas apresentassem uma maior concentração de peróxido no final do período de armazenamento, este valor ainda foi pequeno quando comparado ao óleo de chia *in natura*. Assim, as concentrações de peróxido permaneceram baixas durante todo o período de armazenamento, indicando, mais uma vez, que a encapsulação foi eficiente para evitar a oxidação do óleo de chia.

3.10.2 Cor

A avaliação da cor foi utilizada como meio indireto para estimar possíveis alterações nas micropartículas, como a desintegração de sua microestrutura por absorção de água e o escurecimento das micropartículas devido à oxidação do núcleo pela ação do oxigênio, entre outras. É possível verificar que na Tabela 3, o aumento da temperatura de entrada do *spray dryer* produz micropartículas com maior luminosidade (branca e luminosa). Em relação ao croma a^* , as micropartículas apresentaram tendência à cor verde, com exceção do tratamento T5, que apresentou tendência ao vermelho. Todas as micropartículas apresentaram tendência a amarelar devido ao croma b^* ser positivo.

O aumento do parâmetro L^* das micropartículas em relação ao óleo ocorre devido à cor dos materiais da parede maltodextrina (L^* de $98,39 \pm 0,14$, a^* de $-0,38 \pm 0,01$ e b^* de $1,55 \pm 0,03$) e goma arábica (L^* de $90,04 \pm 0,42$, a^* de $-0,29 \pm 0,02$ e b^* de $19,22 \pm 0,08$) que, portanto, promoveram a diluição característica da cor amarela do óleo de chia. A $60\text{ }^\circ\text{C}$, as micropartículas apresentaram menor luminosidade nos dois tempos de armazenamento quando comparadas às demais temperaturas, pois ocorreram reações de escurecimento não enzimáticas, como perdas de carotenoides, carboidratos e aminoácidos, formação de produtos da reação de Maillard e caramelização.

O óleo de chia apresentou valores do parâmetro a^* mais baixos quando comparado às micropartículas. O tratamento T1 em 15 dias de armazenamento e o tratamento T2 e T3 em 30 dias de armazenamento apresentaram os maiores valores do parâmetro a^* à temperatura ambiente. Enquanto os tratamentos T4 e T5 apresentaram valores de a^* maiores em 0 dias de armazenamento. Para os valores do parâmetro b^* , houve uma intensificação da cor amarela para todas as micropartículas durante o armazenamento em todas as temperaturas estudadas.

Essas diferenças nos parâmetros de cor são ocasionadas devido à diferença entre os tamanhos das partículas, porque quanto maior o tamanho das partículas, menos luz é dispersa e, conseqüentemente, a amostra parece ser mais colorida. Por outro lado, partículas

menores se espalham e refletem mais luz incidente, e a amostra, portanto, parece ser mais clara (GONZÁLEZ et al., 2016).

De acordo com Binsi et al. (2017), a oxidação de triacilgliceróis e ácidos graxos livres leva a alterações de cor, indicando o grau de deterioração de alimentos com alto teor de lipídios. Assim, a oxidação do óleo na superfície das micropartículas produziu produtos de oxidação mais intensos, incidindo nas mudanças de cor observadas durante o armazenamento.

3.11 ANÁLISE DE RMN DE ^1H HR-MAS PARA AS MICROPARTÍCULAS E RMN DE ^1H DO ÓLEO DE CHIA

A Ressonância Magnética Nuclear de sonda de alta resolução com giro no ângulo mágico (RMN HR-MAS) é uma estratégia multiuso que permite adquirir dados diretamente de amostras semi-sólidas ou do tipo gel em seus estados naturais, sem a necessidade de qualquer pré-tratamento da amostra (FLORES et al., 2019). Da mesma forma, a RMN HR-MAS, uma técnica analítica híbrida, tem sido utilizada para realizar experimentos com amostras complexas, semi-sólidas e heterogêneas, fornecendo espectros de alta resolução, análogos aos adquiridos na amostra em estado líquido (homogêneo).

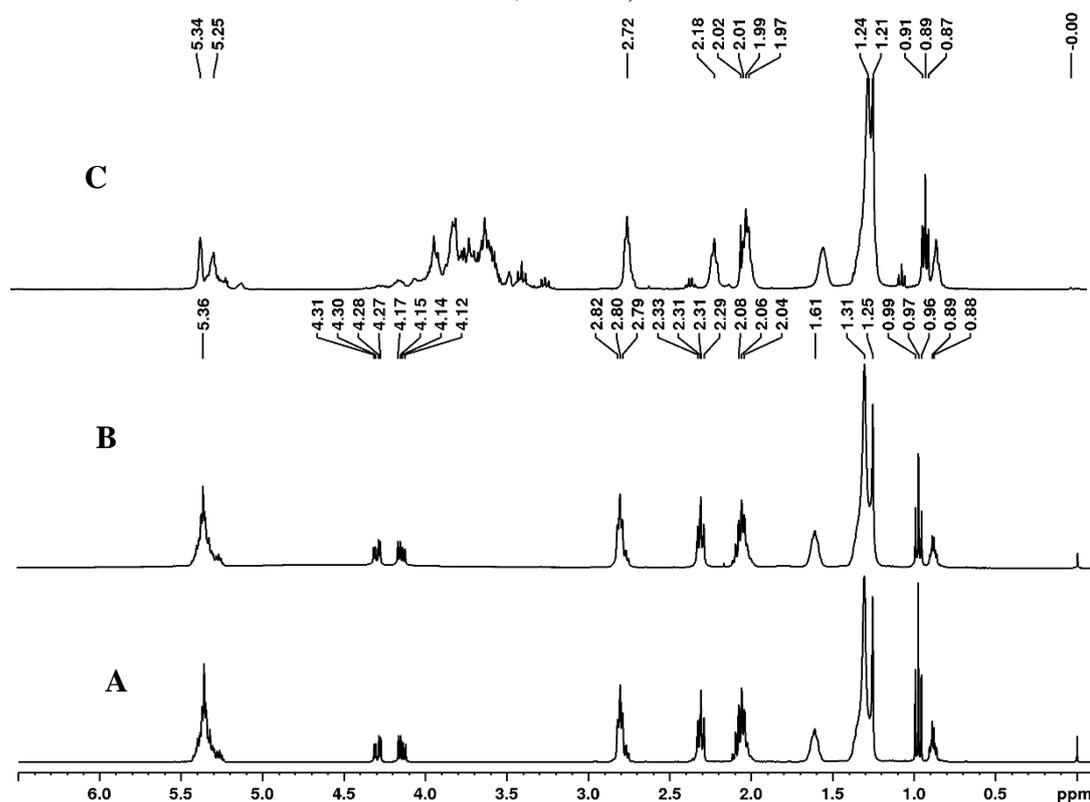
As características da(s) amostra(s) natural(is) que restringem a dinâmica molecular e o comportamento compacto da amostra heterogênea resultam em características inconvenientes bem conhecidas de suscetibilidade magnética, acoplamentos dipolares residuais e anisotropia por troca química. Assim, o HR-MAS foi introduzido como uma ferramenta não destrutiva, com base na mobilidade molecular nas amostras inchadas, associada à rotação rápida, de uma taxa de algumas centenas de hertz até vários quilohertz, na direção do ângulo mágico ($54,74^\circ$). Isso acarreta em efeitos indesejáveis de ampliação de linha, drasticamente reduzidos devido ao acoplamento dipolar e à anisotropia do deslocamento químico, resultando nos espectros HR-MAS como aqueles adquiridos para amostras equivalentemente homogêneas via RMN de estado líquido (SANTOS et al., 2018). Com o objetivo de comparar as características da matriz de ácidos graxos poli-insaturados presentes nas sementes de chia com o material microencapsulado e o óleo de chia produzido, análises do conteúdo de óleo de chia por espectroscopia de RMN foram realizadas, tanto nas sementes, material microencapsulado (tratamento 5), quanto no óleo de chia.

O objetivo desses experimentos foi comparar a capacidade do HR-MAS de ^1H em fornecer informações inequívocas sobre a identidade química do óleo de chia em diferentes amostras, como sementes ou amostras microencapsuladas, que foram comparadas com os

resultados da solução RMN de ^1H (Figura 4). Para esses experimentos, a amostra do tratamento 5 foi a escolhida como modelo.

A partir dos resultados, foi possível observar a similaridade dos espectros de RMN de ^1H obtidos a partir de HR-MAS com a espectroscopia de RMN. As instalações de manipulação mínima ou etapas de preparação que precedem a análise são vantagens associadas à espectroscopia de RMN, contribuindo para a integridade química de amostras complexas ou naturais. Nesse caso especial, o elevado teor de ômega-3 presente na semente de chia, analisado diretamente pelo HR-MAS, é preservado nas operações de extração, hidrólise e procedimentos de derivatizações, empregados quando são utilizadas técnicas cromatográficas, por exemplo.

Figura 4 – Espectro de RMN de ^1H a partir de sementes de chia (A, HR-MAS, 10 mg; CDCl_3 , 40 μL ; 400,13 MHz), óleo de chia (B, solução NMR, 200 μL de óleo; CDCl_3 , 600 μL ; 400,13 MHz) e das micropartículas do tratamento T5 (C, HR-MAS; 10 mg; D_2O , 40 μL ; 400,13 MHz).



As análises por HR-MAS da amostra microencapsulada foram testadas com CDCl_3 e D_2O (óxido de deutério) como solvente, uma vez que a mobilidade molecular está diretamente associada a uma melhor resolução espectral. Por esse motivo, os melhores resultados foram observados com D_2O como solvente (C, Figura 3) e comparados, pela

primeira vez, com espectros do óleo de chia (B) e análise de sementes (A). Além disso, o espectro HR-MAS de ^1H da amostra microencapsulada mostrou a presença de sinal a 0,89 ppm, característica do ômega-3, confirmando a incorporação de material de ácidos graxos nas micropartículas, que foram analisadas diretamente da amostra sem qualquer procedimento de pré-tratamento, garantindo a máxima preservação da identidade real da amostra e dos compostos presentes na matriz.

4 CONCLUSÃO

Com este estudo, foi possível produzir micropartículas de óleo de chia com goma arábica e maltodextrina utilizando a técnica de *spray drying*. Foi constatada que uma ligeira alteração nas condições do processo produz micropartículas com características diferentes, sendo o tratamento 4 (temperatura de entrada de 120 °C e fluxo de alimentação de 0,1 L. h⁻¹) o mais indicado para aplicação em produtos alimentícios, por ter apresentado melhores características físico-químicas, propriedades térmicas e estabilidade ao armazenamento.

A maioria dos tratamentos apresentou alta eficiência de encapsulação e tamanho médio de partícula menor que 4,1 µm, o que mostra um bom tamanho para aplicação em alimentos. O tempo de armazenamento do óleo de semente de chia foi significativamente estendido em todos os tratamentos de encapsulação realizados, indicados pela avaliação das micropartículas através do índice de peróxido e parâmetros de cor durante o armazenamento. Além disso, o perfil de ácidos graxos das micropartículas foi mantido e facilmente determinado (sem etapas de extração ou derivação) por RMN de ^1H .

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, S. U.; REDDY, K. K.; SWATHY, S. L.; SINGH, S. K.; KANJILAL, S.; PRASAD, R. B. N.; PANDEY, A. Enrichment of γ -linolenic acid in the lipid extracted from *Mucor zychae* MTCC 5420. **Food Research International**, v. 42, n. 4, p. 449–453, 2009.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**[Gaithersburg, Md.] : AOAC International, , 2005. Disponível em: <<https://search.library.wisc.edu/catalog/999794307402121>>

BILINSKI, K.; CHANG, D.; FAHEY, P.; BENSOUSSAN, A. Effect of omega-3 supplementation on the omega-3 blood index and fatty acid biomarkers in healthy individuals. **Advances in Integrative Medicine**, p. 10–15, 2019.

BINSI, P.; NAYAK, N.; SARKAR, P.; JEYAKUMARI, A.; ASHRAF, M.; NINAN, G.; RAVISHANKAR, C. Structural and oxidative stabilization of spray dried fish oil

microencapsulates with gum arabic and sage polyphenols: characterization and release kinetics. **Food Chemistry**, v. 15, n. 219, p. 158–168, 2017.

BOGER, B. R.; GEORGETTI, S. R.; KUROZAWA, L. E. Microencapsulation of grape seed oil by spray drying. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 263–270, 2018.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1248–1252, 2000.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, n. 4, p. 420–428, 2005.

CANO-HIGUITA, D. M.; ALEXANDER, H.; VÉLEZ, V.; REGINA, V.; TELIS, N. Microencapsulation of oleoresin in binary and ternary blends of gum Arabic, maltodextrin and modified starch. **Ciênc. Agrotec., Lavras**, v. 39, n. 2, p. 173–182, 2015.

CHEW, S. C.; TAN, C. P.; NYAM, K. L. Microencapsulation of refined kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil by spray drying using β -cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate. **Journal of Food Engineering**, v. 237, p. 78–85, 2018.

COPADO, C. N.; DIEHL, B. W. K.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Application of Maillard reaction products on chia seed oil microcapsules with different core/wall ratios. **LWT - Food Science and Technology**, v. 86, p. 408–417, 2017.

ESCALONA-GARCÍA, L. A.; PEDROZA-ISLAS, R.; NATIVIDAD, R.; RODRIGUEZ-HUEZO, M. E.; CARRILLO-NAVAS, H.; PÉREZ-ALONSO, C. Oxidation kinetics and thermodynamic analysis of chia oil microencapsulated in a whey protein concentrate-polysaccharide matrix. **Journal of Food Engineering**, v. 175, p. 93–103, 2016.

FAN, M.; HU, T.; ZHAO, S.; XIONG, S.; XIE, J.; HUANG, Q. Gel characteristics and microstructure of fish myofibrillar protein/cassava starch composites. **Food Chemistry**, v. 218, p. 221–230, 2017.

FERNANDES, R. V. DE B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/ starch/ maltodextrin/ inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 524–532, 2014.

FERNANDES, S. S.; TONATO, D.; MAZUTTI, M. A.; DE ABREU, B. R.; DA COSTA CABRERA, D.; D'OCA, C. D. R. M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Yield and quality of chia oil extracted via different methods. **Journal of Food Engineering**, v. 262, p. 200–208, 2019.

FLORES, I. S.; MARTINELLI, B. C. B.; PINTO, V. S.; QUEIROZ, L. H. K.; LIÃO, L. M. Important issues in plant tissues analyses by HR-MAS NMR. **Phytochemical Analysis**, v. 30, n. 1, p. 5–13, 2019.

GONZÁLEZ, A.; MARTÍNEZ, M. L.; PAREDES, A. J.; LEÓN, A. E.; RIBOTTA, P. D. Study of the preparation process and variation of wall components in chia (*Salvia hispanica* L.) oil microencapsulation. **Powder Technology**, v. 301, p. 868–875, 2016.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. Spray Drying of Tomato Pulp: Effect of Feed Concentration Athanasia. **Drying Technology**, v. 22, p. 2309–2330, 2004.

GUIMARÃES-INÁCIO, A.; FRANCISCO, C. R. L.; ROJAS, V. M.; LEONE, R. DE S.; VALDERRAMA, P.; BONA, E.; LEIMANN, F. V.; TANAMATI, A. A. C.; GONÇALVES, O. H. Evaluation of the oxidative stability of chia oil-loaded microparticles by thermal,

spectroscopic and chemometric methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 87, p. 498–506, 2018.

IXTAINA, V. Y.; JULIO, L. M.; WAGNER, J. R.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physicochemical characterization and stability of chia oil microencapsulated with sodium caseinate and lactose by spray-drying. **Powder Technology**, v. 271, p. 26–34, 2015.

IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Oxidative Stability of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil: Effect of Antioxidants and Storage Conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, p. 1077–1090, 2012.

JINAPONG, N.; SUPHANTHARIKA, M.; JAMNONG, P. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, v. 84, n. 2, p. 194–205, 2008.

LEE, J. K. M.; TAIP, F. S.; ABDULLA, H. Z. Effectiveness of additives in spray drying performance: a review. **Food Research**, v. 2, n. 6, p. 486–499, 2018.

KANG, Y. R.; LEE, Y. K.; KIM, Y. J.; CHANG, Y. H. Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. **Food Chemistry**, v. 272, p. 337–346, 2019.

MARTÍNEZ, M. L.; CURTI, M. I.; ROCCIA, P.; LLABOT, J. M.; PENCI, M. C.; BODOIRA, R. M.; RIBOTTA, P. D. Oxidative stability of walnut (*Juglans regia* L.) and chia (*Salvia hispanica* L.) oils microencapsulated by spray drying. **Powder Technology**, v. 270, p. 271–277, 2015.

MARTYSIAK-ZUROWSKA, D.; PUTA, M.; BARCZAK, N.; DABROWSKA, J.; MALINOWSKA-PAŃCZYK, E.; KIELBRATOWSKA, B.; KOŁODZIEJSKA, I. Effect of High Pressure and Sub-Zero Temperature on Total Antioxidant Capacity and the Content of Vitamin C, Fatty Acids and Secondary Products of Lipid Oxidation in Human Milk. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 67, n. 2, p. 117–122, 2017.

NAWI, N. M.; MUHAMAD, I. I.; MARSIN, A. M. The physicochemical properties of microwave-assisted encapsulated anthocyanins from *Ipomoea batatas* as affected by different wall materials. **Food Science and Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 91–99, 2015.

NOELLO, C.; CARVALHO, A. G. S.; SILVA, V. M.; HUBINGER, M. D. Spray dried microparticles of chia oil using emulsion stabilized by whey protein concentrate and pectin by electrostatic deposition. **Food Research International**, v. 89, p. 549–557, 2016.

PARTANEN, R.; RAULA, J.; SEPPANEN, R.; BUCHERT, J.; KAUPPINEN, E.; FORSSELL, P. Effect of Relative Humidity on Oxidation of Flaxseed Oil in Spray Dried Whey Protein Emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5717–5722, 2008.

POLAVARAPU, S.; OLIVER, C. M.; AJLOUNI, S.; AUGUSTIN, M. A. Physicochemical characterisation and oxidative stability of fish oil and fish oil-extra virgin olive oil microencapsulated by sugar beet pectin. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1694–1705, 2011.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195–1236, 1998.

RODEA-GONZÁLEZ, D. A.; CRUZ-OLIVARES, J.; ROMÁN-GUERRERO, A.; RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E.; VERNON-CARTER, E. J.; PÉREZ-ALONSO, C. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 102–109, 2012.

- ROJAS, V. M.; MARCONI, L. F. DA C. B.; GUIMARÃES-INÁCIO, A.; LEIMANN, F. V.; TANAMATI, A.; GOZZO, Â. M.; FUCHS, R. H. B.; BARREIRO, M. F.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; TANAMATI, A. A. C.; GONÇALVES, O. H. Formulation of mayonnaises containing PUFAs by the addition of microencapsulated chia seeds, pumpkin seeds and baru oils. **Food Chemistry**, v. 274, n. August 2018, p. 220–227, 2019.
- SAGAR, V. R.; SURESH KUMAR, P. Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: A review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 15–26, 2010.
- SANTOS, A. D. DA C.; FONSECA, F. A.; DUTRA, L. M.; SANTOS, M. DE F. C.; MENEZES, L. R. A.; CAMPOS, F. R.; NAGATA, N.; AYUB, R.; BARISON, A. 1H HR-MAS NMR-based metabolomics study of different persimmon cultivars (*Diospyros kaki*) during fruit development. **Food Chemistry**, v. 239, p. 511–519, 2018.
- SHAMAEI, S.; SEIIEDLOU, S. S.; AGHBASHLO, M.; TSOTSAS, E.; KHARAGHANI, A. Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 39, p. 101–112, 2017.
- TAN, L. W.; IBRAHIM, M. N.; KAMIL, R.; TAIP, F. S. Empirical modeling for spray drying process of sticky and non-sticky products. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 690–697, 2011.
- TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, R.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 347–357, 2016.
- TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 282–289, 2011.
- US-MEDINA, U.; JULIO, L. M.; SEGURA-CAMPOS, M. R.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Development and characterization of spray-dried chia oil microcapsules using by-products from chia as wall material. **Powder Technology**, v. 334, p. 1–8, 2018.
- US-MEDINA, U.; RUIZ-RUIZ, J. C.; QUINTANA-OWEN, P.; SEGURA-CAMPOS, M. R. *Salvia hispanica* mucilage-alginate properties and performance as an encapsulation matrix for chia seed oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 6, p. 1–9, 2017.
- ZAVAREZE, E. DA R.; TELLES, A. C.; MELLO EL HALAL, S. L.; DA ROCHA, M.; COLUSSI, R.; MARQUES DE ASSIS, L.; SUITA DE CASTRO, L. A.; GUERRA DIAS, A. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Production and characterization of encapsulated antioxidative protein hydrolysates from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) muscle and byproduct. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P1, p. 841–848, 2014.

**ARTIGO IV:
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÕES OBTIDAS COM ÓLEO
E MUCILAGEM CHIA**

RESUMO

O óleo de chia apresenta elevado teor de ácido linoleico e linolênico, os quais são ácidos graxos essenciais para o metabolismo humano. No entanto, a inserção desse óleo na dieta é limitada devido à insaturação dos ácidos graxos poli-insaturados, o que os torna muito suscetíveis à oxidação. O processo de obtenção de nanoemulsões de chia é uma técnica que auxilia na preservação dos componentes desse óleo, facilitando assim a adição em alimentos. O objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar nanoemulsões de óleo de chia usando mucilagem de chia como material de parede. As nanoemulsões foram desenvolvidas na presença e ausência de etanol e os teores de óleo de chia (0,043, 0,100 e 0,233 mL) e de mucilagem de chia (0,125, 0,250 e 0,375 g) em agitador de alta velocidade. Através do tamanho das partículas, índice de polidispersão, potencial zeta, eficiência de encapsulação e agitação foram escolhidos os tratamentos com etanol (T4E) e sem etanol (T4) com 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia, pois apresentaram os melhores resultados para aplicação em alimentos. As nanoemulsões escolhidas foram caracterizadas pelas determinações de pH, morfologia e análises térmicas e reológicas, verificando-se por meio dessas técnicas que o encapsulamento foi eficiente. Além disso, durante a avaliação da estabilidade ao armazenamento, verificou-se que o tratamento T4 sem etanol apresentou menor tamanho de partícula e menor variação no índice de polidispersão ao final do tempo de armazenamento em todas as temperaturas testadas. A avaliação da reologia durante o armazenamento, evidenciou que as nanoemulsões apresentaram comportamento pseudoplástico. Assim, concluiu-se que as nanoemulsões produzidas podem ser utilizadas pois facilitam a incorporação e preservação do óleo de chia nas formulações alimentares e tornando-as mais nutritivas.

Palavras-chave: Chia. Preservação. Ácidos graxos poli-insaturados. Etanol. Tecnofuncionalidade.

1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos ômega-3 são uma parte essencial da estrutura da membrana celular e são responsáveis por várias funções fisiológicas (BILINSKI et al., 2019). Portanto, eles estão associados a uma variedade de benefícios à saúde, como uma redução significativa na mortalidade por doenças cardiovasculares (ATEYA et al., 2017), distúrbios neurodegenerativos (THOMAS et al., 2015), câncer (AREDES et al., 2019; FABIAN; KIMLER; HURSTING, 2015), entre outras patologias. Devido ao fato de que os ácidos graxos essenciais (ômega-3 e ômega-6) não são sintetizados pelo metabolismo humano, é necessário que sejam ingeridos na dieta (MUDGIL, 2019). Esses ácidos graxos poli-insaturados são consumidos principalmente a partir de óleos derivados de peixes gordurosos, no entanto, uma fonte que ganhou destaque potencial são as sementes de chia (FERNANDES et al., 2019).

A semente de chia tem cerca de 28 a 32% de óleo, rico em ácidos graxos poli-insaturados, especialmente ômega-3 (ácido linolênico, ~68%), maior que qualquer fonte vegetal conhecida, e ômega-6 (ácido linoleico, ~19%). Além disso, apresenta outros compostos bioativos, como tocoferóis, polifenóis, fitoesteróis, carotenóides e fosfolípidios (FERNANDES et al., 2019; JULIO et al., 2019). Portanto, o óleo de chia é uma matéria-prima importante para a obtenção de produtos alimentícios enriquecidos com ômega-3 (CASTEJÓN et al., 2019). Embora o perfil de ácidos graxos do óleo de chia seja nutricionalmente favorável, o alto grau de insaturação os torna muito suscetíveis à oxidação (IXTAINA et al., 2015).

A oxidação leva à formação de sabores e odores desagradáveis, reduzindo a vida útil do produto e promovendo a geração de radicais livres, que podem ter efeitos fisiológicos negativos no organismo. Assim, o uso de tecnologias alternativas, como a encapsulação, é necessária para retardar o processo de oxidação, mantendo a estabilidade e as propriedades nutricionais do óleo de semente de chia e possibilitando sua incorporação nos alimentos (ALCÂNTARA et al., 2019).

Existem várias técnicas de encapsulação, incluindo aquela baseada em nanoemulsão, e sua aplicação prospectiva no encapsulamento de óleo para evitar a degradação oxidativa e a facilidade de adição na formulação de alimentos, ganharam destaque (SHARMA et al., 2019). As nanoemulsões apresentam várias vantagens em comparação com outras técnicas de encapsulação, como boa dispersibilidade da água, melhores propriedades ópticas (mais translúcidas), melhor estabilidade física (contra separação gravitacional e agregação de

partículas) e maior biodisponibilidade dos compostos bioativos lipofílicos incorporados a elas (KARTHIK; EZHILARASI; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2015; KOMAIKO; SASTROSUBROTO; MCCLEMENTS, 2016). A utilização de etanol em nanoemulsões é uma estratégia pois reduz a constante dielétrica do meio acarretando em uma formação uniforme de partículas (JOSHI et al., 2017). Além disso, o etanol é um solvente GRAS (geralmente reconhecido como seguro), tornando-se um processo verde.

Muitos compostos podem ser usados como material de parede para a encapsulação. A mucilagem de chia é um heteropolissacarídeo aniônico de alta viscosidade, mesmo em baixa concentração, com fibras alimentares (72%) sendo seu principal componente (FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2017; TIMILSENA et al., 2016b). O teor de proteínas (10%) da mucilagem de chia favorece as propriedades emulsificantes, enquanto o alto teor de carboidratos (80%) incluindo as fibras favorecem as propriedades de encapsulação, pois tendem a formar géis (CAMPO et al., 2017; FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2017). Além disso, a mucilagem possui uma capacidade de retenção de óleo adequada, o que é vantajoso para a retenção de compostos ativos à base de óleo (SEGURA-CAMPOS et al., 2014). Por esses motivos, a mucilagem da chia é um polímero promissor para ser usado como material de parede. Já foi utilizado em várias técnicas de encapsulação, individualmente (CAMPO et al., 2017; STEFANI et al., 2019) ou em conjunto com o isolado de proteína de chia (TIMILSENA et al., 2016b) e caseinato de sódio, lactose, maltodextrina e fração rica em proteínas da chia (US-MEDINA et al., 2018).

Assim, combinando o desafio de manter as propriedades do óleo de semente de chia, bem como dos ácidos graxos poli-insaturados, com a necessidade de sua presença na dieta humana, este estudo teve como objetivo encapsular o óleo de chia pela técnica de nanoemulsões, avaliando o uso de etanol e mucilagem de chia como material de parede, e caracterizar as nanoemulsões com as melhores propriedades tecno-funcionais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

As sementes comerciais de chia usadas para a extração da mucilagem de chia foram compradas em mercado local de Mérida, México. O óleo de chia foi obtido por prensagem (FERNANDES et al., 2019). Todos os reagentes utilizados na formulação de nanoemulsão e determinações químicas foram de grau analítico.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Obtenção da mucilagem de chia

A mucilagem de chia foi obtida conforme Fernandes e Salas-Mellado et al. (2017) com modificações. As sementes de chia e água foram colocadas na proporção de 1:40 (semente: água), com agitação de 6500 rpm (IKA, T25 digital, México) durante 1 h e 30 min a temperatura ambiente. Após, a mucilagem formada foi separada da semente por filtração em filtro de pano. O filtrado foi centrifugado (Beckman, GS-15R, EUA) a 5985 \times g por 15 min. O sobrenadante (mucilagem) foi seco a 50 °C por 10 h e armazenado sob refrigeração (4 °C) em vidros selados e protegidas contra a permeação de luz.

2.2.2 Preparo das nanoemulsões

As nanoemulsões de óleo de chia foram desenvolvidas utilizando mucilagem de chia como material de parede, avaliando o uso ou não de etanol e adicionadas de Tween 20 (0,4%, v/v) como surfactante. As nanoemulsões de óleo em água foram produzidas de acordo com Campo et al. (2017), com modificações. A fase aquosa foi composta por Tween 20, óleo de chia e etanol e a fase orgânica foi composta por mucilagem de chia e água, sendo previamente mantida por agitação durante 1 h. A fase aquosa foi lentamente adicionada a fase orgânica e as nanoemulsões foram misturadas por 15 min a 10000 rpm, utilizando homogeneizador Ultraturrax (IKA, T25 digital, México).

As quantidades dos componentes foram determinadas por planejamento experimental fatorial 2² com três repetições no ponto central. As variáveis independentes testadas foram a concentração de mucilagem de chia, de 0,5 a 1,5%, e a proporção de óleo de chia/ Tween 20 entre 30 e 70% (v/v). A Tabela 1 apresenta os experimentos realizados com o planejamento, bem como as quantidades dos componentes utilizados em cada tratamento.

As nanoemulsões foram armazenadas sob refrigeração (4 °C) em frascos de vidros selados e protegidas contra a permeação de luz e gás até a avaliação. As respostas (variáveis dependentes) analisadas foram o tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, eficiência de encapsulação e estabilidade através do teste de centrifugação.

2.2.3 Tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta

A distribuição do tamanho das partículas, o índice de polidispersão (IPD) e o potencial zeta das nanoemulsões foram determinados por espalhamento dinâmico de luz (DLS - *Dynamic Light Scattering*) (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido). As amostras de nanoemulsão foram diluídas em água ultrapura à temperatura ambiente. Para a determinação de tamanho de partícula e de índice de polidispersão, cada amostra foi analisada em célula de poliestireno descartável (DTS0012, Malvern Instruments). O potencial zeta foi determinado com célula dipolar universal (ZEN1012, Malvern Instruments). Os resultados foram analisados pelo programa Zetasizer 7.12.

Tabela 1 – Formulações de encapsulamento de óleo de chia por nanoemulsões.

Trat.	X ₁ (%)	X ₂ (%)	Mucilagem de chia (g)	Óleo de chia (mL)	Tween 20 (mL)	Água (mL)	Etanol (mL)	
							Sem	Com
1	-1 (0,5)	-1 (30)	0,125	0,043	0,1	25	0	4
2	+1 (1,5)	-1 (30)	0,375	0,043	0,1	25	0	4
3	-1 (0,5)	+1 (70)	0,125	0,233	0,1	25	0	4
4	+1 (1,5)	+1 (70)	0,375	0,233	0,1	25	0	4
5	0 (1,0)	0 (50)	0,250	0,100	0,1	25	0	4
6	0 (1,0)	0 (50)	0,250	0,100	0,1	25	0	4
7	0 (1,0)	0 (50)	0,250	0,100	0,1	25	0	4

Trat.: Tratamento; X₁: mucilagem de chia; X₂: óleo de chia.

2.2.4 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi verificada pela medição do óleo nanoencapsulado total e do óleo livre na superfície das nanopartículas. O óleo livre foi determinado de acordo com Timilsena et al. (2016a). A Equação 1 apresenta a determinação da eficiência de encapsulação, em que Óleo_{Total} é a quantidade total de óleo adicionado à formulação da nanoemulsão e Óleo_{Superfície} é a quantidade de óleo livre na nanoemulsão.

$$\text{Eficiência de encapsulação (\%)} = \frac{\text{Óleo}_{\text{Total}} - \text{Óleo}_{\text{Superfície}}}{\text{Óleo}_{\text{Total}}} \times 100 \quad (1)$$

2.2.5 Teste de centrifugação

Para a avaliação da estabilidade preliminar, o teste de centrifugação das amostras de nanoemulsão foi realizado submetendo as nanoemulsões a ciclos de 677, 2415 e 3381 \times g (Beckman, GS-15R, EUA) por 15 min, para avaliação da separação de fases (MARUNO; DA ROCHA-FILHO, 2010). A Equação 2 apresenta o cálculo da estabilidade (%).

$$\text{Estabilidade (\%)} = \frac{\text{Altura de separação da nanoemulsão}}{\text{Altura total da nanoemulsão}} \times 100 \quad (2)$$

2.3 AVALIAÇÃO DAS NANOEMULSÕES

As nanoemulsões que apresentaram as nanopartículas produzidas nas melhores condições (tratamento 4 - 0,375g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia - com e sem etanol) foram caracterizadas em relação as propriedades físico-químicas (pH), térmicas (teste de estresse e Calorimetria Diferencial de Varredura - DSC), óptica (Microscopia Eletrônica de Transmissão - TEM) e de estabilidade ao armazenamento (sinérese, cor e viscosidade).

2.3.1 pH

O pH das nanoemulsões foi determinado em medidor de pH (Quimis, Q400AS, Brasil) à temperatura ambiente (CAMPO et al., 2017).

2.3.2 Propriedades térmicas

2.3.2.1 Teste de estresse térmico

O estresse térmico foi avaliado de acordo com Bernardi et al. (2011) com modificações. As nanoemulsões foram aquecidas em banho térmico variando a temperatura de 40 até 100 °C. A temperatura foi aumentada em 5 °C a cada 30 min. No final de cada ciclo (30 min) foram avaliadas as aparências macroscópicas das nanoemulsões.

2.3.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura – DSC

As características térmicas do óleo de chia não encapsulado e das nanoemulsões foram determinadas por Calorímetro Diferencial de Varredura (Shimadzu, modelo DSC-60, Japão). A análise de DSC foi realizada com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, na faixa de temperatura de -25 a 300 °C e vazão atmosférica de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹.

2.3.3 Morfologia

A visualização da morfologia interna das nanopartículas de óleo de chia foi realizada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), em microscópio Tecnai G2-12 SpiritBiotwin FEI (Oregon, EUA), com tensão de aceleração de 120 kV. As nanopartículas foram diluídas em água ultrapura (1:10, m/v) e uma gota da diluição foi adicionada na grade (*grid*) por 5 min. Posteriormente, o excesso de amostra foi retirada e uma gota de acetato de uranila (5%, m/v) foi depositada, permanecendo a grade por repouso durante 24 h (CAMPO et al., 2017). As imagens foram observadas com uma ampliação de 200k.

2.3.4 Estabilidade ao armazenamento

A estabilidade ao armazenamento das nanoemulsões de óleo de chia foi testada armazenando as amostras a -18 °C, 4 °C e temperatura ambiente (~25 °C) por 28 dias, monitorando o tamanho das partículas, índice de polidispersão e potencial zeta de acordo com o item 2.3, sinérese, cor e reologia.

2.3.4.1 Sinérese

A sinérese foi avaliada nas nanoemulsões armazenadas à temperatura de refrigeração (4 °C) e temperatura de congelamento (-18 °C). A altura da água exsudada foi medida e a sinérese foi determinada pela Equação 3. As medições foram feitas nos tempos de 0, 7, 14, 21 e 28 dias.

$$\text{Sinérese (\%)} = \frac{\text{Altura de água exsudada}}{\text{Altura inicial da nanoemulsão}} \times 100 \quad (3)$$

2.3.4.2 Cor

A cor das nanoemulsões foi determinada em Colorímetro (Minolta, modelo CR400, Japão). A análise foi baseada no sistema CIE $L^*a^*b^*$ que foi definido pela CIE (Comissão Internacional de Iluminação) em 1976 para determinar os valores L^* (luminosidade), a^* e b^* (coordenadas de cromaticidade). A partir desses valores, foram determinados o parâmetro *chroma* (intensidade ou pureza da cor - C^*), o ângulo *hue* (ângulo de tonalidade - h°) e a diferença total de cor (DTC) de acordo com as Equações 4, 5 e 6, respectivamente. As amostras foram coletadas nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento.

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (4)$$

$$h^\circ = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (5)$$

$$DTC = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (6)$$

Onde “ a_0^* ”, “ b_0^* ” e “ L_0^* ” são os parâmetros obtidos no dia zero e “ a^* ”, “ b^* ” e “ L^* ” os parâmetros obtidos no dia da amostragem.

2.3.4.3 Reologia

As medidas reológicas foram realizadas utilizando o Reômetro Discovery Hybrid HR-2 (TA Instruments, New Castle, DE, EUA) com geometria de placa de 40 mm de diâmetro (ERÇELEBI; IBANOĞLU, 2009). O comportamento reológico das nanoemulsões no estado estacionário foi estudado a 25 °C, na faixa de cisalhamento de 0,1 a 1000 s^{-1} , com folga (*gap*) de 1 mm. Todas as medidas foram realizadas em duplicata nos tempos 0, 14 e 28 dias. O índice de fluxo foi calculado com o modelo da lei de potência, utilizando o software TRIOS (TA Instruments, New Castle, DE, EUA). A equação 7 apresenta o modelo utilizado.

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad (7)$$

Onde “ τ ” corresponde a tensão de cisalhamento (Pa), “K” ao índice de consistência (Pa.sⁿ), “ $\dot{\gamma}$ ” a taxa de cisalhamento ou taxa de deformação (s⁻¹) e “n” o índice de comportamento (adimensional). A região viscoelástica linear foi determinada por testes de varredura de amplitude a uma frequência de 1 Hz e uma tensão crescente de 0,01 a 100% (dados não mostrados). Os testes de varredura de frequência foram determinados pela aplicação de deformação a 1% na região viscoelástica linear em uma faixa de frequência entre 0,1 e 100 rad. s⁻¹ a 25 °C. O módulo elástico ou de armazenamento (G') e o módulo viscoso ou de perda (G'') foram calculados em função da frequência dinâmica. A análise dos dados foi realizada no *software* TRIOS (TA Instruments, New Castle, DE, EUA).

2.3.5 Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas pelo menos em triplicata e os dados foram comparados utilizando variância (ANOVA), com exceção da viscosidade. Os valores médios obtidos foram comparados pelo teste de Tukey, através do *software* Statistica 5.0 (Statsoft, EUA), com nível de significância (α) em $p < 0,05$. As respostas do planejamento experimental e as propriedades avaliadas durante a estabilidade ao armazenamento também foram analisadas por meio da análise multifatorial (ANOVA). A análise fatorial exploratória com significância (α) em $p < 0,05$, por meio da Statgraphics, foi utilizada para determinar o tratamento com as melhores propriedades tecno-funcionais, utilizando como fatores o uso de etanol e tratamentos realizados, e o estudo das nanoemulsões no armazenamento utilizando como fatores o uso de etanol, temperatura e tempos de amostragem.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DESENVOLVIMENTO DA NANOEMULSÃO

Para determinar as melhores quantidades dos componentes das nanoemulsões com óleo de chia com base nas respostas de tamanho das partículas, índice de polidispersão (IPD), potencial zeta, eficiência de encapsulação e teste de centrifugação, foi realizada uma análise estatística individual (ANOVA) para os tratamentos com e sem etanol, aplicando uma análise fatorial usando como fatores o uso de etanol e os tratamentos. A análise fatorial foi utilizada para verificar se o uso ou não de etanol se correlacionava com as diferentes quantidades de

mucilagem e com a relação óleo de chia/ Tween 20 utilizadas nos tratamentos, e pode ser visualizada através da Figura 1 do Apêndice.

3.1.1 Tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta

A Tabela 2 apresenta as respostas do planejamento experimental realizado. Com exceção do tratamento 1 sem etanol, todos os demais tratamentos apresentaram tamanho de partícula dentro da faixa característica de nanoemulsões (50 – 500 nm) utilizadas para preparações industriais como alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (CHAARI et al., 2018). O tratamento 1 foi formulado com 0,125 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia, indicando que quando o etanol não é usado, baixas quantidades dos componentes principais contribuem para tamanhos de partículas maiores, porque, como as quantidades adicionadas são pequenas, as partículas tendem a se agregar.

Em relação à análise fatorial, todas as interações entre fatores (uso do etanol e tratamentos) apresentaram homogeneidade ($p > 0,05$). Os tratamentos 2, 6 e 7 não diferiram significativamente ($p > 0,05$) no tamanho das partículas ao se considerar o uso de etanol. Os demais tratamentos apresentaram diferença significativa. Nos tratamentos sem etanol, verificou-se que quanto mais mucilagem de chia é adicionada às nanoemulsões, menor o tamanho das partículas, independentemente da quantidade de óleo de chia adicionado. Assim, isso corrobora que o tamanho das partículas de óleo de chia encapsuladas está diretamente relacionado à quantidade adicionada de mucilagem de chia. O tratamento 2 promoveu o menor tamanho de partícula, independentemente do uso ou não de etanol.

Campo et al. (2017) também encapsularam óleo de chia com mucilagem de chia e encontraram valores para o diâmetro médio de $205 \pm 4,24$ nm. Stefani et al. (2019) utilizaram mucilagem de semente de chia para a nanoencapsulação de óleo de linhaça e encontraram valores mais altos para o diâmetro médio ($356 \pm 2,83$ nm). Variações no diâmetro de nanopartículas que utilizam goma ou mucilagem como material de parede podem ser influenciadas por fatores como a origem, concentração, agitação e emulsificante utilizado (GHAYEMPOUR; MONTAZER; MAHMOUDI RAD, 2015).

O índice de polidispersão (IPD) é adimensional e indica a heterogeneidade (monodispersa ou polidispersa) dos tamanhos das partículas em uma mistura. Em relação ao IPD, os valores estavam entre 0,4 e 0,6, o que é característico de uma distribuição muito ampla com curvas bimodais (a Figura 2 do Apêndice apresenta as curvas de distribuição de tamanho das partículas de óleo de chia encapsuladas por mucilagem de chia nos diferentes

Tabela 2 – Respostas do planejamento experimental para a variações de mucilagem de chia e óleo de chia.

Trat.	Tamanho de partícula (nm)	IPD	Potencial zeta (mV)	Eficiência de encapsulação (%)	Estabilidade (%)			
					677 xg	2415 xg	3381 xg	
Sem etanol	1	637,33 ± 16,34 ^a	0,637 ± 0,040 ^a	-30,84 ± 1,45 ^c	93,33 ± 1,65 ^b	100,0 ± 0,0 ^a	87,6 ± 1,9 ^b	87,5 ± 1,2 ^b
	2	153,68 ± 3,64 ^d	0,414 ± 0,009 ^d	-36,66 ± 1,86 ^d	93,49 ± 1,45 ^b	100,0 ± 0,0 ^a	96,4 ± 2,0 ^a	94,8 ± 0,3 ^a
	3	291,25 ± 19,16 ^b	0,455 ± 0,045 ^{cd}	-23,04 ± 0,39 ^a	97,01 ± 0,99 ^a	100,0 ± 0,0 ^a	95,8 ± 1,5 ^a	93,9 ± 1,4 ^a
	4	160,48 ± 2,12 ^d	0,547 ± 0,027 ^{abc}	-27,18 ± 0,89 ^b	96,61 ± 0,36 ^a	100,0 ± 0,0 ^a	95,4 ± 0,6 ^a	92,7 ± 2,1 ^a
	5	247,65 ± 8,84 ^c	0,554 ± 0,007 ^b	-24,38 ± 1,70 ^a	94,55 ± 0,92 ^{ab}	100,0 ± 0,0 ^a	97,3 ± 0,0 ^a	92,2 ± 0,4 ^a
	6	245,50 ± 4,53 ^c	0,570 ± 0,063 ^{ab}	-25,53 ± 1,02 ^{ab}	95,30 ± 0,14 ^{ab}	100,0 ± 0,0 ^a	98,4 ± 1,4 ^a	93,1 ± 2,3 ^a
	7	236,75 ± 8,55 ^c	0,573 ± 0,010 ^{ab}	-25,06 ± 1,20 ^{ab}	94,80 ± 1,49 ^{ab}	100,0 ± 0,0 ^a	97,4 ± 0,1 ^a	94,8 ± 0,3 ^a
Com etanol	1	363,23 ± 21,80 ^A	0,572 ± 0,007 ^A	-30,06 ± 1,75 ^{BC}	94,07 ± 0,16 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	99,2 ± 1,4 ^A	98,3 ± 1,5 ^A
	2	170,28 ± 4,69 ^E	0,491 ± 0,076 ^A	-25,80 ± 1,19 ^A	88,72 ± 1,48 ^B	100,0 ± 0,0 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	75,6 ± 0,8 ^C
	3	181,03 ± 8,88 ^{DE}	0,501 ± 0,042 ^A	-28,50 ± 0,99 ^B	97,25 ± 0,67 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	98,4 ± 1,4 ^A	97,5 ± 2,5 ^A
	4	213,25 ± 9,81 ^C	0,600 ± 0,043 ^A	-39,83 ± 1,24 ^D	96,12 ± 2,58 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	98,3 ± 1,5 ^A	84,1 ± 1,8 ^B
	5	293,10 ± 17,42 ^B	0,518 ± 0,121 ^A	-32,15 ± 0,64 ^C	96,45 ± 1,06 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	98,8 ± 1,4 ^A
	6	214,15 ± 7,07 ^C	0,515 ± 0,014 ^A	-31,60 ± 0,64 ^C	94,70 ± 2,12 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	99,2 ± 1,3 ^A
	7	208,78 ± 7,75 ^{CD}	0,504 ± 0,040 ^A	-46,13 ± 1,07 ^E	95,33 ± 1,76 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	100,0 ± 0,0 ^A

Trat.: Tratamento; Tratamento 1: 0,125 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia; Tratamento 2: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia; Tratamento 3: 0,125 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; Tratamento 4: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; Tratamento 5, 6 e 7: 0,250 g de mucilagem de chia e 0,1 mL de óleo de chia; IPD = índice de polidispersão. Média de três valores com desvio padrão. A mesma letra minúscula ou maiúscula na coluna indica que não houve diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste de Tukey (p > 0,05).

tratamentos). Os tratamentos com etanol não apresentaram diferença significativa entre eles, diferentemente daqueles que não foi usado o etanol.

Os tamanhos variados das partículas estão diretamente correlacionados com a constante dielétrica do meio e o uso de etanol, que em comparação a outros solventes, como o metanol, é mais homogêneo devido à formação uniforme de partículas, resultante da redução da constante dielétrica do meio (JOSHI et al., 2017). Da mesma forma, Yang, Cho e Park (2009) examinaram o efeito da adição de etanol às nanoemulsões e verificaram que o etanol mantém constante o tamanho de gotícula inicial das nanoemulsões. Embora o uso exclusivo de etanol não tenha causado diferença significativa, quando a interação entre os fatores uso de etanol e diferentes tratamentos foi testada, verificou-se que, no IPD, o uso ou não de etanol promove diferença significativa para os tratamentos 2 e 6.

O potencial zeta reflete a medição indireta da superfície da partícula, que é influenciada por mudanças na interface com o meio dispersante devido à dissociação de grupos funcionais na superfície da partícula ou à adsorção de espécies iônicas presentes no meio aquoso dispersante. Partículas com um potencial zeta maior que 30 mV e menor que -30 mV são consideradas fisicamente estáveis. No entanto, dependendo do material da parede utilizado, bem como do surfactante, as suspensões podem ser estáveis, mesmo com valores de potencial zeta de cerca de 20 mV, ou até menores (MISHRA et al., 2009).

As partículas obtidas apresentaram potencial zeta negativo devido à presença de mucilagem de chia, o que confere um potencial negativo à interface das partículas devido à presença de cadeias carboxílicas em sua composição (LIN; DANIEL; WHISTLER, 1994). Como o surfactante utilizado (Tween 20) é de caráter não-iônico, ele não interfere no potencial apresentado pelas partículas.

Em relação à análise fatorial do potencial zeta, apenas o tratamento 1 não apresentou diferença significativa considerando a interação dos fatores. Para os demais tratamentos que apresentaram diferença significativa e, com exceção do tratamento 2, as nanoemulsões sem etanol apresentaram maior potencial zeta. Analisando individualmente o uso ou não de etanol, o potencial zeta de nanoemulsões sem etanol indicou que eram estáveis quando menos óleo de chia foi adicionado às formulações (tratamento 1 e 2), com o menor potencial (-36,66 mV) para o tratamento 2 e maior potencial zeta (-23,04 mV) para o tratamento 3. Enquanto para as nanoemulsões de etanol (também estáveis) aconteceu o contrário, a baixa adição dos componentes resultou em maior potencial zeta, com o maior valor obtido (-25,80 mV) para o tratamento 2 e o menor valor (-46,13 mV) para o tratamento

7. Os resultados de potenciais zeta indicaram que as nanoemulsões produzidas são fisicamente estáveis, não mostrando tendência a criar agregados entre as partículas.

Os valores de potencial zeta encontrados neste estudo foram melhores que os encontrados por Campo et al. (2018), onde obtiveram $-14,8 \pm 0,42$ mV para nanoemulsão de zeaxantina com mucilagem de *Opuntia monacantha*, e por Stefani et al. (2019), onde obtiveram $-22,75 \pm 3,89$ mV para nanoemulsão de óleo de linhaça com mucilagem de chia.

3.1.2 Eficiência de encapsulação

A eficiência da encapsulação é um parâmetro importante para avaliar a formação de nanopartículas e corresponde à quantificação do composto bioativo encapsulado (CAMPO et al., 2018). De acordo com a Tabela 2, todos os tratamentos, exceto o tratamento 2 com etanol, apresentaram eficiência de encapsulação superior a 93%, comprovando a eficácia da técnica de encapsulação utilizada e o potencial da mucilagem de chia como material estruturante para compostos bioativos de nanocápsulas. A eficiência de encapsulação pode ter sido ocasionada pelo efeito emulsificante da mucilagem de chia, cerca de 63,7% (FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2018), que reduz as perdas para a fase aquosa e contribui para a eficiência e estabilidade da encapsulação desses compostos.

Por meio da análise fatorial, com exceção do tratamento 2, que apresentou maior eficiência quando o etanol não foi utilizado, os outros tratamentos não mostraram diferença significativa considerando a interação dos fatores. Analisando individualmente, verificou-se que os tratamentos com o menor teor de óleo de chia resultaram em eficiências de encapsulação significativamente menores.

3.1.3 Teste de centrifugação

Sob condições ambientais desfavoráveis, as nanoemulsões podem ser facilmente desestabilizadas devido à sua instabilidade termodinâmica. A presença da força centrífuga pode acelerar o movimento browniano, fazendo com que as partículas se aproximem e, assim, aumentar as chances de ocorrência de processos de desestabilização (CARPENTER; SAHARAN, 2017; ZHAI et al., 2018). O teste de centrifugação é importante para verificar como as nanoemulsões se comportarão quando adicionadas aos alimentos que requerem agitação durante sua produção.

A estabilidade foi de 100% em todos os tratamentos quando a centrifugação a 677 xg foi utilizada. Para a análise fatorial do teste de centrifugação a 2415 xg, verificou-se que os tratamentos 1 e 2 apresentaram diferença significativa ao considerar o uso de etanol, com maior estabilidade para aqueles com etanol. Para a análise fatorial, no teste de centrifugação a 3381 xg, o tratamento 2 apresentou a maior diferença significativa na interação fatorial. Além disso, verificou-se que nos pontos centrais do planejamento (tratamentos 5, 6 e 7) o uso de etanol promoveu maior estabilidade à nanoemulsão.

3.1.4 Determinação das nanoemulsões para avaliação tecno-funcional

Tanto o etanol quanto as diferentes condições de tratamento foram os principais fatores que afetaram o tamanho das partículas. As partículas encapsuladas com o tratamento 4 apresentaram tamanhos pequenos, 160,48 nm para nanoemulsão sem etanol e 213,25 nm para nanoemulsão com etanol. A distribuição de partículas foi considerável, mostrando que nesses tratamentos uma boa distribuição das partículas foi obtida. O alto potencial zeta dos tratamentos escolhidos confirmou que a mucilagem de chia foi depositada na superfície das partículas de óleo de chia por interações eletrostáticas, bem como a alta eficiência de encapsulação. Além disso, os testes de centrifugação mostraram que as nanoemulsões são estáveis com baixa agitação e que não houve diferença significativa com o aumento da agitação nesses mesmos tratamentos.

Considerando todos os efeitos individuais e fatoriais, os tratamentos 4 sem (T4) e com etanol (T4E) foram os escolhidos para realizar uma caracterização mais específica para aplicação futura.

3.2 AVALIAÇÃO DAS NANOEMULSÕES ESCOLHIDAS

3.2.1 pH

O pH é um parâmetro que monitora a estabilidade das nanoemulsões, pois possíveis alterações em seu valor indicam a ocorrência de reações químicas ou crescimento bacteriano, o que pode comprometer a qualidade do produto final. O pH da nanoemulsão T4 foi de $5,90 \pm 0,01$ e a nanoemulsão T4E foi de $5,79 \pm 0,17$, não mostrando diferença significativa entre elas. Resultados semelhantes foram obtidos por Pengon et al. (2018), que

avaliaram as propriedades químicas das nanoemulsões do óleo de coco e relataram valores de pH de 5,0 a 6,0.

3.2.2 Propriedades térmicas

A estabilidade térmica das nanoemulsões deve ser cuidadosamente avaliada para garantir que não haja influência adversa das condições ambientais no curso do processamento, transporte e aplicação em alimentos (SHU et al., 2018). Durante o processamento de alimentos, por exemplo, ocorre a destruição térmica de patógenos e a inativação de enzimas, para sua preservação, por meio de tratamentos térmicos como pasteurização e esterilização (MICALI; FIORINO; PARISI, 2016).

3.2.2.1 Teste do estresse térmico

Os testes de estresse térmico são baseados no fato de que ocorre um aumento na energia cinética ao aquecer um sistema de partículas, o que pode levar à desidratação de surfactantes hidrofílicos, no caso do Tween 20, alterando sua solubilidade na água. Mudanças repentinas de temperatura são boas maneiras de avaliar a estabilidade da nanoemulsão, prevendo sua vida útil e em quais alimentos pode ser aplicada (SEIBERT et al., 2019).

A Tabela 3 apresenta os resultados do estresse térmico de amostras de nanoemulsão conforme o aumento da temperatura. A nanoemulsão T4 apresentou maior resistência à modificação macroscópica da aparência do que a nanoemulsão T4E. A nanoemulsão T4 apresentou ligeira alteração na aparência, devido à mudança de cor, a partir de 65 °C, enquanto a nanoemulsão T4E já apresentava uma aparência diferente a 55 °C. Até 85 °C, não havia a formação de creme ou separação de fases, mantendo a aparência inicial, e a partir dessa temperatura as nanoemulsões começaram a exalar água, e a partir de 90 °C observou-se a presença de bolhas de ar. A nanoemulsão T4E a partir de 90 °C modificou-se com separação de fases, enquanto na nanoemulsão T4E, isto ocorreu apenas a 100 °C. As aparências ocasionadas pelo aumento da temperatura nas nanoemulsões podem ser visualmente observadas através da Figura 1.

Dessa forma, verificou-se que a nanoemulsão sem etanol (T4) foi mais estável diante do aumento de temperatura e pode ser utilizada em temperaturas abaixo de 100 °C sem alteração da sua estrutura.

Tabela 3 – Resultados do estresse térmico das nanoemulsões avaliadas.

Temperatura (°C)	T4			T4E		
	1	2	3	1	2	3
40	NR	NR	NR	NR	NR	NR
45	NR	NR	NR	NR	NR	NR
50	NR	NR	NR	NR	NR	NR
55	NR	NR	NR	SM	SM	SM
60	NR	NR	NR	SM	SM	SM
65	SM	SM	SM	SM	SM	SM
70	SM	SM	SM	SM	SM	SM
75	SM	SM	SM	SM	SM	SM
80	SM	SM	SM	SM	SM	SM
85	SM	SM	SM	SM	SM	SM
90	SM	SM	SM	M	M	M
95	SM	SM	SM	M	M	M
100	M	M	M	M	M	M

T4 - Tratamento 4 sem etanol: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; T4E - Tratamento 4 com etanol: 0,375 g de mucilagem, 0,233 mL de óleo de chia e 4 mL de etanol; 1, 2 e 3: triplicatas; NR: normal, inalterado, homogêneo; SM: levemente modificado, não homogêneo; M: modificado, com separação de fases.

3.2.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A Figura 2 apresenta as propriedades térmicas obtidas pelo DSC. As nanoemulsões obtidas nos tratamentos T4 e T4E apresentaram um pico endotérmico bem definido, que coincide com os picos endotérmicos do óleo de chia e da suspensão de mucilagem de chia utilizada. A curva de DSC para mucilagem de chia tem um pico endotérmico, mas não é possível visualizá-la devido a escala apresentada.

Os picos endotérmicos observados a 0 °C representam o derretimento do gelo. É possível verificar que em temperaturas negativas as nanoemulsões permaneceram estáveis, sugerindo que podem ser aplicadas em alimentos congelados.

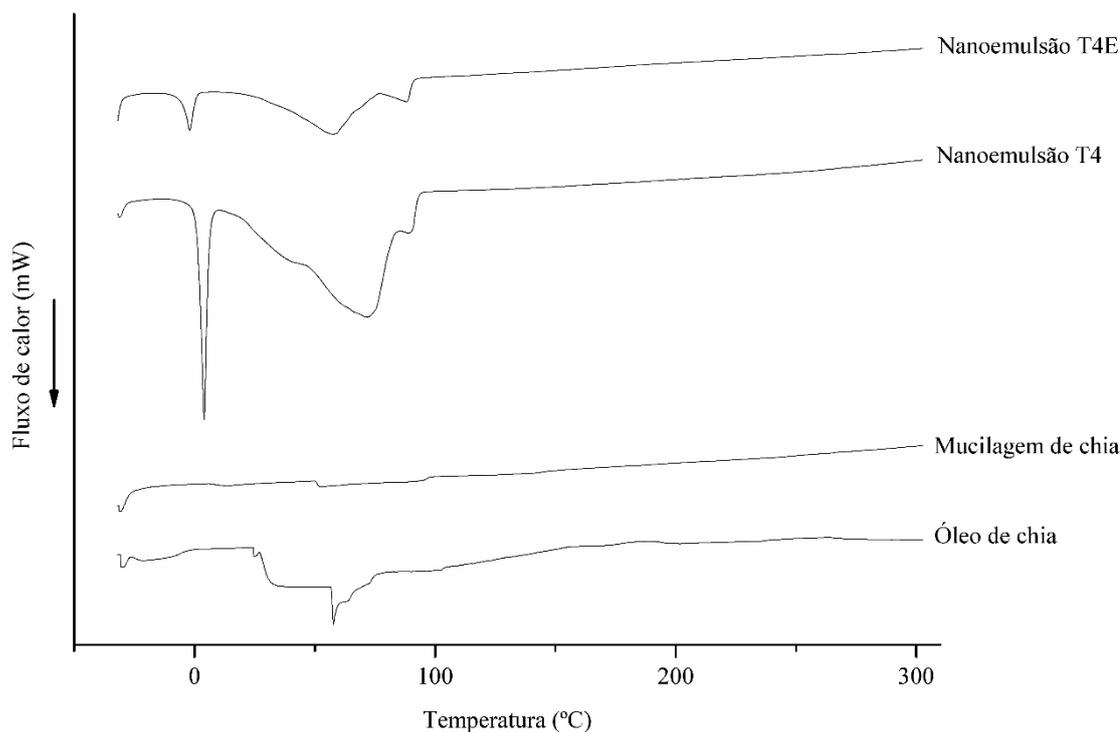
Os picos endotérmicos referentes à temperatura de fusão foram de 51,68 °C ($\Delta H_{\text{fusão}} = 5,45 \text{ J. g}^{-1}$) para óleo de chia, 50,94 °C ($\Delta H_{\text{fusão}} = 15,11 \text{ J. g}^{-1}$) para mucilagem de chia, 69,66 °C ($\Delta H_{\text{fusão}} = 1090,00 \text{ J. g}^{-1}$) para a nanoemulsão sem etanol (T4) e 57,62 °C ($\Delta H_{\text{fusão}} = 537,04 \text{ J. g}^{-1}$) para a nanoemulsão com etanol (T4E). Estes resultados indicam que a nanoencapsulação promoveu uma transição sólido-líquido a temperaturas mais altas.

Figura 1 – Fotografias das nanoemulsões durante a análise de estresse térmico em diferentes temperaturas testadas.

Temperatura (°C)	T4	T4E
Inicial		
40		
45		
50		
55		
60		
65		
70		
75		
80		
85		
90		
95		
100		

T4 - Tratamento 4 sem etanol: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; T4E - Tratamento 4 com etanol: 0,375 g de mucilagem, 0,233 mL de óleo de chia e 4 mL de etanol.

Figura 2 – Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) do óleo de chia, da mucilagem de chia, e das nanoemulsões T4 (sem etanol) e T4E (com etanol).



Além disso, as nanoemulsões apresentaram alto valor de entalpia de fusão. Isso sugere que ocorreu uma alta organização na estrutura interna das partículas encapsuladas porque a fusão de um material altamente organizado requer mais energia para quebrar as forças coesivas da estrutura do que a fusão de um material amorfo ou ligeiramente ordenado (ZAVAREZE et al., 2014).

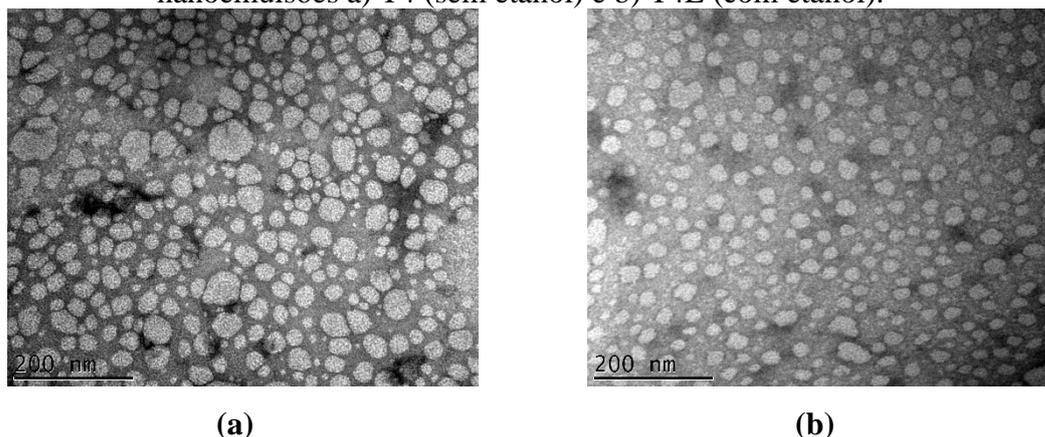
3.2.3 Morfologia

A Figura 3 apresenta as micrografias obtidas pela Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) de nanoemulsões. A análise do MET confirmou que as gotículas eram esféricas, não agregadas, bem definidas e que o tamanho das gotículas estava na faixa nanométrica (que havia sido previamente determinada), indicando que os efeitos de cisalhamento, turbulência e cavitação produzidos no processo de agitação promoveram pequenas micelas.

O tamanho das partículas apresentadas nas micrografias MET foi menor que o tamanho determinado pela técnica de DLS. É importante ressaltar que diferentes técnicas podem resultar em diferentes tamanhos de partículas devido aos diferentes princípios de

medição utilizados. Portanto, é esperada a discrepância de resultados obtidos com diferentes técnicas de dimensionamento (CHUESIANG et al., 2018). Agregados de gotículas podem ser encontrados, desencadeados pela flocculação das gotículas durante a formulação da nanoemulsão (SHANMUGAPRIYA; KIM; KANG, 2019).

Figura 3 – Micrografias por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das nanoemulsões a) T4 (sem etanol) e b) T4E (com etanol).



Sarheed et al. (2019) também encontraram a presença de micelas esféricas em nanoemulsões de loratadina com óleo de coco, Tween 80 e ácido oleico. Os autores atribuíram essa forma à maior concentração adicionada de loratadina, que causa uma curvatura mais côncava em relação ao óleo. Em nosso estudo, a concentração de mucilagem de chia também foi maior do que na fase oleosa.

3.2.4 Avaliação das nanoemulsões durante o armazenamento

3.2.4.1 Sinérese

A Tabela 4 apresenta os valores de sinérese a 4 °C e o tamanho de partícula, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta das amostras a diferentes temperaturas e em diferentes dias de armazenamento. As duas nanoemulsões testadas não mostraram sinérese quando armazenadas a -18 °C. Isso é vantajoso para uma possível aplicação em alimentos congelados, como sorvete. Além disso, a nanoemulsão T4E não mostrou sinérese quando armazenada por 28 dias a 4 °C.

Quando as nanoemulsões foram submetidas a temperaturas elevadas (até 95 °C), foi observado anteriormente (teste do estresse térmico) que a nanoemulsão T4 apresentava

Tabela 4 – Sinérese a 4 °C e tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta das nanoemulsões em diferentes temperaturas e em diferentes dias de armazenamento.

	Trat.	Temp.	Dias				
			0	7	14	21	28
Sinérese (%)	T4	4 °C	-	2,7 ± 0,04 ^a			
	T4E		-	ND	ND	ND	ND
Tamanho de partícula (nm)	T4	-18 °C	160,48 ± 2,12 ^c	183,13 ± 5,52 ^{c,C}	356,95 ± 26,43 ^{a,A}	313,00 ± 13,72 ^{b,A}	297,13 ± 13,72 ^{b,A}
		4 °C	160,48 ± 2,12 ^b	814,50 ± 4,57 ^{a,A}	161,27 ± 3,55 ^{b,C}	161,25 ± 5,10 ^{b,C}	159,85 ± 8,20 ^{b,C}
		Ambiente	160,48 ± 2,12 ^c	243,38 ± 6,54 ^{b,B}	232,30 ± 2,60 ^{c,B}	198,28 ± 1,56 ^{d,B}	264,20 ± 7,62 ^{a,B}
	T4E	-18 °C	213,25 ± 9,81 ^d	436,83 ± 9,40 ^{c,B}	547,90 ± 14,87 ^{b,A}	530,13 ± 5,09 ^{b,B}	729,60 ± 11,96 ^{a,B}
		4 °C	213,25 ± 9,81 ^c	128,36 ± 3,94 ^{d,C}	367,73 ± 5,94 ^{b,B}	384,90 ± 2,35 ^{a,C}	374,70 ± 6,29 ^{ab,C}
		Ambiente	213,25 ± 9,81 ^d	847,07 ± 12,15 ^{a,A}	242,58 ± 9,99 ^{c,C}	606,80 ± 3,05 ^{b,A}	871,87 ± 16,03 ^{a,A}
Índice de polidispersão	T4	-18 °C	0,547 ± 0,027 ^a	0,486 ± 0,068 ^{a,A}	0,533 ± 0,035 ^{a,B}	0,363 ± 0,025 ^{b,B}	0,363 ± 0,037 ^{b,B}
		4 °C	0,547 ± 0,027 ^{ab}	0,531 ± 0,030 ^{b,A}	0,657 ± 0,026 ^{a,A}	0,560 ± 0,057 ^{ab,A}	0,550 ± 0,066 ^{ab,A}
		Ambiente	0,547 ± 0,027 ^a	0,459 ± 0,036 ^{b,A}	0,390 ± 0,012 ^{c,C}	0,390 ± 0,017 ^{c,B}	0,410 ± 0,017 ^{c,B}
	T4E	-18 °C	0,600 ± 0,043 ^{ab}	0,626 ± 0,031 ^{ab,A}	0,604 ± 0,074 ^{ab,A}	0,538 ± 0,022 ^{b,A}	0,683 ± 0,020 ^{a,A}
		4 °C	0,600 ± 0,043 ^b	0,387 ± 0,017 ^{c,C}	0,568 ± 0,042 ^{b,A}	0,362 ± 0,051 ^{c,B}	0,759 ± 0,025 ^{a,A}
		Ambiente	0,600 ± 0,043 ^a	0,467 ± 0,040 ^{b,B}	0,542 ± 0,088 ^{ab,A}	0,506 ± 0,069 ^{ab,A}	0,517 ± 0,099 ^{ab,B}
Potencial zeta (mV)	T4	-18 °C	-27,18 ± 0,89 ^b	-37,02 ± 1,81 ^{c,B}	-50,30 ± 1,60 ^{d,C}	-23,37 ± 0,12 ^{a,B}	-36,40 ± 1,64 ^{c,C}
		4 °C	-27,18 ± 0,89 ^c	-42,78 ± 0,85 ^{d,C}	-22,75 ± 1,54 ^{b,A}	-20,07 ± 0,23 ^{a,A}	-21,25 ± 1,46 ^{ab,A}
		Ambiente	-27,18 ± 0,89 ^a	-29,87 ± 1,00 ^{b,A}	-31,22 ± 0,92 ^{b,B}	-26,43 ± 0,46 ^{a,C}	-31,03 ± 0,61 ^{b,B}

Tabela 4 – Sinérese a 4 °C e tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta das nanoemulsões em diferentes temperaturas e em diferentes dias de armazenamento (continuação).

	Trat.	Temp.	Dias				
			0	7	14	21	28
Potencial zeta (mV)	T4E	-18 °C	-39,83 ± 1,24 ^c	-44,23 ± 0,83 ^{d,B}	-44,00 ± 1,45 ^{d,B}	-29,20 ± 0,95 ^{a,A}	-36,03 ± 1,53 ^{b,A}
		4 °C	-39,83 ± 1,24 ^c	-26,00 ± 0,66 ^{a,A}	-40,20 ± 0,89 ^{c,A}	-40,60 ± 0,78 ^{c,B}	-35,00 ± 0,56 ^{b,A}
		Ambiente	-39,83 ± 1,24 ^b	-43,80 ± 1,53 ^{c,B}	-39,77 ± 1,19 ^{b,A}	-39,68 ± 1,26 ^{b,B}	-35,95 ± 0,87 ^{a,A}

ND: Não detectado; Trat.: tratamento; Temp.: temperatura de armazenagem; T4 - Tratamento 4 sem etanol: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; T4E - Tratamento 4 com etanol: 0,375 g de mucilagem, 0,233 mL de óleo de chia e 4 mL de etanol. Ambiente: ~25 °C. Média de três valores com desvio padrão. A mesma letra minúscula na linha indica que não houve diferenças significativas em uma mesma temperatura em diferentes dias e a mesma letra maiúscula na coluna indica que não houve diferenças significativas na mesma nanoemulsão no mesmo dia e temperaturas diferentes de acordo com o teste de Tukey (p> 0,05).

maior estabilidade com o aumento constante da temperatura. No entanto, quando armazenada à temperatura de refrigeração (4 °C), a nanoemulsão T4E foi mais estável que a nanoemulsão T4. Esses efeitos mostram que a nanoemulsão com etanol é capaz de apresentar maior estabilidade em baixas temperaturas do que em altas temperaturas.

Embora a nanoemulsão T4 tenha sofrido sinérese, esse valor foi muito baixo (2,7%) ao longo do tempo de armazenamento. O que favoreceu a alta estabilidade das nanoemulsões contra a sinérese foi o uso da mucilagem de chia como material de parede. A mucilagem de chia é composta principalmente de fibras alimentares solúveis, que apresentam alta capacidade de retenção de água (CRA). Segundo Fernandes e Salas-Mellado (2018), a mucilagem de chia apresenta um excelente valor de CRA (161,00 g de água retida por g de amostra). Isso não se deve apenas ao aumento do volume hidrodinâmico da mucilagem, mas também, pode ser contribuído pela fração proteica e pelo conteúdo de ácido urônico (CHIANG; LAI, 2019).

3.2.4.2 Tamanho das partículas, índice de polidispersão e potencial zeta

O tamanho de partícula, o índice de polidispersão (IPD) e o potencial zeta são parâmetros importantes para confirmar a estabilidade física das formulações de nanopartículas durante o armazenamento (CHAARI et al., 2018). Em relação à análise fatorial, para o tamanho de partícula e IPD, verificou-se, através da Tabela 4, que não houve efeito estatístico significativo nas interações dupla e tripla entre os fatores (dias, temperaturas e tratamentos, $p > 0,05$). Além disso, não houve efeito estatístico significativo dos fatores individuais dias e temperaturas ($p > 0,05$). No entanto, um efeito estatístico significativo em relação ao fator tratamento foi relatado para tamanho de partícula e IPD ($p = 0,0406 < 0,05$). Quando uma análise de cada tratamento é realizada individualmente, pode-se observar que, com exceção da nanoemulsão T4 armazenada a 4 °C, todas as demais apresentaram aumento no tamanho das partículas com o tempo de armazenamento.

De acordo com Henry et al. (2010), o aumento do tamanho das partículas ao longo do tempo se deve ao movimento da fase dispersa para a fase contínua, aumentando as chances de colisão entre gotículas e favorecendo o processo de coalescência. A temperatura tem uma influência direta no movimento das partículas, neste estudo, o armazenamento da nanoemulsão T4E a 25 °C resultou em tamanhos maiores de gotículas. Nejadmansouri et al. (2016) avaliaram a estabilidade das nanoemulsões de óleo de peixe por 28 dias e descobriram

que o tamanho das partículas permaneceu relativamente constante a 4 °C e um aumento considerável a 25 °C a partir do dia 14.

Na análise fatorial, não foi observado efeito estatístico significativo das interações dupla e tripla entre fatores e fatores individuais (dias, temperaturas e tratamentos, $p > 0,05$) sobre o potencial zeta. Com exceção do tratamento T4E a 4 °C, os demais apresentaram inicialmente um aumento em módulo do potencial zeta e a partir de 21 dias houve uma diminuição. A diminuição obtida está de acordo com o aumento do tamanho das partículas.

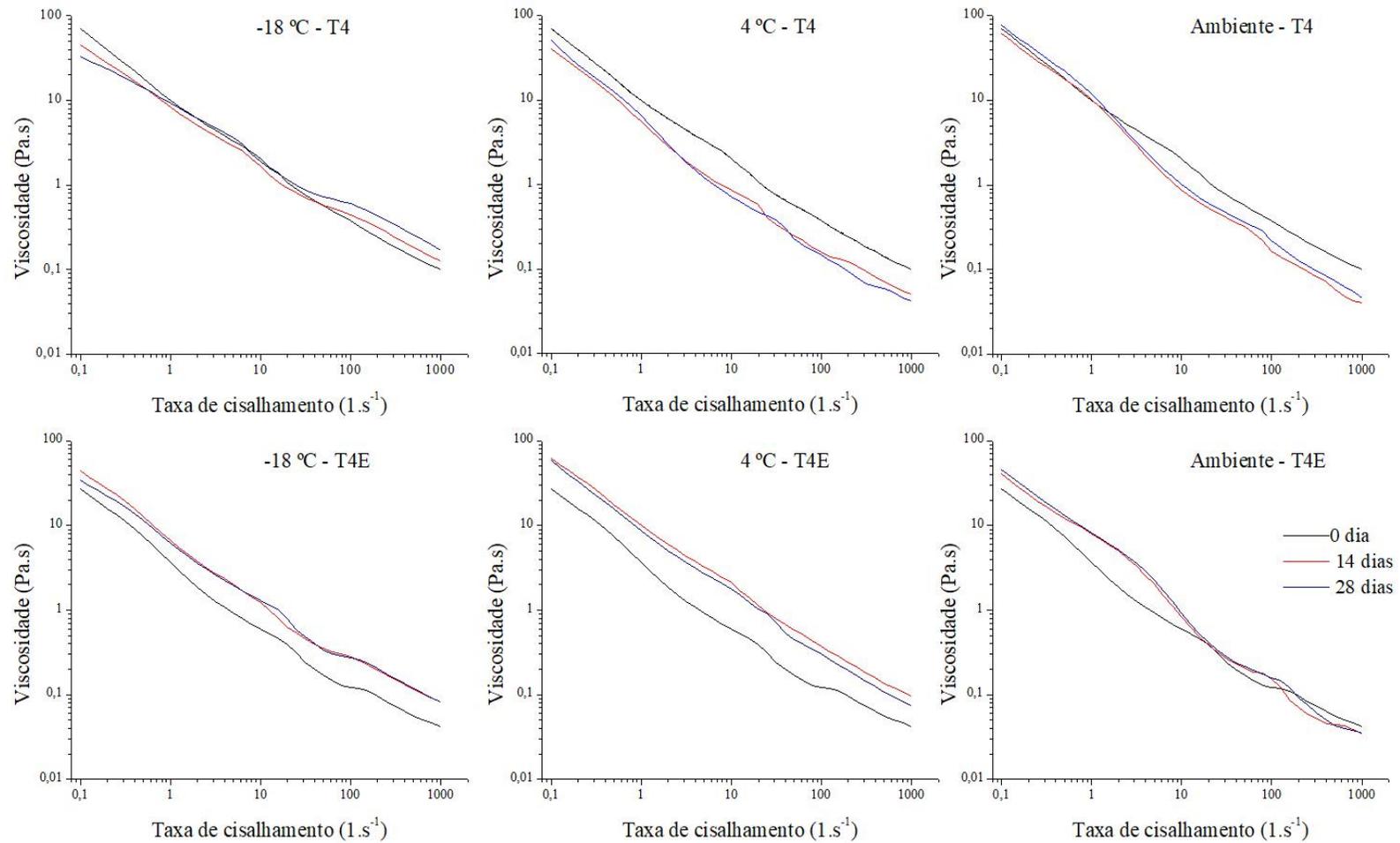
Ao final dos 28 dias de armazenagem, a maioria das nanoemulsões apresentaram um potencial zeta em módulo maior que 30 mV, isto indica que o mesmo foi alto o suficiente para estabilizar as nanoemulsões por repulsão eletrostática durante a armazenagem, pois as forças repulsivas predominaram em relação às forças de atração de Van der Waals, logo o sistema está disperso. Embora os valores de potencial zeta ao final do tempo de armazenamento tenham sido satisfatórios, a análise conjunta com outras avaliações durante o armazenamento, este valor não foi suficiente para não promover a floculação, pois houve o aumento do tamanho de partículas. Ou seja, que o mecanismo de estabilização não se dá somente por repulsão eletrostática, mas se deve principalmente ao impedimento estérico.

3.2.4.3 Reologia

A viscosidade é um parâmetro importante para a caracterização físico-química das nanoemulsões, pois está relacionada à estabilidade e aplicabilidade em alimentos (KAPLAN et al., 2019). A Figura 4 apresenta as plotagens de módulos de viscosidade, elástico (G') e viscoso (G'') das nanoemulsões T4 (sem etanol) e T4E (com etanol) em diferentes temperaturas e tempos de armazenagem. Quando uma taxa de cisalhamento foi aplicada às nanoemulsões, uma quebra na estrutura do material foi causada, o que mostra um comportamento dependente do corte. Os perfis de viscosidade aparente versus taxa de cisalhamento (Figura 4a) para as diferentes nanoemulsões foram muito semelhantes e foram caracterizados por um comportamento pseudoplástico durante todas as taxas de cisalhamento aplicadas às amostras.

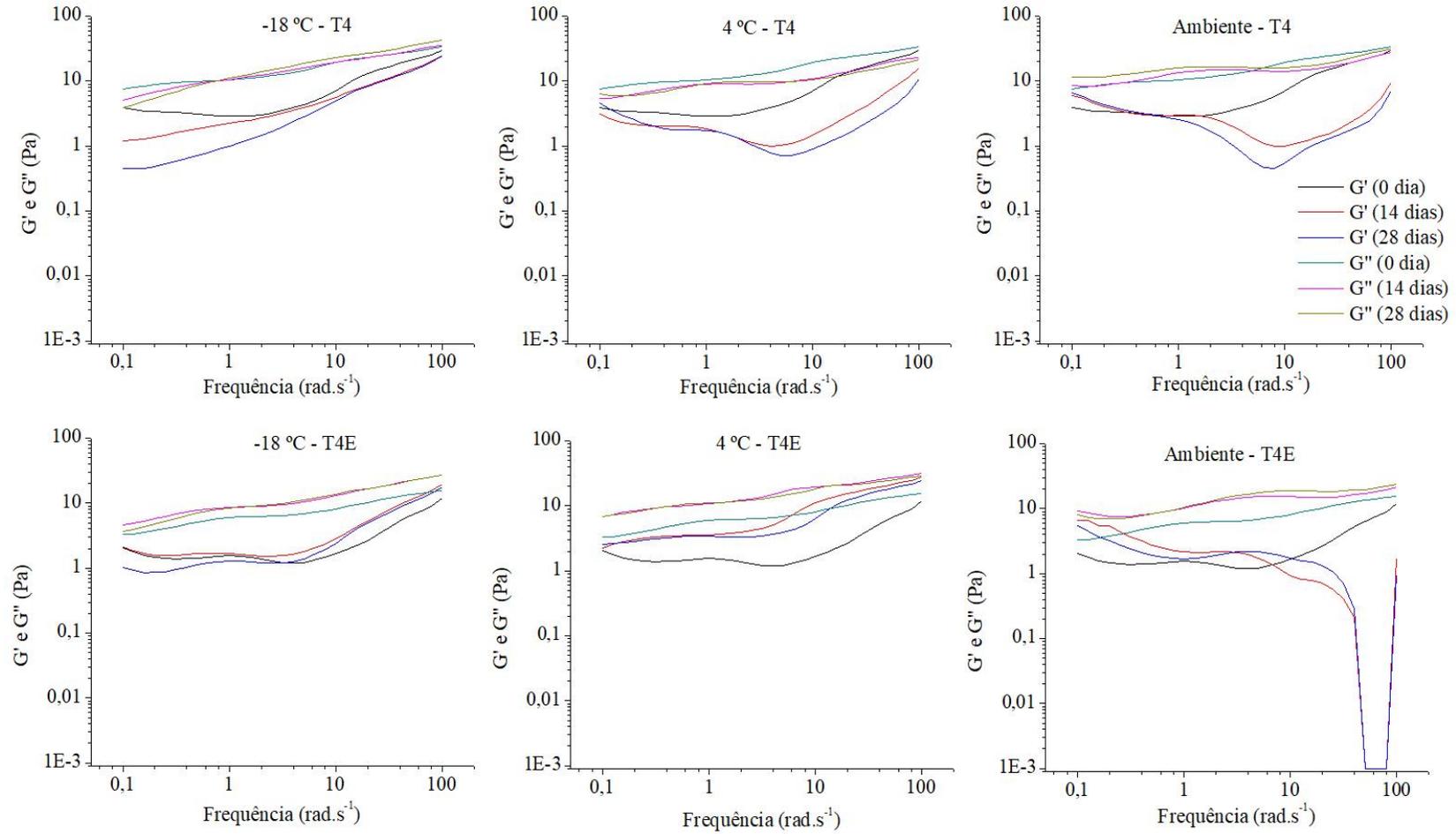
O comportamento da taxa de cisalhamento associado a reduções progressivas na viscosidade aparente pode ser explicado pelo alinhamento das gotas da nanoemulsão com o campo de corte, bem como pela ruptura das interações entre gotas da nanoemulsão ou interconexões entre elas. Nesta região, a taxa de reforma das interações intermoleculares é menor que a taxa de ruptura e o resultado líquido é uma diminuição da viscosidade à medida

Figura 4 – (a) Viscosidade das nanoemulsões T4 (sem etanol) e T4E (com etanol) em função da taxa de cisalhamento; e (b) varredura de tensão em diferentes frequências: elástica (módulo de armazenamento - G') e viscosa (módulo de perda - G'') em diferentes temperaturas e tempos de armazenamento.



(a)

Figura 4 - (a) Viscosidade das nanoemulsões T4 (sem etanol) e T4E (com etanol) em função da taxa de cisalhamento; e (b) varredura de tensão em diferentes frequências: elástica (módulo de armazenamento - G') e viscosa (módulo de perda - G'') em diferentes temperaturas e tempos de armazenamento.



(b)

que a taxa de corte aumenta. O comportamento da viscosidade em função da taxa de cisalhamento apresentada pelas nanoemulsões nas diferentes temperaturas de armazenamento é característico de muitos fluidos não newtonianos. Na temperatura de congelamento (-18 °C), as diferenças obtidas nas curvas de ambas nanoemulsões ocorreu possivelmente em função da estrutura da formação de cristais de gelo entre as amostras com e sem etanol.

O modelo que melhor se ajustou aos dados de viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento foi o modelo da lei da potência ($R^2 = 0,99$). O parâmetro “p” tende ao valor de “1-n”, onde “n” é o índice de comportamento do fluxo da lei da potência. O índice de comportamento das nanoemulsões foi encontrado na faixa de 0,09 a 0,23; portanto, todas as nanoemulsões apresentaram um comportamento reológico não-newtoniano pseudoplástico.

As varreduras de frequência das nanoemulsões foram realizadas sob deformações de 1%, o que corresponde à região viscoelástica linear do sistema, determinada por varreduras de amplitude (dados não mostrados). As informações geradas pelas varreduras de frequência podem ser utilizadas para caracterizar ou classificar sistemas complexos.

As quatro classificações mais comuns desses sistemas, de acordo com o comportamento reológico das varreduras de frequência, são: solução diluída, solução concentrada ou sistema de rede reticulado, gel fraco e gel forte. Uma solução diluída mostra valores de G'' maiores que G' em toda a faixa de frequência, mesmo que os dois módulos se aproximem em frequências mais altas. A solução concentrada apresenta curvas de frequência de G'' e G' que são interceptadas no meio da faixa da frequência avaliada, o que indica uma clara tendência em direção a um maior comportamento viscoelástico sólido em altas frequências. Géis fracos têm valores de G' superiores aos de G'' , sendo esses módulos quase paralelos um ao outro. Géis fortes exibem valores de G' muito maiores que os de G'' ; no entanto, G' tem uma inclinação de $\sim 0^\circ$ e G'' tem um valor mínimo em frequências intermediárias.

As mudanças em G' e G'' das diferentes nanoemulsões em função da frequência são mostradas na Figura 4b, e as diferenças podem ser observadas de acordo com o tipo de tratamento utilizado em relação ao período de armazenamento sob diferentes condições de temperatura. Na Figura 4b é possível observar que as amostras em todos os tempos de armazenamento e diferentes temperaturas apresentaram módulos de G'' maior que G' . Inicialmente, os valores de G'' eram muito maiores que G' , porém com o aumento da frequência a diferença entre os dois módulos foi menor, mas não ocorrendo o cruzamento dos módulos. Esse comportamento é típico de soluções diluídas, predominando o caráter viscoso da amostra.

Os valores do módulo G' para os tratamentos T4 a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e temperatura ambiente foram maiores no dia 0, seguidos por 14 e 28 dias, e isto está associado à estabilidade da nanoemulsão. Para esta nanoemulsão, à medida que o tempo de armazenamento aumenta, independentemente dos valores de temperatura, os valores de G' diminuíram, indicando possível desestabilização do sistema. No entanto, a menor diferença nos valores de G' nos três períodos avaliados (0, 14 e 28 dias) ocorreu a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, o que pode indicar que a temperatura mais baixa de armazenamento apresentou um efeito favorável neste sistema.

O módulo G' para tratamentos a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ da nanoemulsão T4E apresentou valores significativamente mais altos aos 14 e 28 dias, o que pode indicar que a incorporação de etanol nos tratamentos a essas temperaturas de armazenamento favoreceu a reestruturação do sistema. Isso pode ser indicativo de que a presença de gotículas de etanol emulsionado e estabilizado favoreceu a formação de arranjos estruturais nos tratamentos e, portanto, aumentou as propriedades viscoelásticas em comparação com a nanoemulsão T4 (sem etanol) a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e ambiente. No entanto, no caso da nanoemulsão T4E armazenada à temperatura ambiente, os valores de G' em 14 e 28 dias diminuíram drasticamente, indicando uma perda da estrutura interna do sistema.

3.2.4.4 Cor

A medição da cor em diferentes temperaturas é importante para avaliar como ela se comporta durante o armazenamento, e como uma possível aplicação em alimentos pode influenciar na cor. A Tabela 5 apresenta os parâmetros de cor em diferentes temperaturas das amostras de nanoemulsão em diferentes períodos de armazenamento.

Em relação à análise fatorial, foi observado que não houve efeito estatístico significativo das interações triplas entre os fatores (dias, temperaturas e tratamentos, $p > 0,05$) em todos os parâmetros de cor. Em relação às interações duplas, um efeito estatístico significativo entre temperaturas e tratamentos para L^* ($p = 0,0127 < 0,05$), b^* ($p = 0,0041 < 0,05$), C^* ($p = 0,0047 < 0,05$) e DTC ($p = 0,0020 < 0,05$) foram observados. Além disso, os parâmetros b^* ($p = 0,0028 < 0,05$) e C^* ($p = 0,0031 < 0,05$) apresentaram efeito estatístico significativo entre as interações dos fatores dias e tratamentos.

Todos os fatores individuais apresentaram efeito estatístico significativo (dias: $p = 0,0039$; temperaturas: $p = 0,0004$; tratamentos: $p = 0,0001 < 0,05$) no parâmetro L^* , enquanto que para o croma a^* , foi apenas o fator individual dias ($p = 0,0378 < 0,05$). Os fatores

Tabela 5 – Parâmetros de cor das nanoemulsões a diferentes temperaturas em diferentes intervalos de armazenamento.

	Trat.	Temp.	Dias				
			0	7	14	21	28
L*	T4	-18 °C	48,63 ± 0,15 ^b	56,50 ± 0,27 ^{a,A}	56,42 ± 2,36 ^{a,A}	58,09 ± 0,59 ^{a,A}	58,55 ± 1,00 ^{a,A}
		4 °C	48,63 ± 0,15 ^b	46,73 ± 0,23 ^{c,B}	49,75 ± 0,22 ^{a,B}	50,70 ± 0,43 ^{a,C}	50,75 ± 0,69 ^{a,C}
		Ambiente	48,63 ± 0,15 ^c	57,25 ± 0,44 ^{a,A}	56,78 ± 0,62 ^{a,A}	54,08 ± 1,46 ^{b,B}	56,71 ± 0,36 ^{a,B}
	T4E	-18 °C	55,73 ± 0,35 ^c	58,05 ± 0,16 ^{b,A}	58,35 ± 0,45 ^{b,B}	57,82 ± 0,21 ^{b,A}	59,55 ± 0,20 ^{a,A}
		4 °C	55,73 ± 0,35 ^b	54,73 ± 0,27 ^{c,C}	55,89 ± 0,39 ^{b,C}	56,17 ± 0,22 ^{b,B}	57,47 ± 0,46 ^{a,B}
		Ambiente	55,73 ± 0,35 ^c	56,71 ± 0,51 ^{b,B}	59,35 ± 0,23 ^{a,A}	57,51 ± 0,17 ^{b,A}	56,84 ± 0,17 ^{b,B}
a*	T4	-18 °C	0,82 ± 0,10 ^a	1,21 ± 0,49 ^{a,A}	1,53 ± 0,48 ^{a,A}	1,28 ± 0,38 ^{a,B}	1,46 ± 0,09 ^{a,B}
		4 °C	0,82 ± 0,10 ^d	1,00 ± 0,11 ^{cd,A}	1,20 ± 0,21 ^{bc,A}	1,40 ± 0,06 ^{ab,AB}	1,57 ± 0,07 ^{a,B}
		Ambiente	0,82 ± 0,10 ^b	1,10 ± 0,28 ^{b,A}	1,14 ± 0,33 ^{b,A}	2,02 ± 0,35 ^{a,A}	2,56 ± 0,12 ^{a,A}
	T4E	-18 °C	1,47 ± 0,16 ^a	1,01 ± 0,25 ^{a,A}	1,25 ± 0,04 ^{a,B}	1,42 ± 0,38 ^{a,A}	1,56 ± 0,06 ^{a,A}
		4 °C	1,47 ± 0,16 ^{ab}	1,15 ± 0,28 ^{b,A}	1,47 ± 0,08 ^{ab,B}	1,55 ± 0,06 ^{ab,A}	1,64 ± 0,05 ^{a,A}
		Ambiente	1,47 ± 0,16 ^{ab}	1,15 ± 0,36 ^{b,A}	2,16 ± 0,38 ^{a,A}	1,68 ± 0,16 ^{ab,A}	1,64 ± 0,06 ^{ab,A}
b*	T4	-18 °C	5,10 ± 0,26 ^b	9,60 ± 0,10 ^{a,A}	8,89 ± 0,78 ^{a,A}	9,63 ± 0,88 ^{a,A}	9,94 ± 0,10 ^{a,B}
		4 °C	5,10 ± 0,26 ^c	6,67 ± 0,22 ^{d,B}	7,35 ± 0,13 ^{c,B}	8,28 ± 0,21 ^{b,A}	8,84 ± 0,16 ^{a,C}
		Ambiente	5,10 ± 0,26 ^d	6,89 ± 0,35 ^{c,B}	9,07 ± 0,58 ^{b,A}	9,99 ± 0,79 ^{ab,A}	10,98 ± 0,27 ^{a,A}
	T4E	-18 °C	10,07 ± 0,44 ^a	9,02 ± 0,47 ^{b,B}	8,70 ± 0,13 ^{b,B}	8,28 ± 0,35 ^{b,B}	8,14 ± 0,13 ^{b,C}
		4 °C	10,07 ± 0,44 ^b	10,41 ± 0,08 ^{b,A}	10,44 ± 0,28 ^{b,A}	10,76 ± 0,12 ^{ab,A}	11,29 ± 0,26 ^{a,A}
		Ambiente	10,07 ± 0,44 ^{ab}	9,83 ± 0,32 ^{b,AB}	11,39 ± 0,95 ^{a,A}	10,47 ± 0,25 ^{ab,A}	10,53 ± 0,13 ^{ab,B}

Tabela 5 – Parâmetros de cor das nanoemulsões a diferentes temperaturas em diferentes intervalos de armazenamento (continuação).

	Trat.	Temp.	Dias				
			0	7	14	21	28
C*	T4	-18 °C	5,17 ± 0,25 ^b	9,68 ± 0,13 ^{a,A}	9,03 ± 0,68 ^{a,A}	9,70 ± 0,81 ^{a,AB}	10,05 ± 0,10 ^{a,B}
		4 °C	5,17 ± 0,25 ^e	6,74 ± 0,21 ^{d,B}	7,45 ± 0,10 ^{c,B}	8,39 ± 0,21 ^{b,B}	8,98 ± 0,15 ^{a,C}
		Ambiente	5,17 ± 0,25 ^d	6,98 ± 0,35 ^{c,B}	9,13 ± 0,61 ^{b,A}	10,13 ± 0,67 ^{ab,A}	11,28 ± 0,24 ^{a,A}
	T4E	-18 °C	10,17 ± 0,41 ^a	9,08 ± 0,46 ^{b,B}	8,79 ± 0,16 ^{b,B}	8,41 ± 0,29 ^{b,B}	8,29 ± 0,13 ^{b,C}
		4 °C	10,17 ± 0,41 ^c	10,48 ± 0,08 ^{bc,A}	10,54 ± 0,28 ^{bc,A}	10,87 ± 0,11 ^{ab,A}	11,41 ± 0,26 ^{a,A}
		Ambiente	10,17 ± 0,41 ^b	9,90 ± 0,28 ^{b,A}	11,60 ± 0,86 ^{a,A}	10,61 ± 0,23 ^{ab,A}	10,65 ± 0,13 ^{ab,B}
h°	T4	-18 °C	80,87 ± 1,44 ^b	82,85 ± 1,65 ^{ab,A}	80,06 ± 3,99 ^{b,A}	87,08 ± 2,66 ^{a,A}	81,68 ± 0,30 ^{ab,A}
		4 °C	80,87 ± 1,44 ^a	81,46 ± 1,01 ^{a,A}	80,69 ± 1,76 ^{a,A}	80,42 ± 0,26 ^{a,B}	79,95 ± 0,59 ^{a,B}
		Ambiente	80,87 ± 1,44 ^{ab}	80,89 ± 2,30 ^{ab,A}	84,02 ± 2,09 ^{a,A}	78,15 ± 1,01 ^{b,B}	76,85 ± 0,92 ^{b,C}
	T4E	-18 °C	81,66 ± 1,21 ^{abc}	83,59 ± 1,72 ^{a,A}	81,84 ± 1,49 ^{ab,A}	78,53 ± 0,45 ^{c,B}	79,16 ± 0,40 ^{bc,B}
		4 °C	81,66 ± 1,21 ^a	83,71 ± 1,52 ^{a,A}	81,98 ± 0,52 ^{a,A}	81,82 ± 0,35 ^{a,A}	81,74 ± 0,05 ^{a,A}
		Ambiente	81,66 ± 1,21 ^a	83,30 ± 2,28 ^{a,A}	80,69 ± 1,03 ^{a,A}	80,88 ± 1,01 ^{a,A}	81,14 ± 0,31 ^{a,A}
DTC	T4	-18 °C	-	9,08 ± 0,38 ^{c,A}	10,07 ± 1,06 ^{bc,A}	10,55 ± 0,37 ^{ab,A}	11,46 ± 0,25 ^{a,A}
		4 °C	-	2,50 ± 0,10 ^{b,B}	2,55 ± 0,07 ^{b,B}	3,83 ± 0,58 ^{a,C}	4,39 ± 0,40 ^{a,C}
		Ambiente	-	8,82 ± 0,36 ^{ab,A}	9,10 ± 0,35 ^{ab,A}	7,42 ± 1,73 ^{b,B}	10,14 ± 0,46 ^{a,B}

Tabela 5 – Parâmetros de cor das nanoemulsões a diferentes temperaturas em diferentes dias de armazenamento (continuação).

Trat.	Temp.	Dias				
		0	7	14	21	28
DTC	-18 °C	-	2,60 ± 0,45 ^{b,A}	3,02 ± 0,44 ^{b,B}	2,82 ± 0,57 ^{b,A}	4,30 ± 0,06 ^{a,A}
	4 °C	-	1,18 ± 0,19 ^{b,B}	0,61 ± 0,37 ^{b,C}	1,09 ± 0,17 ^{b,B}	2,15 ± 0,39 ^{a,B}
	Ambiente	-	1,07 ± 0,58 ^{b,B}	4,09 ± 0,38 ^{a,A}	1,86 ± 0,21 ^{b,B}	1,00 ± 0,06 ^{b,C}

Trat.: tratamento; Temp.: temperatura; L*: luminosidade; a* e b*: cromas; h°: ângulo *hue*; DTC: diferença total de cor; T4 - Tratamento 4 sem etanol: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; T4E - Tratamento 4 com etanol: 0,375 g de mucilagem, 0,233 mL de óleo de chia e 4 mL de etanol. Ambiente: ~25 °C. Média de três valores com desvio padrão. A mesma letra minúscula na linha indica que não houve diferenças significativas na mesma temperatura em diferentes dias e a mesma letra maiúscula na coluna indica que não houve diferenças significativas na mesma nanoemulsão no mesmo dia e temperaturas diferentes, segundo o teste de Tukey (p > 0,05).

tratamentos e dias apresentaram um efeito estatístico significativo no croma b^* (dias: $p = 0,0037$; tratamentos: $p = 0,0001 < 0,05$) e no croma C^* (dias: $p = 0,0035$; tratamentos: $p = 0,0001 < 0,05$). Os fatores tratamentos e temperaturas apresentaram efeito estatístico significativo (temperaturas: $p = 0,0001$; tratamentos: $p = 0,0000 < 0,05$) no parâmetro DTC.

Inicialmente, as nanoemulsões eram de cor esbranquiçada opaca. A baixa luminosidade (L^*) das nanoemulsões foi causada pela mucilagem da chia, que apresenta uma coloração mais escura quando reidratada (FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2018). Após os 28 dias de armazenamento, as nanoemulsões apresentaram uma cor mais clara, indicada pelo aumento da luminosidade (L^*). Alterações na cor das nanoemulsões podem ser promovidas pela oxidação lipídica.

As nanoemulsões avaliadas apresentaram valores positivos para o parâmetro b^* , que indicaram uma contribuição amarela para a cor, e valores positivos para o parâmetro a^* , que indicaram uma contribuição vermelha para a cor, também concordando com sua aparência. As medidas instrumentais da cor sugeriram que houve alguma alteração na estabilidade química das nanoemulsões durante o armazenamento, com um aumento progressivo de b^* (amarelamento) ao longo do tempo para a nanoemulsão T4 e nas temperaturas de armazenamento de $4\text{ }^\circ\text{C}$ e $25\text{ }^\circ\text{C}$ para a nanoemulsão T4E.

Os valores de DTC variaram de acordo com o tempo de armazenamento, com os valores mais altos após os 28 dias de armazenamento. A temperatura de $-18\text{ }^\circ\text{C}$ utilizada nas duas formulações de nanoemulsão apresentou uma maior diferença de cor.

4 CONCLUSÃO

O óleo de chia foi encapsulado por nanoemulsão, e o uso de etanol e mucilagem de chia como material de parede foi avaliado. As nanoemulsões dos tratamentos com (T4E) e sem etanol (T4), contendo 0,375 g de mucilagem e 0,233 mL de óleo de chia, apresentaram menor tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta adequados, alta eficiência de encapsulação e estabilidade à agitação. As nanoemulsões desses tratamentos apresentaram como propriedades tecno-funcionais estabilidade a separação de fases até $90\text{ }^\circ\text{C}$ com melhor estabilidade a baixas temperaturas a nanoemulsão com etanol e a altas temperaturas a nanoemulsão sem etanol.

Além disso, apresentaram forma esférica das nanopartículas, organização no interior das partículas e baixa sinérese a $4\text{ }^\circ\text{C}$ durante ao armazenamento. Os resultados obtidos com este estudo indicam que as nanoemulsões do óleo de chia com mucilagem de

chia e com ou sem etanol podem ser utilizadas na produção de alimentos, a fim de preservar as propriedades do óleo de chia e fornecer alimentos mais nutritivos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCÂNTARA, M. A.; LIMA, A. E. A. DE; BRAGA, A. L. M.; TONON, R. V.; GALDEANO, M. C.; MATTOS, M. DA C.; BRÍGIDA, A. I. S.; ROSENHAIM, R.; SANTOS, N. A. DOS; CORDEIRO, A. M. T. DE M. Influence of the emulsion homogenization method on the stability of chia oil microencapsulated by spray drying. **Powder Technology**, v. 354, p. 877–885, 2019.

AREDES, M. A.; DA CAMARA, A. O.; DE PAULA, N. S.; FRAGA, K. Y. D.; DO CARMO, M. DAS G. T.; CHAVES, G. V. Efficacy of ω -3 supplementation on nutritional status, skeletal muscle, and chemoradiotherapy toxicity in cervical cancer patients: A randomized, triple-blind, clinical trial conducted in a middle-income country. **Nutrition**, v. 67–68, p. 1-12, 2019.

ATEYA, A. M.; SABRI, N. A.; EL HAKIM, I.; SHAHEEN, S. M. Effect of Omega-3 Fatty Acids on Serum Lipid Profile and Oxidative Stress in Pediatric Patients on Regular Hemodialysis: A Randomized Placebo-Controlled Study. **Journal of Renal Nutrition**, v. 27, n. 3, p. 169–174, 2017.

BERNARDI, D. S.; PEREIRA, T. A.; MACIEL, N. R.; BORTOLOTO, J.; VIERA, G. S.; OLIVEIRA, G. C.; ROCHA-FILHO, P. A. Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: In vitro and in vivo assessments. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 9, p. 44, 2011.

BILINSKI, K.; CHANG, D.; FAHEY, P.; BENSOUSSAN, A. Effect of omega-3 supplementation on the omega-3 blood index and fatty acid biomarkers in healthy individuals. **Advances in Integrative Medicine**, p. 10–15, 2019.

CAMPO, C. DE; DICK, M.; PEREIRA DOS SANTOS, P.; HAAS COSTA, T. M.; PAESE, K.; STANISÇUASKI GUTERRES, S.; DE OLIVEIRA RIOS, A.; HICKMANN FLÔRES, S. Zeaxanthin nanoencapsulation with *Opuntia monacantha* mucilage as structuring material: Characterization and stability evaluation under different temperatures. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 558, p. 410–421, 2018.

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

CARPENTER, J.; SAHARAN, V. K. Ultrasonic assisted formation and stability of mustard oil in water nanoemulsion: Effect of process parameters and their optimization. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 35, p. 422–430, 2017.

CASTEJÓN, N.; MORENO-PÉREZ, S.; ABREU SILVEIRA, E.; FERNÁNDEZ LORENTE, G.; GUISÁN, J. M.; SEÑORÁNS, F. J. Synthesis of omega-3 ethyl esters from chia oil catalyzed by polyethylene glycol-modified lipases with improved stability. **Food Chemistry**, v. 271, p. 433–439, 2019.

- CHAARI, M.; THEOCHARI, I.; PAPADIMITRIOU, V.; XENAKIS, A.; AMMAR, E. Encapsulation of carotenoids extracted from halophilic Archaea in oil-in-water (O/W) micro- and nano-emulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 161, p. 219–227, 2018.
- CHUESIANG, P.; SIRIPATRAWAN, U.; SANGUANDEEKUL, R.; MCLANDSBOROUGH, L.; JULIAN MCCLEMENTS, D. Optimization of cinnamon oil nanoemulsions using phase inversion temperature method: Impact of oil phase composition and surfactant concentration. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 514, p. 208–216, 2018.
- ERÇELEBI, E. A.; IBANOĞLU, E. Rheological properties of whey protein isolate stabilized emulsions with pectin and guar gum. **European Food Research and Technology**, v. 229, n. 2, p. 281–286, 2009.
- FABIAN, C. J.; KIMLER, B. F.; HURSTING, S. D. Omega-3 fatty acids for breast cancer prevention and survivorship. **Breast Cancer Research**, v. 17, n. 1, p. 1–11, 2015.
- FERNANDES, S. S.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. **Food Chemistry**, v. 227, 2017.
- FERNANDES, S. S.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Development of Mayonnaise with Substitution of Oil or Egg Yolk by the Addition of Chia (*Salvia hispanica* L.) Mucilage. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 1, 2018.
- FERNANDES, S. S.; TONATO, D.; MAZUTTI, M. A.; DE ABREU, B. R.; DA COSTA CABRERA, D.; D'OCA, C. D. R. M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Yield and quality of chia oil extracted via different methods. **Journal of Food Engineering**, v. 262, p. 200–208, 2019.
- GHAYEMPOUR, S.; MONTAZER, M.; MAHMOUDI RAD, M. Tragacanth gum as a natural polymeric wall for producing antimicrobial nanocapsules loaded with plant extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 514–520, 2015.
- HENRY, J. V. L.; FRYER, P. J.; FRITH, W. J.; NORTON, I. T. The influence of phospholipids and food proteins on the size and stability of model sub-micron emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 1, p. 66–71, 2010.
- IXTAINA, V. Y.; JULIO, L. M.; WAGNER, J. R.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physicochemical characterization and stability of chia oil microencapsulated with sodium caseinate and lactose by spray-drying. **Powder Technology**, v. 271, p. 26–34, 2015.
- JOSHI, D. P.; PANT, G.; ARORA, N.; NAINWAL, S. Effect of solvents on morphology, magnetic and dielectric properties of (α -Fe₂O₃@SiO₂) core-shell nanoparticles. **Heliyon**, v. 3, n. 2, p. 1–16, 2017.
- JULIO, L. M.; COPADO, C. N.; CRESPO, R.; DIEHL, B. W. K.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Design of microparticles of chia seed oil by using the electrostatic layer-by-layer deposition technique. **Powder Technology**, v. 345, p. 750–757, 2019.
- KARTHIK, P.; EZHILARASI, P. N.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. **Challenges associated in stability of food grade nanoemulsions**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 57, p. 1435–1450, 2015.
- KOMAIKO, J.; SASTROSUBROTO, A.; MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of ω -3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: Sunflower phospholipids. **Food Chemistry**, v. 203, p. 331–339, 2016.

- LIN, K. Y.; DANIEL, J. R.; WHISTLER, R. L. Structure of chia seed polysaccharide exudate. **Carbohydrate Polymers**, v. 23, n. 1, p. 13–18, 1994.
- MARUNO, M.; DA ROCHA-FILHO, P. A. O/W nanoemulsion after 15 years of preparation: A suitable vehicle for pharmaceutical and cosmetic applications. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 17–22, 2010.
- MICALI, M.; FIORINO, M.; PARISI, S. **The Chemistry of Thermal Food Processing Procedures**. [s.l.] Springer International Publishing, 2016.
- MISHRA, P. R.; SHAAL, L. AL; MÜLLER, R. H.; KECK, C. M. Production and characterization of Hesperetin nanosuspensions for dermal delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 371, n. 1–2, p. 182–189, 2009.
- MUDGIL, P. The Ocular Surface Evaluation of use of essential fatty acids in topical ophthalmic preparations for dry eye. **The Ocular Surface**, p. 1–6, 2019.
- NEJADMANSOURI, M.; HOSSEINI, S. M. H.; NIAKOSARI, M.; YOUSEFI, G. H.; GOLMAKANI, M. T. Physicochemical properties and oxidative stability of fish oil nanoemulsions as affected by hydrophilic lipophilic balance, surfactant to oil ratio and storage temperature. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 506, p. 821–832, 2016.
- PENGON, S.; CHINATANGKUL, N.; LIMMATVAPIRAT, C.; LIMMATVAPIRAT, S. The effect of surfactant on the physical properties of coconut oil nanoemulsions. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 5, p. 409–414, 2018.
- SARHEED, O.; SHOUQAIR, D.; RAMESH, K.; KHALEEL, T.; BOATENG, J.; DRECHSLER, M. Formation of stable nanoemulsions by ultrasound-assisted two-step emulsification process for topical drug delivery: effect of oil phase composition and surfactant concentration and loratadine as ripening inhibitor. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 118952, 2019.
- SEGURA-CAMPOS, M. R.; CIAU-SOLÍS, N.; ROSADO-RUBIO, G.; CHEL-GUERRERO, L.; BETANCUR-ANCONA, D. Chemical and Functional Properties of Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) Gum. **International Journal of Food Science**, v. 2014, p. 1–5, 2014.
- SEIBERT, J. B.; RODRIGUES, I. V.; CARNEIRO, S. P.; AMPARO, T. R.; LANZA, J. S.; FRÉZARD, F. J. G.; DE SOUZA, G. H. B.; SANTOS, O. D. H. DOS. Seasonality study of essential oil from leaves of *Cymbopogon densiflorus* and nanoemulsion development with antioxidant activity. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 34, n. 1, p. 5–14, 2019.
- SHANMUGAPRIYA, K.; KIM, H.; KANG, H. W. A new alternative insight of nanoemulsion conjugated with κ -carrageenan for wound healing study in diabetic mice: In vitro and in vivo evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 133, p. 236–250, 2019.
- SHARMA, S.; CHENG, S.-F.; BHATTACHARYA, B.; CHAKKARAVARTHI, S. Efficacy of free and encapsulated natural antioxidants in oxidative stability of edible oil: Special emphasis on nanoemulsion-based encapsulation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p. 305–318, 2019.
- SHU, G.; KHALID, N.; CHEN, Z.; NEVES, M. A.; BARROW, C. J.; NAKAJIMA, M. Formulation and characterization of astaxanthin-enriched nanoemulsions stabilized using ginseng saponins as natural emulsifiers. **Food Chemistry**, v. 255, p. 67–74, 2018.
- STEFANI, F. DA S.; CAMPO, C. DE; PAESE, K.; GUTERRES, S. S.; COSTA, T. M. H.; FLÔRES, S. H. Nanoencapsulation of linseed oil with chia mucilage as structuring material:

Characterization, stability and enrichment of orange juice. **Food Research International**, v. 120, p. 872–879, 2019.

THOMAS, J.; THOMAS, C. J.; RADCLIFFE, J.; ITSIOPOULOS, C. Omega-3 Fatty Acids in Early Prevention of Inflammatory Neurodegenerative Disease: A Focus on Alzheimer's Disease. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-13, 2015.

TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, R.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 347–357, 2016a.

TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, R.; KASAPIS, S.; ADHIKARI, B. Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 128–136, 2016b.

US-MEDINA, U.; JULIO, L. M.; SEGURA-CAMPOS, M. R.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Development and characterization of spray-dried chia oil microcapsules using by-products from chia as wall material. **Powder Technology**, v. 334, p. 1–8, 2018.

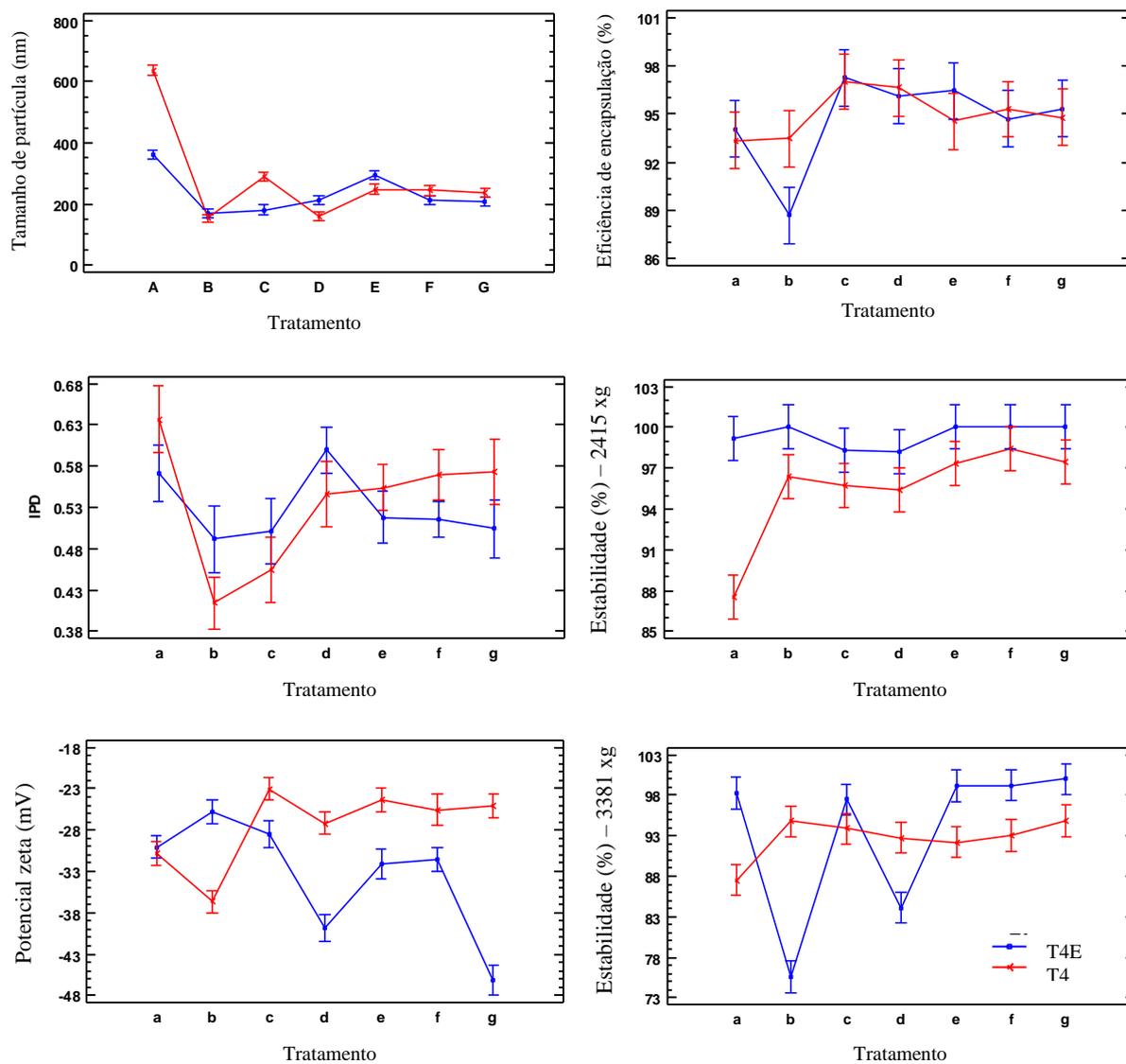
YANG, H. J.; CHO, W. G.; PARK, S. N. Stability of oil-in-water nano-emulsions prepared using the phase inversion composition method. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 331–335, 2009.

ZAVAREZE, E. DA R.; TELLES, A. C.; MELLO EL HALAL, S. L.; DA ROCHA, M.; COLUSSI, R.; MARQUES DE ASSIS, L.; SUITA DE CASTRO, L. A.; GUERRA DIAS, A. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Production and characterization of encapsulated antioxidative protein hydrolysates from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) muscle and byproduct. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P1, p. 841–848, 2014.

ZHAI, X.; LIN, D.; LIU, D.; YANG, X. Emulsions stabilized by nanofibers from bacterial cellulose: New potential food-grade Pickering emulsions. **Food Research International**, v. 103, p. 12–20, 2018.

APÊNDICE

Figura 1 – Gráficos de respostas resultante da análise de fatores.



IPD: Índice de polidispersão; a: Tratamento 1 (0,125 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia); b: Tratamento 2 (0,375 de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia); c: Tratamento 3 (0,125 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia); d: tratamento 4 (0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia); e: tratamento 5, 6 e 7 (0,250 g de mucilagem de chia e 0,1 mL de óleo de chia).

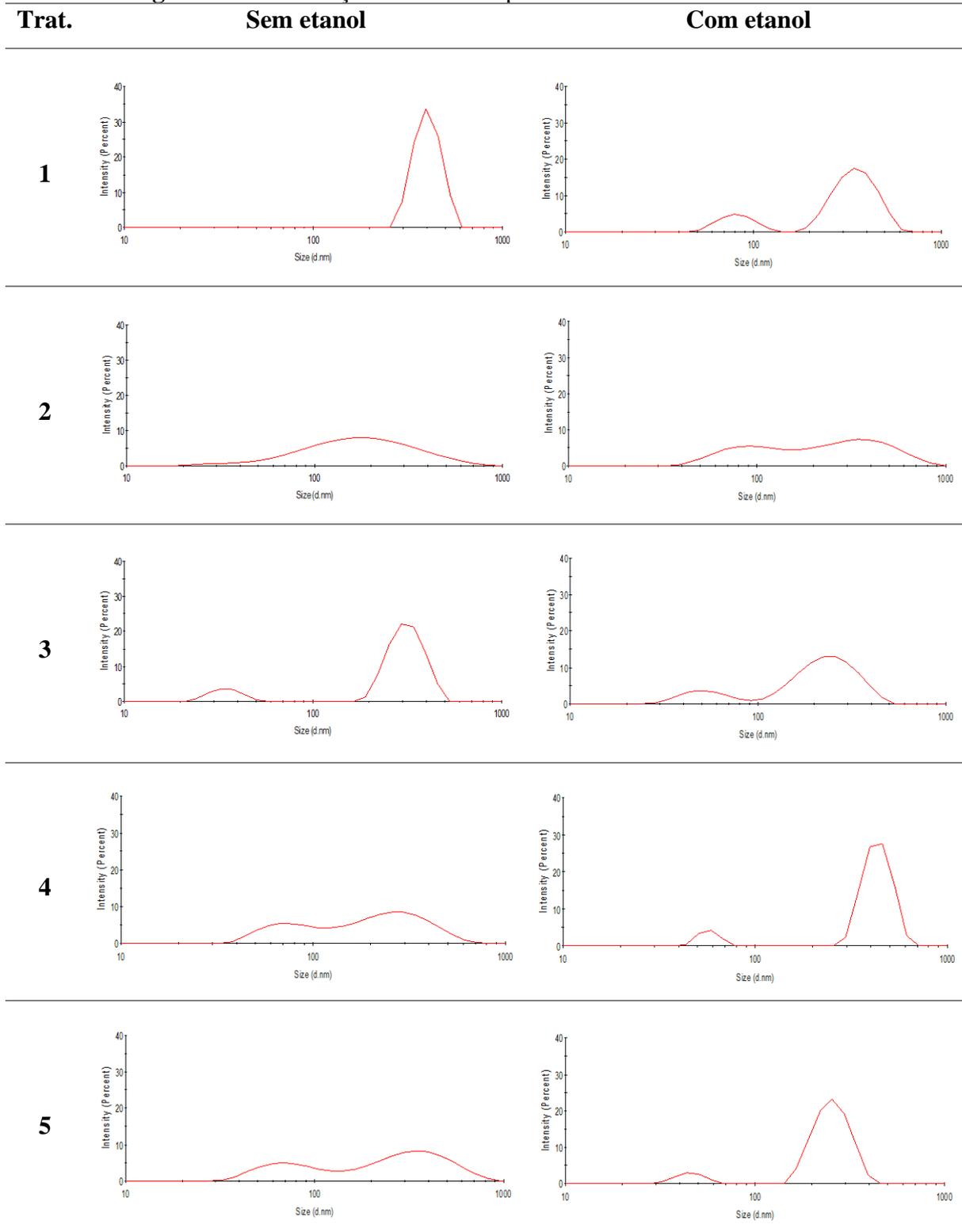
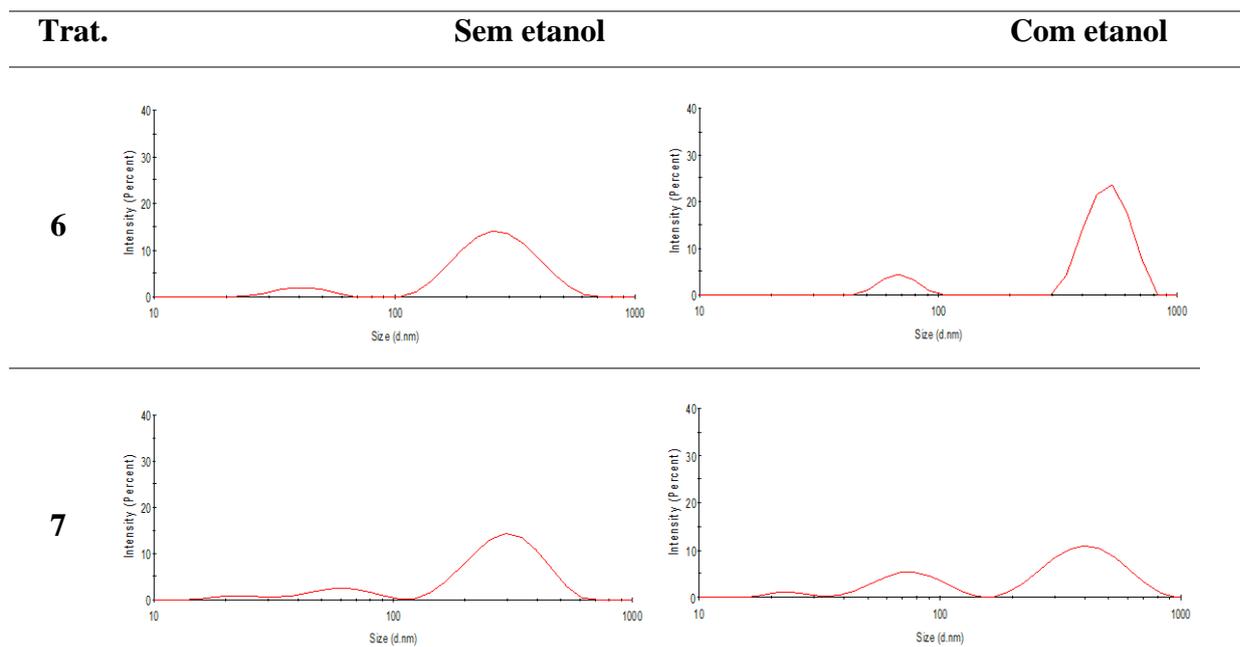
Figura 2 – Distribuição de tamanho por volume dos tratamentos testadas.

Figura 1 - Distribuição de tamanho por volume dos tratamentos testadas (continuação).



Intensity: intensidade; *Size*: tamanho; *Trat.*: tratamento; Tratamento 1: 0,125 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia; Tratamento 2: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia; Tratamento 3: 0,125 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; Tratamento 4: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; Tratamento 5, 6 e 7: 0,250 g de mucilagem de chia e 0,1 mL de óleo de chia.

ARTIGO V:
SUBSTITUIÇÃO DA GORDURA EM BISCOITOS POR NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE CHIA

RESUMO

Biscoitos são produtos de panificação que vem mostrando aumento do seu consumo em países em desenvolvimento. Uma maneira de tornar os biscoitos mais nutritivos é a adição de compostos bioativos, tais como o óleo de chia que é rico em ácidos graxos poli-insaturados, ômega-3 e ômega-6. Como estes compostos são altamente insaturados, técnicas de encapsulação, como nanoemulsão, permitem a adição dos mesmos em alimentos garantindo a preservação das suas propriedades. Assim, o objetivo deste estudo foi adicionar nanoemulsão de óleo de chia utilizando mucilagem de chia como material de parede, em substituição total da água e do óleo de soja em biscoitos, e avaliar os biscoitos desenvolvidos frente as propriedades físico-químicas, tecnológicas e sensoriais. O biscoito adicionado da nanoemulsão de óleo de chia apresentou fator de expansão, firmeza, fraturabilidade e luminosidade igual ao biscoito controle. Sensorialmente, o biscoito teste não apresentou diferença significativa quanto a aparência, sabor e textura, e a intenção de compra foi positiva. Portanto, com este estudo, foi possível verificar que a mucilagem de chia apresenta propriedades que a possibilitam atuar como agente emulsificante em produtos alimentícios. Além disso, os biscoitos desenvolvidos apresentaram-se mais saudáveis, com menor teor total de lipídios, garantindo características sensoriais e tecnológicas adequadas.

Palavras-chave: Nanoencapsulação. Panificação. Semente de chia. Propriedades tecnológicas. Adição.

1 INTRODUÇÃO

Os biscoitos estão se tornando um produto de panificação cada vez mais popular em países em desenvolvimento devido a suas diversas características atraentes, dentre elas o sabor desejável e prazo de validade relativamente longo (FARZANA; MOHAJAN, 2015). Entretanto, o elevado consumo destes pode acarretar em efeitos negativos para a saúde, como a obesidade causada pelo alto consumo de açúcar e de óleo, desencorajando os potenciais consumidores (SERREM; DE KOCK; TAYLOR, 2011). Além disso, o perfil de ácidos graxos dos biscoitos pode aumentar os fatores de risco relacionados ao aparecimento de doenças cardiovasculares, tais como um elevado teor de ácidos graxos saturados (BLEKKENHORST et al., 2015).

Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) ômega-3 e ômega-6 não podem ser sintetizados pelo metabolismo humano e são fundamentais na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes, artrite e doenças autoimunes (AHMED et al., 2009; BILINSKI et al., 2019). No entanto, apesar dos benefícios comprovados para a saúde, a ingestão desses AGPIs não atende aos níveis recomendados na maioria dos países, intensificando ainda mais a pesquisa sobre a incorporação de óleos ricos em AGPIs em alimentos (JULIO et al., 2019).

Nesse sentido, há uma busca constante por materiais vegetais que sejam promissores e de baixo custo como fonte de AGPIs (VILLANUEVA-BERMEJO et al., 2019). O óleo de chia se destaca dentre os demais óleos vegetais por ser uma fonte atraente desses ácidos graxos essenciais, devido ao elevado teor de ômega-3 (ácido linolênico, 68%) e ômega-6 (ácido linoleico, 12%) (FERNANDES et al., 2019). O inconveniente da adição desse óleo em alimentos são as insaturações presentes, que o torna muito susceptível a oxidação e pode provocar alterações sensoriais nos produtos (IXTAINA et al., 2015).

As técnicas de encapsulação auxiliam na preservação do óleo de chia durante o processamento, armazenamento e transporte (TIMILSENA et al., 2016a). O processo de nanoencapsulação na nanoemulsão é uma alternativa tecnológica capaz de aumentar a estabilidade do óleo, mantendo o perfil graxo, permitindo sua incorporação em alimentos, além de facilitar o uso de menos de gordura na formulação sem afetar as características do alimento, oferecendo assim ao consumidor uma opção mais saudável (CHAUDHRY et al., 2008; MARTÍNEZ et al., 2015).

Entretanto a maior parte dos estudos se concentram apenas em estudar o processo de encapsulação e a qualidade das micro/nanopartículas finais do óleo de chia, sendo escassos

os estudos de aplicação em alimentos. Dentre os estudos publicados, não existe aplicação de nanoemulsão de óleo de chia em alimentos, somente de micropartículas obtidas por outras técnicas, como é o caso de Almeida et al. (2018) que avaliaram a adição de micropartículas de óleo de chia obtidas por homogeneização a quente durante o processo de forneamento de *cookies*. Também Rojas et al. (2019) desenvolveram maionese contendo microcápsulas de óleo de chia, de sementes de abóbora e de baru obtidas pela técnica de homogeneização a quente seguida de liofilização e Heck et al. (2019) estudaram os compostos voláteis e o perfil sensorial de hambúrgueres com substituição de 50% da gordura por micropartículas de óleo de chia obtidas por gelificação iônica.

Logo, é estratégico estudar a aplicação de nanopartículas de óleo de chia em alimentos que apresentam elevado consumo pela população. Portanto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver biscoitos, substituindo totalmente a água e o óleo adicionados por nanoemulsão de óleo de chia e avaliar o biscoito frente as características físico-químicas, tecnológicas e sensoriais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O óleo de chia foi obtido por prensagem em uma prensa hidráulica, composta por uma rosca infinita em um cilindro, sendo o óleo extraído das sementes de chia (adquiridas no comércio local da cidade de Rio Grande/RS, Brasil) por atrito da rosca com a parede do cilindro. A semente de chia e os ingredientes para os biscoitos: farinha de trigo, óleo de soja, sal, fermento em pó químico e açúcar foram adquiridos no comércio local (Mérida/Yucatán, México). Todos os reagentes utilizados nas determinações químicas foram de grau analítico.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Desenvolvimento de nanoemulsão de óleo de chia

2.2.1.1 Obtenção da mucilagem de chia

A mucilagem de chia foi obtida conforme Fernandes e Salas-Mellado et al. (2017) com modificações. As sementes de chia e água foram colocadas na proporção de 1:40 (semente: água), com agitação de 6500 rpm (IKA, T25 digital, México) durante 1 h e 30 min a temperatura ambiente. Após, a mucilagem formada foi separada da semente por filtração em filtro de pano. O filtrado foi centrifugado (Beckman, GS-15R, EUA) a 5985 xg por 15 min. O sobrenadante (mucilagem) foi seco a 50 °C por 10 h e armazenado sob refrigeração (4 °C) em vidros selados e protegidas contra a permeação de luz.

2.2.1.2 Preparo da nanoemulsão

Antes da preparação da nanoemulsão, a mucilagem de chia (0,375 g) foi hidratada com água destilada (25 mL), e mantida em agitação durante 30 min antes da utilização. Essa fase orgânica foi lentamente adicionada à fase aquosa, a qual foi composta por Tween 20 (0,1 mL), que foi utilizado como surfactante, e óleo de chia (0,233 mL). As nanoemulsões foram misturadas por 15 min a 10000 rpm usando o homogeneizador Ultraturrax (IKA, T25 digital, México). A nanoemulsão foi armazenada sob refrigeração em vidro fechado e protegida contra a permeação de luz e gás até a aplicação.

A nanoemulsão de óleo de chia foi desenvolvida conforme o Artigo IV citado anteriormente (Tratamento T4), a qual após a caracterização foi a que apresentou as melhores respostas físico-químicas, propriedades térmicas e estabilidade ao armazenamento. Na condição utilizada nesta aplicação a nanoemulsão apresentou tamanho de partícula de 160,5 nm, índice de polidispersão de 0,547, potencial zeta de -27,2 e eficiência de encapsulação de 96,6%.

2.2.2 Preparação dos biscoitos

As formulações dos biscoitos estão apresentadas na Tabela 1. A formulação controle foi desenvolvida a partir de testes preliminares das quantidades dos componentes. Para a formulação teste, todo o conteúdo de óleo e água adicionados ao biscoito controle foi substituído por nanoemulsão de óleo de chia.

Os ingredientes secos foram misturados em batedeira planetária (KitchenAid) por três minutos em baixa velocidade, seguida da adição de água e óleo de soja ou da nanoemulsão. Após a massa foi misturada por dois minutos na velocidade média. A massa foi então laminada na espessura de, aproximadamente, 0,4 cm e cortada em matriz de 5 cm de diâmetro. Os discos de circunferência uniforme foram pesados e medidos os diâmetros antes do forneamento a 200 °C por 20 min, em forno elétrico. Após 1 h de resfriamento, foram realizadas as determinações físico-químicas e tecnológicas nos biscoitos.

Tabela 1 – Formulações do biscoito controle e do biscoito teste.

	Controle	Teste
Farinha de trigo (g)	105	105
Açúcar (g)	7,5	7,5
Sal (g)	3	3
Fermento em pó químico (g)	5	5
Óleo de soja (mL)	10	-
Água (mL)	50	-
Nanoemulsão de óleo de chia (mL)*	-	60

*A nanoemulsão adicionada foi composta por 58,35 mL de água, 0,54 mL de óleo de chia, 0,88 g de mucilagem de chia e 0,23 mL de Tween 20.

2.2.3 Avaliação dos biscoitos

2.2.3.1 Composição proximal e valor calórico

Os biscoitos foram caracterizadas quanto ao teor de umidade (método nº 935.29), cinzas (método nº 932.03), proteínas (método micro-Kjedahl, nº 920.87), fibra bruta (método nº 962.09), fibra dietética total (método nº 985.29) e lipídios (método Soxhlet, nº 920.85) (AOAC, 2005). O conteúdo de carboidratos foi determinado por diferença. O valor calórico

dos biscoitos foi determinado segundo Watt e Merrill (1963), utilizando os coeficientes calóricos de proteínas, carboidratos e lipídios, conforme a Equação 1.

$$\text{Valor calórico (kcal.100 g}^{-1}\text{)} = (\text{g de proteína} \cdot 4) + (\text{g de lipídios} \cdot 9) + (\text{g de carboidratos} \cdot 4) \quad (1)$$

2.2.3.2 Características físicas

As características físicas dos biscoitos foram avaliadas de acordo com o método 10-50D da AACCC (2000). A massa dos biscoitos foi determinada por pesagem, antes e depois do forneamento, sendo expressa em gramas. O diâmetro e a espessura dos biscoitos foram determinados com paquímetro, antes e depois do forneamento, sendo expresso em centímetros. O fator de expansão foi determinado pela razão entre o diâmetro e a espessura dos biscoitos após o forneamento, conforme a Equação 2.

$$\text{Fator de expansão (\%)} = \frac{\text{Diâmetro do biscoito após o forneamento}}{\text{Espessura do biscoito após o forneamento}} \quad (2)$$

Os biscoitos foram avaliados quanto a perda de massa durante a cocção, conforme a Equação 3, a qual relaciona a massa dos biscoitos antes (m_{massa}) e após (m_{biscoito}) o forneamento.

$$\text{Perda de cocção (\%)} = \frac{m_{\text{massa}} - m_{\text{biscoito}}}{m_{\text{massa}}} \times 100 \quad (3)$$

2.2.3.3 Textura

A textura dos biscoitos foi avaliada através da firmeza e fraturabilidade em texturômetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, UK), a qual consistiu em comprimir 10 biscoitos no centro da plataforma do Analisador de Textura, com probe cilíndrico HDP/3PB, nas seguintes condições de trabalho: velocidade de pré-teste: 1,0 mm. s⁻¹; velocidade de teste: 3,0 mm. s⁻¹; velocidade de pós-teste: 10,0 mm. s⁻¹; distância: 5 mm; *trigger force*: 50 g. A firmeza foi expressa como Newton (N) e a fraturabilidade em mm.

2.2.3.4 Cor

A cor dos biscoitos foi determinada em Colorímetro (Minolta, modelo CR400, Japão). A análise foi baseada no sistema CIE $L^*a^*b^*$ que foi definido pela CIE (Comissão Internacional de Iluminação) em 1976 para determinar os valores L^* (luminosidade), a^* e b^* (coordenadas de cromaticidade). O ângulo de tonalidade ou h° (ângulo *hue*) também foi calculado, conforme a Equação 4.

$$h^\circ = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (4)$$

2.2.3.5 Análise sensorial

A análise sensorial dos produtos elaborados foi realizada na Universidad Autónoma de Yucatán/México realizada com 60 julgadores não-treinados, de ambos sexos, escolhidos aleatoriamente entre alunos e professores da instituição, no Laboratório de Análise Sensorial da Universidad Autónoma de Yucatán – *Facultad de Ingeniería Química*, onde foram aplicados os testes de aceitabilidade e intenção de compra nas amostras de biscoitos com adição de nanoemulsão de óleo chia.

As amostras de biscoitos foram servidas em bandejas plásticas, sendo fornecido um biscoito por tipo de amostra. As amostras foram o biscoito controle e o biscoito teste codificadas com 3 dígitos, obtidos de uma tabela de números aleatórios e água mineral foi oferecida para limpeza do palato entre a avaliação das amostras.

Os testes de intenção de compra foram realizados em uma escala de 5 pontos (1 – certamente não compraria à 5 – certamente compraria) e o teste de aceitabilidade utilizou uma escala hedônica de nove pontos, tendo em um extremo a qualificação “desgostei muitíssimo”, no centro “indiferente” e na outra extremidade “gostei muitíssimo” avaliando os atributos de aparência, cor, aroma, textura, sabor e qualidade global. O índice de aceitabilidade (IA) foi calculado conforme a Equação 5.

$$IA (\%) = \frac{\text{Nota}}{9} \times 100 \quad (5)$$

2.2.4 Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata. Os dados foram comparados usando a análise de variância (ANOVA), e os valores médios obtidos foram comparados pelo teste de *t-Student* considerando um nível de significância (α) em $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS BISCOITOS

3.1.1 Composição proximal

A Tabela 2 apresenta a composição proximal dos biscoitos controle e teste, o qual apresentou substituição total do teor de água e óleo de soja por nanoemulsão de óleo de chia. O teor de umidade dos biscoitos diferiu significativamente, sendo a amostra controle a com menor umidade (5,6%) e a amostra teste com maior umidade (6,2%). Entretanto, as duas amostras de biscoitos apresentaram baixo teor de umidade, o que é vantajoso para manter a qualidade dos biscoitos, já que a maioria dos micro-organismos deteriorantes pode não ser capaz de sobreviver nesse nível de umidade (AGU; OKOLI, 2014). Além do mais, o teor de umidade encontrada para ambas formulações está de acordo com a legislação brasileira (Resolução - CNNPA nº 12 de 1978) para biscoitos, a qual defini que o máximo permitido é de 14% (BRASIL, 1978).

Tabela 2 – Composição proximal dos biscoitos.

	Biscoito Controle	Biscoito Teste
Umidade (%)	5,6 ± 0,07 ^b	6,2 ± 0,04 ^a
Proteínas* (%)	10,5 ± 0,13 ^a	10,1 ± 0,21 ^a
Lipídios* (%)	7,1 ± 0,05 ^a	1,9 ± 0,31 ^b
Cinzas* (%)	6,8 ± 0,00 ^b	7,0 ± 0,05 ^a
Fibras bruta* (%)	2,7 ± 0,07 ^a	2,7 ± 0,29 ^a
Carboidratos* (%)	72,9	78,3
Valor calórico (kcal. g⁻¹)	408,3	381,5

*base seca. A mesma letra da linha indica que não houve diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste de *t-Student* ($p > 0,05$).

O biscoito controle apresentou menor teor de umidade porque se adicionou uma menor quantidade de água à formulação. Além disso, a formulação teste apresentava na sua composição a mucilagem de chia (material encapsulante do óleo de chia), a qual é composta principalmente por fibras solúveis (FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2017), e sabe-se que as fibras apresentam uma alta higroscopicidade, absorvendo a água do meio quando adicionadas a alimentos.

O teor lipídico final foi reduzido significativamente, correspondendo uma redução de 73,2% em relação ao biscoito controle. A alta redução do teor lipídico mostrou-se como um resultado positivo, uma vez que é um dos fatores mais considerados pelos consumidores, atualmente, durante a compra. Embora a redução do óleo adicionado ao biscoito tenha sido de 94,6%, a redução final encontrada no biscoito teste foi menor devido à presença possivelmente de lipídios na mucilagem de chia. Krystyjan et al. (2015) substituíram 50% da margarina em biscoitos por inulina e encontraram uma redução no teor lipídico final de 45,6% em relação ao biscoito controle.

O teor de fibras e o teor proteico não apresentou diferença significativa entre as amostras. Embora a mucilagem de chia apresente em sua composição cerca de 12,5% de fibras brutas e 10,7% de proteínas (DARWISH; KHALIFA; SOHAIMY, 2018), esses teores não foram suficientes para promover a alteração desses parâmetros.

O teor de cinzas aumentou no biscoito teste devido a presença da mucilagem de chia como material encapsulante do óleo de chia, a qual contém cerca de 9% de minerais e 11% de proteínas (FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2017). A redução do valor calórico para o biscoito teste está associado a diminuição do teor de lipídios, os quais nutricionalmente, possuem elevado valor energético (9 kcal. g⁻¹). A redução do valor calórico foi de apenas 6,7%, porque a parcela de lipídios diminuiu, e é a que mais contribui, pois apresenta coeficiente calórico de 9 kcal. g⁻¹, esta é menor comparada ao teor de carboidratos, que apresenta coeficiente calórico de 4 kcal. g⁻¹.

Na área de panificação, ainda não se tem estudos de aplicação de nanoemulsões. Dos estudos existentes a maioria se concentra na adição de nanoemulsão em relação a redução ao teor de gordura em produtos cárneos. Entretanto, as conclusões são semelhantes as encontradas nesse estudo. Almaráz-Buendía et al. (2019) desenvolveram um sistema de carne emulsionada substituindo parcialmente a gordura de porco por nanoemulsões contendo compostos antioxidantes e os autores verificaram que a incorporação da nanoemulsão no sistema de carne emulsionada melhorou a contribuição nutricional devido ao incremento de proteínas e redução do teor lipídico.

3.1.2 Características tecnológicas

A Tabela 3 apresenta a avaliação físico-química, tecnológica e parâmetros de cor dos biscoitos controle e teste, o qual apresentou substituição total do teor de água e óleo de soja por nanoemulsão de óleo de chia. Através da Tabela 3, é possível verificar que a massa e a espessura dos biscoitos apresentaram diferença significativa antes e após o forneamento. Em relação ao diâmetro, os biscoitos controles mantiveram o seu valor após o forneamento, entretanto os biscoitos testes apresentaram maior diâmetro antes do forneamento. A diminuição do diâmetro dos biscoitos foi semelhante e está relacionada aos ingredientes presentes na formulação, principalmente à farinha de trigo. A leve diferença entre o biscoito controle e o biscoito teste pode ser devido a presença da mucilagem.

Tabela 3 – Avaliação físico-química, tecnológica e parâmetros de cor dos biscoitos.

		Biscoito Controle	Biscoito Teste
Massa do biscoito (g)	Antes o forneamento	6,62 ± 0,93 ^{b,A}	6,89 ± 0,86 ^{a,A}
	Após o forneamento	4,35 ± 0,66 ^{a,B}	4,27 ± 0,71 ^{b,B}
Espessura do biscoito (cm)	Antes o forneamento	0,39 ± 0,05 ^{a,B}	0,33 ± 0,05 ^{b,B}
	Após o forneamento	0,50 ± 0,05 ^{a,A}	0,52 ± 0,09 ^{a,A}
Diâmetro do biscoito (cm)	Antes o forneamento	4,60 ± 0,23 ^{b,A}	4,89 ± 0,27 ^{a,A}
	Após o forneamento	4,44 ± 0,26 ^{a,A}	4,49 ± 0,28 ^{a,B}
Fator de expansão		8,99 ± 0,37 ^a	9,54 ± 1,03 ^a
Perda de cocção (%)		34,6 ± 0,85 ^b	37,4 ± 1,14 ^a
Firmeza (N)		66,6 ± 9,68 ^a	67,1 ± 5,23 ^a
Fraturabilidade (mm)		4,25 ± 0,34 ^a	4,16 ± 0,64 ^a
L*		68,55 ± 1,97 ^a	69,68 ± 0,92 ^a
a*		3,21 ± 0,63 ^a	1,53 ± 0,24 ^b
b*		29,01 ± 1,18 ^a	17,97 ± 0,55 ^b
h°		83,69	85,13

L*: Luminosidade; a* e b*: cromaticidade; h°: ângulo *hue*. Letras minúsculas iguais na linha indicam que não houve diferenças significativas entre as médias dos dois biscoitos formulados e letras maiúsculas iguais na coluna indicam que não houve diferença significativa entre as médias antes e após o forneamento em uma mesma formulação de biscoito de acordo com o teste de *t-Student* ($p > 0,05$).

3.1.2.1 Fator de expansão

O fator de expansão é um parâmetro de suma importância de ser determinado em biscoitos, pois é considerado um padrão essencial para a qualidade dos mesmos e está relacionado com a habilidade dos ingredientes em absorver água (FREITAS; VALENTE; CRUZ, 2014). Foi possível verificar pela Tabela 3, que o fator de expansão dos biscoitos não apresentou diferença significativa entre as duas formulações avaliadas, indicando que a substituição do teor de água e óleo de soja pela nanoemulsão de óleo de chia não causou alterações nas dimensões (espessura e diâmetro) dos biscoitos.

3.1.2.2 Perda de cocção

A formulação elaborada com a adição da nanoemulsão de óleo de chia apresentou maior perda de peso no forneamento comparado com formulação controle, mostrando que a substituição total da gordura e da água adicionadas ao biscoito alterou o rendimento em peso durante o forneamento (Tabela 3). Entretanto, a diferença foi pequena, de somente 2,8%.

Esperava-se que fosse menor a evaporação de água no biscoito teste, porque a mucilagem de chia por ser composta essencialmente por fibras possui uma alta retenção de água, diminuindo a água livre, não permitindo a sua evaporação durante o forneamento (FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2017). Isso evidencia que a mucilagem de chia estava ligada ao surfactante (Tween 20) atuando com a função de proteção do óleo de chia.

3.1.2.3 Textura

A textura dos biscoitos é um parâmetro importante de qualidade e para a subsequente aceitação pelos consumidores. A força de ruptura reflete a firmeza dos biscoitos e um valor maior desta indica uma textura mais firme. Um fator importante é que a textura do biscoito é significativamente afetada pelo seu teor de umidade, sendo que quanto menor o teor de umidade, mais fácil é de se quebrar o biscoito do que aquelas com maior teor de umidade (WANG et al., 2016). A força de corte refere-se à força aplicada pelos dentes molares para comprimir o alimento e a fraturabilidade indica a capacidade de quebrar o alimento em pedaços quando é mordido pelos incisivos (PAULA; CONTI-SILVA, 2014).

As duas amostras não apresentaram diferença significativa em relação a firmeza e a fraturabilidade (Tabela 3), embora tenha sido realizada a substituição total do óleo de soja e a água da formulação controle pela nanoemulsão de óleo de chia no biscoito teste. Alguns autores mencionam que a adição de componentes com elevado teor de fibras em alimentos pode ocasionar mudanças na textura. Entretanto, neste estudo, o teor de mucilagem de chia, utilizado como material de parede do óleo de chia, adicionado a formulação do biscoito não causou diferença na textura dos biscoitos. Mir et al. (2017) estudaram a influência do bagaço de maçã em biscoitos de arroz e verificaram que os valores da fraturabilidade diminuíram com o aumento da quantidade de bagaço. Os autores relacionaram a diminuição da firmeza do biscoito de arroz com o alto conteúdo de fibra solúvel presente no bagaço de maçã, o qual agiu como lubrificante e produziu um biscoito mais crocante do que um biscoito mais duro.

Outro fator a se considerar é o tamanho de partícula dos componentes na formulação dos biscoitos. Wang et al. (2016) verificaram que menores tamanhos de partícula produziam biscoitos com maior firmeza. Tal fato não foi verificado neste estudo, evidenciando mais uma vez a eficácia da utilização da nanoemulsão de óleo de chia como substituinte do teor lipídico em biscoitos.

Outro aspecto importante em relação à fraturabilidade é o conteúdo lipídico. Um teor de lipídico entre 30 e 38% acarreta em biscoitos menos fraturáveis (MONTES et al., 2015). Neste estudo, o conteúdo lipídico foi de 7,1% e 1,9%, produzindo biscoitos mais duros, o que era o desejado para o tipo de biscoito formulado. Montes et al. (2015) como desenvolveram biscoitos do tipo *cookies*, encontram um teor lipídico de 35%, o que foi desejado para obter um produto mais macio.

Almeida et al. (2018) verificaram que biscoitos do tipo *cookies* carregados com micropartículas de óleo de chia com cera de carnaúba apresentaram uma menor resistência à perfuração do que as outras amostras testadas, provavelmente devido a uma inibição do desenvolvimento de proteínas de glúten.

3.1.2.4 Cor

A cor é um parâmetro importante que influencia a aceitação sensorial do consumidor (STEFANI et al., 2019). Para produtos assados, a cor é diretamente influenciada pela reação de Maillard e caramelização, as principais alterações químicas causadas durante o forneamento (FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2017). Por isso, a cor é de suma importância para esse tipo de produto.

A luminosidade dos biscoitos não diferiu significativamente (Tabela 3), o mesmo que encontrado por Almeida et al. (2018). Entretanto os parâmetros de cromaticidade a^* (vermelho-verde) e b^* (azul-amarelo) apresentaram maior intensidade para o biscoito controle. Essas diferenças podem ser devidas à presença da mucilagem de chia, óleo de chia e Tween 20 na composição da nanoemulsão, que podem conferir leve redução na intensidade do vermelho e amarelo. O ângulo *hue* das amostras de biscoitos foram semelhantes e se aproximaram da cor amarela (90°).

3.2 ANÁLISE SENSORIAL

A maior parte dos consumidores foi do sexo masculino (58,3%) e tinham entre 18 e 68 anos, de um total de 60 julgadores. Um questionário foi entregue juntamente com a ficha de avaliação a fim de traçar um perfil dos julgadores. A maioria dos julgadores consomem biscoitos de 1 a 2 vezes por semana (40%) e de 3 a 4 vezes por semana (31,7%), e apenas 8,3% consomem biscoitos diariamente, sendo o restante (20%) consumidores de biscoitos quinzenalmente ou mensalmente. Em relação a quantidade consumida, 33,3% dos consumidores consome de 1 a 5 biscoitos, 43,3% de 5 a 10 biscoitos, 16,7% de 10 a 15 biscoitos e 6,7% de 15 a 20 biscoitos. O sabor foi o parâmetro mais considerado pelos julgadores como fator decisivo de compra, representando 78,5%. Apenas 10,8% julgaram que o benefício que o biscoito apresenta é o principal fator. O restante (10,7%), acredita que o preço ou algum outro fator é o mais relevante para a compra.

A Tabela apresenta as notas e valores obtidos na análise sensorial dos biscoitos. Observando a Tabela 4 é possível perceber que apenas os parâmetros de aparência, textura e sabor não apresentaram diferença significativa entre as duas amostras testadas. Os atributos aparência e sabor são as características mais importantes que podem influenciar as propriedades sensoriais de produtos alimentícios adicionados com novos ingredientes ou pela substituição dos mesmos por outros (CHAMBERS, 2019).

A cor, aroma e a qualidade global apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre as duas formulações, sendo que nessas características o biscoito controle obteve notas melhores que o biscoito com adição da nanoemulsão. Embora tenha ocorrido uma redução significativa no teor de gordura na formulação, que é o ingrediente que mais contribui de forma positiva na textura e no sabor, esses parâmetros não apresentaram diferença significativa entre os biscoitos.

Tabela 4 – Notas e valores obtidos na análise sensorial dos biscoitos.

	Biscoito Controle	Biscoito Teste
Aparência	6,95 ± 1,37 ^a	6,75 ± 1,53 ^a
Cor	7,13 ± 1,38 ^a	6,17 ± 1,49 ^b
Aroma	6,67 ± 1,47 ^a	6,22 ± 1,52 ^b
Textura	5,95 ± 1,82 ^a	5,97 ± 2,07 ^a
Sabor	6,58 ± 1,54 ^a	6,30 ± 2,09 ^a
Qualidade global	6,75 ± 1,26 ^a	6,35 ± 1,73 ^b
Índice de aceitação (IA) (%)	75,0	70,5
Certamente não compraria (%)	6,7	6,7
Provavelmente não compraria (%)	8,3	23,3
Talvez compraria/ talvez não compraria (%)	33,3	26,7
Provavelmente compraria (%)	40,0	28,3
Certamente compraria (%)	11,7	15,0

A mesma letra da linha indica que não houve diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste de *t-Student* ($p > 0,05$).

Todos os atributos obtiveram nota entre 5 e 8, demonstrando que as respostas variaram de “indiferente” a “gostei muito”. De acordo com Spehar e Santos (2002), para que um produto seja considerado como aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que se obtenha um IA de no mínimo 70%, o qual foi obtido nas duas amostras. Isso mostra que o biscoito com nanoemulsão de óleo de chia seria um produto aceito no mercado.

De acordo com a Tabela 4, as duas amostras apresentaram atitude positiva de intenção de compra. As intenções de compra foram melhores para a amostra controle, sendo que 40% descreveram que provavelmente comprariam a amostra controle, enquanto que apenas 28,3% a amostra teste. Apenas 6,7% dos indivíduos certamente não comprariam nenhuma das duas amostras.

Stefani et al. (2019) aplicaram nanoemulsão de óleo de linhaça utilizando mucilagem de sementes de chia como material estruturante em suco de laranja. Os autores não encontraram diferença significativa entre os parâmetros sensoriais avaliados entre o suco de laranja controle e aquele adicionado da nanoemulsão.

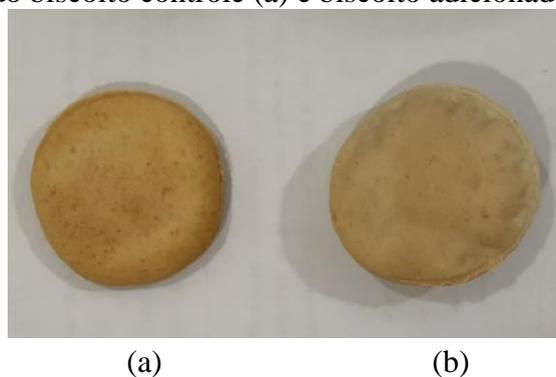
Heck et al. (2019) avaliaram os compostos voláteis e o perfil sensorial de hambúrgueres com reposição de 50% de gordura por micropartículas de óleo de chia

enriquecido com alecrim. O óleo de chia não teve um grande impacto no perfil volátil de hambúrgueres crus e cozidos, tanto para as formas não encapsuladas quanto para as microencapsuladas, com uma exceção quando o alecrim foi adicionado. A incorporação direta de compostos bioativos do alecrim no óleo de chia foi eficaz para resolver os impactos sensoriais da oxidação.

Rojas et al. (2019) verificaram que maionese contendo micropartículas de óleo de chia, obtidas pela técnica de homogeneização a quente seguida de liofilização, apresentou maior teor de ômega-3 que as maioneses desenvolvidas com micropartículas de óleo de semente de abóbora e de óleo de baru. Além disso, os resultados foram semelhantes para todas as formulações testadas em relação às características tecnológicas e sensoriais, sendo que os consumidores não foram capazes de diferenciar entre amostra controle e as amostras com micropartículas dos óleos testados.

Como a diferença entre os dois biscoitos foi sutilmente percebida, é possível adicionar as nanopartículas de óleo de chia visando o enriquecimento do biscoito. A Figura 1 apresenta os biscoitos desenvolvidos nesse estudo.

Figura 1 – Fotografias do biscoito controle (a) e biscoito adicionado da nanoemulsão (b).



4 CONCLUSÃO

Foi desenvolvido um biscoito substituindo totalmente a água e o óleo por nanoemulsão de óleo de chia obtida por homogeneização a alta velocidade, na formulação. O biscoito adicionado de nanoemulsão apresentou características importantes semelhantes ao controle tais como fator de expansão, firmeza, fraturabilidade e luminosidade, indicando que a adição de nanoemulsão de chia não alterou fundamentalmente as características do biscoito testado.

Embora a região em que foi realizada a análise sensorial apresente maior consumo de alimentos regionais com elevado consumo de produtos com milho, o produto desenvolvido apresentou respostas positivas de parte dos julgadores demonstrando a possibilidade de aceitação pelo consumidor.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9. ed. Saint Paul: AACC International, St. Paul, MN, USA, 2000.

AGU, H. O.; OKOLI, N. A. Physico-chemical, sensory, and microbiological assessments of wheat-based biscuit improved with beniseed and unripe plantain. **Food Science and Nutrition**, v. 2, n. 5, p. 464–469, 2014.

AHMED, S. U.; REDDY, K. K.; SWATHY, S. L.; SINGH, S. K.; KANJILAL, S.; PRASAD, R. B. N.; PANDEY, A. Enrichment of γ -linolenic acid in the lipid extracted from *Mucor zychae* MTCC 5420. **Food Research International**, v. 42, n. 4, p. 449–453, 2009.

ALMARÁZ-BUENDIA, I.; HERNÁNDEZ-ESCALONA, A.; GONZÁLEZ-TENORIO, R.; SANTOS-ORDOÑEZ, N.; ESPINO-GARCÍA, J. J.; MARTÍNEZ-JUÁREZ, V.; MEZANIETO, M. A.; MONTIEL, R. G. C. Producing an Emulsified Meat System by Partially Substituting Pig Fat with Nanoemulsions that Contain Antioxidant Compounds : The Effect on Texture Profile. **Foods**, v. 8, p. 1–11, 2019.

ALMEIDA, M. M. C. DE; FRANCISCO, C. R. L.; OLIVEIRA, A. DE; CAMPOS, S. S. DE; BILCK, A. P.; FUCHS, R. H. B.; GONÇALVES, O. H.; VELDERRAMA, P.; GENENA, A. K.; LEIMANN, F. V. Textural, Color, Hygroscopic, Lipid Oxidation, and Sensory Properties of Cookies Containing Free and Microencapsulated Chia Oil. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, p. 926–939, 2018.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**[Gaithersburg, Md.] : AOAC International, 2005. Disponível em: <<https://search.library.wisc.edu/catalog/999794307402121>>

BILINSKI, K.; CHANG, D.; FAHEY, P.; BENSOUSSAN, A. Effect of omega-3 supplementation on the omega-3 blood index and fatty acid biomarkers in healthy individuals. **Advances in Integrative Medicine**, p. 10–15, 2019.

BLEKKENHORST, L. C.; PRINCE, R. L.; HODGSON, J. M.; LIM, W. H.; ZHU, K.; DEVINE, A.; THOMPSON, P. L.; LEWIS, J. R. Dietary saturated fat intake and atherosclerotic vascular disease mortality in elderly women: A prospective cohort study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 101, n. 6, p. 1263–1268, 2015.

BRASIL. Resolução CNNPA nº 12. **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - CNNPA**, 1978.

CHAMBERS, E. **Analysis of sensory properties in foods: A special issue**. Basel, Switzerland: Editorial Office, 2019. v. 8

CHAUDHRY, Q.; SCOTTER, M.; BLACKBURN, J.; ROSS, B.; BOXALL, A.; CASTLE, L.; AITKEN, R.; WATKINS, R. Applications and implications of nanotechnologies for the

food sector. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 25, n. 3, p. 241–258, 2008.

DARWISH, A. M. G.; KHALIFA, R. E.; SOHAIMY, S. A. E. Functional Properties of Chia Seed Mucilage Supplemented In Low Fat Yoghurt. **The Alexandria Medical Journal**, v. 39, p. 450–458, 2018.

FARZANA, T.; MOHAJAN, S. Effect of incorporation of soy flour to wheat flour on nutritional and sensory quality of biscuits fortified with mushroom. **Food Science and Nutrition**, v. 3, n. 5, p. 363–369, 2015.

FERNANDES, S. S.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. **Food Chemistry**, v. 227, p. 237–244, 2017.

FERNANDES, S. S.; TONATO, D.; MAZUTTI, M. A.; DE ABREU, B. R.; DA COSTA CABRERA, D.; D'OCA, C. D. R. M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Yield and quality of chia oil extracted via different methods. **Journal of Food Engineering**, v. 262, p. 200–208, 2019.

FREITAS, C. J.; VALENTE, D. R.; CRUZ, S. P. Physical, chemical and sensory characteristics of cookies made of pumpkin seed flour (PSF) and baru seed flour (BSF) for celiac disease. **Demetra: Food, Nutrition & Health**, v. 9, n. 4, p. 1003–1018, 2014.

HECK, R. T.; FAGUNDES, M. B.; CICHOSKI, A. J.; DE MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; LORENZO, J. M.; WAGNER, R.; CAMPAGNOL, P. C. B. Volatile compounds and sensory profile of burgers with 50% fat replacement by microparticles of chia oil enriched with rosemary. **Meat Science**, v. 148, p. 164–170, 2019.

IXTAINA, V. Y.; JULIO, L. M.; WAGNER, J. R.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physicochemical characterization and stability of chia oil microencapsulated with sodium caseinate and lactose by spray-drying. **Powder Technology**, v. 271, p. 26–34, 2015.

JULIO, L. M.; COPADO, C. N.; CRESPO, R.; DIEHL, B. W. K.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Design of microparticles of chia seed oil by using the electrostatic layer-by-layer deposition technique. **Powder Technology**, v. 345, p. 750–757, 2019.

KRYSTYJAN, M.; GUMUL, D.; ZIOBRO, R.; SIKORA, M.; AL, M. K. E. T. The effect of inulin as a fat replacement on dough and biscuit properties. **Journal of Food Quality**, v. 38, p. 305–315, 2015.

MARTÍNEZ, M. L.; CURTI, M. I.; ROCCIA, P.; LLABOT, J. M.; PENCI, M. C.; BODOIRA, R. M.; RIBOTTA, P. D. Oxidative stability of walnut (*Juglans regia* L.) and chia (*Salvia hispanica* L.) oils microencapsulated by spray drying. **Powder Technology**, v. 270, n. Part A, p. 271–277, 2015.

MIR, S. A.; BOSCO, S. J. D.; SHAH, M. A.; SANTHALAKSHMY, S.; MIR, M. M. Effect of apple pomace on quality characteristics of brown rice based cracker. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 1, p. 25–32, 2017.

MONTES, S. DE S.; RODRIGUES, L. M.; CARDOSO, R. DE C. V.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Tapioca and rice flour cookies: Technological, nutritional and sensory properties. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 39, n. 5, p. 514–522, 2015.

PAULA, A. M.; CONTI-SILVA, A. C. Texture profile and correlation between sensory and instrumental analyses on extruded snacks. **Journal of Food Engineering**, v. 121, p. 9–14, 2014.

ROJAS, V. M.; MARCONI, L. F. DA C. B.; GUIMARÃES-INÁCIO, A.; LEIMANN, F. V.; TANAMATI, A.; GOZZO, Â. M.; FUCHS, R. H. B.; BARREIRO, M. F.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; TANAMATI, A. A. C.; GONÇALVES, O. H. Formulation of mayonnaises containing PUFAs by the addition of microencapsulated chia seeds, pumpkin seeds and baru oils. **Food Chemistry**, v. 274, p. 220–227, 2019.

SERREM, C. A.; DE KOCK, H. L.; TAYLOR, J. R. N. Nutritional quality, sensory quality and consumer acceptability of sorghum and bread wheat biscuits fortified with defatted soy flour. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 74–83, 2011.

SPEHAR, C. R.; SANTOS, R. L. DE B. Quinoa BRS Piabiru : alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos. **Pesquisa Agropécuaria Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 889–893, 2002.

STEFANI, F. DA S.; CAMPO, C. DE; PAESE, K.; GUTERRES, S. S.; COSTA, T. M. H.; FLÔRES, S. H. Nanoencapsulation of linseed oil with chia mucilage as structuring material: Characterization, stability and enrichment of orange juice. **Food Research International**, v. 120, p. 872–879, 2019.

TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, R.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 347–357, 2016a.

VILLANUEVA-BERMEJO, D.; FORNARI, T.; CALVO, M. V.; FONTECHA, J.; COELHO, J. A. P.; FILIPE, R. M.; STATEVA, R. P. Application of a novel approach to modelling the supercritical extraction kinetics of oil from two sets of chia seeds. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 16, p. 1-10, 2019.

WANG, N.; HOU, G. G.; KWEON, M.; LEE, B. Effects of particle size on the properties of whole-grain soft wheat flour and its cracker baking performance. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 187–193, 2016.

WATT, B.; MERRILL, A.L. **Composition of foods: raw, processed, prepared**. Washington, DC: Consumer and Food Economics Research Division/ Agricultural Research Service, p.198 (Agriculture Handbook, 8), 1963.

CAPÍTULO III
CONCLUSÃO GERAL

3 CONCLUSÃO GERAL

O estudo da extração do óleo de chia permitiu a obtenção de um óleo com características físico-químicas adequadas para o consumo humano. A extração por fluido supercrítico proporcionou o maior rendimento, porém a extração por prensagem produziu um óleo de melhor qualidade química, devido a este resultado foi a técnica escolhida para continuar a pesquisa.

Afim de garantir as propriedades funcionais deste óleo, as técnicas de microencapsulação por *spray drying* e nanoencapsulação por nanoemulsão mostraram-se eficientes na preservação dos compostos bioativos do óleo de chia. As variáveis utilizadas em cada técnica influenciaram nas características das partículas encapsuladas finais, mas ambas apresentaram elevadas eficiências de encapsulação, tamanho de partícula adequados e aumento da estabilidade das propriedades térmicas.

A nanoemulsão foi escolhida para aplicação em um alimento pela facilidade de inserção em uma formulação já estabelecida. Além disso, os resultados obtidos com a substituição do óleo e da água em biscoito pela nanoemulsão, mostraram que o óleo de chia encapsulado pode ser facilmente adicionado a um alimento melhorando suas características nutricionais e mantendo as características tecnológicas e sensoriais.

CAPÍTULO IV

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9. ed. Saint Paul: AACC International, St. Paul, MN, USA, 2000.
- AGU, H. O.; OKOLI, N. A. Physico-chemical, sensory, and microbiological assessments of wheat-based biscuit improved with beniseed and unripe plantain. **Food Science and Nutrition**, v. 2, n. 5, p. 464–469, 2014.
- AHMED, S. U.; REDDY, K. K.; SWATHY, S. L.; SINGH, S. K.; KANJILAL, S.; PRASAD, R. B. N.; PANDEY, A. Enrichment of γ -linolenic acid in the lipid extracted from *Mucor zycha* MTCC 5420. **Food Research International**, v. 42, n. 4, p. 449–453, 2009.
- ALCÂNTARA, M. A.; LIMA, A. E. A. DE; BRAGA, A. L. M.; TONON, R. V.; GALDEANO, M. C.; MATTOS, M. DA C.; BRÍGIDA, A. I. S.; ROSENHAIM, R.; SANTOS, N. A. DOS; CORDEIRO, A. M. T. DE M. Influence of the emulsion homogenization method on the stability of chia oil microencapsulated by spray drying. **Powder Technology**, v. 354, p. 877–885, 2019.
- ALI, N. M.; YEAP, S. K.; HO, W. Y.; BEH, B. K.; TAN, S. W.; TAN, S. G. The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, p. 1–9, 2012.
- ALMARÁZ-BUENDIA, I.; HERNÁNDEZ-ESCALONA, A.; GONZÁLEZ-TENORIO, R.; SANTOS-ORDOÑEZ, N.; ESPINO-GARCÍA, J. J.; MARTÍNEZ-JUÁREZ, V.; MEZANIETO, M. A.; MONTIEL, R. G. C. Producing an Emulsified Meat System by Partially Substituting Pig Fat with Nanoemulsions that Contain Antioxidant Compounds: The Effect on Texture Profile. **Foods**, v. 8, p. 1–11, 2019.
- ALMEIDA, M. M. C. DE; FRANCISCO, C. R. L.; OLIVEIRA, A. DE; CAMPOS, S. S. DE; BILCK, A. P.; FUCHS, R. H. B.; GONÇALVES, O. H.; VELDERRAMA, P.; GENENA, A. K.; LEIMANN, F. V. Textural, Color, Hygroscopic, Lipid Oxidation, and Sensory Properties of Cookies Containing Free and Microencapsulated Chia Oil. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, p. 926–939, 2018.
- ANTRUJO, A.; AZCONA, J. O.; GARCIA, P. T.; GALLINGER, C.; ROSMINI, M.; AYERZA, R.; COATES, W.; PEREZ, C. D. Omega-3 enriched egg production: the effect of α -linolenic ω -3 fatty acid sources on laying hen performance and yolk lipid content and fatty acid composition. **British Poultry Science**, v. 52, p. 750–760, 2011.
- AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**[Gaithersburg, Md.]: AOAC International, 2005. Disponível em: <<https://search.library.wisc.edu/catalog/999794307402121>>
- AOCS. Official method Cd 18–90. In: FIRESTONE, D. (Ed.). **Official methods and recommended practices of the AOCS - American Oil Chemists' Society**. 6th ed ed., 2009.
- AREDES, M. A.; DA CAMARA, A. O.; DE PAULA, N. S.; FRAGA, K. Y. D.; DO CARMO, M. DAS G. T.; CHAVES, G. V. Efficacy of ω -3 supplementation on nutritional status, skeletal muscle, and chemoradiotherapy toxicity in cervical cancer patients: A randomized, triple-blind, clinical trial conducted in a middle-income country. **Nutrition**, v. 67–68, p. 1-12, 2019.

ATEYA, A. M.; SABRI, N. A.; EL HAKIM, I.; SHAHEEN, S. M. Effect of Omega-3 Fatty Acids on Serum Lipid Profile and Oxidative Stress in Pediatric Patients on Regular Hemodialysis: A Randomized Placebo-Controlled Study. **Journal of Renal Nutrition**, v. 27, n. 3, p. 169–174, 2017.

AYERZA, R.; COATES, W. Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. **Nutrition Research**, v. 25, n. 11, p. 995–1003, 2005.

AYERZA, R.; COATES, W. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 2, p. 1366–1371, 2011.

BARISON, A.; PEREIRA, W.; CAMPOS, F. R.; SIMONELLI, F.; LENZ, A.; GILBERTO, A. A simple methodology for the determination of fatty acid composition in edible oils through ¹H NMR spectroscopy. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 48, p. 642–650, 2010.

BELLALOU, N.; MENGISTU, A.; KASSEM, M. A. Effects of Genetics and Environment on Fatty Acid Stability in Soybean Seed. **Food and Nutrition Sciences**, v. 4, n. 9, p. 165–175, 2013.

BERNARDI, D. S.; PEREIRA, T. A.; MACIEL, N. R.; BORTOLOTO, J.; VIERA, G. S.; OLIVEIRA, G. C.; ROCHA-FILHO, P. A. Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: In vitro and in vivo assessments. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 9, p. 44, 2011.

BILINSKI, K.; CHANG, D.; FAHEY, P.; BENSOUSSAN, A. Effect of omega-3 supplementation on the omega-3 blood index and fatty acid biomarkers in healthy individuals. **Advances in Integrative Medicine**, p. 10–15, 2019.

BINSI, P.; NAYAK, N.; SARKAR, P.; JEYAKUMARI, A.; ASHRAF, M.; NINAN, G.; RAVISHANKAR, C. Structural and oxidative stabilization of spray dried fish oil microencapsulates with gum arabic and sage polyphenols: characterization and release kinetics. **Food Chemistry**, v. 15, n. 219, p. 158–168, 2017.

BLEKKENHORST, L. C.; PRINCE, R. L.; HODGSON, J. M.; LIM, W. H.; ZHU, K.; DEVINE, A.; THOMPSON, P. L.; LEWIS, J. R. Dietary saturated fat intake and atherosclerotic vascular disease mortality in elderly women: A prospective cohort study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 101, n. 6, p. 1263–1268, 2015.

BODOIRA, R. M.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D.; MARTÍNEZ, M. L. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 107–113, 2017.

BOGER, B. R.; GEORGETTI, S. R.; KUROZAWA, L. E. Microencapsulation of grape seed oil by spray drying. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 263–270, 2018.

BRASIL. Resolução CNNPA nº 12. **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - CNNPA**, 1978.

BUSILACCHI, H.; QUIROGA, M.; BUENO, M.; DI SAPIO, O.; FLORES, V.; SEVERIN, C. Evaluación de *Salvia hispanica* L. cultivada em el Sur de Santa Fe (Republica Argentina). **Cultivos Tropicales**, v. 34, n. 4, p. 55–59, 2013.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1248–1252, 2000.

- CAMPO, C. DE; DICK, M.; PEREIRA DOS SANTOS, P.; HAAS COSTA, T. M.; PAESE, K.; STANISÇUASKI GUTERRES, S.; DE OLIVEIRA RIOS, A.; HICKMANN FLÔRES, S. Zeaxanthin nanoencapsulation with *Opuntia monacantha* mucilage as structuring material: Characterization and stability evaluation under different temperatures. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 558, p. 410–421, 2018.
- CAMPO, C. DE; DOS SANTOS, P. P.; COSTA, T. M. H.; PAESE, K.; GUTERRES, S. S.; RIOS, A. DE O.; FLÔRES, S. H. Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as wall material: Characterization and stability evaluation. **Food Chemistry**, v. 234, p. 1–9, 2017.
- CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, n. 4, p. 420–428, 2005.
- CANO-HIGUITA, D. M.; ALEXANDER, H.; VÉLEZ, V.; REGINA, V.; TELIS, N. Microencapsulation of oleoresin in binary and ternary blends of gum Arabic, maltodextrin and modified starch. **Ciênc. Agrotec., Lavras**, v. 39, n. 2, p. 173–182, 2015.
- CARPENTER, J.; SAHARAN, V. K. Ultrasonic assisted formation and stability of mustard oil in water nanoemulsion: Effect of process parameters and their optimization. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 35, p. 422–430, 2017.
- CARVALHO, P. DE O.; CAMPOS, P. R. B.; NOFFS, M. D.; OLIVEIRA, J. G. DE; SHIMIZU, M. T.; SILVA, D. M. DA. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, v. 181, n. 25, p. 344, 2003.
- CASTEJÓN, N.; LUNA, P.; SEÑORANS, F. J. Ultrasonic removal of mucilage for pressurized liquid extraction of omega-3 rich oil from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 12, p. 2572–2579, 2017.
- CASTEJÓN, N.; MORENO-PÉREZ, S.; ABREU SILVEIRA, E.; FERNÁNDEZ LORENTE, G.; GUISÁN, J. M.; SEÑORÁNS, F. J. Synthesis of omega-3 ethyl esters from chia oil catalyzed by polyethylene glycol-modified lipases with improved stability. **Food Chemistry**, v. 271, p. 433–439, 2019.
- CHAARI, M.; THEOCHARI, I.; PAPADIMITRIOU, V.; XENAKIS, A.; AMMAR, E. Encapsulation of carotenoids extracted from halophilic Archaea in oil-in-water (O/W) micro- and nano-emulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 161, p. 219–227, 2018.
- CHAMBERS, E. **Analysis of sensory properties in foods: A special issue**. Basel, Switzerland: Editorial Office, 2019. v. 8
- CHAUDHRY, Q.; SCOTTER, M.; BLACKBURN, J.; ROSS, B.; BOXALL, A.; CASTLE, L.; AITKEN, R.; WATKINS, R. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 25, n. 3, p. 241–258, 2008.
- CHEW, S. C.; TAN, C. P.; NYAM, K. L. Microencapsulation of refined kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil by spray drying using β -cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate. **Journal of Food Engineering**, v. 237, p. 78–85, 2018.
- CHUESIANG, P.; SIRIPATRAWAN, U.; SANGUANDEEKUL, R.; MCLANDSBOROUGH, L.; JULIAN MCCLEMENTS, D. Optimization of cinnamon oil nanoemulsions using phase inversion temperature method: Impact of oil phase composition

and surfactant concentration. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 514, p. 208–216, 2018.

COATES, W. **Whole and Ground Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds, Chia Oil - Effects on Plasma Lipids and Fatty Acids**. [s.l.] Elsevier Inc., 2011.

COATES, W.; AYERZA, R. Chia (*Salvia hispanica* L.) seed as an n-3 fatty acid source for finishing pigs: Effects on fatty acid composition and fat stability of the meat and internal fat, growth performance, and meat sensory characteristics. **American Society of Animal Science**, v. 87, p. 3798–3804, 2009.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex Standard for Named Vegetable Oils**. Codex Stan 210, 1999.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Edible fats and oils not covered by individual standards**. Codex Stan 19, 2012.

COELHO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 729-736, 2015.

COOREY, R.; TJOE, A.; JAYASENA, V. Gelling Properties of Chia Seed and Flour. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 5, 2014.

COPADO, C. N.; DIEHL, B. W. K.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Application of Maillard reaction products on chia seed oil microcapsules with different core/wall ratios. **LWT - Food Science and Technology**, v. 86, p. 408–417, 2017.

CORREA, M.; MESOMO, M. C.; PIANOSKI, K. E.; TORRES, Y. R.; CORAZZA, M. L. Extraction of inflorescences of *Musa paradisiaca* L. using supercritical CO₂ and compressed propane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 113, p. 128–135, 2016.

COSTANTINI, L.; LUKŠIĆ, L.; MOLINARI, R.; KREFT, I.; BONAFACCIA, G.; MANZI, L.; MERENDINO, L. Development of gluten-free bread using tartary buckwheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. **Food Chemistry**, v. 165, p. 232–240, 2014.

CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M.; CRUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E. Nanotechnologies in the food industry - Recent developments, risks and regulation. **Trends in Food Science and Technology**, v. 24, n. 1, p. 30–46, 2012.

DĄBROWSKI, G.; KONOPKA, I.; CZAPLICKI, S.; TAŃSKA, M. Composition and oxidative stability of oil from *Salvia hispanica* L. seeds in relation to extraction method. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, n. 5, p. 1–9, 2017.

DARWISH, A. M. G.; KHALIFA, R. E.; SOHAIMY, S. A. E. Functional Properties of Chia Seed Mucilage Supplemented In Low Fat Yoghurt. **The Alexandria Medical Journal**, v. 39, p. 450-458, 2018.

DORDEVIC, V.; BALANČ, B.; BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; LEVIĆ, S.; TRIFKOVIĆ, K.; KALUŠEVIĆ, A.; KOSTIĆ, I.; KOMES, D.; BUGARSKI, B.; NEDOVIĆ, V. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. **Food Engineering Reviews**, v. 7, p. 452–490, 2014.

EL-BADRY, A. M.; GRAF, R.; CLAVIEN, P. A. Omega 3 - Omega 6: What is right for the liver? **Journal of Hepatology**, v. 47, n. 5, p. 718–725, 2007.

ERATTE, D.; MCKNIGHT, S.; GENGENBACH, T. R.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. P. Co-encapsulation and characterisation of omega-3 fatty acids and probiotic

bacteria in whey protein isolate – gum Arabic complex coacervates. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 882–892, 2015.

ERÇELEBI, E. A.; IBANOĞLU, E. Rheological properties of whey protein isolate stabilized emulsions with pectin and guar gum. **European Food Research and Technology**, v. 229, n. 2, p. 281–286, 2009.

ESCALONA-GARCÍA, L. A.; PEDROZA-ISLAS, R.; NATIVIDAD, R.; RODRIGUEZ-HUEZO, M. E.; CARRILLO-NAVAS, H.; PÉREZ-ALONSO, C. Oxidation kinetics and thermodynamic analysis of chia oil microencapsulated in a whey protein concentrate-polysaccharide matrix. **Journal of Food Engineering**, v. 175, p. 93–103, 2016.

FABIAN, C. J.; KIMLER, B. F.; HURSTING, S. D. Omega-3 fatty acids for breast cancer prevention and survivorship. **Breast Cancer Research**, v. 17, n. 1, p. 1–11, 2015.

FAN, M.; HU, T.; ZHAO, S.; XIONG, S.; XIE, J.; HUANG, Q. Gel characteristics and microstructure of fish myofibrillar protein/cassava starch composites. **Food Chemistry**, v. 218, p. 221–230, 2017.

FARZANA, T.; MOHAJAN, S. Effect of incorporation of soy flour to wheat flour on nutritional and sensory quality of biscuits fortified with mushroom. **Food Science and Nutrition**, v. 3, n. 5, p. 363–369, 2015.

FERNANDES, R. V. DE B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/ starch/ maltodextrin/ inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 524–532, 2014.

FERNANDES, S. S.; SALAS-MELLADO, M. D. L. M. Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. **Food Chemistry**, v. 227, 2017.

FERNANDES, S. S.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Development of Mayonnaise with Substitution of Oil or Egg Yolk by the Addition of Chia (*Salvia hispanica* L.) Mucilage. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 1, 2018.

FERNANDES, S. S.; TONATO, D.; MAZUTTI, M. A.; DE ABREU, B. R.; DA COSTA CABRERA, D.; D'OCA, C. D. R. M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Yield and quality of chia oil extracted via different methods. **Journal of Food Engineering**, v. 262, p. 200–208, 2019.

FLORES, I. S.; MARTINELLI, B. C. B.; PINTO, V. S.; QUEIROZ, L. H. K.; LIÃO, L. M. Important issues in plant tissues analyses by HR-MAS NMR. **Phytochemical Analysis**, v. 30, n. 1, p. 5–13, 2019.

FREITAS, C. J.; VALENTE, D. R.; CRUZ, S. P. Physical, chemical and sensory characteristics of cookies made of pumpkin seed flour (PSF) and baru seed flour (BSF) for celiac disease. **Demetra: Food, Nutrition & Health**, v. 9, n. 4, p. 1003–1018, 2014.

GAZEM, R. A. A.; PUNEETH, H. R.; MADHU, C. S.; SHARADA, A. C. Physicochemical Properties and in Vitro Anti-Inflammatory Effects of Indian Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 11, n. 2, p. 1–8, 2016.

GALLARDO, G.; GUIDA, L.; MARTINEZ, V.; LÓPEZ, M. C.; BERNHARDT, D.; BLASCO, R.; PEDROZA-ISLAS, R.; HERMIDA, L. G. Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. **Food Research International**, v. 52, n. 2, p. 473–482, 2013.

- GHAYEMPOUR, S.; MONTAZER, M.; MAHMOUDI RAD, M. Tragacanth gum as a natural polymeric wall for producing antimicrobial nanocapsules loaded with plant extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 514–520, 2015.
- GONZÁLEZ, A.; MARTÍNEZ, M. L.; PAREDES, A. J.; LEÓN, A. E.; RIBOTTA, P. D. Study of the preparation process and variation of wall components in chia (*Salvia hispanica* L.) oil microencapsulation. **Powder Technology**, v. 301, p. 868–875, 2016.
- GONZÁLEZ-MAÑÁN, D.; TAPIA, G.; GORMAZ, G.; ESPESSAILLES, A. D.; ESPINOSA, A.; MASSON, L.; VARELA, P.; VALENZUELA, A.; VALENZUELA, R. Bioconversion of a -linolenic acid to n-3 LCPUFA and expression of PPAR- alpha , acyl coenzyme A oxidase 1 and carnitine acyl transferase I are incremented after feeding rats with a -linolenic acid-rich oils n. **Food & Function**, v. 3, p. 765–772, 2012.
- GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. Spray Drying of Tomato Pulp: Effect of Feed Concentration Athanasia. **Drying Technology**, v. 22, p. 2309–2330, 2004.
- GUIMARÃES-INÁCIO, A.; FRANCISCO, C. R. L.; ROJAS, V. M.; LEONE, R. DE S.; VALDERRAMA, P.; BONA, E.; LEIMANN, F. V.; TANAMATI, A. A. C.; GONÇALVES, O. H. Evaluation of the oxidative stability of chia oil-loaded microparticles by thermal, spectroscopic and chemometric methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 87, p. 498–506, 2018.
- GUINDANI, C.; PODESTÁ, R.; BLOCK, J. M.; ROSSI, M. J.; MEZZOMO, N.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of chia (*Salvia hispanica*) seed cake by means of supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 67–75, 2016.
- HECK, R. T.; FAGUNDES, M. B.; CICHOSKI, A. J.; DE MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; LORENZO, J. M.; WAGNER, R.; CAMPAGNOL, P. C. B. Volatile compounds and sensory profile of burgers with 50% fat replacement by microparticles of chia oil enriched with rosemary. **Meat Science**, v. 148, p. 164–170, 2019.
- HENRY, J. V. L.; FRYER, P. J.; FRITH, W. J.; NORTON, I. T. The influence of phospholipids and food proteins on the size and stability of model sub-micron emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 1, p. 66–71, 2010.
- HUERTA, K. M.; ALVES, J. S.; SILVA, A. F. C.; KUBOTA, E. H.; ROSA, C. S. Sensory response and physical characteristics of gluten-free and gum-free bread with chia flour. **Food Science and Technology**, 36, 15-18, 2016.
- IXTAINA, V. Y.; JULIO, L. M.; WAGNER, J. R.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physicochemical characterization and stability of chia oil microencapsulated with sodium caseinate and lactose by spray-drying. **Powder Technology**, v. 271, p. 26–34, 2015.
- IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166–174, 2011.
- IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Oxidative Stability of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil : Effect of Antioxidants and Storage Conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, p. 1077–1090, 2012.
- IXTAINA, V. Y.; VEGA, A.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C.; GIMENO, M.; BÁRZANA, E.; TECANTE, A. Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.): Characterization and process optimization. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 192–199, 2010.

- JIN, F.; NIEMAN, D. C.; SHA, W.; XIE, G.; QIU, Y.; JIA, W. Supplementation of Milled Chia Seeds Increases Plasma ALA and EPA in Postmenopausal Women. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 105–110, 2012.
- JINAPONG, N.; SUPHANTHARIKA, M.; JAMNONG, P. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, v. 84, n. 2, p. 194–205, 2008.
- JOSHI, D. P.; PANT, G.; ARORA, N.; NAINWAL, S. Effect of solvents on morphology, magnetic and dielectric properties of (α -Fe₂O₃@SiO₂) core-shell nanoparticles. **Heliyon**, v. 3, n. 2, p. 1–16, 2017.
- JULIO, L. M.; COPADO, C. N.; CRESPO, R.; DIEHL, B. W. K.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Design of microparticles of chia seed oil by using the electrostatic layer-by-layer deposition technique. **Powder Technology**, v. 345, p. 750–757, 2019.
- JULIO, L. M.; IXTAINA, V. Y.; FERNÁNDEZ, M. A.; SÁNCHEZ, R. M. T.; WAGNER, J. R.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Chia seed oil-in-water emulsions as potential delivery systems of ω -3 fatty acids. **Journal of Food Engineering**, v. 162, p. 48–55, 2015.
- KALEEM, A.; AZIZ, S.; IQTEDAR, M.; ABDULLAH, R.; AFTAB, M.; RASHID, F.; SHAKOORI, F. R.; NAZ, S. Investigating Changes and Effect of Peroxide Values in Cooking Oils Subject To Light and Heat. **FUUAJST Journal of Biology**, v. 5, n. 2, p. 191–196, 2015.
- KANG, Y. R.; LEE, Y. K.; KIM, Y. J.; CHANG, Y. H. Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. **Food Chemistry**, v. 272, p. 337–346, 2019.
- KARTHIK, P.; EZHILARASI, P. N.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. **Challenges associated in stability of food grade nanoemulsions**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 57, p. 1435–1450, 2015.
- KAUR, N.; CHUGH, V.; GRUPTA, A. K. Essential fatty acids as functional components of foods- a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 2289–2303, 2014.
- KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. The Physical and Chemical Effects of Ultrasound. In: **Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing**. Springer Science, 2011, p. 1–12.
- KOMAIKO, J.; SASTROSUBROTO, A.; MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of ω -3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: Sunflower phospholipids. **Food Chemistry**, v. 203, p. 331–339, 2016.
- KRYSTYJAN, M.; GUMUL, D.; ZIOBRO, R.; SIKORA, M.; AL, M. K. E. T. The effect of inulin as a fat replacement on dough and biscuit properties. **Journal of Food Quality**, v. 38, p. 305–315, 2015.
- LEE, J. K. M.; TAIP, F. S.; ABDULLA, H. Z. Effectiveness of additives in spray drying performance: a review. **Food Research**, v. 2, n. 6, p. 486–499, 2018.
- LIN, K. Y.; DANIEL, J. R.; WHISTLER, R. L. Structure of chia seed polysaccharide exudate. **Carbohydrate Polymers**, v. 23, n. 1, p. 13–18, 1994.
- MANTELL, C.; CASAS, L.; RODRÍGUEZ, M.; OSSA, E. M. DE LA. Supercritical fluid extraction. In: **Separation and Purification Technologies in Biorefineries**. John Wiley & Sons, 2013, p. 79–100.
- MARINELLI, R. DA S.; LENQUISTE, S. A.; MORAES, É. A.; MARÓSTICA, M. R. Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia hispanica* L.) in diet-induced obese rats. **Food Research International**, v. 76, p. 666–674, 2015.

- MARINELI, R. DA S.; MORAES, É. A.; LENQUISTE, S. A.; GODOY, A. T.; EBERLIN, M. N.; MARÓSTICA, M. R. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P2, p. 1304–1310, 2014.
- MARTÍNEZ, M. L.; CURTI, M. I.; ROCCIA, P.; LLABOT, J. M.; PENCI, M. C.; BODOIRA, R. M.; RIBOTTA, P. D. Oxidative stability of walnut (*Juglans regia* L.) and chia (*Salvia hispanica* L.) oils microencapsulated by spray drying. **Powder Technology**, v. 270, p. 271–277, 2015.
- MARTÍNEZ, M. L.; MARÍN, M. A.; SALGADO FALLER, C. M.; REVOL, J.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 78–82, 2012.
- MARTYSIAK-ZUROWSKA, D.; PUTA, M.; BARCZAK, N.; DABROWSKA, J.; MALINOWSKA-PAŃCZYK, E.; KIEŁBRATOWSKA, B.; KOŁODZIEJSKA, I. Effect of High Pressure and Sub-Zero Temperature on Total Antioxidant Capacity and the Content of Vitamin C, Fatty Acids and Secondary Products of Lipid Oxidation in Human Milk. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 67, n. 2, p. 117–122, 2017.
- MARUNO, M.; DA ROCHA-FILHO, P. A. O/W nanoemulsion after 15 years of preparation: A suitable vehicle for pharmaceutical and cosmetic applications. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 17–22, 2010.
- MASSAROLO, K. C.; DE SOUZA, T. D.; RIBEIRO, A. C.; FURLONG, E. B.; DE SOUZA SOARES, L. A. Influence of cultivation *Rhizopus oryzae* on rice bran on lipid fraction: Fatty acids and phospholipids. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 8, n. July, p. 204–208, 2016.
- MELLO, B. T. F.; GARCIA, V. A. DOS S.; SILVA, C. DA. Ultrasound-Assisted Extraction of Oil from Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds: Optimization Extraction and Fatty Acid Profile. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 1, p. 1–8, 2017.
- MENDONÇA, F. M. R.; POLLONI, A. E.; JUNGES, A.; DA SILVA, R. S.; RUBIRA, A. F.; BORGES, G. R.; DARIVA, C.; FRANCESCHI, E. Encapsulation of neem (*Azadirachta indica*) seed oil in poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by SFEE technique. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 152, p. 1-9, 2019.
- MICALI, M.; FIORINO, M.; PARISI, S. **The Chemistry of Thermal Food Processing Procedures**. [s.l.] Springer International Publishing, 2016.
- MIR, S. A.; BOSCO, S. J. D.; SHAH, M. A.; SANTHALAKSHMY, S.; MIR, M. M. Effect of apple pomace on quality characteristics of brown rice based cracker. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 1, p. 25–32, 2017.
- MISHRA, P. R.; SHAAL, L. AL; MÜLLER, R. H.; KECK, C. M. Production and characterization of Hesperetin nanosuspensions for dermal delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 371, n. 1–2, p. 182–189, 2009.
- MONTES, S. DE S.; RODRIGUES, L. M.; CARDOSO, R. DE C. V.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S. Tapioca and rice flour cookies: Technological, nutritional and sensory properties. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 39, n. 5, p. 514–522, 2015.
- MUDGIL, P. The Ocular Surface Evaluation of use of essential fatty acids in topical ophthalmic preparations for dry eye. **The Ocular Surface**, p. 1–6, 2019.

- NADEEM, M.; IMRAN, M.; TAJ, I.; AJMAL, M.; JUNAID, M. Omega-3 fatty acids, phenolic compounds and antioxidant characteristics of chia oil supplemented margarine. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 1, p. 1–12, 2017.
- NAWI, N. M.; MUHAMAD, I. I.; MARSIN, A. M. The physicochemical properties of microwave-assisted encapsulated anthocyanins from Ipomoea batatas as affected by different wall materials. **Food Science and Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 91–99, 2015.
- NEJADMANSOURI, M.; HOSSEINI, S. M. H.; NIAKOSARI, M.; YOUSEFI, G. H.; GOLMAKANI, M. T. Physicochemical properties and oxidative stability of fish oil nanoemulsions as affected by hydrophilic lipophilic balance, surfactant to oil ratio and storage temperature. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 506, p. 821–832, 2016.
- NIEMAN, D. C.; CAYEA, E. J.; AUSTIN, M. D.; HENSON, D. A.; MCANULTY, S. R.; JIN, F. Chia seed does not promote weight loss or alter disease risk factors in overweight adults. **Nutrition Research**, v. 29, n. 6, p. 414–418, 2009.
- NIEMAN, D. C.; GILLITT, N. D.; MEANEY, M. P.; DEW, D. A. No positive influence of ingesting chia seed oil on human running performance. **Nutrients**, v. 7, n. 5, p. 3666–3676, 2015.
- NOELLO, C.; CARVALHO, A. G. S.; SILVA, V. M.; HUBINGER, M. D. Spray dried microparticles of chia oil using emulsion stabilized by whey protein concentrate and pectin by electrostatic deposition. **Food Research International**, v. 89, p. 549–557, 2016.
- NOSHE, A. S.; AL-BAYYAR, A. H. Effect of extraction method of Chia seeds Oil on its content of fatty acids and antioxidants. **International Research Journal of Engineering and Technology**, p. 545–551, 2017.
- O'BRIEN, R. D. **Fats and oils: formulating and processing for applications**. CRC Press LLC, 2004.
- OLIVEIRA-ALVES, S. C.; VENDRAMINI-COSTA, D. B.; BETIM CAZARIN, C. B.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; BORGES FERREIRA, J. P.; SILVA, A. B.; PRADO, M. A.; BRONZE, M. R. Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. **Food Chemistry**, v. 232, p. 295–305, 2017.
- ÖZCAN, M. M.; AL-JUHAIMI, F. Y.; MOHAMED AHMED, I. A.; OSMAN, M. A.; GASSEM, M. A. Effect of different microwave power setting on quality of chia seed oil obtained in a cold press. **Food Chemistry**, v. 278, p. 190–196, 2019.
- PARTANEN, R.; RAULA, J.; SEPPANEN, R.; BUCHERT, J.; KAUPPINEN, E.; FORSSELL, P. Effect of Relative Humidity on Oxidation of Flaxseed Oil in Spray Dried Whey Protein Emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5717–5722, 2008. .
- PATIL, P. D.; DANDAMUDI, K. P. R.; WANG, J.; DENG, Q.; DENG, S. Extraction of bio-oils from algae with supercritical carbon dioxide and co-solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 60–68, 2018.
- PAULA, A. M.; CONTI-SILVA, A. C. Texture profile and correlation between sensory and instrumental analyses on extruded snacks. **Journal of Food Engineering**, v. 121, p. 9–14, 2014.
- PEIRETTI, P. G.; GAI, F. Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, n. 2–4, p. 267–275, 2009.

- PENGO, S.; CHINATANGKUL, N.; LIMMATVAPIRAT, C.; LIMMATVAPIRAT, S. The effect of surfactant on the physical properties of coconut oil nanoemulsions. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 5, p. 409–414, 2018.
- PIGNITTER, M.; SOMOZA, V. Critical Evaluation of Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity in Vegetable Oils. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 20, n. 3, p. 772–777, 2012.
- POLAVARAPU, S.; OLIVER, C. M.; AJLOUNI, S.; AUGUSTIN, M. A. Physicochemical characterisation and oxidative stability of fish oil and fish oil-extra virgin olive oil microencapsulated by sugar beet pectin. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1694–1705, 2011.
- PUIG, E. I.; HAROS, M. La chia em Europa: El nuevo ingrediente en productos de panadería. **Alimentaria**, 420, 73-77, 2011.
- RE, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195–1236, 1998.
- REYES-CAUDILLO, E.; TECANTE, A.; VALDIVIA-LÓPEZ, M. A. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 656–663, 2008.
- RIERA, E.; GOLÁS, Y.; BLANCO, A.; GALLEGO, J. A.; BLASCO, M.; MULET, A. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 3–4, p. 241–244, 2004.
- RODEA-GONZÁLEZ, D. A.; CRUZ-OLIVARES, J.; ROMÁN-GUERRERO, A.; RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E.; VERNON-CARTER, E. J.; PÉREZ-ALONSO, C. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 102–109, 2012.
- ROJAS, V. M.; MARCONI, L. F. DA C. B.; GUIMARÃES-INÁCIO, A.; LEIMANN, F. V.; TANAMATI, A.; GOZZO, Â. M.; FUCHS, R. H. B.; BARREIRO, M. F.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; TANAMATI, A. A. C.; GONÇALVES, O. H. Formulation of mayonnaises containing PUFAs by the addition of microencapsulated chia seeds, pumpkin seeds and baru oils. **Food Chemistry**, v. 274, p. 220–227, 2019.
- ROSAS-MENDOZA, M. E.; CORIA-HERNÁNDEZ, J.; MELÉNDEZ-PÉREZ, R.; LUIS ARJONA-ROMÁN, J. Characteristics of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil extracted by ultrasound assistance. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 61, n. 4, p. 326–335, 2017.
- SAGAR, V. R.; SURESH KUMAR, P. Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: A review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 15–26, 2010.
- SANTOS, A. D. DA C.; FONSECA, F. A.; DUTRA, L. M.; SANTOS, M. DE F. C.; MENEZES, L. R. A.; CAMPOS, F. R.; NAGATA, N.; AYUB, R.; BARISON, A. 1H HR-MAS NMR-based metabolomics study of different persimmon cultivars (*Diospyros kaki*) during fruit development. **Food Chemistry**, v. 239, p. 511–519, 2018.
- SARHEED, O.; SHOUQAIR, D.; RAMESH, K.; KHALEEL, T.; BOATENG, J.; DRECHSLER, M. Formation of stable nanoemulsions by ultrasound-assisted two-step emulsification process for topical drug delivery: effect of oil phase composition and surfactant concentration and loratadine as ripening inhibitor. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 118952, 2019.

- SCAPIN, G.; ABAIDE, E. R.; NUNES, L. F.; MAZUTTI, M. A.; VENDRUSCOLO, R. G.; WAGNER, R.; DA ROSA, C. S. Effect of pressure and temperature on the quality of chia oil extracted using pressurized fluids. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 127, p. 90–96, 2017.
- SEGURA-CAMPOS, M. R.; CIAU-SOLÍS, N.; ROSADO-RUBIO, G.; CHEL-GUERRERO, L.; BETANCUR-ANCONA, D. Chemical and Functional Properties of Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) Gum. **International Journal of Food Science**, v. 2014, p. 1–5, 2014.
- SEIBERT, J. B.; RODRIGUES, I. V.; CARNEIRO, S. P.; AMPARO, T. R.; LANZA, J. S.; FRÉZARD, F. J. G.; DE SOUZA, G. H. B.; SANTOS, O. D. H. DOS. Seasonality study of essential oil from leaves of *Cymbopogon densiflorus* and nanoemulsion development with antioxidant activity. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 34, n. 1, p. 5–14, 2019.
- SERRA, A. T.; SEABRA, I. J.; BRAGA, M. E. M.; BRONZE, M. R.; DE SOUSA, H. C.; DUARTE, C. M. M. Processing cherries (*Prunus avium*) using supercritical fluid technology. Part 1: Recovery of extract fractions rich in bioactive compounds. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 184–191, 2010.
- SERREM, C. A.; DE KOCK, H. L.; TAYLOR, J. R. N. Nutritional quality, sensory quality and consumer acceptability of sorghum and bread wheat biscuits fortified with defatted soy flour. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 74–83, 2011.
- SHAMAEI, S.; SEIILEDLOU, S. S.; AGHBASHLO, M.; TSOTSAS, E.; KHARAGHANI, A. Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 39, p. 101–112, 2017.
- SHANMUGAPRIYA, K.; KIM, H.; KANG, H. W. A new alternative insight of nanoemulsion conjugated with κ -carrageenan for wound healing study in diabetic mice: In vitro and in vivo evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 133, p. 236–250, 2019.
- SHARMA, S.; CHENG, S.-F.; BHATTACHARYA, B.; CHAKKARAVARTHI, S. Efficacy of free and encapsulated natural antioxidants in oxidative stability of edible oil: Special emphasis on nanoemulsion-based encapsulation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p. 305–318, 2019.
- SHEN, Y.; ZHENG, L.; JIN, J.; LI, X.; FU, J.; WANG, M. Phytochemical and Biological Characteristics of Mexican Chia Seed Oil. **Molecules**, v. 23, p. 1–16, 2018.
- SHU, G.; KHALID, N.; CHEN, Z.; NEVES, M. A.; BARROW, C. J.; NAKAJIMA, M. Formulation and characterization of astaxanthin-enriched nanoemulsions stabilized using ginseng saponins as natural emulsifiers. **Food Chemistry**, v. 255, p. 67–74, 2018.
- SIERRA, L.; ROCO, J.; ALARCON, G.; MEDINA, M.; VAN NIEUWENHOVE, C.; PERAL DE BRUNO, M.; JEREZ, S. Dietary intervention with *Salvia hispanica* (Chia) oil improves vascular function in rabbits under hypercholesterolaemic conditions. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 641–649, 2015.
- SILVA, C.; GARCIA, V. A. S.; ZANETTE, C. M. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction using different organic solvents: Oil yield, fatty acids profile and technological analysis of defatted meal. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 3, p. 998–1004, 2016.
- SINGH, K. K.; WIESENORN, D. P.; TOSTENSON, K.; KANGAS, N. Influence of moisture content and cooking on screw pressing of crambe seed. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 79, n. 2, p. 165–170, 2002.

- SOUZA, A. L.; MARTÍNEZ, F. P.; FERREIRA, S. B.; KAISER, C. R. A complete evaluation of thermal and oxidative stability of chia oil. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1307–1315, 2017a.
- SOUZA, M. F.; FRANCISCO, C. R. L.; SANCHEZ, J. L.; GUIMARÃES-INÁCIO, A.; VALDERRAMA, P.; BONA, E.; TANAMATI, A. A. C.; LEIMANN, F. V.; GONÇALVES, O. H. Fatty acids profile of chia oil-loaded lipid microparticles. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 34, n. 3, p. 659–669, 2017b.
- SPEHAR, C. R.; SANTOS, R. L. DE B. Quinoa BRS Piabiru : alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos. **Pesquisa Agropécuaria Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 889–893, 2002.
- STEFANI, F. DA S.; CAMPO, C. DE; PAESE, K.; GUTERRES, S. S.; COSTA, T. M. H.; FLÔRES, S. H. Nanoencapsulation of linseed oil with chia mucilage as structuring material: Characterization, stability and enrichment of orange juice. **Food Research International**, v. 120, p. 872–879, 2019.
- STEFFOLANI, E.; HERA DE LA, E.; PÉREZ, G.; GÓMEZ, M. Effect of chia (*Salvia hispanica* L.) addition on the quality of gluten-free bread. **Journal of Food Quality**, v. 37, p. 309-317, 2014.
- TAN, L. W.; IBRAHIM, M. N.; KAMIL, R.; TAIP, F. S. Empirical modeling for spray drying process of sticky and non-sticky products. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 690–697, 2011.
- TENG, J.; HU, X.; WANG, M.; TAO, N. Fabrication of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil nanoemulsions using different emulsifiers. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. March, p. 1–9, 2017.
- THOMAS, J.; THOMAS, C. J.; RADCLIFFE, J.; ITSIOPOULOS, C. Omega-3 Fatty Acids in Early Prevention of Inflammatory Neurodegenerative Disease: A Focus on Alzheimer's Disease. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-13, 2015.
- TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, R.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 347–357, 2016a.
- TIMILSENA, Y. P.; ADHIKARI, R.; KASAPIS, S.; ADHIKARI, B. Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 128–136, 2016b.
- TIMILSENA, Y. P.; VONGSVIVUT, J.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. **Food Chemistry**, v. 228, p. 394–402, 2017.
- TODOROVIC, Z. B.; TROTTER, D. Z.; ĐOKIĆ-STOJANOVIĆ, D. R.; VELIČKOVIĆ, A. V.; AVRAMOVIĆ, J. M.; STAMENKOVIĆ, O. S.; VESELINOVIĆ, L. M.; VELJKOVIĆ, V. B. Optimization of CaO-catalyzed sunflower oil methanolysis with crude biodiesel as a cosolvent. **Fuel**, v. 237, p. 903-910, 2019.
- TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 282–289, 2011.
- TOSCANO, L. T.; DA SILVA, C. S. O.; TOSCANO, L. T.; DE ALMEIDA, A. E. M.; DA CRUZ SANTOS, A.; SILVA, A. S. Chia Flour Supplementation Reduces Blood Pressure in Hypertensive Subjects. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 4, p. 392–398, 2014.

- TRENTIN, C. M.; LIMA, A. P.; ALKIMIM, I. P.; SILVA, C.; CASTILHOS, F.; MAZUTTI, M. A.; OLIVEIRA, J. V. Continuous production of soybean biodiesel with compressed ethanol in a microtube reactor using carbon dioxide as co-solvent. **Fuel Processing Technology**, v. 92, p. 952-958, 2011.
- TRENTINI, C. P.; SANTOS, K. A.; ANTONIO DA SILVA, E.; GARCIA, V. A. DOS S.; CARDOZO-FILHO, L.; DA SILVA, C. Oil extraction from macauba pulp using compressed propane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 126, p. 72-78, 2017.
- URIBE, J. A. R.; PEREZ, J. I. N.; KAUIL, H. C.; RUBIO, G. R.; ALCOCER, C. G. Extraction of oil from chia seeds with supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 56, n. 2, p. 174-178, 2011.
- US-MEDINA, U.; JULIO, L. M.; SEGURA-CAMPOS, M. R.; IXTAINA, V. Y.; TOMÁS, M. C. Development and characterization of spray-dried chia oil microcapsules using by-products from chia as wall material. **Powder Technology**, v. 334, p. 1-8, 2018.
- US-MEDINA, U.; RUIZ-RUIZ, J. C.; QUINTANA-OWEN, P.; SEGURA-CAMPOS, M. R. *Salvia hispanica* mucilage-alginate properties and performance as an encapsulation matrix for chia seed oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 6, p. 1-9, 2017.
- UZOH, C. F.; ONUKWULI, O. D.; NWABANNE, J. T. Characterization, kinetics and statistical screening analysis of gmelina seed oil extraction process. **Materials for Renewable and Sustainable Energy**, v. 3, n. 4, 2014.
- VALENZUELA, R.; BARRERA, C.; GONZÁLEZ-ASTORGA, M.; SANHUEZ, J.; VALENZUELA, A. Alpha linolenic acid (ALA) from Rosa canina, sacha inchi and chia oils may increase ALA accretion and its conversion into n -3 LCPUFA in diverse tissues of the rat. **Food & Function**, v. 5, p. 1564-1572, 2014.
- VILLANUEVA-BERMEJO, D.; FONTECHA, J.; CALVO, M. V.; CASTRO-GÓMEZ, P.; FORNARI, T. Production of omega 3-rich oils from underutilized chia seeds. Comparison between supercritical fluid and pressurized liquid extraction methods. **Food Research International**, v. 115, p. 400-407, 2019.
- VILLANUEVA-BERMEJO, D.; FORNARI, T.; CALVO, M. V.; FONTECHA, J.; COELHO, J. A. P.; FILIPE, R. M.; STATEVA, R. P. Application of a novel approach to modelling the supercritical extraction kinetics of oil from two sets of chia seeds. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 16, p. 1-10, 2019.
- VUKSAN, V.; WHITHAM, D.; SIEVENPIPER, J. L.; JENKINS, A. L.; ROGOVIK, A. L.; BAZINET, R. P.; VIDGEN, E.; HANNA, A. Supplementation of Conventional Therapy With the Novel Grain Salba (*Salvia hispanica* L.) Improves Major and Emerging Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, v. 30, n. 11, p. 2804-2810, 2007.
- WANG, N.; HOU, G. G.; KWEON, M.; LEE, B. Effects of particle size on the properties of whole-grain soft wheat flour and its cracker baking performance. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 187-193, 2016.
- WANG, S.; WANG, X.; LIU, M.; ZHANG, L.; GE, Z.; ZHAO, G.; ZONG, W. Preparation and characterization of *Eucommia ulmoides* seed oil O/W nanoemulsion by dynamic high-pressure microfluidization. **LWT – Food Science and Technology**, v. 121, p. 1-9, 2020.
- WASOWICZ, E.; GRAMZA, A.; HÉS, M.; JELÉN, H. H.; KORCZAK, J.; MALECKA, M.; MILDNER-SZKUDLARZ, S.; RUDZINSKA, M.; SAMOTYJA, U.; ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R. Oxidation of Lipids in Foods. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 13, n. 54, p. 87-100, 2004.

WATT, B.; MERRILL, A.L. **Composition of foods: raw, processed, prepared**. Washington, DC: Consumer and Food Economics Research Division/ Agricultural Research Service, p.198 (Agriculture Handbook, 8), 1963.

YANG, H. J.; CHO, W. G.; PARK, S. N. Stability of oil-in-water nano-emulsions prepared using the phase inversion composition method. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 331–335, 2009.

ZANOAGA, O.; JURJ, A.; RADULY, L.; COJOCNEANU-PETRIC, R.; FUENTES-MATTEI, E.; WU, O.; BRAICU, C.; GHERMAN, C.; BERINDAN-NEAGOE, I. Implications of dietary ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids in breast cancer (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, p. 1167–1176, 2017.

ZANQUI, A. B.; DE MORAIS, D. R.; DA SILVA, C. M.; SANTOS, J. M.; CHIAVELLI, L. U. R.; BITTENCOURT, P. R. S.; EBERLIN, M. N.; VISENTAINER, J. V.; CARDOZO-FILHO, L.; MATSUSHITA, M. Subcritical extraction of *Salvia hispanica* L. oil with n-propane: Composition, purity and oxidation stability as compared to the oils obtained by conventional solvent extraction methods. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 2, p. 282–289, 2015.

ZAVAREZE, E. DA R.; TELLES, A. C.; MELLO EL HALAL, S. L.; DA ROCHA, M.; COLUSSI, R.; MARQUES DE ASSIS, L.; SUITA DE CASTRO, L. A.; GUERRA DIAS, A. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Production and characterization of encapsulated antioxidative protein hydrolysates from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) muscle and byproduct. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P1, p. 841–848, 2014.

ZHAI, X.; LIN, D.; LIU, D.; YANG, X. Emulsions stabilized by nanofibers from bacterial cellulose: New potential food-grade Pickering emulsions. **Food Research International**, v. 103, p. 12–20, 2018.