



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

CIRILA IONARA ALMEIDA ARAÚJO

**METODOLOGIA DOS LIMIARES HEDÔNICOS VARIANDO MAIS DE UM
ESTÍMULO: APLICAÇÃO NA REDUÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO EM BISCOITO
SALGADO**

ALEGRE - ESPÍRITO SANTO
OUTUBRO - 2020

CIRILA IONARA ALMEIDA ARAÚJO

**METODOLOGIA DOS LIMITES HEDÔNICOS VARIANDO MAIS DE UM
ESTÍMULO: APLICAÇÃO NA REDUÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO EM BISCOITO
SALGADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. DSc. Tarcísio Lima Filho
Co-orientadora: Prof. DSc. Raquel Vieira de Carvalho
Co-orientadora: Prof. DSc. Suzana Maria Della Lucia

ALEGRE – ES
OUTUBRO – 2020

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

A658 m Araújo, Cirila Ionara Almeida, 1991-
Metodologia dos limiares hedônicos variando mais de um estímulo : aplicação na redução de cloreto de sódio em biscoito salgado / Cirila Ionara Almeida Araújo. - 2020.
77 f. : il.

Orientador: Tarcísio Lima Filho.

Coorientadores: Suzana Maria Della Lucia, Raquel Vieira de Carvalho.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Limiar de aceitação comprometida. 2. Limiar de rejeição hedônica. 3. Limiares hedônicos. 4. Limiares sensoriais. 5. Redução de cloreto de sódio. I. Lima Filho, Tarcísio. II. Della Lucia, Suzana Maria. III. Carvalho, Raquel Vieira de. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

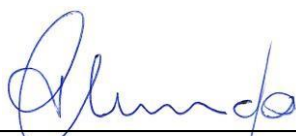
CDU: 664

CIRILA IONARA ALMEIDA ARAÚJO

**“ METODOLOGIA DOS LIMIARES HEDÔNICOS VARIANDO MAIS DE
UM ESTÍMULO: APLICAÇÃO NA REDUÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO
EM BISCOITO SALGADO ”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 27 de outubro de 2020.



Prof. Dr. Tarcísio Lima Filho
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Orientador



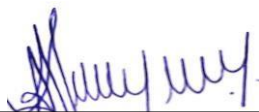
Profª. Drª. Suzana Maria Della Lucia
Universidade Federal do Espírito Santo-UFES
Coorientadora



Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho
Universidade Federal de Espírito Santo-UFES
Coorientadora



Prof. Dr. Sérgio Henriques Saraiva Universidade
Federal de Espírito Santo-UFES Examinador
Interno



Profª. Drª. Andréa Alves Simiqueli
Universidade Federal de Viçosa - UFV
Examinadora Externa

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, sustento e por ter me permitido chegar até aqui, diante de tantas adversidades encontradas pelo caminho.

Ao Levi, que passou de noivo a esposo durante o período do mestrado, por todo apoio, pelos conselhos, pelo incentivo e amor. Pela disponibilidade em ajudar no laboratório e por ter sido um participante assíduo de todas as avaliações.

Ao meu orientador Tarcísio, pela oportunidade, por todos os ensinamentos, apoio e suporte durante a execução do estudo, pela paciência e compreensão.

As minhas coorientadoras, Raquel e Suzana, pela disponibilidade, por todos os esclarecimentos, suporte e contribuições para execução dessa pesquisa.

Ao professor Sérgio, por todos os esclarecimentos e auxílio durante as análises de dados da pesquisa.

À minha equipe de pesquisa, Matheus, Eduardo e Lara pela disponibilidade em ajudar, pelos bons momentos e pela amizade, em especial a Laudiane, minha “dupla”, pela parceria durante todo o mestrado. Sem vocês eu não teria conseguido!

Aos amigos do PCTA, com carinho especial a Anamares, Bárbara, Emanuely e Magno, pela amizade, apoio e pelos bons momentos de descontração.

Aos técnicos Mauricio, Letícia, Raphael e Silvana, pela disponibilidade em sempre ajudar e por todo suporte durante a pesquisa.

Ao Toninho, pela disponibilidade e por nunca me deixar esquecer dos prazos.

A todos os consumidores que participaram das análises, pela paciência e colaboração com a pesquisa.

Às empresas Biorigin do Brasil, Ajinomoto Brasil e Palsgaard Candoon, pela doação de ingredientes para o desenvolvimento da pesquisa.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo financiamento do projeto.

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

Tudo é possível àquele que crê.

Marcos 9:23

LISTA DE FIGURAS

Artigo original 1. O quanto se pode substituir de cloreto de sódio por cloreto de potássio sem afetar a aceitação sensorial de biscoito salgado?

Figura 1 - Valores t calculados e notas hedônicas médias em função das concentrações de cloreto de sódio das amostras estímulo.....15

Figura 2 - Superfície de resposta do valor t em função dos teores de cloreto de sódio e de cloreto de potássio das amostras estímulo (a). Curvas de contorno dos valores de t calculados em função da concentração de cloreto de sódio e cloreto de potássio, representados pela escala de cores (b).....17

Figura 3 - Superfície de resposta das notas hedônicas médias em função dos teores de cloreto de sódio e de cloreto de potássio das amostras estímulo (a). Curvas de contorno dos valores das médias hedônicas em função da concentração de cloreto de sódio e cloreto de potássio representados pela escala de cores (b).....19

Artigo original 2. Metodologia dos Limiares Hedônicos variando três estímulos: Delineamento de misturas

Figura 1 - Superfície de resposta do valor t em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e extrato de levedura das amostras estímulo (a). Delimitação da equação do LAC (b).....40

Figura 2 - Superfície de resposta das notas hedônicas médias (NH) em função dos teores de cloreto de sódio, de cloreto de potássio e extrato de levedura das amostras estímulo (a). Delimitação da equação do LRH (b).....42

Figura 3 - Superfície de resposta do valor t em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático das amostras estímulo (a). Delimitação da equação do LAC (b).....45

Figura 4 - Superfície de resposta da nota hedônica média (NH) em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático das amostras estímulo (a). Delimitação da equação do LRH (b).....47

LISTA DE TABELAS

Artigo original 1. O quanto se pode substituir de cloreto de sódio por cloreto de potássio sem afetar a aceitação sensorial de biscoito salgado?

Tabela 1 - Modelo codificado e concentrações de NaCl e KCl determinados pelo DCCR.....12

Tabela 2 - Ordem de apresentação das amostras.....13

Tabela 3 - Notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, valor t calculado e p-valores.....14

Tabela 4 - Modelos ajustados e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).15

Tabela 5 - Notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, valor t calculado e p-valores.....16

Tabela 6 - Modelo ajustado aos valores t calculado (t) em função dos teores de cloreto de sódio (NaCl) e de cloreto de potássio (KCl) e coeficiente de determinação (R^2).....18

Tabela 7 - Modelo ajustado às notas hedônicas médias (NH) em função dos teores de cloreto de sódio (NaCl) e de cloreto de potássio (KCl) e coeficiente de determinação (R^2)20

Artigo original 2. Metodologia dos Limiares Hedônicos variando três estímulos: Delineamento de misturas

Tabela 1 - Modelo codificado e concentrações de NaCl, KCl e o terceiro componente C3 (extrato de levedura ou preparado enzimático) determinados pelo delineamento de misturas.....35

Tabela 2 - Ordem de apresentação das amostras dentro de cada experimento36

Tabela 3 - Notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, valor t calculado e p valor.....38

Tabela 4 - Modelos ajustados aos valores t calculado (t) e nota hedônica média (NH) em função dos teores de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl) e extrato de levedura (ExL), coeficiente de determinação (R ²).....	41
Tabela 5 - Notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, valor t calculado e p valor.....	44
Tabela 6 - Modelo ajustado aos valores t calculado (t) e nota hedônica média (NH) em função dos teores de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl) e preparado enzimático (PE), coeficiente de determinação (R ²).....	46

SUMÁRIO

RESUMO.....	XII
ABSTRACT.....	XIV
1.0 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	3
2.0 OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivo Geral.....	5
2.2 Objetivos específicos.....	5
3.0 ARTIGO ORIGINAL 1.....	6
RESUMO.....	6
1.0 INTRODUÇÃO.....	6
2.0 METODOLOGIA.....	8
2.1 Formulação e preparo dos biscoitos.....	9
2.2 Análise sensorial.....	10
2.2.1 Consumidores.....	10
2.2.2 Metodologia dos limiares hedônicos variando um estímulo (MLH _{1e}).....	10
2.2.3 Metodologia dos limiares hedônicos variando dois estímulos (MLH _{2e}).....	11
3.0 RESULTADOS.....	14
3.1 Limiares hedônicos variando um estímulo.....	14
3.2 Limiares Hedônicos variando dois estímulos.....	16
4.0 DISCUSSÃO.....	20
5.0 CONCLUSÕES.....	24
6.0 REFERÊNCIAS.....	25
4.0. ARTIGO ORIGINAL 2.....	30
RESUMO.....	30
1.0 INTRODUÇÃO.....	30

2.0 METODOLOGIA	33
2.1 Formulação e preparo dos biscoitos	34
2.2 Consumidores.....	35
2.3 Metodologia dos limiares hedônicos variando três estímulos	35
2.3.1 Delineamento experimental	35
2.3.2 Análise sensorial.....	36
2.3.3 Análise estatística e cálculo dos limiares hedônicos.....	37
3 RESULTADOS.....	39
3.1 Limiares hedônicos variando três estímulos: cloreto de sódio, potássio e extrato de levedura	39
3.2 Limiares hedônicos variando três estímulos: cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático	44
4.0 DISCUSSÃO	49
5.0 CONCLUSÕES	57
6.0 REFERÊNCIAS.....	58
5.0 CONCLUSÃO GERAL	61

RESUMO

ARAÚJO, Cirila Ionara Almeida. **Metodologia dos limiares hedônicos variando mais de um estímulo: aplicação na redução de cloreto de sódio em biscoito salgado**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientador: Prof. Dr. Tarcísio Lima Filho. Coorientador(as): Prof. Dr. Raquel Vieira de Carvalho e Prof. Dr. Suzana Maria Della Lucia

A metodologia dos limiares hedônicos (MLH), por meio do cálculo do limiar de aceitação comprometida (LAC) e do limiar de rejeição hedônica (LRH), permite identificar o início da redução da aceitação e da rejeição sensorial de alimentos, variando a intensidade de um ou mais estímulos. Uma das aplicações da MLH é determinar a máxima redução de cloreto de sódio sem afetar a aceitação (LAC) e resultar em rejeição sensorial (LRH) de alimentos. Objetivou-se aplicar a MLH para determinar os limiares hedônicos (LAC e LRH) para concentração de cloreto de sódio (NaCl) em biscoito salgado, variando a intensidade de mais de um estímulo simultaneamente. Foram realizados quatro experimentos; em todos eles o biscoito controle continha 1,81% de NaCl e reduziu-se a concentração de NaCl a partir dessa concentração. No primeiro experimento, variando apenas um estímulo, determinou-se o LAC e o LRH para concentração de NaCl dos biscoitos, mediante cinco sessões de testes de aceitação. No segundo experimento, por meio do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) e da MLH, variando dois estímulos simultâneos (redução de NaCl e adição de KCl), determinou-se o LAC e o LRH, com 11 sessões de testes de aceitação. No terceiro e quarto experimento, utilizou-se o Delineamento de Misturas e a MLH, variando três estímulos simultâneos: NaCl, KCl e extrato de levedura e NaCl, KCl e preparado enzimático, respectivamente, para determinação do LAC e LRH. Foram realizadas 10 sessões de testes de aceitação em ambos os experimentos. No primeiro experimento, verificou-se que, a partir da redução de 59,67% no teor de NaCl (1,81% para 0,73%) ocorre redução da aceitação sensorial e, apenas a partir da redução de 92,81% no teor de NaCl (1,81% para 0,13%), ocorre rejeição sensorial do biscoito. No segundo experimento, observou-se que, adicionando 0,896% de KCl, foi possível realizar uma redução de 78,06% no teor de NaCl, para começar a ocorrer redução da aceitação sensorial (1,81% para 0,397%). Além disso, verificou-se que, ao adicionar o KCl, é possível reduzir 100% o teor de NaCl sem ocorrer rejeição sensorial do biscoito. No terceiro experimento, verificou-se que, ao adicionar 1,149% de KCl, começou a ocorrer redução da aceitação sensorial do biscoito ao reduzir o teor de NaCl em 64,03% (1,81% para 0,651%) e, ao adicionar 1,783% de KCl e 0,017% de extrato de levedura ou 0,693% de KCl e 1,107% de extrato de levedura, é possível reduzir ao máximo o teor de NaCl (100%) sem resultar em rejeição sensorial do biscoito. No quarto experimento, constatou-se que, ao adicionar 0,358% de KCl e 0,356% de preparado enzimático, a partir da redução de 40% na concentração de NaCl (de 1,81% para 1,086%) ocorre comprometimento da aceitação sensorial do biscoito e, ao adicionar 1,215% de KCl e 0,573% de preparado enzimático, ocorre início da rejeição sensorial do biscoito ao reduzir o teor de NaCl em 99,34% (1,81% para 0,012%). Portanto, aplicando a metodologia dos limiares

hedônicos com a variação de dois e três estímulos foi possível reduzir o teor de cloreto de sódio dos biscoitos, sendo que, a adição de apenas do KCl proporcionou maior redução de NaCl, em comparação aos demais componentes utilizados. Além disso, por meio do delineamento de mistura juntamente com a MLH, foi possível determinar, pela primeira vez, limiares sensoriais variando a intensidade de três estímulos simultaneamente, o que expande as aplicações dos limiares hedônicos pelas indústrias de alimentos.

Palavras-chaves: Limiar de aceitação comprometida; limiar de rejeição hedônica; limiares hedônicos; limiares sensoriais; redução de cloreto de sódio.

ABSTRACT

ARAÚJO, Cirila Ionara Almeida. **Methodology of hedonic thresholds varying more than one stimulus: application in reducing sodium chloride in crackers.** 2020. Dissertation (Master in Food Science and Technology) – Federal University of Espírito, Alegre – ES. Advisor: Prof. Dr. Tarcísio Lima Filho. Co-advisors: Prof. Dr. Raquel Vieira de Carvalho e Prof. Dr. Suzana Maria Della Lucia

The hedonic threshold methodology (HTM), by calculating the compromised acceptance threshold (CAT) and the hedonic rejection threshold (HRT), allows to identify the beginning of the reduction of acceptance and sensory rejection of foods, varying the intensity of one or more stimuli. One of the applications of HTM is to determine the maximum reduction of sodium chloride without affecting acceptance (CAT) and result in sensory rejection (HRT) of foods. The objective was to apply HTM to determine hedonic thresholds (CAT e HRT) for concentration of sodium chloride (NaCl) in salty cracker, varying the intensity of more than one stimulus simultaneously. In all, four experiments were carried out, in all of them the control cracker contained 1,81% NaCl and the NaCl concentration was reduced from that concentration. The first experiment, varying only one stimulus, the CAT and HRT were determined for the NaCl concentration of the cracker, through five acceptance test sessions. In the second experiment, through of Central Composite Rotatable Design (CCRD) and HTM, varying two simultaneous stimuli (reduction of NaCl and addition of KCl), CAT and HRT were determined, with 11 acceptance teste sessions. In the third and fourth experiments, the Mixture Design and HTM were used, varying three simultaneous stimuli: NaCl, KCl and yeast extract and enzymatic preparation, respectively, for determination of CAT and HRT. Ten sessions of acceptance teste were carried out in both experiments. In the first experiment, it was found that, from the reduction of 59.67% in the NaCl content (1.81% to 0.73%) there is a reduction in sensory acceptance and, only from the 92.81% reduction in NaCl content (1.81% for 0.13%), sensory rejection of the cracker occurs. In the second experiment, it was observed that, by adding 0.896% KCl, it was possible to achieve a 78.06% reduction in NaCl content, to begin to reduce sensory acceptance (1.81% to 0.397%). In addition, it was found that by adding KCl, it is possible to reduce the NaCl content 100% without sensory rejection of the cracker. In the third experiment, it was found that, when adding 1.149% KCl, there was a reduction in the sensory acceptance of the cracker by reducing the NaCl content by 64.03% (1.81% to 0.651%); and at the adding 1.783% KCl and 0.017% yeast extract or 0.693% KCl and 1.107% yeast extract it is possible to reduce the NaCl content (100%) as much as possible without resulting in sensory rejection of the cracker. In the fourth experiment, it was found that by adding 0.358% KCl and 0.356% of enzymatic preparation, from the 40% reduction in NaCl concentration (from 1.81% to 1.086%) compromises the sensorial acceptance of the cracker. When adding 1.215% KCl and 0.573% of enzymatic preparation, sensorial rejection of the cracker begins to occur when it reduces the NaCl content by 99.34% (1.81% to 0.012%). Therefore, by applying the HTM with the variation of two and three stimuli, it was possible to reduce the sodium chloride content of the crackers, and the

addition of only KCl provided a greater reduction in NaCl, compared to the other components used. In addition, through the Mixture Design together with MLH, it was possible to determine, for the first time, sensory thresholds by varying the intensity of three stimuli simultaneously, which expands the applications of hedonic thresholds by the food industries.

Key Words: Compromised acceptance threshold; hedonic rejection threshold; hedonic thresholds; sensory thresholds; sodium reduction.

1.0 INTRODUÇÃO

Define-se limiar como o limite mínimo pelo qual a percepção é absoluta ou o limite das capacidades sensoriais (MEILGAARD *et al.*, 2015). O limiar de rejeição pelo consumidor (LRC) foi o primeiro limiar afetivo proposto, sendo definido como a intensidade do estímulo em que começa a ocorrer alteração significativa da preferência do produto pelo consumidor (PRESCOTT *et al.* 2005; LAWLESS e HEYMANN, 2010). Estímulo é definido como qualquer ativador químico ou físico, suficiente para produzir uma resposta sensorial nas células receptoras (LIMA FILHO e MINIM, 2018b).

Posteriormente, Lima Filho *et al.* (2015, 2017, 2018a, 2020) propuseram e validaram a Metodologia de Limiões Hedônicos (MLH), que permite a determinação de três novos limiões afetivos: o limiar de aceitação comprometida (LAC), o limiar de rejeição hedônica (LRH) e o limiar de aceitação favorecida (LAF). O LAC é definido como a intensidade do estímulo em que começa a ocorrer redução significativa da aceitação sensorial do produto (LIMA FILHO *et al.*, 2015); o LRH é definido como a intensidade do estímulo em que começa a ocorrer rejeição sensorial do produto (LIMA FILHO *et al.*, 2015); e o LAF é definido como a intensidade do estímulo em que começa a ocorrer melhoria significativa da aceitação sensorial (LIMA FILHO *et al.*, 2020). Portanto, os valores desses limiões sensoriais informam os limites que a variação de intensidades de estímulos altera as respostas afetivas dos consumidores, ao provarem os alimentos.

Com o intuito de elevar as possibilidades de aplicação dos limiões sensoriais, Lima Filho *et al.* (2020) inovaram e propuseram a Metodologia dos Limiões Hedônicos Variando Dois Estímulos (MLH_{2e}), permitindo a determinação do LAC e do LRH variando a intensidade de dois estímulos simultaneamente.

No estudo de proposição da MLH_{2e}, Lima Filho *et al.* (2020) utilizaram o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) dentro da MLH e determinaram os limiões hedônicos para redução da concentração de sódio e adição de alho em pó, simultaneamente, em hambúrguer bovino. Dessa forma, foi possível reduzir ainda mais a concentração de sódio sem acarretar em redução da aceitação e rejeição sensorial de hambúrguer bovino, quando comparado com o experimento em que foi apenas reduzido o teor de sódio (sem adição de alho em pó).

A determinação dos limiares hedônicos variando a intensidade de mais de um estímulo simultaneamente pode auxiliar a indústria de alimentos em diversas situações, permitindo realizar alterações simultâneas nos aspectos dos alimentos, sem afetar a sua aceitação sensorial. Nas metodologias de limiares, quanto maior o número de estímulos que se pode variar simultaneamente, maior será o leque de aplicações dos limiares hedônicos. Por exemplo, quando se deseja alterar as condições de processos, adicionar compostos saudáveis para enriquecimento dos alimentos, e substituir ingredientes prejudiciais à saúde, quando consumidos em excesso, como a substituição de cloreto de sódio por ingredientes mais saudáveis. A população consome sódio de forma excessiva, o que se tornou um problema de saúde pública mundial, uma vez que o consumo excessivo de sódio está associado ao aumento da pressão arterial e, conseqüentemente, ao aumento no risco de doenças cardiovasculares, que estão entre as principais causas de mortes no mundo (WHO, 2014, 2019).

A aplicação de delineamentos de otimização (Delineamento Composto Central Rotacional - DCCR e Delineamento de Misturas) na metodologia dos limiares hedônicos possibilita determinar os limiares hedônicos variando mais de um estímulo simultaneamente. O DCCR permite verificar os efeitos de variáveis independentes, com diferentes limites, para obter várias respostas (MONTGOMERY, 2017). Por meio de gráficos de superfícies de respostas é possível identificar o nível ideal de cada uma das variáveis, ajustando a equação do modelo experimental obtido (MALINOWSKA *et al.*, 2009).

Além do DCCR, pode-se aplicar o Delineamento de Misturas na MLH, para determinação dos limiares hedônicos variando mais de um estímulo. No Delineamento de Misturas, a quantidade de cada componente da mistura deve ser tratada como uma variável independente, na qual o somatório das proporções de seus componentes deve ser sempre igual a um. Portanto, se aumentarmos a proporção de um dos ingredientes da mistura, a proporção de pelo menos um ingrediente, dos demais, será afetada (CORNELL, 2002). As combinações dos ingredientes em experimentos de mistura permitem verificar quais misturas de dois ou mais ingredientes produzem propriedades mais desejáveis do que as obtidas com os ingredientes puros (COSCIONE; ANDRADE e MAY, 2005).

Em diversas situações é desejável analisar o impacto da variação simultânea das intensidades de dois ou mais estímulos na aceitação sensorial dos alimentos, como na alteração de processos ou de ingredientes da formulação do alimento. É de grande interesse saber a partir de qual ponto a variação das intensidades desses estímulos resulta no início da redução da aceitação (LAC) e no início da rejeição sensorial (LRH) do produto. No presente estudo utilizou-se a MLH variando dois e três estímulos, simultaneamente, para redução de cloreto de sódio em biscoito salgado, por meio do Delineamento Composto Central Rotacional e do Delineamento de Misturas, respectivamente.

1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORNELL, J. A. **Experiments with Mixtures: Designs, Models and the Analysis of Mixtures Data**. Wiley: New York, v. 403, ed.3, 2011, p.643.

COSCIONE, A. R.; ANDRADE, J. C. D.; E MAY, G. M. O modelamento estatístico de misturas: experimento tutorial usando voltametria de redissolução anódica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1116-1122, 2005.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: Principles and practices**. New York: Springer, 2^o ed., 2010, p. 596.

LIMA FILHO, T.; MINIM, V. P. R.; SILVA, R. C. S. N.; DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, L. A. Methodology for determination of two new sensory thresholds: Compromised acceptance threshold and rejection threshold. **Food Research International**, v. 76, p. 561–566, 2015.

LIMA FILHO, T.; DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, L. A.; SILVA, R. C. S. N.; SILVA, A. N.; MINIM, V. P. R. (2017). Validation of the hedonic threshold methodology in determining the compromised acceptance threshold. **Journal of Sensory Studies**, v. 32, n. 2, p. 1-12, 2017.

LIMA FILHO, T.; DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, L. A.; SILVA, R. C. S. N.; MINIM, V. P. R. Validation of the hedonic threshold methodology in determining the hedonic rejection threshold. **Journal of Sensory Studies**, v. 33, n. 1, p. 1-13, 2018a.

LIMA FILHO, T.; MINIM, V. P. R. LIMIARES AFETIVOS. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, 4^a ed., cap. 11, 2018b, p. 325-343.

LIMA FILHO, T.; DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, L. A.; GAMBA, M. M.; LIMA, R. M.; MINIM, V. P. R. Directional hedonic thresholds for sodium concentration in hamburger. **Food Quality and Preference**, v. 78, p. 1-7, 2019.

LIMA FILHO, T.; DE SOUZA, L. B. A.; DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, L. A.; MINIM, V. P. R. The hedonic thresholds methodology varying two stimuli: Extending the range of sensory threshold applications. **Food Quality and Preference**, v. 86, n. June, p. 1-8, 2020

MALINOWSKA, E.; KRZYCZKOWSKI, W.; LAPIENIS, G.; HEROLD, F. Improved simultaneous production of mycelial biomass and polysaccharides by submerged culture of *Hericium erinaceum*: optimization using a central composite rotatable design (CCRD). **J Ind Microbiol Biotechnol**, v. 36, p.1513–1527, 2009.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 5^o ed., 2015. 600 p.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. Hoboken: John wiley & sons, 9^o ed., 2017, p. 734.

WHO. World Health Organization. WHO warns against the dangers of excessive salt consumption. 2014. Disponível em: <<https://www.who.int/westernpacific/news/detail/25-09-2014-who-warns-against-the-dangers-of-excessive-salt-consumption>>. Acessado em: 15/08/20

WHO. World Health Organization. World Hypertension Day. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/events/world-hypertension-day-2019> Acesso: 04/09/20

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Aplicar a Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH) para determinação dos limiares hedônicos, variando mais de um estímulo simultaneamente, na redução do teor de cloreto de sódio em biscoito salgado.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a partir de quais concentrações a redução de cloreto sódio resulta em comprometimento da aceitação (LAC) e rejeição sensorial (LRH) de biscoito salgado.
- Determinar a partir de quais concentrações a redução de cloreto sódio e adição de cloreto de potássio resultam em comprometimento da aceitação (LAC) e rejeição sensorial (LRH) de biscoito salgado.
- Verificar se a adição de cloreto de potássio permite maior redução de cloreto de sódio sem afetar a aceitação e resultar em rejeição sensorial do biscoito, quando comparado apenas com a redução do estímulo cloreto de sódio.
- Propor a utilização do Delineamento de Misturas juntamente com a MLH para determinar os limiares hedônicos variando a intensidade de três estímulos simultaneamente.
- Determinar a partir de quais concentrações a substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio e extrato de levedura ou preparado enzimático, resulta em comprometimento da aceitação (LAC) e rejeição sensorial (LRH) de biscoito salgado.
- Verificar se a adição de cloreto de potássio e extrato de levedura, e cloreto de potássio e preparado enzimático permitem reduzir ainda mais o teor de cloreto de sódio de biscoito salgado, sem afetar a aceitação e resultar em a rejeição sensorial de biscoito salgado.
- Fornecer informações que auxiliarão as indústrias a atender as medidas públicas de redução de sódio em alimentos processados.

3.0 ARTIGO ORIGINAL 1

O quanto se pode substituir de cloreto de sódio por cloreto de potássio sem afetar a aceitação sensorial de biscoito salgado? ¹

RESUMO

O consumo excessivo de sódio é um problema de saúde pública mundial. A substituição de cloreto de sódio (NaCl) por cloreto de potássio (KCl) tem sido uma estratégia adotada para reduzir a concentração de sódio de alimentos industrializados. O desafio é realizar essa substituição sem afetar a aceitação sensorial dos alimentos. Nesse contexto, objetivou-se determinar a partir de quais concentrações a substituição de NaCl por KCl resulta na redução da aceitação (limiar de aceitação comprometida – LAC) e início da rejeição sensorial (limiar de rejeição hedônica – LRH) de biscoito salgado. Por meio da Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH) variando um estímulo, determinou-se o LAC e o LRH para concentração de NaCl em biscoito salgado e, variando dois estímulos, determinou-se o LAC e o LRH para substituição de NaCl por KCl em biscoito salgado. Nos dois experimentos a amostra controle continha 1,81% de NaCl e não continha KCl. Verificou-se que, ao reduzir em 59,67% o teor de NaCl, sem adição de KCl, começa a ocorrer redução significativa da aceitação sensorial e, ao reduzir o teor de NaCl em 92,81%, iniciou-se a rejeição sensorial dos biscoitos. No entanto, quando adicionado KCl, somente a partir da redução de 78,06% no teor de NaCl começou a ocorrer redução da aceitação sensorial do biscoito. Além disso, ao adicionar KCl, foi possível reduzir 100% de NaCl sem ocorrer rejeição sensorial do biscoito. Esses resultados podem auxiliar as indústrias de biscoitos a reduzir o teor de sódio de seus produtos, contribuindo para a redução do consumo de sódio pela população.

Palavras-chave: Limiar de aceitação comprometida, limiar de rejeição hedônica, redução de sódio, substituição de sódio

1.0 INTRODUÇÃO

O consumo excessivo de sódio está associado ao aumento da pressão arterial e, conseqüentemente, ao aumento no risco de doenças cardiovasculares (infarto, hipertensão, AVC e outras enfermidades), que estão entre as principais causas de morte no Brasil e no mundo (Brasil, 2019, OPAS, 2017). No mundo, cerca de 1,13 bilhão de pessoas têm hipertensão

¹ Artigo formatado segundo normas da revista Food Quality and Preference

(WHO, 2019), e as complicações dessa doença são responsáveis por 9,4 milhões de mortes por ano (WHO, 2020).

Uma das estratégias definidas pelos governos para redução do índice de casos de hipertensão arterial e doenças cardiovasculares é a redução do consumo de sódio pela população (Brasil, 2011; WHO, 2014). A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que a ingestão de sal (cloreto de sódio) seja menor que cinco gramas por dia para adultos, o equivalente a 2 gramas de sódio (WHO, 2014). Entretanto, a maioria das pessoas consome elevadas quantidades de cloreto de sódio, em média 9 a 12 gramas por dia (WHO, 2014). Preocupados com esta situação, os Estados Membros da OMS concordaram em adotar estratégias para reduzir a ingestão de sódio da população mundial em 30% até 2025 (WHO, 2014).

Para atender a essa demanda, desde o ano de 2011, o Ministério da Saúde do Brasil e diversas associações de indústrias de alimentos (ABIA, ABIMA, ABITRIGO, ABIPECS, entre outras) assinaram acordos, estabelecendo metas para redução gradativa de sódio de diversos alimentos industrializados, como produtos cárneos, pães, macarrão instantâneo, biscoitos salgados, entre outros (Brasil; 2011, 2013, 2017).

Para tanto, a substituição de cloreto de sódio por outros sais (cloreto de potássio, cloreto de cálcio, cloreto de magnésio, lactato de potássio e fosfato de potássio) e temperos tem sido uma prática bastante difundida pelas indústrias de alimentos em todo o mundo. No entanto, para alguns produtos, a substituição do cloreto de sódio por temperos não é uma alternativa viável. Por exemplo, a substituição do cloreto de sódio por alho em pó e ervas desidratadas podem descaracterizar muitos produtos, como pães e biscoito salgado, o que pode não ser de interesse da indústria.

Para esses produtos, a estratégia pode ser a utilização de sais inorgânicos. Dentre os sais inorgânicos que podem ser utilizados como substituto ao NaCl, o cloreto de potássio (KCl) é o mais utilizado (Kaur et al., 2011), pois apresenta características sensoriais e gosto salgado mais parecidos com os do NaCl, quando comparado aos demais sais inorgânicos. Além disso, a substituição do NaCl pelo KCl mantém propriedades físico-químicas e reológicas semelhantes em panificados (Chen, Hu e Li, 2018). O potássio é um nutriente necessário para a manutenção do volume total de fluidos corporais, do equilíbrio de ácidos e eletrólitos e da função celular normal. Além disso, o aumento da ingestão de potássio pode reduzir a pressão arterial sistólica e diastólica em adultos (WHO, 2016).

No entanto, estudos mostram que existem limitações no uso de sais inorgânicos (Desmond, 2006; Liem et al., 2011). De acordo com Braschi et al. (2009), a substituição parcial de cloreto de sódio por sais inorgânicos, como o cloreto de potássio, limita-se a concentrações entre 20% e 30%, uma vez que maiores porcentagens resultam na percepção de gosto amargo e sensações metálicas, comumente encontrados nestes sais, o que influencia negativamente na aceitação do produto pelo consumidor. Para Charlton et al. (2009), a substituição parcial do NaCl por sais de potássio, magnésio e cálcio em pão integral em até 32%, mantém as características sensoriais de aparência, textura e sabor.

O grande desafio é determinar o quanto substituir o cloreto de sódio por cloreto de potássio sem comprometer a aceitação e resultar em rejeição sensorial do produto, devido às possíveis alterações nas características tecnológicas (desenvolvimento e fortalecimento das estruturas do glúten, controle da fermentação e conservação) e sensoriais (aparência, textura e sabor) ocasionadas pela utilização desse sal. Nitidamente, existem pontos de transições na qual a substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio começa a reduzir a aceitação sensorial e, posteriormente, começa a resultar em rejeição sensorial do alimento. Até então, esses limiares, de grande interesse da indústria, não foram determinados, pela falta de uma metodologia sensorial adequada. No entanto, atualmente, podem ser determinados por meio da Metodologia dos Limiares Hedônicos.

A Metodologia de Limiares Hedônicos variando um estímulo (MLH_{1e}), proposta e validada por Lima Filho et al. (2015, 2017, 2018a, 2019), e a Metodologia dos Limiares Hedônicos Variando Dois Estímulos (MLH_{2e}), proposta por Lima Filho et al. (2020), permitem determinar o limiar de aceitação comprometida (LAC) e o limiar de rejeição hedônica (LRH), informando a partir de quais pontos a alteração da intensidade de estímulos resultam na redução da aceitação (LAC) e rejeição sensorial (LRH) do produto (Lima Filho et al., 2015).

Nesse contexto, por meio da Metodologia dos Limiares Hedônicos, objetivou-se determinar a partir de quais concentrações a substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio resulta na redução da aceitação sensorial (LAC) e início da rejeição sensorial (LRH) de biscoito salgado.

2.0 METODOLOGIA

Este estudo foi realizado na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), na cidade de Alegre, Espírito Santo, Brasil, e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Brasil, sob o número de parecer

3.100.527. As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEAL) da UFES, em cabines individuais e sob luz branca. A elaboração dos biscoitos foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do DEAL-UFES.

2.1 Formulação e preparo dos biscoitos

Todos os ingredientes utilizados na produção dos biscoitos foram adquiridos no comércio local da cidade de Alegre, em lojas especializadas em insumos para produtos panificados e por meio de doação de empresa (enzima protease, doada pela empresa: Palsgaard Candon S/A[®]).

A formulação do biscoito foi realizada de acordo metodologia adaptada de Davidson (2018). Com 100% em base de farinha de trigo (Boa Sorte[®]), 2,85% de açúcar cristal (sacarose, marca Paineiras[®]), 2,00% de açúcar invertido (Art Alimentos[®]), 6,02% de extrato de malte (Art Alimentos[®]), 11,66% de óleo de soja (Soya[®]), 0,20% de lecitina de soja (Art Alimentos[®]), 1,84% de fermento químico bicarbonato de amônio (Art Alimentos[®]) 2,16% de bicarbonato de sódio, fosfato monocálcio, carbonato de cálcio (fermento químico Pó Royal[®]), 0,01% de enzima protease (Bio lab[®]), 30% de água (As porcentagens foram definidas com base a massa da farinha de trigo). A concentração do sal de cozinha (cloreto de sódio, contendo 39% de sódio, marca Globo[®]) e cloreto de potássio (Labsynth[®]) variaram entre as amostras em estudo, e foram utilizadas com base no peso da massa fresca.

Inicialmente, realizou-se a mistura dos ingredientes secos (farinha de trigo, açúcar cristal, lecitina de soja, extrato de malte e enzima protease) por dois minutos, exceto fermentos e os sais (NaCl, KCl); em seguida, foram adicionados os ingredientes líquidos (óleo de soja, açúcar invertido e parte da água) e misturados por cinco minutos. A massa foi processada em misturadora (Arke, modelo MMX5X1). Após a segunda mistura, foram adicionados os fermentos químicos, bicarbonato de amônio, bicarbonato de sódio, fosfato monocálcio e carbonato de cálcio e, em segundo momento, os sais dissolvidos em água, o que permitiu maior homogeneização dos mesmos na massa. Após a adição dos sais, a massa foi misturada por mais três minutos e, posteriormente, foi levada para a estufa a 35°C por 2,5 horas, para fermentação.

Após a fermentação, foi feita a laminação da massa com espessura de três mm, em laminador elétrico (Arke, modelo MMX5X1). Os biscoitos foram modelados manualmente utilizando um molde quadrado com lados de 3 cm e assados em forno com convecção de ar (Prática Technipan, modelo MINICONV VP) à 180 °C por, aproximadamente, seis minutos.

Posteriormente, os biscoitos foram resfriados em temperatura ambiente (25 °C) e armazenados, em embalagens de polietileno vedadas, até o momento das análises.

A concentração de NaCl da amostra controle foi de 1,81% (m/m), determinada por meio de pré-testes e baseada no teor de cloreto de sódio médio de 10 marcas de biscoitos salgados comerciais do Brasil. O teor de NaCl e de KCl das amostras estímulo (com redução no teor de NaCl), variou entre as amostras em estudo.

2.2 Análise sensorial

No primeiro experimento, por meio da metodologia dos limiares hedônicos variando um estímulo (MLH_{1e}), determinou-se a partir de qual concentração a redução de cloreto de sódio resulta em redução da aceitação (LAC) e início da rejeição sensorial (LRH) do biscoito. No segundo experimento, por meio da metodologia dos limiares hedônicos variando dois estímulos (MLH_{2e}), determinou-se a partir de qual concentração a substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio resulta na redução da aceitação (LAC_{2e}) e início da rejeição sensorial (LRH_{2e}) do biscoito. Comparou-se os valores dos limiares dos dois experimentos, de forma qualitativa, a fim de investigar se, adicionando cloreto de potássio, é possível realizar maiores reduções de cloreto de sódio sem afetar a aceitação e resultar em rejeição sensorial do biscoito.

2.2.1 Consumidores

Participaram das avaliações sensoriais consumidores habituais de biscoito, recrutados entre moradores de Alegre – ES, Brasil, e alunos e servidores da Universidade Federal do Espírito Santo, *Campus* de Alegre.

No primeiro experimento, no qual foram executados os procedimentos da MLH variando um estímulo (MLH_{1e}), participaram 109 consumidores, 70 mulheres e 39 homens, com idade entre 18 e 45 anos ($21 \pm 2,79$ anos). No segundo experimento, no qual foi realizada a MLH variando dois estímulos (MLH_{2e}), a equipe de participantes foi composta por 100 consumidores, sendo 54 mulheres e 46 homens, com idade entre 18 e 44 anos ($22 \pm 3,07$ anos).

2.2.2 Metodologia dos limiares hedônicos variando um estímulo (MLH_{1e})

Todos os procedimentos analíticos foram realizados de acordo com Lima Filho et al. (2015) e Lima Filho & Minim (2018b).

Para determinação do LAC e do LRH, realizaram-se cinco sessões de teste de aceitação. Em cada sessão, os consumidores receberam um par de amostras codificadas com números de

três dígitos, onde uma amostra era a amostra controle (com 1,81% de NaCl) e a outra era uma amostra estímulo (com concentração de NaCl reduzido: 1,80%, 1,35%, 0,90%, 0,45% e 0,0%). Entre os pares, as amostras estímulo foram servidas em ordem decrescente de concentração de sódio, e a amostra controle, dentro de cada par, foi aleatorizada.

Os consumidores provaram as amostras e informaram o quanto gostaram ou desgostaram utilizando ficha com escala hedônica de nove pontos (variando de 1=“desgostei extremamente” a 9=“gostei extremamente”). Entre as avaliações, os consumidores foram orientados a enxaguar a boca com água e aguardar três minutos.

Para o cálculo do LAC, aplicou-se o teste t para amostras pareadas nas notas hedônicas da amostra controle (NHAC) e da amostra estímulo (NHAE) de cada sessão (NHAC – NHAE). Com os dados obtidos, elaborou-se um gráfico do valor t calculado (eixo Y1) em função da concentração de NaCl da amostra estímulo (eixo X) e fez-se o ajuste do modelo de regressão, com base na significância dos parâmetros e do coeficiente de determinação (R^2).

Calculou-se o LAC utilizando a equação do modelo, sendo a concentração de NaCl na qual o valor t calculado passa a ser igual ao valor t tabelado ($\alpha=5\%$), isto é, o ponto em que começa a ocorrer alteração significativa da aceitação sensorial do biscoito, devido à redução do teor de NaCl.

Para determinação do LRH, no mesmo gráfico de determinação do LAC, foi inserido um segundo eixo Y (Y2), referente as notas hedônicas médias das amostras estímulo. Analisando os mesmos critérios para ajuste do modelo do LAC, ajustou-se o modelo de regressão aos dados experimentais do eixo Y2. Por fim, adicionou-se, no gráfico, uma linha tracejada referente à nota hedônica cinco (termo hedônico “indiferente”), indicando o ponto de transição entre aceitação e rejeição sensorial do produto.

O LRH foi calculado por meio da equação do modelo, sendo a concentração de NaCl em que a nota hedônica média da amostra passa a ser igual a cinco, ou seja, o ponto em que começa a ocorrer rejeição sensorial do biscoito salgado em razão da redução do seu teor de NaCl.

2.2.3 Metodologia dos limiares hedônicos variando dois estímulos (MLH_{2e})

Os procedimentos analíticos e análise dos resultados foram realizados de acordo com Lima Filho et al. (2020). As concentrações de NaCl e de KCl das amostras estímulo foram determinadas de acordo com o delineamento composto central rotacional (DCCR) (Tabela 1),

a partir da concentração da amostra controle (1,81%). As concentrações de NaCl e de KCl variaram de 0% a 1,80%.

No desenho experimental, utilizou-se o DCCR com α igual a $\sqrt{2}$, com dois fatores (concentração de NaCl e concentração de KCl) em dois níveis (2^2), mais quatro pontos axiais (2×2) e um ponto central, com três repetições para estimativa do erro puro. No total, foram realizados 11 ensaios ($2^2 + 2 \times 2 + 3$) (Montgomery, 2001).

Tabela 1. Variáveis codificadas e concentrações de NaCl e KCl determinadas pelo DCCR

Ensaio	Variáveis codificadas		Concentrações (% m/m)		
	NaCl	KCl	NaCl	KCl	Total de sais
1	-1	-1	0,26	0,26	0,52
2	-1	1	0,26	1,54	1,80
3	1	-1	1,54	0,26	1,80
4	1	1	1,54	1,54	3,08
5	-1,41	0	0,00	0,90	0,90
6	1,41	0	1,80	0,90	2,70
7	0	-1,41	0,90	0,00	0,90
8	0	1,41	0,90	1,80	2,70
9	0	0	0,90	0,90	1,80
10	0	0	0,90	0,90	1,80
11	0	0	0,90	0,90	1,80

Para determinação dos LAC_{2e} e LRH_{2e} , foram realizadas 11 sessões de testes de aceitação (uma sessão para cada ensaio do DCCR), divididas em dois dias de avaliações.

Em cada sessão de teste de aceitação os consumidores receberam duas amostras codificadas com números de três dígitos, sendo uma amostra controle, contendo apenas cloreto de sódio, em uma concentração de 1,81% (m/m); e uma amostra estímulo, com redução de NaCl e adição de KCl, com concentração referente a um ensaio do DCCR (Tabela 1). Dentro de cada par, as amostras foram aleatorizadas. Entre as sessões de testes de aceitação, a ordem de apresentação das amostras foi realizada de acordo com o demonstrado na Tabela 2.

Na MLH_{2e} não existe uma ordem pré-definida para apresentação das amostras estímulo; a recomendação é servir, inicialmente, as amostras mais semelhantes à amostra controle e que teriam maior aceitação sensorial (Lima Filho et al., 2020). No presente estudo, por meio de testes preliminares, percebeu-se que concentrações maiores de KCl poderiam saturar a percepção sensorial do avaliador. Sendo assim, optou-se por apresentar, inicialmente, as

amostras com concentração de NaCl mais próxima da amostra controle e, por último, as amostras com maior concentração de KCl (Tabela 2).

Tabela 2. Ordem de apresentação das amostras

Sessão	Amostra Estímulo	
	Concentração de NaCl (% m/m)	Concentração de KCl (% m/m)
1	1,54	0,26
2	1,80	0,90
3	0,90	0,00
4	0,90	0,90
5	0,90	0,90
6	0,90	0,90
7	0,26	0,26
8	0,00	0,90
9	1,54	1,54
10	0,26	1,54
11	0,90	1,80

Na MLH_{1e} é possível calcular apenas um valor para cada limiar (LAC e LRH). Já na MLH_{2e} é encontrada uma faixa de valores para cada limiar (LAC e LRH), porque existem diferentes combinações de intensidades dos dois estímulos que acarretam no início do comprometimento da aceitação (LAC) ou início de rejeição sensorial (LRH) do produto. Para o cálculo do LAC_{2e}, elaborou-se um gráfico de superfície de resposta dos valores de “t” calculados em função da concentração de NaCl e de KCl. No modelo ajustado, substitui-se a variável y pelo valor t tabelado ($\alpha=5\%$), resultando na equação do LAC_{2e}, que permite calcular as diferentes combinações de NaCl e de KCl a partir das quais ocorre alteração da aceitação sensorial do biscoito (LAC_{2e}). Essa equação foi representada, no gráfico de superfície de resposta, por meio do intercepto do gráfico com um plano, referente ao valor “t” tabelado.

Para determinação dos LRH_{2e}, utilizou-se os mesmos procedimentos do LAC_{2e}, no entanto, para o cálculo desse limiar, a variável resposta é a nota hedônica média das amostras estímulo. Elaborou-se um gráfico de superfície de resposta das notas hedônicas médias em função das concentrações de NaCl e KCl. Foi ajustado um modelo de regressão e, substituindo a variável y pela nota hedônica cinco, calculou-se a equação do LRH_{2e}, que permite calcular as diferentes combinações de NaCl e KCl que resultam no início da rejeição sensorial do produto. Essa equação foi representada, no gráfico de superfície de resposta, por meio do intercepto da superfície de resposta com um plano, referente à nota hedônica cinco.

Considerando o interesse do estudo em substituir ao máximo o NaCl por KCl sem afetar a aceitação e resultar em rejeição sensorial do biscoito, existem um LAC_{2e} e um LRH_{2e} de

maiores interesse (LACi e LRHi), referente aos limiares com menor concentração de NaCl. Para calcular esses limiares de interesse, substituiu-se na Equação do LAC_{2e} e na Equação do LRH_{2e} os valores de KCl (dentro do intervalo em estudo de 0 a 1,8%) e se calculou os teores de NaCl, até obter a resolução para as equações com menor teor de NaCl.

3.0 RESULTADOS

3.1 Limiares hedônicos variando um estímulo

Ao observar as médias hedônicas das amostras estímulo (Tabela 3), percebe-se que as notas foram decrescentes com a redução do teor de NaCl, sendo que, para o primeiro e segundo estímulos, o termo hedônico atribuído ficou entre os termos “gostei moderadamente” e “gostei muito”, assim como para a amostra controle. Nas sessões quatro e cinco, as notas hedônicas das amostras estímulo diferiram estatisticamente das notas da amostra controle ($p < 0,05$).

Tabela 3. Notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, valor t calculado e p-valores

Sessão	Amostra estímulo NaCl (% m/m)	Notas hedônicas		t calculado	p-valor
		Estímulo	Controle		
1	1,80	7,3	7,3	0,608229	0,54431
2	1,35	7,2	7,3	0,723891	0,47070
3	0,90	6,8	6,7	-0,913874	0,36282
4	0,45	5,8	6,7	5,883295	< 0,0001
5	0,00	4,6	6,9	12,00719	< 0,0001

Na Figura 1, encontram-se os valores t calculados (eixo Y1) e as médias das notas hedônicas (eixo Y2) em função da concentração de NaCl das amostras estímulo (eixo X). Para os dois conjuntos de dados (valores t calculados e notas hedônicas médias), o modelo de segundo grau foi o que melhor se ajustou, tendo parâmetros da regressão significativos ($p \leq 0,05$) e coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,95 (Figura 1, Tabela 4).

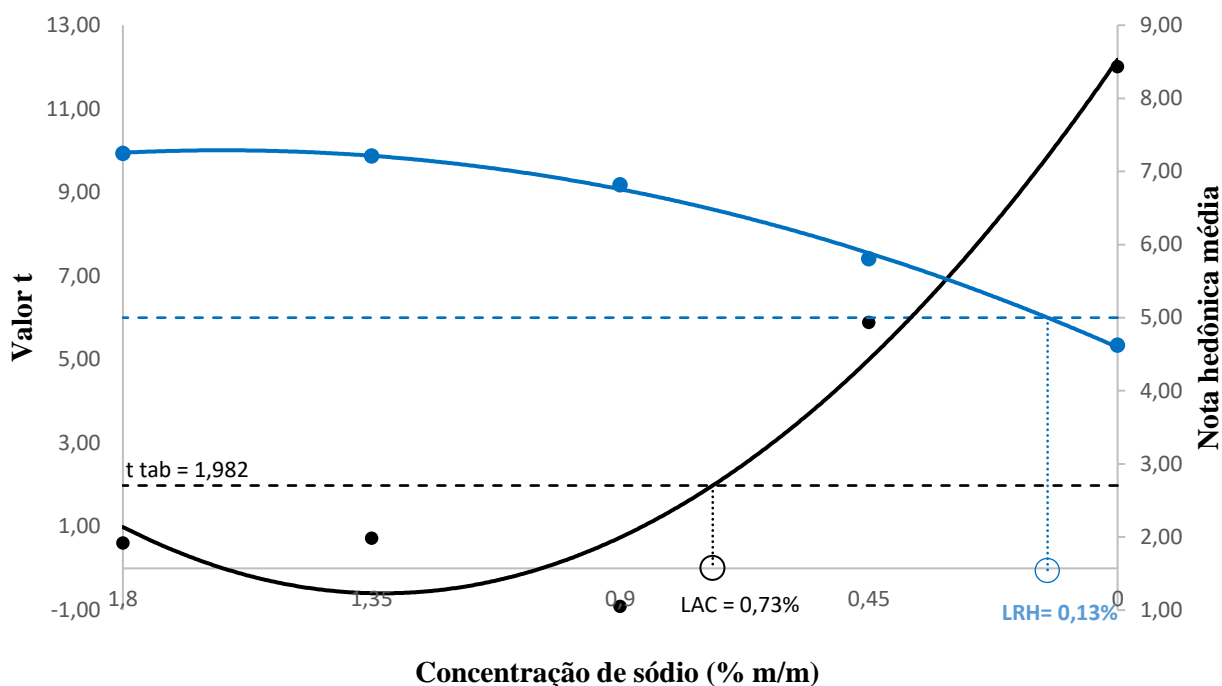


Figura 1- Valores t calculados e notas hedônicas médias em função das concentrações de cloreto de sódio das amostras estímulo. A linha tracejada preta representa o valor t tabelado para diferença significativa quanto à aceitação ($t_{tab} = 1,982$, para $\alpha = 0,05$ e g.l. = 108). A linha tracejada azul representa a nota hedônica média cinco, referente ao termo hedônico “indiferente” (início da rejeição sensorial).

Tabela 4- Modelos ajustados e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2)

	Modelo	R^2
Equação 1	$Y1 = 7,2139x^2 - 19,198x + 12,175$	0,9521
Equação 2	$Y2 = -1,0258x^2 + 3,3246x + 4,5955$	0,9980

Y1 = valor t calculado; Y2 = nota hedônica média; X = concentração de cloreto de sódio (% m/m).

Ao substituir, na Equação 1 (Tabela 4), o valor de Y1 por 1,982 (valor do t tabelado, $\alpha=0,05$ e g.l.=108), calculou-se o $LAC_{1\alpha}$ de 0,73% (m/m), demonstrando que a aceitação sensorial do biscoito salgado passa a ser comprometida ao reduzir a concentração de NaCl de 1,81% para 0,73% (59,67% de redução). Assim, reduções dentro desta faixa não alteram a aceitação sensorial do biscoito salgado.

Substituindo, na Equação 2, o valor de Y2 pela nota hedônica cinco, equivalente ao termo hedônico “indiferente”, calculou-se o $LRH_{1\alpha}$ de 0,13% (m/m), ou seja, começa a ocorrer rejeição sensorial do biscoito somente ao reduzir a concentração de NaCl de 1,81% para 0,13%, equivalente a uma redução de 92,81% em relação à amostra controle. Qualquer redução inferior a essa não resulta em rejeição sensorial do biscoito.

3.2 Limiares hedônicos variando dois estímulos

As notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, o valor t calculado (amostra controle – amostra estímulo) e o p-valor das comparações podem ser visualizados na Tabela 5.

Tabela 5 - Notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, valor t calculado e p-valores

Sessão	Amostra estímulo		Notas hedônicas		t calculado	P-valor
	NaCl (%; m/m)	KCl (%; m/m)	Amostra estímulo	Amostra controle		
1	1,54	0,26	7,0	7,1	0,8500	0,3974
2	1,80	0,90	6,6	6,8	0,7924	0,4300
3	0,90	0,00	6,6	6,9	1,5671	0,1203
4	0,90	0,90	6,7	6,5	-0,8386	0,4037
5	0,90	0,90	6,5	6,7	0,8444	0,4005
6	0,90	0,90	6,7	6,5	-1,2785	0,2041
7	0,26	0,26	6,2	7,0	4,1410	0,0001
8	0,00	0,90	5,9	7,1	6,6599	<0,0001
9	1,54	1,54	6,2	7,0	4,1690	0,0001
10	0,26	1,54	6,2	6,9	3,8085	0,0002
11	0,90	1,80	6,4	7,0	3,6107	0,0005

Na Figura 2, pode-se visualizar a equação do LAC_{2e} , representada pelo intercepto entre a superfície de resposta e o plano referente ao valor t (1,9842). Pontos acima desse intercepto, a amostra com redução de NaCl (estímulo) tem menor aceitação sensorial que a amostra sem redução de NaCl (controle). O modelo quadrático completo foi o que melhor se ajustou aos valores de t calculado em função dos teores de NaCl e KCl das amostras estímulo (Tabela 6).

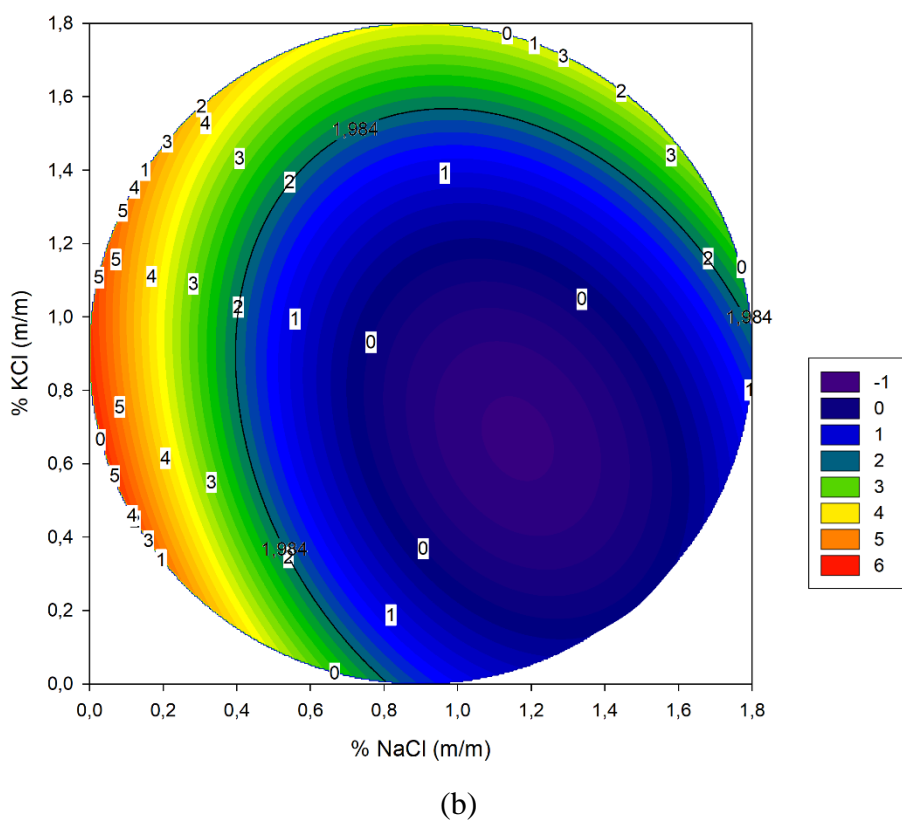
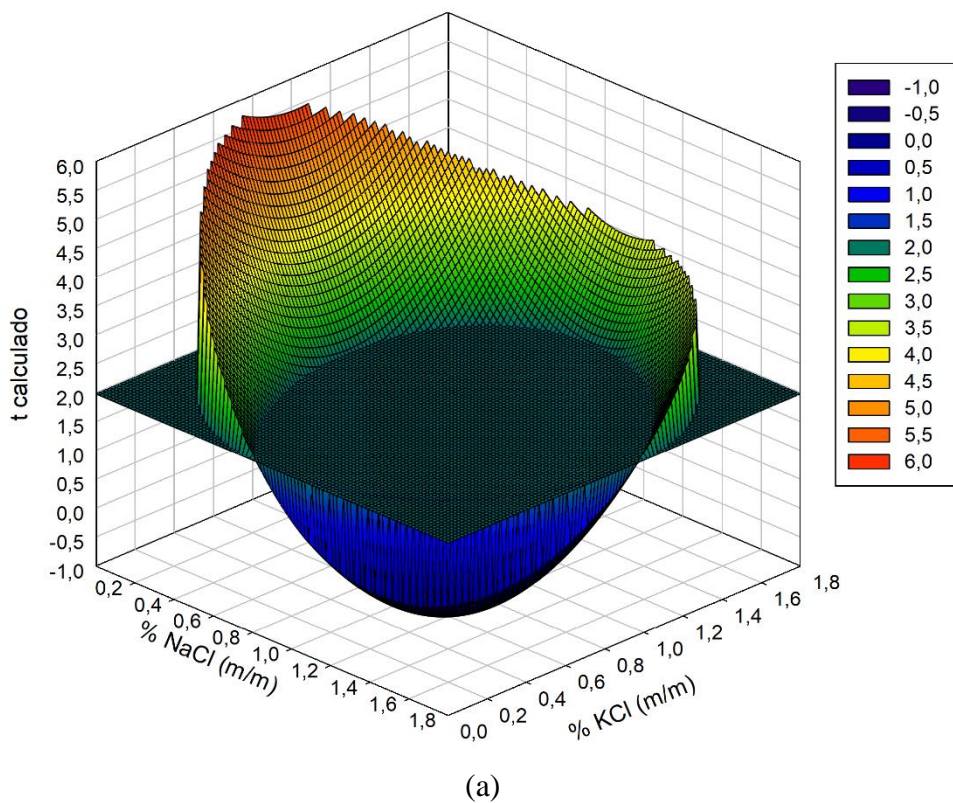


Figura 2 - Superfície de resposta do valor t em função dos teores de cloreto de sódio e de cloreto de potássio das amostras estímulo (a). Curvas de contorno dos valores de t calculados em função da concentração de cloreto de sódio e cloreto de potássio, representados pela escala de cores (b).

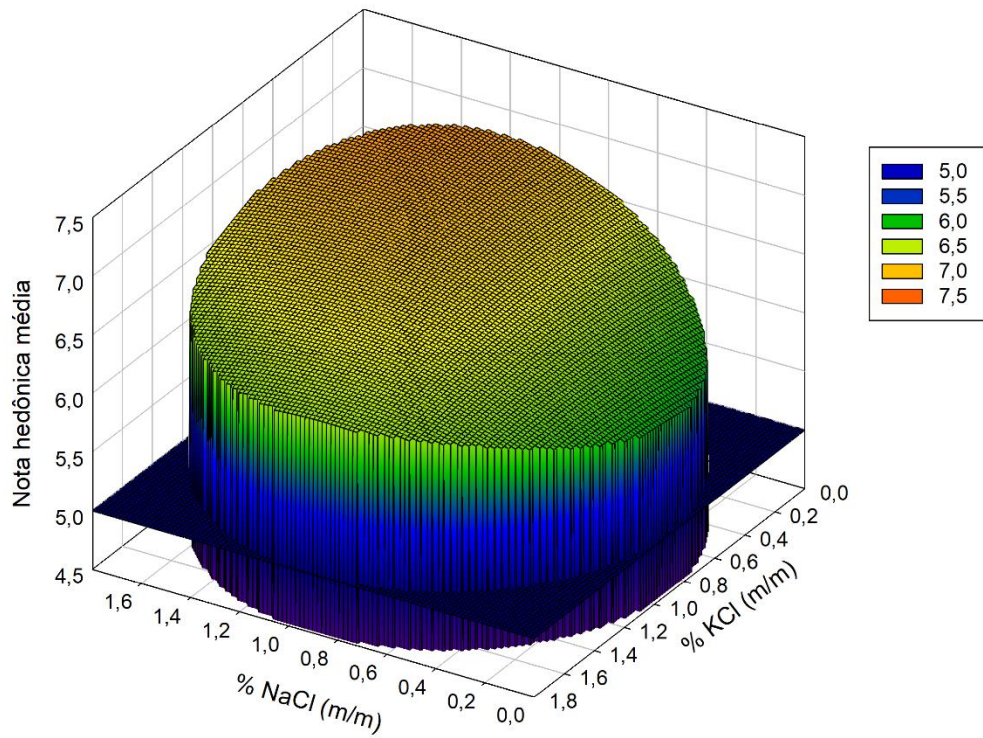
Tabela 6 - Modelo ajustado aos valores t calculado (t) em função dos teores de cloreto de sódio (NaCl) e de cloreto de potássio (KCl) e coeficiente de determinação (R²)

Modelo de regressão	R ²
$t = 9,5295 - 13,4747 * NaCl + 5,1514 * NaCl^2 - 7,6001 * KCl + 3,7474 * KCl^2 + 2,2287 * NaCl * KCl$	0,89646

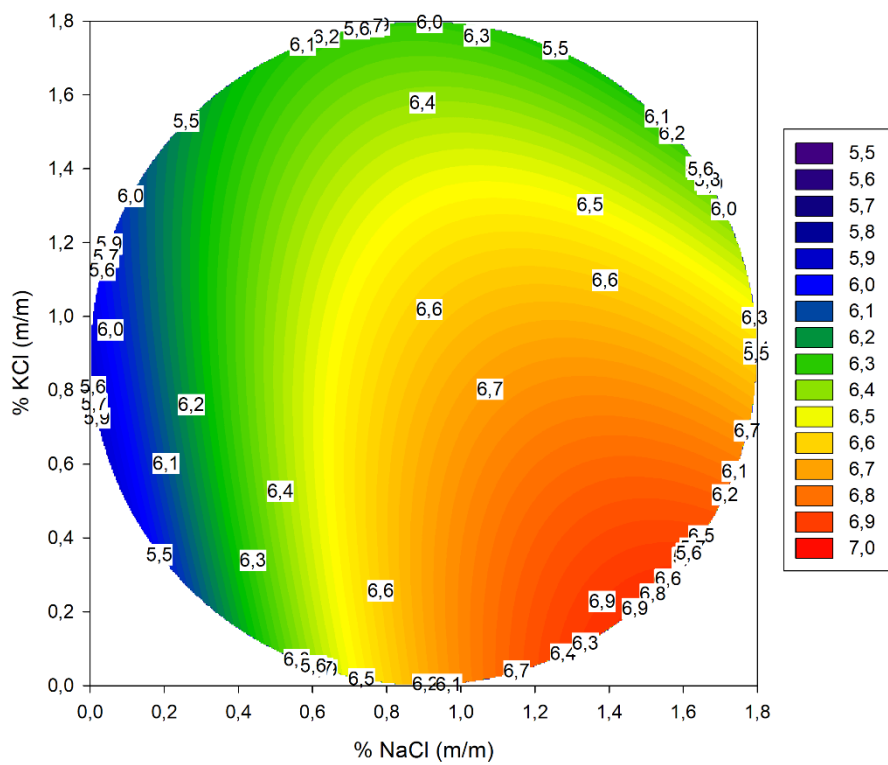
Ao substituir, na equação do modelo (Tabela 6), o valor da variável t pelo valor de t tabelado (1,9842), se obteve a equação do LAC_{2e}. Por meio da equação do LAC_{2e} é possível calcular os diferentes valores desse limiar, ou seja, as diferentes concentrações de NaCl e de KCl que resultam no início do comprometimento da aceitação sensorial do biscoito, devido à redução do teor de NaCl.

O interesse da pesquisa é investigar o máximo que se pode reduzir de NaCl sem comprometer a aceitação sensorial do biscoito. Sendo assim, calculou-se o LAC de interesse (LAC_i), ou seja, o LAC com menor teor de sódio (0,397% de NaCl e 0,896% de KCl). Deste modo, ao adicionar 0,896% de KCl, foi possível reduzir ao máximo o teor de sódio, até próximo de 0,397% m/m (78,07% de redução), sem resultar em comprometimento da aceitação sensorial do biscoito salgado.

Não foi possível calcular o limiar de rejeição hedônica (LRH_{2e}), porque nenhuma amostra obteve média hedônica igual ou inferior a cinco. Percebe-se, analisando a Figura 3 (a), que todas as notas hedônicas obtidas dentro da região experimental estão localizadas acima da área de rejeição sensorial (média hedônica = cinco). Na Figura 3 (b), analisando as curvas de contorno, é possível verificar que as maiores médias hedônicas estão localizadas na coloração laranja, referente as concentrações de 1,40% a 1,54% (m/m) de NaCl e 0,20% a 0,26% (m/m) de KCl. O modelo quadrático completo também foi o que melhor se ajustou aos valores das médias hedônicas em função dos teores de NaCl e de KCl das amostras estímulo (Tabela 7).



(a)



(b)

Figura 3 - Superfície de resposta das notas hedônicas médias em função dos teores de cloreto de sódio e de cloreto de potássio das amostras estímulo (a). Curvas de contorno dos valores das médias hedônicas

em função da concentração de cloreto de sódio e cloreto de potássio representados pela escala de cores (b).

Tabela 7 - Modelo ajustado às notas hedônicas médias (NH) em função dos teores de cloreto de sódio (NaCl) e de cloreto de potássio (KCl) e coeficiente de determinação (R²)

Modelo de regressão	R ²
$NH = 5,597726 + 1,596811 * NaCl - 0,455409 * NaCl^2 + 0,524076 * KCl - 0,177631 * KCl^2 - 0,457764 * NaCl * KCl$	0,92193

4.0 DISCUSSÃO

Ao determinar os limiares hedônicos reduzindo apenas a concentração de NaCl, verificou-se que, a partir da redução de 59,67% no teor de NaCl (de 1,81% para 0,73% m/m) ocorre comprometimento da aceitação sensorial do biscoito tipo salgado. Determinado os limiares hedônicos variando dois estímulos, isto é, substituindo NaCl por KCl, verificou-se que, ao adicionar 0,896% de KCl, somente ocorre comprometimento da aceitação sensorial do produto com reduções a partir de 78,07% no teor de NaCl (de 1,81% para 0,397% m/m).

Por meio da adição de KCl, foi possível reduzir o teor de sais totais sem ocorrer comprometimento da aceitação sensorial do biscoito, quando comparado com o biscoito controle. O biscoito controle continha 1,81% de sais (apenas NaCl) e verificou-se que, quando adicionado 0,896% de KCl aos biscoitos, a partir de 0,397% de NaCl, ocorre comprometimento da aceitação sensorial, totalizando 1,293% de sais. Portanto, com os resultados obtidos, foi possível reduzir em 78,07% o teor de NaCl, além de reduzir 28,56% do teor de sais totais no produto. A partir dessa redução, ocorreu comprometimento da aceitação sensorial.

Verificou-se também, que a partir da redução de 92,82% no teor de NaCl (de 1,81% para 0,13% m/m), sem a adição de KCl, ocorre rejeição sensorial do biscoito tipo salgado. Quando adicionado KCl, por meio da determinação dos limiares hedônicos variando dois estímulos, constatou-se que é possível reduzir 100% do teor de NaCl sem resultar em rejeição sensorial do biscoito, demonstrando, assim, a viabilidade de se utilizar o KCl como substituto ao NaCl.

Na literatura, não há relatos de estudos aplicando a MLH_{1e} e a MLH_{2e} em produtos panificados, impossibilitando a comparação dos valores dos limiares hedônicos encontrados no presente estudo. Por meio da MLH para redução de sódio em hambúrguer bovino, Lima Filho et al. (2019) verificaram que, partindo de uma amostra controle com 0,827% de sódio, começa a ocorrer comprometimento da aceitação sensorial do hambúrguer na concentração de 0,601%. Partindo de uma amostra controle com o mesmo teor de sódio (0,827%) e variando dois

estímulos na determinação dos limiares hedônicos (redução no teor de sódio e adição de alho em pó, como tempero substituto), Lima Filho et al. (2020) realizaram reduções no teor de sódio ainda maiores que Lima Filho et al. (2019). Observou-se que, adicionando 0,96% de alho em pó, a aceitação foi comprometida apenas a partir da concentração de 0,25% de sódio, redução de 69,77% de sódio em relação ao hambúrguer controle (0,827% de sódio).

No entanto, a utilização de alho em pó em substituição ao NaCl resulta em algumas desvantagens, como seu alto custo quando utilizado pela indústria, em comparação com o cloreto de sódio, e por ter características sensoriais que não são desejáveis em muitos produtos. A adição de alho em pó, dentre outros condimentos, descaracterizaria diversos produtos, como queijos, pães, macarrão e biscoito tipo salgado, uma vez que, atribuiria sabor aos produtos, e não apenas gosto salgado. Para esses produtos, muitas indústrias buscam substitutos do NaCl que possuam apenas o poder de salga, sem acrescentar em outros gostos e sabores e sem alterar a aceitação sensorial do produto pelos consumidores, o que é um desafio ainda maior e foi o foco de investigação do presente estudo.

Dentre os sais inorgânicos, o KCl está entre os mais utilizados pelas indústrias de alimentos como substituto parcial do NaCl, por apresentar gosto salgado similar ao conferido pelo NaCl. No entanto, a partir de certas concentrações, a substituição de NaCl por KCl resulta em alterações sensoriais indesejáveis pelo consumidor (Vialta; Rego, 2014).

No presente estudo, ao analisar os comentários das fichas de avaliação, observou-se que os consumidores atribuíram termos como “amargo”, “gosto amargo”, “gosto forte”, “gosto amargo e residual na boca”, “gosto final estranho e salgado”, “gosto picante na boca”, para os biscoitos que continham altas concentrações de cloreto potássio ou apenas este sal. Buren et al. (2016) afirmaram que o KCl não pode ser usado em quantidades ilimitadas porque, a partir de certas concentrações, perde sua capacidade de transmitir salinidade e pode ocasionar sabores desagradáveis, geralmente descritos como amargo, químico e metálico. Assim, a utilização do KCl tem aplicações limitadas na substituição de NaCl, devido ao sabor residual desagradável (Heidolph et al., 2011).

Pesquisas recomendam a substituição de NaCl por KCl em até 30% a 50%, dependendo do tipo de alimento, de modo a evitar alterações sensoriais indesejáveis no alimento. De acordo com Israr et al. (2016), substituições até 30% de NaCl por KCl mantêm as características reológicas e sensoriais similares em produtos panificados assados. Antunez et al. (2018) avaliaram a influência da substituição parcial de NaCl por KCl, em diferentes razões NaCl:KCl (70:30, 40:60 e 50:50), nas características sensoriais de torradas e na percepção de salinidade

pelo consumidor. Os autores supracitados concluíram que a substituição de 30% de NaCl por KCl não afetou significativamente ($p>0.05$) as características sensoriais dos pães torrados, mas em substituições iguais ou superiores a 40%, intensificam-se os sabores indesejáveis, como amargo e metálico. No entanto, os pesquisadores não verificaram a partir de quais proporções, de substituição de NaCl por KCl, a intensidade desses sabores indesejáveis acarretavam em redução da aceitação sensorial dos produtos.

Braschi, Gill e Naismth (2009) avaliaram a redução de sódio em pães brancos, por meio da substituição de NaCl por sais de potássio (KCl, citrato de potássio monohidratado, hidrogenocarbonato de potássio, gluconato de potássio) em até 50%. Nas amostras com reduções de 50% no teor de NaCl, os autores encontraram diferença significativa na aceitação global em relação à amostra controle, no entanto, nas amostras que continham reduções em até 30% de NaCl com a adição de misturas de potássio, a aceitação foi mantida estatisticamente igual a do controle. Ignácio et al. (2013) avaliaram a aceitação de quatro formulações de pão francês com redução de sódio: formulação padrão com 2% de NaCl, duas formulações com substituição do teor de NaCl por KCl (70:30, 50:50 de NaCl:KCl) e uma formulação sem adição de nenhum sal. O pão com substituição de 30% de NaCl por KCl não diferiu do pão padrão nos atributos sensoriais avaliados (aparência, aroma, sabor, textura e impressão global).

Bernklau et al. (2017) constataram que substituições de 15% a 35% de NaCl por KCl não causaram alterações sensoriais em massa de pizza fermentada. Reibner et al. (2019) investigaram os efeitos da redução de sódio por diferentes combinações de KCl, $MgCl_2$ e $CaCl_2$ em pão, e não encontraram diferenças significativas na descrição sensorial em substituições de até 50% de NaCl por KCl (0,75 g de NaCl em 100 g de farinha), em relação à amostra controle (1,50 g de NaCl em 100 g de farinha).

Verifica-se que, a maioria dos estudos citados focou em avaliar as alterações sensoriais ocasionadas pela substituição de NaCl por KCl. Apesar de ser fundamental conhecer as alterações sensoriais ocasionadas nos produtos, essas alterações podem não ser suficientes para acarretar em alteração da aceitação sensorial do produto. De acordo com Lee, Lee e Kim (2015), a aceitabilidade do consumidor pode ser considerada como uma ferramenta para reduzir o teor de sódio, e não apenas uma etapa final do sucesso da substituição. Além disso, as indústrias possuem grande interesse em saber a partir de quais concentrações a substituição de NaCl por KCl resultam em comprometimento da aceitação sensorial do produto, o que foi determinado, de forma inédita, no presente estudo.

A maioria dos estudos encontrados na literatura recomendam a substituição de 30% de NaCl por KCl (Braschi et al., 2009; Charlton et al., 2009; Ignácio et al., 2013; Israr et al., 2016; Antunez et al., 2018). Reibner et al. (2019) verificaram que substituições de 50% de NaCl por KCl não alteram as características sensoriais em pães. O presente estudo demonstrou que é possível realizar reduções ainda maiores no teor de NaCl. Adicionando-se 0,896% de KCl na formulação, somente ocorreu comprometimento da aceitação sensorial do biscoito salgado quando se reduziu 78,07% do teor de NaCl (1,81% para 0,397% de NaCl). Logicamente, esses limiares são para biscoito tipo salgado, novos estudos são necessários para determinar a partir de qual proporção a substituição de NaCl por KCl resulta em comprometimento da aceitação sensorial de outros alimentos.

É importante destacar que a maioria dos estudos que investigam a substituição de NaCl por KCl realizam a redução de NaCl na mesma proporção que se adiciona KCl, mantendo constante o teor total de sais. O presente estudo não se limitou a investigar apenas essas substituições proporcionais no teor de NaCl por KCl. Por meio do Delineamento Composto Central Rotacional, avaliou-se um maior número de combinações nos teores de NaCl e de KCl. Conforme comentado anteriormente, com a adição de KCl, pôde-se reduzir 78,07% no teor de NaCl e 28,56% no teor de sais totais para ocorrer comprometimento da aceitação sensorial do biscoito. Reduções inferiores a esses valores não afetam a aceitação sensorial do produto.

Esses resultados evidenciam a importância da utilização da Metodologia dos Limiares Hedônicos nas estratégias de redução de sódio de alimentos. Estudos de validação da MLH já demonstraram que a metodologia gera resultados precisos, exatos e robustos (Lima Filho et al., 2017, 2018). O presente estudo teve como objetivo a redução de sódio em biscoito salgado, no entanto, o mesmo pode ser aplicado para os demais alimentos. Como apresentado, as concentrações de KCl a serem empregadas nas formulações podem acarretar na descaracterização dos produtos, devido às alterações sensoriais, e por isso não se recomenda realizar a substituição total de NaCl. Por outro lado, apesar da percepção dos consumidores quanto aos gostos residuais amargo e sensação metálica, observado nos comentários das fichas, não houve rejeição sensorial do produto com a substituição total de NaCl por KCl.

De acordo com Aburto et al. (2013), Mozaffarian et al. (2016) e WHO (2014), o consumo excessivo de sódio acarreta em aumento da pressão arterial, resultando em maiores riscos de doenças cardiovasculares, como acidente vascular cerebral e ataque cardíaco. Além de reduzir o teor de NaCl de alimentos, a sua substituição por KCl pode resultar em benefícios adicionais. Pesquisas já demonstraram que a ingestão de altos níveis de potássio pode reduzir o

risco de desenvolvimento de hipertensão e de doenças cardiovasculares (Aljuraiban et al., 2012; Cogswell et al., 2012; Fonseca, Zamith, Machado, 2015).

Globalmente, a ingestão de potássio da população adulta saudável está abaixo das diretrizes da OMS, de no mínimo 3.510 mg por dia (WHO, 2012). Drewnowski et al. (2015) estimaram que a ingestão de potássio nos Estados Unidos, México, França e Reino Unido é de 80%, 95%, 77% e 95% do valor recomendado pela OMS, respectivamente. Isto demonstra que sua utilização na substituição do sódio é uma ferramenta útil para a indústria, e que substituições parciais não levariam a uma ingestão excessiva de potássio para a população em geral. No entanto, o baixo consumo de potássio também pode estar relacionado ao alto custo desse sal. Ao realizar uma pesquisa dos preços de KCl e NaCl (sal de cozinha) em um site compras (Amazon), no dia 09/08/20, verificou-se o que preço do KCl é em torno de 5 vezes maior do que o do NaCl, onde 454 gramas (1lb) de NaCl custa \$8,98 (dólar americano) (Amazon, 2020a), e 100 gramas de KCl custa \$10,96 (dólar americano) (Amazon, 2020b). Essa diferença de preço pode elevar o custo do produto final, o que é uma desvantagem para a indústria.

De acordo com dados do Centro de Controle de Doenças dos EUA (CDC), 71% do consumo de sódio dos americanos vem de alimentos processados, 14% naturalmente presentes nos alimentos e 6% são adicionados durante o preparo dos alimentos (CDC, 2017). Segundo Mica et al. (2017), a ingestão média de sódio nos Estados Unidos é de cerca de 3.400 mg por dia, e esse alto teor tem sido associado a um número estimado de 66.508 mortes por doenças cardiovasculares ao ano. Por isso, em 2016 a Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA (FDA) propôs metas de reformulação de alimentos processados para reduzir o conteúdo de sódio e a ingestão geral de sódio da população em 40% em 10 anos (Pearson-Stuttard et al., 2018). No Brasil, desde 2011, o Ministério da Saúde e as associações das indústrias de alimentos no Brasil vêm estabelecendo metas para atingir a redução de sódio nos alimentos processados, incluindo os biscoitos salgados (Brasil, 2011). Os valores dos limiares hedônicos, calculados no presente estudo, podem auxiliar as indústrias de biscoitos a atender as metas desses programas governamentais, que exigem ou recomendam a redução no teor de sódio dos produtos alimentícios.

5.0 CONCLUSÕES

Verificou-se que, a partir da redução de 59,67% no teor de NaCl (de 1,81% para 0,73% m/m) ocorre comprometimento da aceitação sensorial de biscoito tipo salgado; e a partir da

redução de 92,82% no teor de NaCl (de 1,81% para 0,13% m/m), ocorre rejeição sensorial do produto.

Constatou-se que, adicionando KCl, é possível reduzir ainda mais o teor de sódio sem comprometer a aceitação e sem resultar em rejeição sensorial do biscoito. Quando se adiciona 0,896% de KCl, somente ocorre comprometimento da aceitação sensorial a partir de reduções de 78,07% no teor de NaCl (de 1,81% para 0,397%). Essa redução de NaCl é superior às recomendações de substituição de NaCl por KCl de estudos da literatura. Essa diferença pode ser justificada pela metodologia utilizada, pela primeira vez, determinou-se os limiares hedônicos para substituição de NaCl por KCl.

Constatou-se também que, adicionando o KCl foi possível reduzir 100% o teor de NaCl sem resultar em rejeição sensorial do biscoito.

Os valores dos limiares hedônicos determinados abrem a discussão para um possível aumento na proporção de substituição de NaCl por KCl aplicada pelas indústrias de alimentos, além disso, podem auxiliar as indústrias de biscoitos à atender as metas de redução de sódio impostas pelos programas governamentais em todo o mundo, auxiliando para a redução do consumo de sódio pela população.

6.0 REFERÊNCIAS

Amazon (2020a). Preço cloreto de potássio. https://www.amazon.com/BulkSupplements-Potassium-Chloride-Powder-Kilogram/dp/B07217WRGZ/ref=pd_sbs_86_1/144-3876403-8468659?_encoding=UTF8&pd_rd_i=B00ENS39XK&pd_rd_r=3cd23912-9401-4a2e-928d-5d4e3ee5dcaf&pd_rd_w=ud4Qp&pd_rd_wg=LnGSP&pf_rd_p=bdc67ba8-ab69-42ee-b8d8-8f5336b36a83&pf_rd_r=9QT1AMRGQTK2P29FE67X&refRID=9QT1AMRGQTK2P29FE67X&th=1 Acesso: 09/08/20

Amazon (2020b). Preço cloreto de sódio. https://www.amazon.com/Fine-Ground-Celtic-Sea-Salt/dp/B000EITYUU/ref=sr_1_2?dchild=1&keywords=Ground%2BSalt%2Bfine&qid=1596979668&sr=8-2&th=1&psc=1 Acesso: 09/08/20

Antúnez, L., Giménez, A., & Ares, G. (2018). Partial replacement of NaCl with KCl in bread: Effect on sensory characteristics and consumer perception. *Journal of sensory studies*, 33, e12441. <https://doi.org/10.1111/joss.12441>.

Aburto, N. J., Ziolkovska, A., Hooper, L., Elliott, P., Cappuccio, F. P., & Meerpohl, J. J. (2013). Effect of lower sodium intake on health: systematic review and meta-analyses. *Bmj*, 346, e1326. <https://doi.org/10.1136/bmj.f1326>.

Aljuraiban, G. S., Chan, Q., Brown, I. J., Griep, L. M. O., Daviglius, M. L., Stamler, J., & Intermap Research Group. (2012). 182 association of number of daily eating episodes with

blood pressure and nutrient intake: intermap study. *Journal of Hypertension*, 30, 54-55. <https://doi.org/10.1097 / 01.hjh.0000420007.75435.30>.

Bernklau, I., Neußer, C., Moroni, A. V., Gysler, C., Spagnoletto, A., Chung, W., & Becker, T. (2017). Structural, textural and sensory impact of sodium reduction on long fermented pizza. *Food chemistry*, 234, 398-407. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.188>.

Braschi, A., Gill, L., & Naismith, D. (2009). Partial substitution of sodium with potassium in white bread: feasibility and bioavailability. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 507-521. <https://doi.org/10.1080/09637480701782118>.

Buren, L. V., Dötsch-Klerk, M., Seewi, G., & Newson, R. S. (2016). Dietary Impact of Adding Potassium Chloride to Foods as a Sodium Reduction Technique. *Nutrients*, 8, e. 235. <https://doi.org/10.3390/nu8040235>.

Centro de Controle de Doenças dos EUA - CDC (2017). Sodium and Food Sources. <https://www.cdc.gov/salt/food.htm>. Acesso: 15/04/20

Charlton, K. E., MacGregor, E., Vorster, N. H., Levitt, N. S., & Steyn, K. (2007). Partial replacement of NaCl can be achieved with potassium, magnesium and calcium salts in brown bread. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58, 508-521. <https://doi.org/10.1080/09637480701331148>.

Chen, G., Hu, R., & Li, Y. (2018). Potassium chloride affects gluten microstructures and dough characteristics similarly as sodium chloride. *Journal of cereal science*, 82, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.06.008>.

Cogswell, M. E., Zhang, Z., Carriquiry, A. L., Gunn, J. P., Kuklina, E. V., Saydah, S. H., & Moshfegh, a. j. (2012). Sodium and potassium intakes among US adults: NHANES 2003–2008. *The American journal of clinical nutrition*, 96, 647-657. <https://doi.org/10.3945 / ajcn.112.034413>.

Davidson, I. (2018). *Biscuit, Cookie and Cracker Productions*. (1 ed.) London: Academic Press. Elsevier Inc., p. 244. (capítulo 15).

Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74, 188-196. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.014>.

Drewnowski, A., Rehm, C. D., Maillot, M., Mendoza, A., & Monsivais, P. (2015). The feasibility of meeting the WHO guidelines for sodium and potassium: a cross-national comparison study. *BMJ open*, 5. <https://doi.org/10.1136 / bmjopen-2014-006625>.

Fonseca, H. A. R., Zamith, T. P., & Machado, V. A. (2015). Relações entre o potássio da dieta e a pressão arterial. *Revista brasileira de hipertensão*, 22, 9-12. http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/881281/rbh_v22n1_9-12.pdf. Acesso: 15/04/20.

Heidolph, B. B., Ray, D. K., Roller, S., Koehler, P., Weber, J., Slocum, S., & Noort, M. W. J. (2011). Looking for my lost shaker of salt replacer: flavor, function, future. *Cereal Foods World (CFW)*, 56, e5. <https://doi.10.1094/CFW-56-1-0005>.

- Ignácio, A. K. F., Rodrigues, J. T. de D., Niizu, P. Y., & Chang, Y. K. (2013). Effect of the substitution of sodium chloride by potassium chloride in French rolls. *Brazilian Journal of food technology*, 16, 1-11. <http://dx.doi.org/10.1590/S1981-67232013005000010>.
- Israr, T., Rakha, A., Sohail. M., Rashid. V., & Shehzad, A. (2016). Salt reduction in baked products: Strategies and constraints. *Trends in Food Science and Technology*, 51, 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.002>.
- Kaur, A., Bala, R., Singh, B., & Rehal, J. (2011). Effect of replacement of sodium chloride with mineral salts on rheological characteristics of wheat flour. *American Journal of Food Technology*, 6, 674 – 684. <https://doi.org/10.3923/ajft.2011.674.674.684>.
- Lee, C. L., Lee, S. M., & Kim, K. O. (2015). Use of consumer acceptability as a tool to determine the level of sodium reduction: A case study on beef soup substituted with potassium chloride and soy-sauce odor. *Journal of food science*, 80, 2570-2577. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13098>.
- Liem, D. G., Miremadi, F., & Keast, R. S. (2011). Reducing sodium in foods: the effect on flavor. *Nutrients*, 3, 694-711. <https://doi.org/10.3390/nu3060694>.
- Lima Filho, T., Minim, V. P. R., Silva, R. C. S. N., Della Lucia, S. M., & Minim, L. A. (2015). Methodology for determination of two new sensory thresholds: Compromised Acceptance Threshold and Rejection Threshold. *Food Research International*, 76, 561-566. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.037>.
- Lima Filho, T., Della Lucia, S. M., Minim, L. A.; Silva, R. C. S. N., Silva, A. N., & Minim, V. P. R. (2017). Validation of the hedonic threshold methodology in determining the compromised acceptance threshold. *Journal of Sensory Studies*, 32, 1-12. <https://doi-org/10.1111/joss.12255>.
- Lima Filho, T., Della Lucia, S. M., Minim, L. A., Silva, R. C. S. N., & Minim, V. P. R. (2018a) Validation of the hedonic threshold methodology in determining the hedonic rejection threshold. *Journal of Sensory Studies*, 33, 1-13. <https://doi-org/10.1111/joss.12313>.
- Lima Filho, T. & Minim, V. P. R. (2018b). Limiares Afetivos. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). *Análise sensorial: estudos com consumidores*. (p. 325-343). Viçosa: Editora UFV.
- Lima Filho, T., Della Lucia, S. M., Minim, L. A., Gamba, M. M., Lima, R. M., & Minim, V. P. R. (2019). Directional hedonic thresholds for sodium concentration in hamburger. *Food Quality and Preference*, 78, 1-7. <https://doi-org/10.1016/j.foodqual.2019.103722>.
- Lima Filho, T., de Souza, L. B. A., Della Lucia, S. M., Minim, L. A., & Minim, V. P. R. (2020). The Hedonic Thresholds Methodology Varying Two Stimuli: Extending the range of sensory threshold applications. *Food Quality and Preference*, 86, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.104003>.
- Ministério da Saúde - Brasil (2011). Termo de 13 de dezembro de 2011. Plano de redução de sódio em alimentos processados. http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/documentos/termo_5_dez_2011.pdf. Acessado em 15/04/20.

Ministério da Saúde - Brasil (2013). Termo de 5 de novembro de 2013. Plano de redução de sódio em alimentos processados. http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/documentos/termo_nov_2013.pdf> Acessado em 15/04/20.

Ministério da saúde - Brasil (2017). V Termo de Compromisso -2018. Plano de redução de sódio em alimentos processados - 2017. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/documentos/promocao/V_termo_alimentos_proces_2018.pdf>. Acessado em 15/04/20.

Ministério da saúde - Brasil (2019). Pesquisa Vigitel - 2018. <http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/45446-no-brasil-388-pessoas-morrem-por-dia-por-hipertensao>. Acessado em 15/04/20.

Montgomery, D. C. (2001). Design and analysis of experiment (5th ed.). New York: John Wiley & Sons, 684 p.

Mozaffarian, D., Benjamin, E. J., GO, A. S., Arnett, D. K., Blaha, M. J., Cushman, M., & Howard, V. J. (2016). Heart disease and stroke statistics-2016 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 133,447-454. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000366>.

Pearson-Stuttard, J., Kypridemos, C., Collins, B., & Micha, R. Estimating the health and economic effects of the proposed US Food and Drug Administration voluntary sodium reformulation: microsimulation cost-effectiveness analysis. *Plos Medicine*, 15, e.1002551. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002551>.

Organização Pan-Americana da saúde – OPAS-Brasil (2017). Doenças cardiovasculares. https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=1096> Acesso: 26/06/20

Reißner, A. M., Wendt, J., Zahn, S., & Rohm, H. (2019). Sodium-chloride reduction by substitution with potassium, calcium and magnesium salts in wheat bread. *LWT*, 108, 153-159. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.06.008>.

Vialta, A., & Rego, R. A. (2014). Brasil ingredients trends 2020. (1Ed.) Campinas: Instituto de tecnologia de alimentos - ITAL. <http://www.brasilingredientstrends.com.br/files/assets/basic-html/page-1.html#> Acesso: 07/08/20

World Health Organization – WHO (2012). Guideline: Potassium intake for adults and children. Geneva, World Health Organization (WHO). https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77986/9789241504829_eng.pdf Acesso: 15/04/20.

World Health Organization - WHO (2014). WHO warns against the dangers of excessive salt consumption. <https://www.who.int/westernpacific/news/detail/25-09-2014-who-warns-against-the-dangers-of-excessive-salt-consumption>. Acesso: 15/04/20.

World Health Organization - WHO (2016). Salt reduction. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>>. Acesso: 15/04/20.

World Health Organization - WHO (2019). Hypertension. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>. Acesso: 15/04/20.

World Health Organization - WHO (2020). Q&As on hypertension. <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-as-on-hypertension> Acesso: 15/04/20.

4.0. ARTIGO ORIGINAL 2

Metodologia dos Limiares Hedônicos variando três estímulos: Delineamento de misturas²

RESUMO

A metodologia dos limiares hedônicos (MLH), por meio da determinação do limiar de aceitação comprometida (LAC) e do limiar de rejeição sensorial (LRH), possui diversas aplicações pela indústria de alimentos. Com o intuito de aumentar ainda mais o campo de aplicação da MLH, objetivou-se propor a utilização do Delineamento de Misturas juntamente com a MLH para possibilitar a determinação do LAC e do LRH variando três estímulos simultaneamente. No primeiro experimento variou-se a concentração de NaCl, KCl e extrato de levedura e, no segundo experimento, variou-se a concentração de NaCl, KCl e preparado enzimático. Investigou-se o quanto é possível substituir o teor de NaCl, por outros dois ingredientes, sem comprometer a aceitação (LAC) e sem resultar em rejeição sensorial (LRH) de biscoito salgado. No primeiro experimento, verificou-se que, ao adicionar 1,149% de KCl, começou a ocorrer redução da aceitação sensorial do biscoito ao reduzir o teor de NaCl em 64,03% e, ao adicionar 1,783% de KCl e 0,017% de extrato de levedura ou 0,693% de KCl e 1,107% de extrato de levedura, é possível reduzir ao máximo o teor de NaCl (100%) sem resultar em rejeição sensorial do biscoito. No segundo experimento, constatou-se que, ao adicionar 0,358% de KCl e 0,356% de preparado enzimático, a partir da redução de 40% na concentração de NaCl (de 1,81% para 1,086%) ocorre comprometimento da aceitação sensorial do biscoito e, ao adicionar 1,215% de KCl e 0,573% de preparado enzimático, ocorre início da rejeição sensorial do biscoito ao reduzir o teor de NaCl em 99,34% (1,81% para 0,012%).

Palavras-chave: Limiar de aceitação comprometida, limiar de rejeição hedônica, redução de sódio, substituição de sódio

1.0 INTRODUÇÃO

Limiar pode ser definido como o limite mínimo pelo qual a percepção é absoluta ou o limite das capacidades sensoriais. São chamados de limiares clássicos: o limiar de detecção (ou limiar absoluto), limiar de reconhecimento, limiar de diferença e o limiar terminal (Meilgaard et al., 2015).

² Artigo formatado segundo normas da revista Food Quality and Preference

O limiar de detecção é definido como o limite inferior de um estímulo capaz de produzir uma sensação em um indivíduo e, abaixo desse limite, nenhuma sensação é percebida pelo sistema sensorial. O limiar de reconhecimento é a menor intensidade em que um determinado estímulo específico pode ser reconhecido. O limiar de diferença é a amplitude na mudança do estímulo necessário para produzir uma diferença perceptível. O limiar terminal é definido como o limite da intensidade de um estímulo, a partir do qual o aumento de intensidade não é mais percebido pelo indivíduo (Meilgaard et al., 2015).

A determinação dos limiares clássicos é uma ferramenta essencial na análise sensorial de alimentos, utilizada com diferentes finalidades, para investigar a partir de qual ponto a variação da intensidade de um estímulo resulta em alteração sensorial perceptível pelos indivíduos. Nesse sentido, os limiares clássicos são determinados, por exemplo, na pesquisa e desenvolvimento de novos produtos, no controle de qualidade e na seleção de avaliadores (Meilgaard et al., 2015; Lima Filho & Minim, 2018).

No entanto, em diversas situações, é de grande interesse da ciência e da indústria investigar a partir de qual ponto a variação da intensidade do estímulo, altera as repostas afetivas dos consumidores ao provarem os alimentos. As metodologias para determinar os limiares clássicos (limiares de detecção, reconhecimento, diferença e limiares terminais) não informam sobre o impacto da variação da intensidade do estímulo em repostas afetivas (Prescott et al., 2005; Lima Filho et al., 2015).

Nesse contexto, Prescott et al. (2005) propuseram o primeiro limiar afetivo, o limiar de rejeição pelo consumidor (LRC), permitindo determinar a intensidade do estímulo em que começa a ocorrer alteração significativa da preferência do produto pelo consumidor. No entanto, as indústrias ainda demandavam por um método que permitisse determinar as intensidades do estímulo em que começam a ocorrer redução da aceitação e rejeição sensorial do produto. Para atender essa demanda, Lima Filho et al. (2015, 2017, 2018) utilizaram testes de aceitação no protocolo de determinação de limiares e propuseram e validaram a Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH), que permite determinar dois limiares afetivos: o limiar de aceitação comprometida (LAC) e o limiar de rejeição hedônica (LRH). O LAC é a intensidade do estímulo em que começa a ocorrer redução significativa da aceitação sensorial. O LRH é a intensidade do estímulo em que começa a ocorrer rejeição sensorial do produto (Lima Filho et al., 2015).

A metodologia dos limiares hedônicos (MLH) tem inúmeras aplicações, incluindo a adição e redução de ingredientes com base na aceitação sensorial de produtos. Vários estudos

já foram realizados utilizando a MLH na reformulação desses produtos, como na redução de sacarose no néctar de uva (Lima Filho et al., 2015), adição de óleo essencial de *Mentha piperita* L. em sucos de frutas tropicais (Carvalho et al., 2019), enriquecimento de sobremesas à base de leite com FeSO₄ (Simiqueli et al., 2019), redução de sódio em hambúrguer bovino (Lima Filho et al., 2019), dentre outros.

Com o intuito de aumentar a aplicação dos limiares sensoriais, Lima Filho et al. (2020) inovaram e propuseram uma modificação no delineamento experimental da MLH, para possibilitar a determinação dos limiares hedônicos (LAC e LRH) variando a intensidade de dois estímulos simultaneamente. Pela primeira vez, foi determinado um limiar sensorial variando dois estímulos simultaneamente. Além disso, foi proposto um novo limiar, o limiar de aceitação favorecida (FAV), definido como a intensidade do estímulo em que começa a ocorrer melhoria significativa na aceitação sensorial do produto (Lima Filho et al., 2020).

A utilização de delineamentos de otimização, na metodologia dos limiares hedônicos variando dois estímulos (MLH_{2e}), possibilitou novas aplicações para a MLH. Por exemplo, a determinação dos limiares hedônicos para substituição de ingredientes prejudiciais à saúde por outros mais saudáveis na formulação de alimentos, informando as combinações das concentrações desses dois ingredientes que resultam no início da redução da aceitação (LAC) e da rejeição sensorial (LRH) do produto. Essa foi a aplicação no estudo de proposição da MLH_{2e}, com a redução da concentração de sódio e a adição de alho em pó simultaneamente, foi possível reduzir ainda mais a concentração de sódio sem acarretar em redução da aceitação e rejeição sensorial de hambúrguer bovino, quando comparado com o experimento em que foi apenas reduzido o teor de sódio (Lima Filho et al., 2020).

Em várias outras situações é desejável estudar o impacto da variação, simultânea, das intensidades de mais de dois estímulos nas características dos alimentos. Por exemplo, Khetra, Kanawjia & Puri (2016) utilizaram o DCCR na redução de sódio em queijo cheddar com adição de três ingredientes com diferentes funções, Saloni K (substituto de sódio a base de potássio), proteína vegetal hidrolisada (intensificador de sabor) e adenosina-5'-monofosfato (bloqueador de gosto amargo residual). Dutcosky et al. (2005) utilizaram o Delineamento de Mistura para investigar a variação de ingredientes prebióticos (inulina, oligofrutose e goma acácia) no desenvolvimento de barras de cereais, buscando a otimização da textura e sabor. Pereira et al. (2015) utilizaram o Delineamento de Mistura para obtenção de batatas Shoestring com baixo teor de sais de sódio, utilizando cloreto de sódio, cloreto de potássio e glutamato monossódico.

No entanto, em nenhum desses estudos foi determinado a partir de qual ponto a variação das intensidades dos três estímulos resulta no início da redução da aceitação (LAC) e no início da rejeição sensorial (LRH) do produto, informações que são de grande interesse para indústria. Por exemplo, quando se deseja administrar um tratamento térmico mais severo no alimento, para aumentar a inativação de micro-organismos e de enzimas, pode ser de grande interesse investigar a partir de qual ponto a variação simultânea da temperatura, do tempo de tratamento e do pH do alimento resulta em redução significativa da aceitação (LAC) e rejeição sensorial (LRH) do produto. Outra aplicação de grande relevância é a substituição do cloreto de sódio por ingredientes mais saudáveis, uma vez que a população consome sódio de forma excessiva, o que está associado ao aumento da pressão arterial e, conseqüentemente, ao aumento no risco de doenças cardiovasculares (infarto, AVC e outras enfermidades), que estão entre as principais causas de mortes no Brasil e no mundo (WHO, 2014, 2019).

Nesse contexto, com o intuito de atender demandas das indústrias e aumentar ainda mais as possibilidades de aplicação dos limiares hedônicos, objetivou-se utilizar delineamento de misturas na Metodologia dos Limiares Hedônicos, para possibilitar a determinação dos limiares hedônicos (LAC e LRH) variando a intensidade de três estímulos simultaneamente. Aplicou-se a metodologia para redução de cloreto de sódio em biscoito salgado, com isso, objetivou-se investigar o quanto é possível substituir o teor de cloreto de sódio, por cloreto de potássio e extrato de levedura ou por cloreto de potássio e preparado enzimático, sem comprometer a aceitação sensorial (LAC) e sem resultar em rejeição sensorial (LRH) de biscoito tipo salgado.

2.0 METODOLOGIA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Brasil, sob o número de parecer 3.100.527.

A elaboração dos biscoitos foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEAL) do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAIE) da UFES. As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial - DEAL/CCAIE/UFES, em cabines individuais e sob a luz branca.

Foram realizados dois experimentos. No primeiro experimento variou-se a concentração de cloreto de sódio, cloreto de potássio e extrato de levedura e, no segundo experimento, variou-se a concentração de cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático. Dessa forma, pretendeu-se determinar o quanto seria possível substituir o teor de cloreto de sódio, pelos

outros dois ingredientes, sem comprometer a aceitação (LAC) e sem resultar em rejeição sensorial (LRH) de biscoito tipo salgado.

2.1 Formulação e preparo dos biscoitos

Todos os ingredientes utilizados na produção dos biscoitos foram adquiridos no comércio local da cidade de Alegre (Espírito Santo, Brasil), em lojas especializadas em insumos para produtos panificados e por meio de doação de empresa. A enzima protease foi doada pela empresa Palsgaard Candon S/A[®], e o preparado enzimático com transglutaminase (Activa STG-F) foi doado pela Ajinomoto Brasil[®] e o extrato de levedura (Bionis YE MXE NS) foi doado pela Biorigin do Brasil[®].

A formulação e a elaboração do biscoito foram realizadas de acordo com Davidson (2018), com adaptações. Com 100% em base de farinha de trigo (Boa Sorte[®]), 2,85% de açúcar cristal (sacarose, marca Paineiras[®]), 2,00% de açúcar invertido (Art Alimentos[®]), 6,02% de extrato de malte (Art Alimentos[®]), 11,66% de óleo de soja (Soya[®]), 0,20% de lecitina de soja (Art Alimentos[®]), 1,84% de fermento químico bicarbonato de amônio (Art Alimentos[®]) 2,16% de bicarbonato de sódio, fosfato monocálcio, carbonato de cálcio (fermento químico Pó Royal[®]), 0,01% de enzima protease (Bio lab[®]), 30% de água (As porcentagens foram definidas com base a massa da farinha de trigo). A concentração do sal de cozinha (cloreto de sódio, contendo 39% de sódio, marca Globo[®]), cloreto de potássio (Labsynth[®]), preparado enzimático com transglutaminase (maltodextrina, proteína hidrolisada de trigo e enzima transglutaminase) (Activa STG-F) (Ajinomoto[®]) e extrato de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Bionis YE MXE NS) (Biorigin[®]), que tiveram concentrações variando de 0,0 a 1,80% entre as amostras em estudo, foram utilizadas com base no peso da massa fresca.

Inicialmente, realizou-se a mistura dos ingredientes secos (farinha de trigo, açúcar cristal, lecitina de soja, extrato de malte e enzima protease) por dois minutos, exceto fermentos e os sais (NaCl, KCl). Em seguida, foram adicionados os ingredientes líquidos (óleo de soja, açúcar invertido e parte da água) e misturados por cinco minutos. A massa foi processada em misturadora marca Arke, modelo MMX5X1. Após a segunda mistura, foram adicionados os fermentos químicos, sal amoníaco, bicarbonato de sódio, fosfato monocálcio e carbonato de cálcio, em segundo momento, os sais e preparado enzimático com transglutaminase ou extrato de levedura (de acordo com a amostra em estudo) dissolvidos em água, o que permitiu maior homogeneização dos sais na massa. Depois da adição dos sais, a massa foi misturada por mais três minutos e, posteriormente, foi levada à fermentação por 2,5 horas em estufa a 35 °C.

Após a fermentação, foi feita a laminação com espessura de três mm, em laminador marca Arke, modelo MMX5X1. Os biscoitos foram modelados manualmente utilizando um molde quadrado com lado de três cm e assados em forno com convecção de ar (marca Prática Technipan, modelo MINICONV VP) à 180°C por, aproximadamente, seis minutos. Posteriormente, os biscoitos foram resfriados em temperatura ambiente (25 °C) e armazenados, em embalagens de polietileno vedadas, até o momento das análises.

2.2 Consumidores

Participaram das avaliações sensoriais consumidores habituais de biscoito salgado, recrutados entre moradores de Alegre – ES, Brasil, e alunos e servidores da UFES, *Campus* de Alegre.

No primeiro experimento, no qual foram executados os procedimentos da MLH variando cloreto de sódio, cloreto de potássio e extrato de levedura, participaram 103 consumidores, 64 do sexo feminino e 39 do sexo masculino, com idade entre 18 e 33 anos (21 anos \pm 3,46). No segundo experimento, utilizando cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático como estímulos, participaram 104 consumidores, 65 do sexo feminino e 39 do sexo masculino, com idade entre 18 e 33 anos (22 anos \pm 3,65).

2.3 Metodologia dos limiares hedônicos variando três estímulos

2.3.1 Delineamento experimental

Para determinar os limiares hedônicos variando três estímulos, utilizou-se os mesmos procedimentos de análise sensorial e coleta de dados da Metodologia dos Limiares Hedônicos Variando Dois Estímulos (MLH_{2e}), propostos por Lima Filho et al. (2020), e da Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH), variando um estímulo, proposta por Lima Filho et al. (2015), diferindo apenas no delineamento experimental dos tratamentos utilizado. Na Metodologia dos Limiares Hedônicos Variando Três Estímulos (MLH_{3e}), utilizou-se o delineamento de misturas como delineamento experimental.

A concentração de cloreto de sódio (NaCl) da amostra controle (1,81%; m/m), foi determinada com base em pré-testes e baseada no teor de cloreto de sódio médio de 10 marcas de biscoitos salgados comerciais do Brasil. Na amostra controle foi adicionado apenas cloreto de sódio, não sendo adicionado cloreto de potássio, preparado enzimático com transglutaminase ou extrato de levedura. As amostras estímulo continham substituição parcial ou total de cloreto de sódio por cloreto de potássio e o terceiro componente (enzima transglutaminase ou extrato

de levedura). As concentrações de cloreto de sódio, cloreto de potássio e o terceiro componente (enzima transglutaminase ou extrato de levedura) das amostras estímulo foram determinadas de acordo com o delineamento de misturas (Tabela 1), a partir da concentração de cloreto de sódio da amostra controle. No delineamento de misturas a soma das proporções dos componentes de mistura é sempre 100%. A concentração máxima fixada foi 1,80%, portanto, a soma dos três componentes NaCl, KCl e o terceiro componente, foi sempre igual a 1,80%

O delineamento de misturas utilizado foi o centroide simplex adicionado de três pontos interiores com 10 tratamentos (Tabela 1) (Barros Neto, 2010), como descrito na Equação 1.

$$Y = b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3$$

Equação 1. Modelo cúbico especial

Tabela 1 - Modelo codificado e concentrações de NaCl, KCl e o terceiro componente C3 (extrato de levedura ou preparado enzimático) determinados pelo delineamento de misturas

Ensaio	Variáveis codificadas			Concentrações dos estímulos (%; m/m)		
	X1	X2	X3	NaCl	KCl	C3
1	1	0	0	1,80	0,00	0,00
2	0	1	0	0,00	1,80	0,00
3	0	0	1	0,00	0,00	1,80
4	1/2	1/2	0	0,90	0,90	0,00
5	1/2	0	1/2	0,90	0,00	0,90
6	0	1/2	1/2	0,00	0,90	0,90
7	2/3	1/6	1/6	1,20	0,30	0,30
8	1/6	2/3	1/6	0,30	1,20	0,30
9	1/6	1/6	2/3	0,30	0,30	1,20
10	1/3	1/3	1/3	0,60	0,60	0,60

2.3.2 Análise sensorial

Foram realizadas 10 sessões de testes de aceitação (uma sessão para cada ensaio do delineamento de misturas), divididas em dois dias de avaliações.

Para avaliação das amostras, os consumidores receberam em uma mesma sessão duas amostras codificadas com números de três dígitos, sendo uma controle, contendo 1,81% de cloreto de sódio, sem adição de cloreto de potássio e do terceiro componente; e uma amostra estímulo, com redução no teor de cloreto de sódio, associado com adição de cloreto de potássio e do terceiro componente, com concentração referente a um dos ensaios do delineamento de misturas (Tabela 1). Dentro de cada par, as amostras foram aleatorizadas. Entre as sessões de

testes de aceitação, a ordem de apresentação das amostras foi realizada de acordo com o demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Ordem de apresentação das amostras dentro de cada experimento

Sessão	Amostra estímulo		
	Concentração de NaCl (% m/m)	Concentração de KCl (% m/m)	Concentração do C3 (% m/m)
1	1,80	0,00	0,00
2	1,20	0,30	0,30
3	0,90	0,90	0,00
4	0,90	0,00	0,90
5	0,60	0,60	0,60
6	0,30	1,20	0,30
7	0,30	0,30	1,20
8	0,00	1,80	0,00
9	0,00	0,90	0,90
10	0,00	0,00	1,80

Não existe uma ordem pré-definida para apresentação das amostras. A recomendação é seguir o protocolo “Semelhante para diferente”, ou seja, nas primeiras sessões de testes de aceitação são avaliadas a amostra controle juntamente com as amostras estímulo mais semelhantes sensorialmente a ela; nas últimas sessões são avaliadas as amostras mais diferentes sensorialmente da amostra controle. Lima Filho et al. (2020), ao proporem a MLH_{2e}, apresentaram as amostras de hambúrguer em ordem decrescente de concentração de sódio e ordem crescente de concentração de alho em pó. No presente estudo, as amostras estímulo também foram apresentadas em ordem decrescente de concentração de NaCl. Quando amostras estímulo possuíam a mesma concentração de NaCl, serviu-se, primeiro, a amostra mais parecida sensorialmente com a amostra controle, de acordo com resultados de teste sensoriais preliminares realizados pelos próprios pesquisadores (Tabela 2).

Os consumidores provaram as amostras e informaram o quanto gostaram ou desgostaram utilizando ficha com escala hedônica de nove pontos (variando de 1=“desgostei extremamente” a 9=“gostei extremamente”). Entre as avaliações, os consumidores foram orientados a enxaguar a boca com água e aguardar três minutos.

2.3.3 Análise estatística e cálculo dos limiares hedônicos

Foi determinada uma faixa de valores para cada limiar (limiar de aceitação comprometida - LAC e limiar de rejeição hedônica - LRH), porque existem diferentes

combinações de intensidades dos três estímulos que acarretam no início do comprometimento da aceitação (LAC) ou no início da rejeição sensorial (LRH) do produto.

Para cálculo do LAC, aplicou-se o teste t para amostras pareadas nas notas hedônicas da amostra controle (NHAC) e da amostra estímulo (NHAE), de cada sessão (NHAC – NHAE). Com os dados obtidos, elaborou-se um gráfico de superfície de resposta dos valores de “t” calculado em função da concentração de cloreto de sódio, cloreto de potássio e do terceiro componente e ajustou-se um modelo de regressão ($\alpha = 0,05$). Para seleção do modelo que melhor se ajustou aos dados, analisou-se a significância dos parâmetros do modelo ($p \leq 0,05$) e o coeficiente de determinação (R^2). No modelo ajustado, substituiu-se a variável “t” pelo valor t tabelado ($p=0,05$), gerando uma equação do teor de cloreto de sódio em função do teor de cloreto de potássio e do terceiro componente (equação do LAC).

A partir da equação do LAC, é possível calcular os diferentes limiares de aceitação comprometida, ou seja, as diferentes combinações dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e do terceiro componente, a partir das quais ocorre a redução significativa da aceitação sensorial do biscoito salgado. Considerando o interesse do estudo em substituir a quantidade máxima de cloreto de sódio por cloreto de potássio e o terceiro componente (extrato de levedura ou preparado enzimático) sem comprometer a aceitação sensorial do produto, existe um LAC de maior interesse (LAC_i), referente ao LAC com menor concentração de cloreto de sódio. Para calcular o LAC_i, substituiu-se na Equação dos LAC, valores dos teores cloreto de potássio (dentro do intervalo de estudo de 0 a 1,8%) ou do terceiro componente (também dentro do intervalo de estudo de 0 a 1,8%) e calculou-se os teores de cloreto de sódio por meio da equação gerada. A combinação referente ao LAC_i é a que possui menor concentração de cloreto de sódio, ou seja, é a combinação dos estímulos com menor teor de cloreto de sódio em que começa a ocorrer redução significativa da aceitação sensorial do produto.

Para determinação dos LRH, utilizou-se os mesmos procedimentos do LAC, no entanto, para o cálculo desse limiar a variável resposta é a nota hedônica média das amostras estímulo. Com os dados obtidos, elaborou-se um gráfico de superfície de resposta das notas hedônicas médias em função da concentração de cloreto de sódio, cloreto de potássio e do terceiro componente das amostras estímulo e ajustou-se um modelo de regressão ($\alpha = 0,05$). Para seleção do modelo que melhor se ajustou aos dados, analisou-se a significância dos parâmetros do modelo ($p \leq 0,05$) e o coeficiente de determinação (R^2). No modelo ajustado, substituiu-se a variável “NH” pela nota hedônica cinco (termo hedônico “indiferente”, representando o início

da rejeição sensorial), obteve-se uma equação do teor de cloreto de sódio em função do teor de cloreto de potássio e do teor do terceiro componente (Equação do LRH).

A partir da equação do LRH, é possível calcular os diferentes limiares de rejeição, ou seja, as diferentes combinações dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e do terceiro componente, a partir das quais o biscoito salgado é rejeitado. Da mesma forma que foi feito para o LAC, também foi calculado o LRH de interesse, sendo a combinação dos estímulos com menor teor de cloreto de sódio em que começa a ocorrer rejeição sensorial do biscoito salgado.

3 RESULTADOS

3.1 Limiares hedônicos variando três estímulos: cloreto de sódio, potássio e extrato de levedura

As notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, os valores t calculado (amostra controle – amostra estímulo) e os p valores das comparações podem ser visualizados na Tabela 3.

Tabela 3 - Notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, valor t calculado e p valor

Sessão	Amostra estímulo			Notas hedônicas		t calculado	P valor
	Concentração de NaCl (% m/m)	Concentração de KCl (% m/m)	Concentração do extrato de levedura (% m/m)	Amostra Estímulo	Amostra Controle (1,81% de NaCl)		
1	1,80	0,00	0,00	7,3	7,1	-1,4438	0,1519
2	1,20	0,30	0,30	6,9	6,8	-0,7039	0,4831
3	0,90	0,90	0,00	6,5	6,6	0,7023	0,4841
4	0,90	0,00	0,90	6,2	6,7	2,4891	0,0144
5	0,60	0,60	0,60	5,8	6,7	4,0238	0,0001
6	0,30	1,20	0,30	5,9	6,7	4,6191	<0,0001
7	0,30	0,30	1,20	5,6	6,5	4,4058	<0,0001
8	0,00	1,80	0,00	4,9	6,3	6,4255	<0,0001
9	0,00	0,90	0,90	5,0	6,4	6,3484	<0,0001
10	0,00	0,00	1,80	4,1	6,5	9,2970	<0,0001

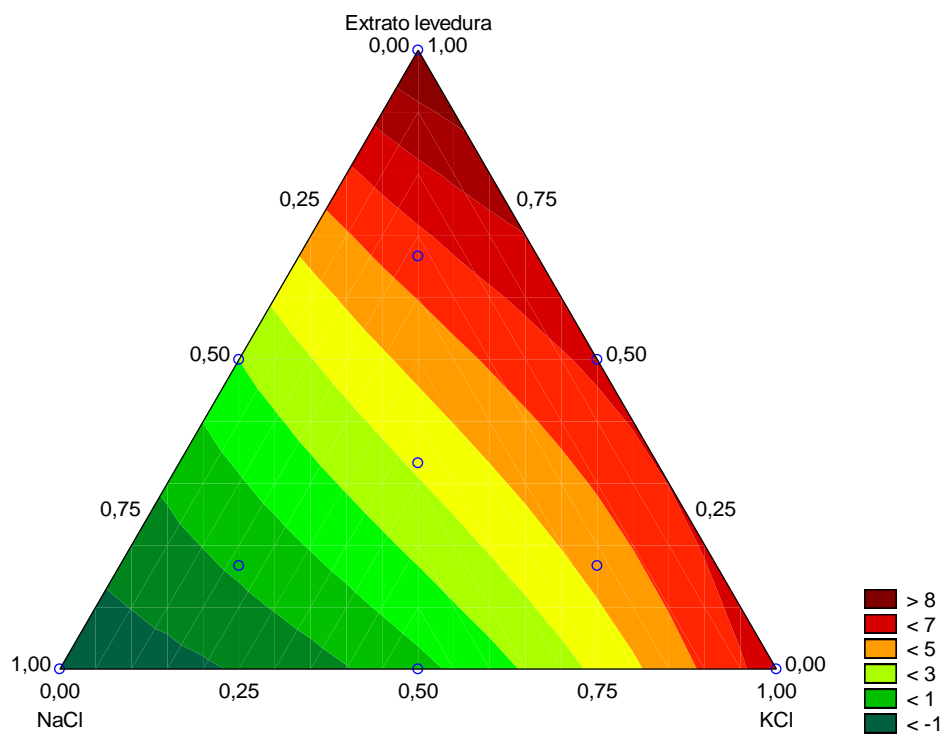
Ao avaliar as médias hedônicas das amostras estímulos na Tabela 3, percebe-se que as amostras das três primeiras sessões apresentaram maiores escores equivalente aos termos

“gostei ligeiramente”, “gostei moderadamente” e “gostei muito” e não diferiram estatisticamente da amostra controle.

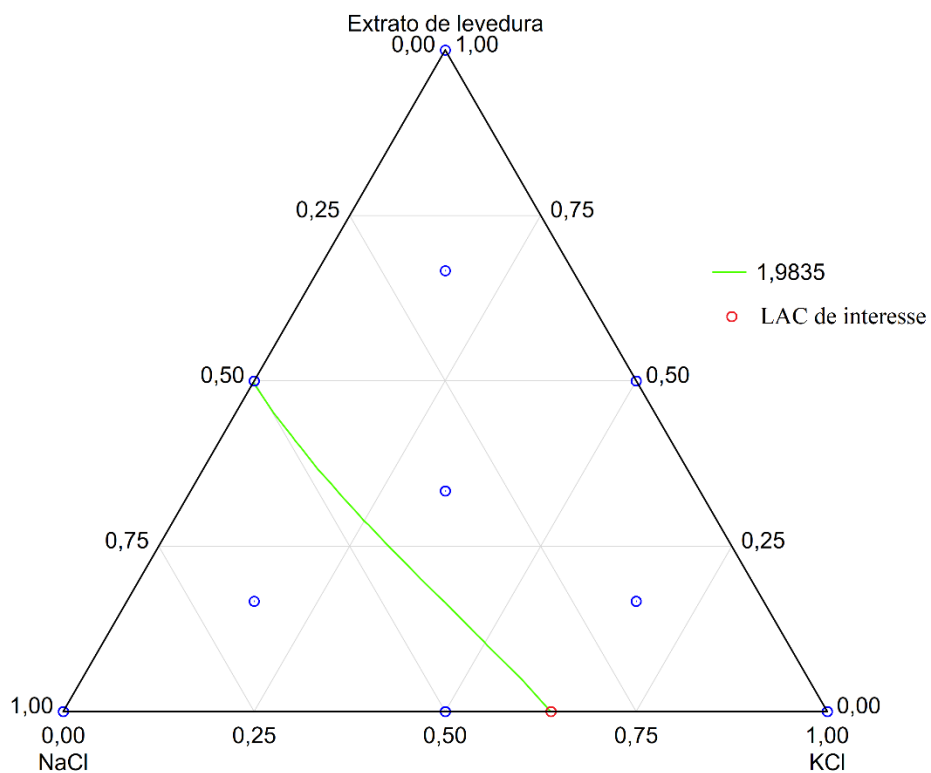
Nas sessões 5, 6 e 7 as amostras estímulo continham os três componentes da mistura, obtiveram notas hedônicas próximas ao termo hedônico “gostei ligeiramente” e diferentes significativamente ($p \leq 0,05$) da amostra controle. Já a amostra estímulo da sessão 2, que também apresentava a mistura com os três componentes, mas com concentração maior de NaCl, apresentou maior nota hedônica (6,8, próximo ao termo “gostei moderadamente”) e não diferiu estatisticamente da amostra controle ($p > 0,05$). A justificativa para maior nota hedônica da amostra estímulo da sessão 2, quando comparada com as demais amostras contendo os três componentes, pode ser o seu maior teor de cloreto de sódio (1,20%; m/m) e menor teor dos outros dois componentes (0,30% de cada).

Nota-se que, apenas a últimas três amostras estímulos apresentadas (sessões 8, 9 e 10) obtiveram médias hedônicas igual ou menor a cinco (termo hedônico indiferente, início da rejeição sensorial), ou seja, foram rejeitadas sensorialmente. Essas amostras três amostras não continham NaCl, sendo a amostra que possuía 100% de KCl, a que continha 100% de extrato de levedura e a amostra com 50% de cloreto de potássio e 50% de extrato de levedura.

Tanto para os valores de t calculado, para o cálculo do LAC, quanto para os valores das notas hedônicas média, para o cálculo do LRH, o modelo cúbico especial foi o que melhor se ajustou aos dados, possuindo parâmetros de regressão significativos ($p \leq 0,05$) e coeficiente de determinação superior a 0,96 (Tabela 4). Na Figura 1, encontra-se o gráfico de superfície de resposta dos valores de t em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e extrato de levedura das amostras estímulo.



(a)



(b)

Figura 1 - Superfície de resposta do valor t em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e extrato de levedura das amostras estímulo (a). Delimitação da equação do LAC (b).

Tabela 4 - Modelos ajustados aos valores t calculado (t) e nota hedônica média (NH) em função dos teores de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl) e extrato de levedura (ExL), coeficiente de determinação (R²)

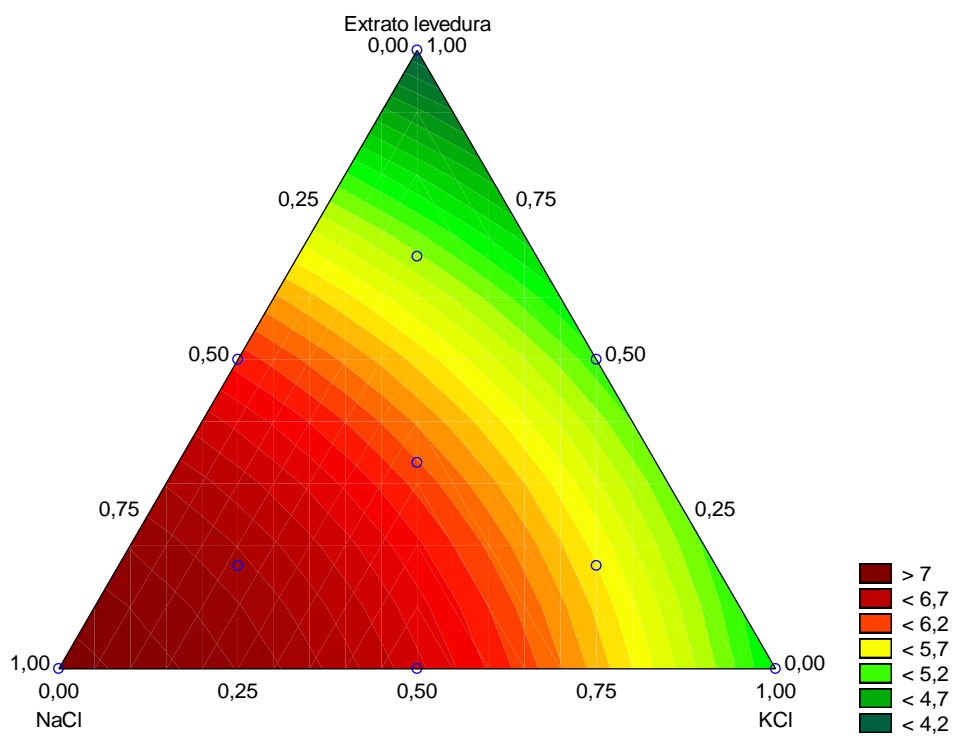
Equação	Modelo de regressão	R ²
LAC	$t = -1,64.NaCl + 6,62.KCl + 9,01.ExL - 7,15.NaCl.KCl - 6,71.NaCl.ExL - 6,24.KCl.ExL + 19,7.NaCl.KCl.ExL$	0,9679
LRH	$NH = 7,25.NaCl + 4,99.KCl + 4,11.ExL + 1,64.NaCl.KCl + 2,29.NaCl.ExL - 2,32.KCl.ExL - 0,93.NaCl.KCl.ExL$	0,9765

Ao avaliar a Figura 1a, percebe-se que os valores de t próximos de zero (entre -1 e +1), representados pelas cores verdes mais escuras no gráfico, estão localizados nas maiores concentrações de cloreto de sódio, ou seja, a área de maior proximidade entre a aceitação sensorial das amostras controle (com teor de cloreto sódio convencional) e estímulo (com reduzido teor de cloreto de sódio). Já os maiores valores de t ($t > 8$), representados pela cor vermelha escuro, estão localizados nas maiores concentrações de extrato de levedura, ou seja, é a área com maior diferença entre a aceitação da amostra controle e da amostra estímulo.

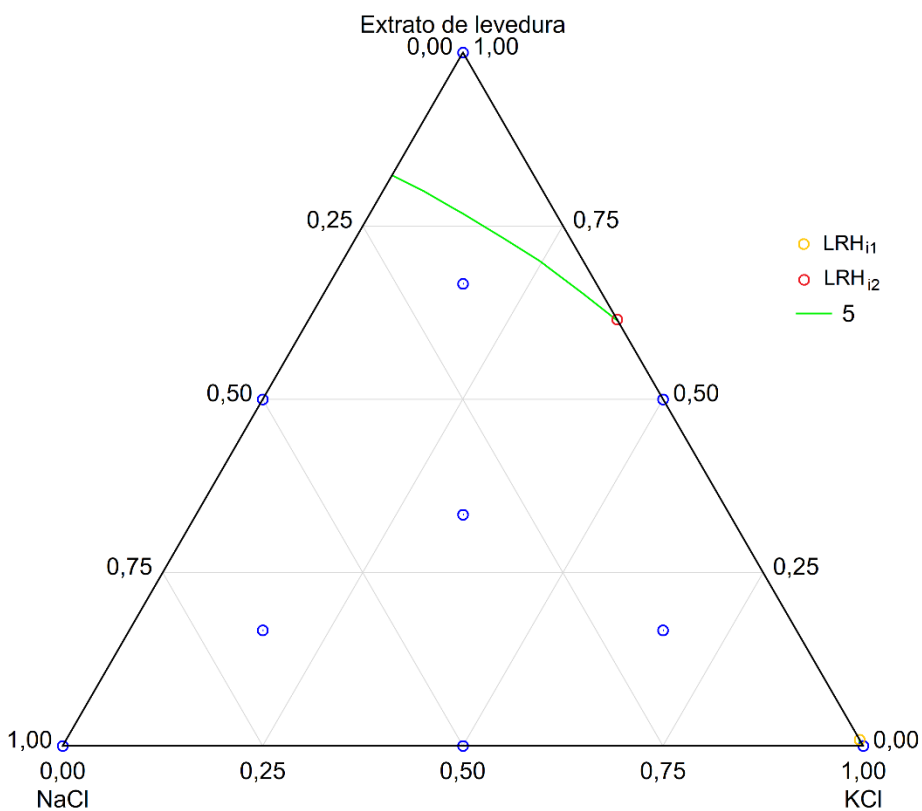
Ao substituir, na equação do modelo (Tabela 4), o valor da variável t pelo valor de t tabelado (1,9835; g.l. = 102, $\alpha = 0,05$), obtém-se a equação do LAC. Por meio da equação do LAC é possível calcular diferentes valores de LAC (Figura 1b), ou seja, as diferentes combinações de concentrações de cloreto de sódio, cloreto de potássio e extrato de levedura que resultam no início do comprometimento da aceitação sensorial do biscoito.

Por meio da equação do LAC também é possível calcular o limiar de aceitação comprometida de interesse (LAC_i), que consiste no LAC com a menor concentração de cloreto de sódio. A variável KCl foi substituída por diferentes concentrações de cloreto de potássio, dentro da faixa de 0 a 1,80%, obtendo-se o LAC_i com menor teor de cloreto de sódio (0,651% de cloreto de sódio, 1,149% de cloreto de potássio). Deste modo, constatou-se que ao adicionar 1,14% de cloreto de potássio, somente em reduções a partir da concentração de 0,651% (m/m) de cloreto de sódio (uma redução de 64,03% no teor de cloreto de sódio) ocorre comprometimento da aceitação sensorial do biscoito salgado.

Na Figura 2, está apresentado o gráfico de superfície de resposta das médias hedônicas das amostras estímulo em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e extrato de levedura.



(a)



(b)

Figura 2 - Superfície de resposta das notas hedônicas médias (NH) em função dos teores de cloreto de sódio, de cloreto de potássio e extrato de levedura das amostras estímulo (a). Delimitação da equação do LRH (b).

Por meio da Figura 2a é possível verificar que a área de maior aceitação sensorial está localizada nas misturas com maiores teores de cloreto de sódio. A menor aceitação sensorial está localizada nas misturas com menores concentrações de cloreto de sódio e maiores concentrações de extrato de levedura (cor verde).

Substituindo, na equação do modelo (Tabela 4), o valor da variável NH pela nota hedônica 5 (termo hedônico “indiferente”), calculou-se a equação do LRH. Portanto, por meio da equação do LRH (Figura 2b), é possível determinar as diferentes combinações dos três componentes que resultam no início da rejeição sensorial, inclusive a combinação com menor teor de cloreto de sódio (LRH de interesse – LRH_i).

Ao calcular o LRH_i verificou-se que é possível reduzir todo o teor de cloreto de sódio sem ocorrer rejeição sensorial do biscoito. Nesse caso, de acordo com o interesse da indústria, pode-se determinar o limiar de rejeição de interesse com menor teor de extrato de levedura ou com menor teor de cloreto de potássio. O LRH_{i1} com a menor concentração de extrato de levedura possui 1,783% de cloreto de potássio e 0,017% de extrato de levedura. Já o LRH_{i2} com menor teor de cloreto de potássio possui 0,693% de cloreto de potássio e 1,107% de extrato de levedura. Esses resultados demonstram que foi possível reduzir ao máximo o NaCl (100%) sem resultar em rejeição sensorial do biscoito.

3.2 Limiares hedônicos variando três estímulos: cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático

As notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, os valores t calculado (amostra controle – amostra estímulo) e os p valores das comparações podem ser visualizados na Tabela 5.

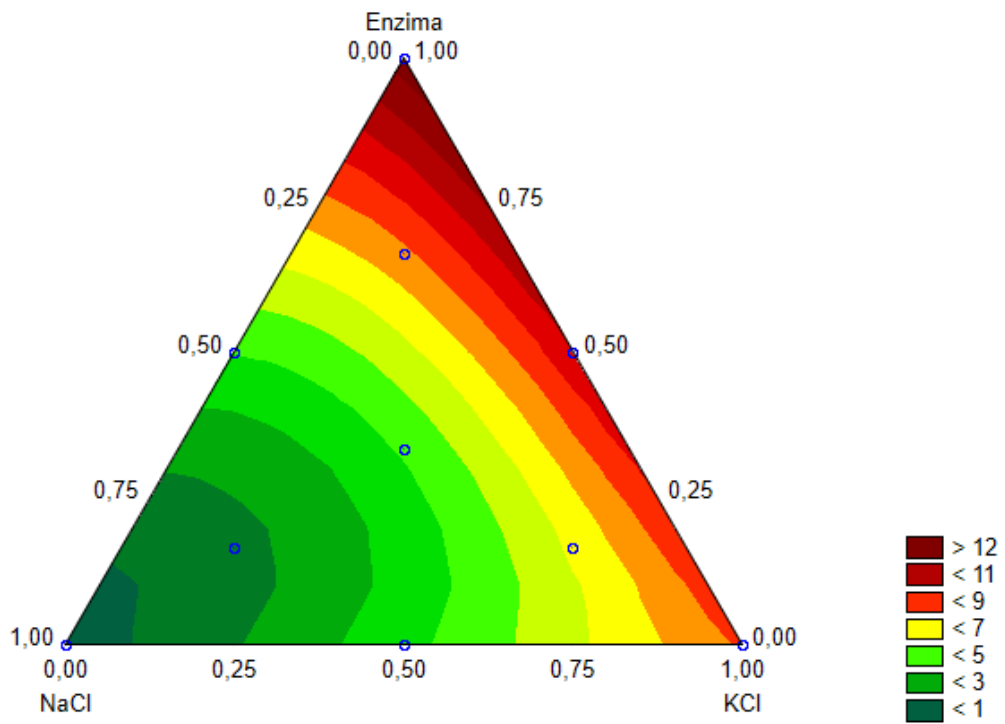
Ao analisar a Tabela 5, percebe-se que apenas as amostras estímulo das duas primeiras sessões não diferiram estatisticamente da amostra controle e apresentaram as maiores notas hedônicas, equivalente ao termo “gostei moderadamente”.

As três amostras que não continham cloreto de sódio diferiram estatisticamente da amostra controle quanto à aceitação sensorial ($p \leq 0,05$) e obtiveram médias hedônicas menores que cinco, entre os termos “indiferente” e “desgostei ligeiramente”.

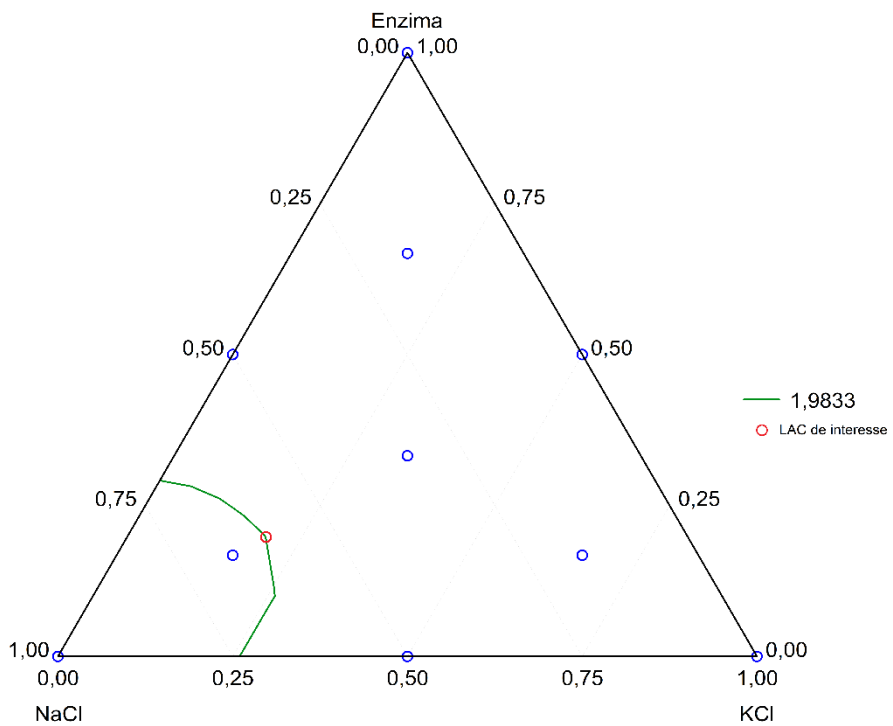
Tabela 5 - Notas hedônicas médias das amostras de cada sessão, valor t calculado e p valor

Sessão	Amostra estímulo			Notas hedônicas		t calculado	P valor
	Concentração de NaCl (% m/m)	Concentração de KCl (% m/m)	Concentração do preparado enzimático (% m/m)	Amostra Estímulo	Amostra Controle		
1	1,80	0,00	0,00	7,0	7,1	0,8740	0,3841
2	1,20	0,30	0,30	7,0	7,1	0,6332	0,5280
3	0,90	0,90	0,00	6,3	6,9	3,4612	0,0007
4	0,90	0,00	0,90	6,0	6,8	4,5281	<0,0001
5	0,60	0,60	0,60	6,2	7,0	3,6943	0,0003
6	0,30	1,20	0,30	5,8	7,1	8,1693	<0,0001
7	0,30	0,30	1,20	5,7	7,0	7,6984	<0,0001
8	0,00	1,80	0,00	4,8	6,5	7,5439	<0,0001
9	0,00	0,90	0,90	4,8	6,9	9,3424	<0,0001
10	0,00	0,00	1,80	4,3	7,1	12,6002	<0,0001

Na Figura 3 está o gráfico de superfície de resposta do valor t em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático das amostras estímulo. O modelo cúbico especial foi o que melhor se ajustou aos valores de t calculado e as notas hedônicas média em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático das amostras estímulo (Tabela 6).



(a)



(b)

Figura 3 - Superfície de resposta do valor t em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático das amostras estímulo (a). Delimitação da equação do LAC (b).

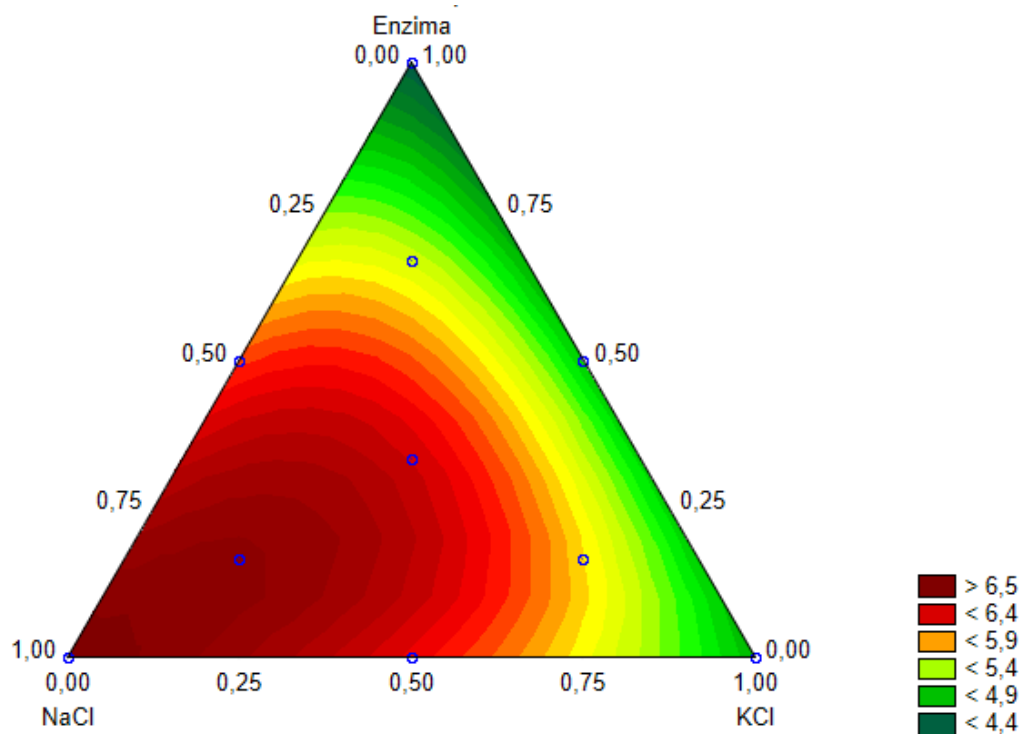
Tabela 6 - Modelo ajustado aos valores t calculado (t) e nota hedônica média (NH) em função dos teores de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl) e preparado enzimático (PE), coeficiente de determinação (R²)

Equação	Modelo de regressão	R²
LAC	$t = 0,477 \text{ NaCl} + 8,158 \text{ KCl} + 12,53 \text{ PE} - 2,55 \text{ NaCl} * \text{KCl} - 9,769 \text{ NaCl} * \text{PE} - 1,829 \text{ KCl} * \text{PE} - 36,29 \text{ NaCl} * \text{KCl} * \text{PE}$	0,9524
LRH	$\text{NH} = 6,99 \text{ NaCl} + 4,828 \text{ KCl} + 4,309 \text{ PE} + 1,439 \text{ NaCl} * \text{KCl} + 1,64 \text{ NaCl} * \text{PE} + 1,357 \text{ KCl} * \text{PE} + 14,283 \text{ NaCl} * \text{KCl} * \text{PE}$	0,9862

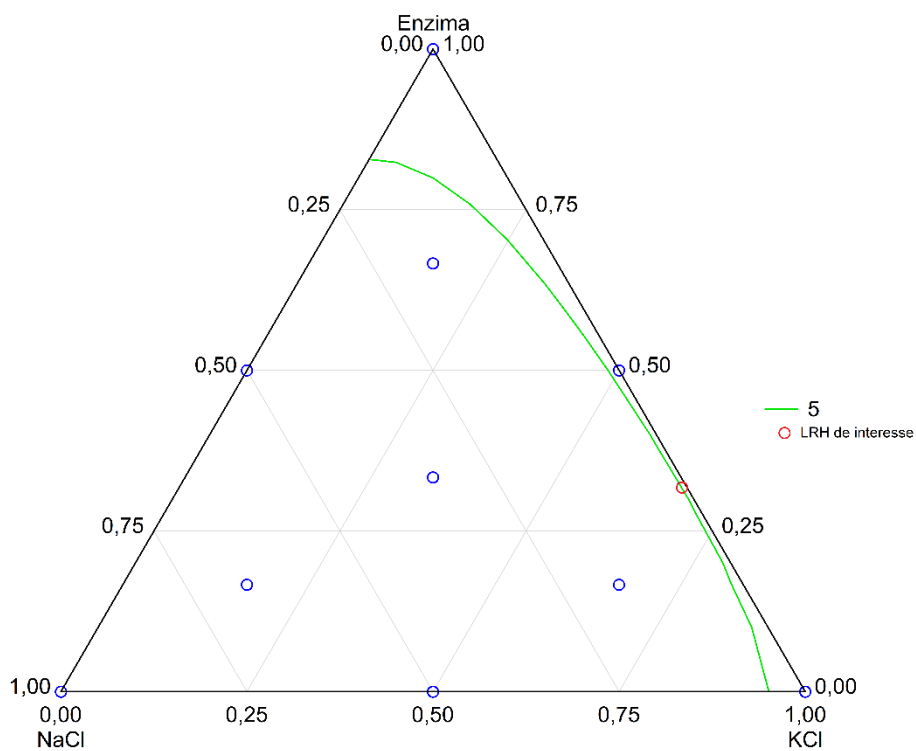
Analisando a Figura 3a, percebe-se que, assim como no primeiro experimento, os valores de t mais próximos de zero estão localizados na área com maiores concentrações de cloreto de sódio, demonstrando a área de menor diferença entre a aceitação sensorial das amostras controle e estímulo. Os maiores valores de t estão localizados na área de menores concentrações de cloreto de sódio e maiores teores de preparado enzimático (coloração vermelha), representando a área com maior diferença entre a aceitação sensorial das amostras controle e estímulo.

A curva na cor verde da Figura 3b está representando a equação do LAC (Tabela 6), demonstrando as diferentes combinações dos três componentes que resultam no início do comprometimento da aceitação sensorial do biscoito. O LAC de interesse (LAC_i) foi calculado da mesma forma que no primeiro experimento, encontrando-se a mistura com 1,086% de cloreto de sódio, 0,358% de cloreto de potássio e 0,356% de preparado enzimático. Deste modo, ao adicionar 0,358% de cloreto de potássio e 0,356% de preparado enzimático, somente ao reduzir a concentração de cloreto de sódio a partir de 1,086% (redução de 40% no teor de cloreto de sódio) começa a ocorrer comprometimento da aceitação sensorial do biscoito.

O gráfico de superfície de resposta da nota hedônica média das amostras estímulo em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio das amostras estímulo e preparado enzimático está apresentado na Figura 4. Na Figura 4a, as maiores notas hedônicas são observadas nos tons mais escuros de vermelho, sendo a área com maiores teores de NaCl e baixas concentrações de KCl e preparado enzimático. As menores notas hedônicas estão localizadas na área de coloração verde, área referente às combinações com menores teores de NaCl e altas concentrações de KCl e preparado enzimático.



(a)



(b)

Figura 4 - Superfície de resposta da nota hedônica média (NH) em função dos teores de cloreto de sódio, cloreto de potássio e preparado enzimático das amostras estímulo (a). Delimitação da equação do LRH (b).

A curva verde da Figura 4b representa a equação do LRH, demonstrando as diferentes combinações dos três componentes que resultam no início da rejeição sensorial do biscoito. A área de rejeição sensorial é referente às misturas com menores concentrações de cloreto de sódio. O limiar de rejeição sensorial de interesse (LRH_i) foi de 0,012% de cloreto de sódio, 1,215% de cloreto de potássio e 0,573% de preparado enzimático. Esse resultado demonstra que a rejeição sensorial só inicia com uma redução de 99,34% no teor de cloreto de sódio.

4.0 DISCUSSÃO

Ao determinar os limiares hedônicos com a substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio e extrato de levedura, o LAC_i encontrado foi de 0,651% de NaCl, 1,149% de KCl, ou seja, essa foi a combinação dos componentes que possuiu menor concentração de cloreto de sódio em que se iniciou o comprometimento da aceitação sensorial do biscoito tipo salgado, referente a uma redução de 64,03% no teor de cloreto de sódio. Já no segundo experimento, utilizando o cloreto de potássio e preparado enzimático como substitutos do cloreto de sódio, o LAC_i foi de 1,086% de NaCl, 0,358% de KCl e 0,356% de preparado enzimático, referente a uma redução de 40,00% no teor de cloreto de sódio para que iniciasse o comprometimento da aceitação sensorial.

Ao determinar o limiar de rejeição hedônico de interesse (LRH_i) com a substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio e extrato de levedura, verificou-se que foi possível reduzir 100% o teor de cloreto de sódio (partindo da concentração de 1,81% de cloreto de sódio) sem ocorrer rejeição sensorial do produto, demonstrando ser uma alternativa viável a utilização do cloreto de potássio e do extrato de levedura como substitutos do cloreto de sódio. Nesses casos, foram encontradas duas opções de limiares de interesse a serem adotadas, o LRH_{i1} com menor teor de extrato de levedura (1,783% de cloreto de potássio e 0,017% de extrato de levedura) ou o LRH_{i2} com menor teor de cloreto de potássio (0,693% de cloreto de potássio e 1,107% de extrato de levedura). A indústria terá a opção de escolher qual limiar adotar de acordo com seu interesse, optando, por exemplo, pelo LRH_i com menor teor do ingrediente mais dispendioso.

No segundo estudo, o LRH_i encontrado foi de 0,012% de cloreto de sódio, 1,215 % de cloreto de potássio e 0,573% de preparado enzimático. Este resultado demonstra que utilizando o cloreto de potássio e o preparado enzimático, a rejeição sensorial só inicia com uma redução de 99,34% no teor de cloreto de sódio.

Resultados como estes demonstram que o cloreto de potássio pode ser utilizado em substituição à boa parte da concentração do cloreto de sódio de biscoitos salgados. De acordo com Noort et al. (2010), o cloreto de potássio está entre os principais sais inorgânicos utilizados para a substituição de cloreto de sódio. Quando utilizado como substituto, apresenta características sensoriais semelhantes às do cloreto de sódio (Vialta & Rego, 2014). Além disso, o potássio é um nutriente necessário para a manutenção do volume total de fluidos corporais, do equilíbrio de ácidos e eletrólitos e da função celular normal (WHO, 2016).

No entanto, a substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio não pode ser total (100%), porque a utilização de cloreto de potássio pode ocasionar alterações sensoriais indesejáveis. Ao analisar os comentários das fichas de avaliação das amostras que continha 1,80% de cloreto de potássio, sem cloreto de sódio e sem o terceiro componente (extrato de levedura ou preparado enzimático), observou-se que os consumidores atribuíram termos como “amostra com gosto metálico”, “meio amargo”, “gosto amargo”, “gosto forte”, “deixou um gosto residual na boca”, “gosto final estranho e salgado”, “sem sal e meio amargo”, “desagradável”.

Da mesma forma, o extrato de levedura deve ser utilizado em concentrações reduzidas. Ao avaliar as fichas de avaliação das amostras com 1,80% de extrato de levedura (sem adição de cloreto de sódio e de cloreto de potássio), foram encontrados comentários como: “no fim tem um gosto ruim”, “sem sal e enjoativo”, “gosto estranho”, “gosto intenso de trigo”, “no final tem gosto de farinha”, “gosto ruim no final”, “sem sal e desagradável”. Como o extrato de levedura é um intensificador de sabor, as amostras que não continham cloreto de sódio, acabaram apresentando o gosto da farinha evidenciado. Por outro lado, as amostras com 0,30% de extrato de levedura que continham cloreto de sódio, obtiveram comentários diferentes, como: “sabor agradável”, “sabor menos intenso, porém mais crocante”, “gostei muito da textura”, “textura boa”, “adorei a crocância”. Esses comentários e os resultados dos testes de aceitação sugerem que altas concentrações de extrato de levedura podem acabar descaracterizando o produto, e concentrações menores podem auxiliar na redução de cloreto de sódio e agradar o consumidor.

Os intensificadores ou potencializadores de sabor são substâncias que ajudam a modificar ou elevar a intensidade do sabor e, ou, aroma percebido dos alimentos, podendo equilibrar o gosto salgado dos produtos com teor de sódio reduzido, ativando os receptores gustativos na boca e na garganta (Noort et al., 2010). Além disso, os comentários dos

consumidores no presente estudo sugerem que o extrato de levedura também pode atuar melhorando as características de textura do biscoito.

O extrato de levedura é produzido a partir de células de levedura, composto de aminoácidos, peptídeos, nucleotídeos e outros componentes solúveis das células de levedura (Chae, Joo & In, 2001). O extrato de levedura é um ingrediente natural utilizado para melhorar o sabor dos alimentos (Liu et al., 2015), sendo utilizado como agente aromatizante em sopas, molhos, ensopados, salgadinhos e conservas (Chae, Joo & In, 2001) e como amplificador do gosto salgado do NaCl em alimentos (Bolhuis et al. 2011).

Spina et al. (2015) investigaram o efeito da redução do cloreto de sódio de 2% para 1% (50% de redução) e adição parcial de diferentes níveis de cloreto de potássio (0,5; 0,3; 0,2%) e extrato de levedura (0,5; 0,3; 0,2%) nos parâmetros de qualidade (caracterização química e física da crosta e do miolo do pão), na vida de prateleira e nos atributos sensoriais de pão. Os pães com teor reduzido em sódio em 50% e com adição de 0,5% de extrato de levedura (sem adição cloreto de potássio) mantiveram as características tecnológicas (volume específico, porosidade do miolo, espessura da crosta, firmeza do pão) similares às da amostra controle (2% de NaCl) por 120 dias. No entanto, verificou-se que, independente do teor adicionado de cloreto de potássio e de extrato de levedura, a redução de 50% no teor de cloreto de sódio resultou em menor intensidade de gosto salgado percebido. Não foi investigado se essa redução resultou em alteração da aceitação sensorial do produto.

Bolhuis et al. (2011) investigaram a redução gradual de cloreto de sódio em pães. O experimento foi dividido em três grupos de consumidores (grupo controle, grupo reduzido e grupo compensado), onde o grupo controle recebia apenas amostras controle (1,80% de cloreto de sódio), o grupo reduzido recebia o pão com a redução de cloreto de sódio (1,25%, 0,87% e 0,60%) e o grupo com compensação de sabor receberam os pães com teor de cloreto de sódio reduzido (1,25%, 0,87% e 0,60%) e adicionados de KCl (0,55%, 0,87% e 0,60%) e extrato de levedura (0,3% fixo), por 4 semanas. Ao longo das quatro semanas foi realizada a avaliação do consumo dos pães e, no final, avaliou-se a intensidade de gosto salgado e a agradabilidade, onde todos os participantes avaliaram todos os tipos de pães (controle, reduzido em cloreto de sódio, e reduzido em cloreto de sódio com adição de KCl e extrato de levedura). Para o grupo controle, a redução de 31% no teor de cloreto de sódio resultou em menor salinidade percebida no pão, no entanto, a agradabilidade ao consumir o pão não diferiu. As reduções de 52% e 67% no teor de cloreto de sódio resultaram numa redução ainda maior na intensidade do gosto salgado percebido e na diminuição da agradabilidade pelos consumidores. No geral, a adição de cloreto

de potássio e de extrato de levedura aumentou a intensidade de gosto salgado percebido e a agradabilidade pelo produto, quando comparado com o pão apenas reduzido em cloreto de sódio. Quando foi realizada a redução de 67% no teor de cloreto de sódio (sem adição de outros ingredientes) o consumo de pão diminuiu. No entanto, ao adicionar cloreto de potássio e extrato de levedura, foi possível realizar a redução máxima (em estudo) no teor de cloreto de sódio (67%) sem afetar o consumo do pão.

Os resultados obtidos na presente pesquisa, assim como por Spina et al. (2015) e Bolhuis et al. (2011) demonstram que é viável a utilização de cloreto de potássio e extrato de levedura em substituição ao cloreto de sódio. No entanto, diferentemente do presente estudo, em nenhum dos estudos citados foram determinados os limites de redução de cloreto de sódio e de adição de cloreto de potássio e de extrato de levedura em que começa a ocorrer redução da aceitação e início da rejeição sensorial dos produtos.

Nos produtos panificados, o cloreto de sódio contribui com várias funções tecnológicas e sensoriais (sabor, textura, aparência). Dentre as funções tecnológicas, está o auxílio no desenvolvimento e fortalecimento das estruturas do glúten, a estabilização da fermentação biológica e a redução da atividade de água (Cauvain, 2019). Uma alternativa para minimizar as alterações nas características tecnológicas de produtos panificados ao reduzir o teor de cloreto de sódio da formulação é adicionando transglutaminase. A enzima transglutaminase (composta no preparado enzimático) é amplamente utilizada em vários processos de fabricação de alimentos, como na fabricação de queijos e outros produtos lácteos, no processamento de carnes, na produção de películas comestíveis e na fabricação de produtos de panificação. A transglutaminase é utilizada como melhorador de firmeza, viscosidade, elasticidade e capacidade de ligação à água dos produtos alimentares. A utilização de transglutaminase pode solucionar muitos problemas tecnológicos relacionados à eficiência de produção e textura de alimentos (Kieliszek & Misiewicz, 2014).

Assim, no segundo experimento, adicionou-se o preparado enzimático, com a enzima transglutaminase (0,1%), nas formulações de biscoito, objetivando a melhoria da textura do biscoito salgado e, conseqüentemente, minimizar o impacto da redução de cloreto de sódio na aceitação do produto.

O LAC_i (1,086% de NaCl, 0,358% de KCl e 0,356% de preparado enzimático) demonstrou que, com a adição de 0,356% de preparado enzimático e de 0,358% de KCl, foi possível reduzir 40,00% no teor de cloreto de sódio para iniciar o comprometimento da aceitação sensorial do biscoito. O preparado enzimático pode ter contribuído para a melhoria

da textura do produto e, conseqüentemente, minimizado os impactos da redução de cloreto de sódio na aceitação do produto.

Nas fichas de avaliação das amostras com 100% de preparado enzimático (sem adição de cloreto de sódio e cloreto de potássio), os consumidores atribuíram comentários como “textura está ótima, mas o gosto não me agradou”, “crocante, mas enjoou”, “crocante, mas extremamente sem sal”, “faltou gosto”. Esses comentários sugerem que o preparado enzimático pode ter melhorado a textura dos biscoitos, no entanto, pode não ter contribuído para minimizar a redução da intensidade de gosto salgado percebido ao reduzir o teor de cloreto de sódio.

Basman, Koksel & Ng (2002) avaliaram os efeitos da utilização de diferentes concentrações de transglutaminase (0, 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 1,5% m/m) nas propriedades reológicas e nas características de qualidade de pão, utilizando dois tipos de farinha de trigo (trigo de inverno vermelho suave e trigo de primavera vermelho duro). Os autores concluíram que a adição de 0,5% de transglutaminase melhorou a qualidade do pão (características da crosta e miolo) e afirmaram que a adição da enzima, mesmo em concentrações muito baixas, pode melhorar a qualidade da massa em panificados.

A enzima transglutaminase também tem sido utilizada para melhorar as propriedades de textura de produtos cárneos com reduzido teor de cloreto de sódio. (Atilgan & Kilic, 2017). Esses dados reforçam a viabilidade da utilização dessa enzima em produtos com teor de cloreto de sódio reduzido, com a finalidade de manter as características tecnológicas que podem ser prejudicadas devido à redução de sódio.

Analisando os valores dos LAC de interesse, verificou-se que é possível realizar a redução máxima de 64,03% no teor de cloreto de sódio, no experimento que se adicionou extrato de levedura, e de 40% no teor de cloreto de sódio, quando adicionado preparado enzimático, para começar a ocorrer comprometimento da aceitação sensorial do biscoito. Essas reduções no teor de cloreto de sódio foram inferiores às encontradas quando substituído apenas cloreto de sódio por cloreto de potássio (Artigo 1). No Artigo 1, verificou-se que é possível uma redução de 78,07% no teor de cloreto de sódio (de 1,81% para 0,397%), quando se adicionou 0,896% de cloreto de potássio, para que ocorresse o comprometimento da aceitação sensorial dos biscoitos.

Analisando os valores dos LRH de interesse, verificou-se que é possível reduzir 100% de cloreto de sódio, quando adicionado extrato de levedura, e 98,78%, quando adicionado o preparado enzimático, para começar a ocorrer rejeição sensorial do biscoito. No Artigo 1,

verificou-se que, substituindo cloreto de sódio por 1,80% de cloreto de potássio, também foi possível reduzir 100% do teor de cloreto de sódio sem ocorrer rejeição sensorial do biscoito.

Portanto, os resultados sugerem que a utilização dos terceiros componentes (extrato de levedura e preparado enzimático) resultaram em menor redução do teor de cloreto de sódio, quando comparado com a substituição de cloreto de sódio apenas por cloreto de potássio. As justificativas para esses resultados podem ser as altas concentrações do terceiro componente utilizadas, acima do recomendado pelos fornecedores, e as diferenças nos delineamentos experimentais utilizados nos dois estudos. No estudo do Artigo 1, os limiares hedônicos foram determinados utilizando o delineamento composto central rotacional (DCCR) dentro da Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH). No presente estudo, foi utilizado o delineamento de misturas (DM) dentro da MLH. Esses dois delineamentos possuem vantagens e desvantagens.

Analisando apenas sob o aspecto de utilização na MLH, o DM possui a desvantagem de limitar as possibilidades de variação das intensidades dos estímulos das amostras e possui a vantagem de resultar em um menor número de tratamentos (ensaios), quando comparado ao DCCR.

No delineamento de misturas, a soma das proporções dos componentes de mistura (intensidade dos estímulos) tem que ser sempre 100%, o que faz com que os limites inferior e superior das intensidades de um estímulo, influencie no limite dos outros componentes em estudo, o que pode ser um problema em algumas aplicações. Por exemplo, a concentração de extrato de levedura para produção de biscoitos recomendada pelo fornecedor do ingrediente é de 0,65% a 0,70% em função da quantidade de farinha. No entanto, no presente estudo, o limite superior do delineamento de mistura (1,80%) era uma concentração acima das recomendadas para extrato de levedura, o que pode ter resultado em menor aceitação das amostras com alto teor desse componente, como foi demonstrado nas Figuras 1, 2, 3 e 4. Mas, caso utilizado o limite recomendado pelo fornecedor, o limite inferior de pelo menos um dos componentes deveria ser alterado, para que a soma dos três componentes fosse 1,80%. Isso limitaria as opções de combinações dos três componentes e não atenderia o interesse principal do estudo, que é substituir ao máximo o teor de cloreto de sódio. Na Figura 1a a área dos maiores valores de t ($t > 8$) (maior diferença entre a aceitação sensorial das amostras controle e estímulo), representados pela cor vermelho escuro, está localizada nas maiores concentrações de extrato de levedura. Na Figura 2a é possível verificar que nesta mesma área ocorre rejeição sensorial.

De forma semelhante, as amostras com concentrações de preparado enzimático próximas ao limite superior (1,80%) apresentaram maiores valores de *t* (Figura 3a) e foram rejeitadas sensorialmente (Figura 4a).

Outra forma de solucionar tal problema é reduzir o limite superior total utilizado no delineamento. No entanto, nem sempre isso é possível. No presente estudo, por exemplo, como partiu-se de uma amostra controle com 1,81% de cloreto de sódio, a redução do limite superior resultaria em amostras estímulo com menor concentração, também, de cloreto de sódio, o que aumentaria o risco de todas as amostras estímulo diferirem estatisticamente da amostra controle quanto à aceitação, o que impossibilitaria a determinação do limiar em que a aceitação passa a ser comprometida (LAC).

Essa limitação não ocorre quando utilizado o delineamento composto central rotacional (DCCR), no qual o valor de uma variável independente não influencia os valores das demais, portanto, é possível fixar diferentes limites para cada variável independente em estudo (no caso, concentração dos ingredientes). Essa característica permitiria, por exemplo, atender as faixas de concentrações recomendadas para o extrato de levedura e para o preparado enzimático.

O DM é particularmente utilizado quando se deseja lidar com diferentes combinações de componentes que se misturam (Wang et al., 2013). Já no DCCR, não existe essa limitação. Por exemplo, se pretende-se determinar os limiares hedônicos variando temperatura, tempo e pH do alimento. Essa é uma grande vantagem e amplia o leque de aplicações na determinação dos limiares hedônicos variando três estímulos.

No entanto, o DCCR apresenta a desvantagem de resultar em maior número de tratamentos a serem estudados. No presente estudo, para três variáveis independentes, o DM resultou em 10 tratamentos. No DCCR, um experimento com três variáveis independentes e um ponto central, resultariam em 15 tratamentos. Essa pequena diferença no número de tratamentos tem um grande impacto na MLH. Na MLH, cada tratamento do delineamento (ensaio) representa uma amostra estímulo em estudo e cada amostra estímulo é analisada juntamente com uma amostra controle, nas sessões de testes de aceitação. Dessa forma, no presente estudo, utilizando o DM, foram analisadas 20 amostras nas sessões de testes de aceitação (10 amostras estímulo e a amostra controle, analisada 10 vezes). Se fosse utilizado o DCCR, seriam 30 amostras a serem analisadas por consumidor. Esse maior número de amostras a serem analisadas pode resultar em fadiga e adaptação sensorial nos consumidores. A fadiga pode levar à desmotivação na participação da pesquisa e, juntamente com a adaptação sensorial, podem reduzir a percepção dos estímulos, comprometendo a avaliação das amostras pelos

consumidores e, conseqüentemente, alterando os resultados obtidos na MLH. Por outro lado, o menor número de amostras do DM resulta em menor tempo para execução do experimento, menores custos com o experimento e menor probabilidade de ocorrência de fadiga e adaptação sensorial, acarretando em resultados mais confiáveis.

Outra desvantagem do DCCR é o fato de que o nível mínimo (-alfa) e o nível máximo (+alfa) de um componente são combinadas com as concentrações médias dos outros componentes. Dessa forma, tratamentos contendo apenas 100% de um dos componentes não são analisados experimentalmente, sendo necessário realizar extrapolações por meio do modelo ajustado para se ter estimativas de resultados para esses tratamentos. No delineamento de misturas, os tratamentos com 100% de um componente são analisados experimentalmente.

Analisando as vantagens e desvantagens dos dois delineamentos, acredita-se que, para o presente estudo, o delineamento de mistura foi o mais adequado. No entanto, são necessários novos estudos para investigar a utilização desses dois delineamentos na MLH, com diferentes aplicações.

A metodologia dos limiares hedônicos variando três estímulos, simultaneamente, permitirá novas possibilidades de investigação visando aumentar ainda mais a redução do teor de cloreto de sódio dos alimentos sem afetar a aceitação sensorial e sem resultar em rejeição do alimento. Os valores dos limiares hedônicos de interesse calculados no presente estudo são de grande interesse da indústria de biscoitos e tendem a contribuir para a oferta de produtos com reduzido teor de cloreto de sódio e boa aceitação sensorial.

Dessa forma, a redução de sódio dos alimentos processados pode auxiliar na redução do risco de doenças, visto que o consumo excessivo de sódio pode acarretar em aumento da pressão arterial, resultando em maiores riscos de doenças cardiovasculares, como acidente vascular cerebral e ataque cardíaco (Aburto et al. 2013; Mozaffarian et al. 2016 e WHO, 2014). Além disso, os resultados do presente estudo podem favorecer o consumo de potássio, o que pode trazer benefícios adicionais à saúde. De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde, a maioria das pessoas consome muito sódio e pouco potássio, não atingindo a recomendação mínima de 3510 mg de potássio por dia, para indivíduos adultos (WHO, 2013).

Pela primeira vez, foram determinados os limiares hedônicos variando a intensidade de três estímulos simultaneamente. A metodologia dos limiares hedônicos variando três estímulos não se limita apenas na redução de cloreto de sódio de alimentos. Em várias outras situações na indústria e na ciência existe a necessidade de se investigar a partir de quais pontos a variação simultânea da concentração de três componentes dos alimentos resulta no início do

comprometimento da aceitação e no início da rejeição sensorial pelo consumidor. Por exemplo, a MLH_{3e} pode ser aplicada para substituição de sacarose por edulcorantes, para substituir gordura por ingredientes com características similares e menos calóricos, para substituir corantes artificiais por combinações de corantes naturais e para adicionar sulfato ferroso juntamente com ingredientes (por exemplo, saborizantes) que possam mascarar sua sensação metálica no alimento. Portanto, a determinação de limiares hedônicos variando a intensidade de três estímulos é uma inovação na determinação de limiares sensoriais e aumenta suas possibilidades de aplicações.

5.0 CONCLUSÕES

Verificou-se que, adicionando 1,149 % de cloreto de potássio, somente ao reduzir a concentração de cloreto de sódio de 1,81% para 0,651% começa a ocorrer comprometimento da aceitação sensorial de biscoito tipo salgado, representando uma redução de 64,03% no teor de cloreto de sódio.

Adicionando 1,783% de cloreto de potássio e 0,017% de extrato de levedura ou 0,693% de cloreto de potássio e 1,107% de extrato de levedura, é possível uma redução de 100% no teor de cloreto de sódio (partindo da concentração de 1,81% de cloreto de sódio), sem que ocorra a rejeição sensorial do produto.

Adicionando 0,358% de KCl e 0,356% de preparado enzimático, somente ocorre comprometimento da aceitação sensorial a partir de reduções de 40% no teor de cloreto de sódio (de 1,81% para 1,086%). Adicionando 1,215% de cloreto de potássio e 0,573% de preparado enzimático, é possível uma redução de 99,34% no teor de cloreto de sódio nas amostras (de 1,81% para 0,012% cloreto de sódio) para que inicie a rejeição sensorial.

Portanto, pode-se perceber que o extrato de levedura e o preparado enzimático com transglutaminase mesmo em pequenas concentrações, combinados com o cloreto de potássio, podem auxiliar na redução de cloreto de sódio de biscoito salgado.

Por meio do delineamento de mistura, utilizado juntamente com a Metodologia dos Limiares Hedônicos, foi possível determinar, pela primeira vez, limiares sensoriais variando a intensidade de três estímulos simultaneamente. Essa é uma grande contribuição para a ciência e para as indústrias de alimentos, uma vez que permite quantificar o quanto se pode alterar, simultaneamente, três parâmetros dos alimentos ou dos processos sem que ocorra comprometimento da aceitação e rejeição sensorial pelo consumidor.

6.0 REFERÊNCIAS

- Aburto, N. J., Ziolkovska, A., Hooper, L., Elliott, P., Cappuccio, F. P., & Meerpohl, J. J. (2013). Effect of lower sodium intake on health: systematic review and meta-analyses. *Bmj*, *346*, 1326. <https://doi.org/10.1136/bmj.f1326>.
- Atilgan, E., & Kilic, B. (2017). Effects of microbial transglutaminase, fibrinex and alginate on physicochemical properties of cooked ground meat with reduced salt level. *Journal of food science and technology*, *54*, 303-312. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2463-x>.
- Barros Neto, B. (2010). *Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*. (4 ed.). Porto Alegre: Bookman, 411p. (capítulo 7).
- Basman, A., Köksel, H. & Ng, P.K. (2002). Effects of increasing levels of transglutaminase on the rheological properties and bread quality characteristics of two wheat flours. *European Food Research and Technologist*, *215*, 419–424. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0573-3>.
- Bolhuis, D. P., Temme, E. H., Koeman, F. T., Noort, M. W., Kremer, S., & Janssen, A. M. (2011). A salt reduction of 50% in bread does not decrease bread consumption or increase sodium intake by the choice of sandwich fillings. *The Journal of nutrition*, *141*, 2249-2255. <https://doi-org/10.3945/jn.111.141366>.
- Cauvain, S. P. (2019). Reduced salt in bread and other baked products. In: Beeren, C., Groves, K., & Titoria, P. M. *Reducing Salt in Foods : (Second edition) Practical strategies* (p.213-229). Cambridge: Woodhead Publishin. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100890-4.00009-3>.
- Cornell, J. A. (2011). *Experiments with Mixtures: Designs, Models and the Analysis of Mixtures Data*, (3 ed.). New York:John Wiley. 643 p.
- Chae, H. J., Joo, H., & In, M. J. (2001). Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. *Bioresource Technology*, *76*, 253-258. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00102-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00102-4)
- Carvalho, R. J., Souza Pedrosa, G. T., Chaves, M. G., de Sousa, J. M. B., de Souza, E. L., Pagán, R., & Magnani, M. (2019). Determination of sensory thresholds of *Mentha piperita* L. essential oil in selected tropical fruit juices and efficacy of sensory accepted concentrations combined with mild heat to inactivate foodborne pathogens. *International Journal of Food Science & Technology*, *54*, 2309-2318. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14147>
- Davidson, I. (2018). *Biscuit, Cookie and Cracker Productions*. (1 ed.), London: Academic Press. Elsevier Inc., 244 p. (capítulo 15).
- Dutcosky, S. D., Grossmann, M. V. E., Silva, R. S. S., & Welsch, A. K. (2006). Combined sensory optimization of a prebiotic cereal product using multicomponent mixture experiments. *Food chemistry*, *98*, 630-638. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.029>
- Khetra, Y., Kanawjia, S. K., & Puri, R. (2016). Selection and optimization of salt replacer, flavour enhancer and bitter blocker for manufacturing low sodium Cheddar cheese using response surface methodology. *Food Science and Technology*, *72*, 99-106. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.035>

- Kieliszek, M., & Misiewicz, A. (2014). Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. *Folia Microbiol* 59, 241–250. <https://doi.org/10.1007/s12223-013-0287-x>
- Lima Filho, T., Minim, V. P. R., Silva, R. C. S. N., Della Lucia, S. M. & Minim, L. A. (2015). Methodology for determination of two new sensory thresholds: Compromised Acceptance Threshold and Rejection Threshold. *Food Research International*, 76, 561-566. <https://doi-org/10.1016/j.foodres.2015.07.037>.
- Lima Filho, T., Della Lucia, S. M., Minim, L. A; Silva, R. C. S. N., Silva, A. N. & Minim, V. P. R. (2017). Validation of the hedonic threshold methodology in determining the compromised acceptance threshold. *Journal of Sensory Studies*, 32, 1-12. <https://doi-org/10.1111/joss.12255>.
- Lima Filho, T., Della Lucia, S. M., Minim, L. A., Silva, R. C. S. N. & Minim, V. P. R. (2018a) Validation of the hedonic threshold methodology in determining the hedonic rejection threshold. *Journal of Sensory Studies*, 33, 1-13. <https://doi-org/10.1111/joss.12313>.
- Lima Filho, T. & Minim, V. P. R. (2018b). Limiares Afetivos. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). *Análise sensorial: estudos com consumidores*. (p. 325-343). Viçosa: Editora UFV.
- Lima Filho, T., Della Lucia, S. M., Minim, L. A., Gamba, M. M., Lima, R. M., & Minim, V. P. R. (2019). Directional hedonic thresholds for sodium concentration in hamburger. *Food Quality and Preference*, 78, 1-7. <https://doi-org.ez43.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.foodqual.2019.103722>.
- Lima Filho, T., de Souza, L. B. A., Della Lucia, S. M., Minim, L. A. & Minim, V. P. R. (2020). The Hedonic Thresholds Methodology Varying Two Stimuli: Extending the range of sensory threshold applications. *Food Quality and Preference*, 86, 1- 8. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.104003>.
- Liu, J., Song, H., Liu, Y., Li, P., Yao, J. & Xiong, J. (2015). Discovery of kokumi peptide from yeast extract by LC-Q-TOF-MS/MS and sensomics approach. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 3183-3194. <https://doi-org.ez43.periodicos.capes.gov.br/10.1002/jsfa.7058>.
- Meilgaard, M. C., Carr, B. T., & Civille, G. V. (2015). *Sensory evaluation techniques*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 600 p.
- Mozaffarian, D., Benjamin, E. J., GO, A. S., Arnett, D. K., Blaha, M. J., Cushman, M. & Howard, V. J. (2016). Heart disease and stroke statistics-2016 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 133, 447-454. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000366>.
- Noort, M.W.J., Bult, J.H.F., Stieger, M. & Hamer, R.J. (2010). Saltiness enhancement in bread by inhomogeneous spatial distribution of sodium chloride. *Journal of Cereal Science*, 52, 378-386. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.06.018>.
- Pereira, H. C., de Souza, V. R., Azevedo, N. C., Rodrigues, D. M., Nunes, C. A., & Pinheiro, A. C. M. (2015). Optimization of low sodium salts mix for shoestring potatoes. *Journal of Food Science*, 80, S1399-S1403. Doi: <https://doi-org/10.1111/1750-3841.12884>.

Prescott, J., Norris, L., Kunst, M., & Kim, S. (2005). Estimating a “consumer rejection threshold” for cork taint in white wine. *Food Quality and Preference*, 16, 345-349. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2004.05.010>.

Simiqueli, A. A., Lima Filho, T., Minim, L. A., de Oliveira, E. B., Torres, I. V., Vidigal, M. C. T. R., & Minim, V. P. R. (2019). The W/O/W emulsion containing FeSO₄ in the different phases alters the hedonic thresholds in milk-based dessert. *LWT*, 99, 98-104. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.020>.

Spina, A., Brighina, S., Muccilli, S., Mazzaglia, A., Rapisarda, P., Fallico, B., & Arena, E. (2015). Partial Replacement of NaCl in Bread from Durum Wheat (*Triticum turgidum* L subsp. durum Desf.) with KCl and Yeast Extract: Evaluation of Quality Parameters During Long Storage. *Food and Bioprocess Technology*, 8, 1089-1101. <https://doi-org/10.1007/s11947-015-1476-1>.

Vialta, A., Rego, R. A. (2014). Brasil ingredients trends 2020. (1Ed.) Campinas: Instituto de tecnologia de alimentos-ITAL. <http://www.brasilingredientstrends.com.br/files/assets/basic-html/page-1.html#>. Acesso: 07/08/20

Wang, X., Yang, G., Li, F., Feng, Y., Ren, G., & Han, X. (2013). Evaluation of two statistical methods for optimizing the feeding composition in anaerobic co-digestion: Mixture design and central composite design. *Bioresource technology*, 131, 172-178. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.174>.

World Health Organization-WHO (2013). WHO issues new guidance on dietary salt and potassium. https://www.who.int/mediacentre/news/notes/2013/salt_potassium_20130131/en/ Acesso: 15/07/20.

World Health Organization-WHO (2014). WHO warns against the dangers of excessive salt consumption. <https://www.who.int/westernpacific/news/detail/25-09-2014-who-warns-against-the-dangers-of-excessive-salt-consumption>>. Acesso em: 15/04/20.

World Health Organization-WHO (2016). Salt reduction. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>. Acesso em: 15/04/20.

World Health Organization-WHO (2019). World Hypertension Day. <https://www.who.int/news-room/events/world-hypertension-day-2019> acesso:0708/2020.

5.0 CONCLUSÃO GERAL

Ao reduzir apenas o cloreto de sódio, sem adição de outro componente, verificou-se que, a partir da redução de 59,67% no teor de cloreto de sódio (de 1,81% para 0,73% m/m), ocorre comprometimento da aceitação sensorial de biscoito tipo salgado; e a partir da redução de 92,82% no teor de cloreto de sódio (de 1,81% para 0,13% m/m), ocorre rejeição sensorial do produto.

Adicionando 0,896% de cloreto de potássio, foi possível reduzir 78,07% no teor de cloreto de sódio (de 1,81% para 0,397%) sem comprometer a aceitação sensorial do biscoito. Além disso, adicionando cloreto de potássio, não ocorreu rejeição sensorial do biscoito, mesmo reduzindo 100% do teor de cloreto de sódio. A adição do cloreto de potássio permitiu uma maior redução de cloreto de sódio, quando comparado aos outros experimentos (com apenas redução de cloreto de sódio, sem adição de outros componentes, com adição de cloreto de potássio e extrato de levedura e com adição de cloreto de potássio e preparado enzimático).

Por meio dos delineamentos utilizados (Delineamento Composto Central Rotacional e Delineamento de Misturas), na Metodologia dos Limiares Hedônicos, foi possível variar as intensidades de dois e três estímulos, simultaneamente, e realizar a redução de cloreto de sódio em biscoito salgado.

Pela primeira vez, determinou-se limiares sensoriais variando a intensidade de três estímulos simultaneamente, permitindo quantificar o quanto se pode alterar, simultaneamente, três parâmetros dos alimentos sem que ocorra comprometimento da aceitação e rejeição sensorial pelo consumidor. Além disso, pela primeira vez, determinou-se os limiares hedônicos com a substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio. Esses resultados ampliam ainda mais as possibilidades de aplicações dos limiares sensoriais, demonstrando ser uma ferramenta útil para as indústrias reformulação de alimentos.

Os valores dos limiares hedônicos obtidos podem auxiliar a indústria na redução de cloreto de sódio, com a adição de substitutos, em seus produtos, possibilitando atender às metas de redução de sódio acordadas com o Ministério da Saúde.

A Metodologia dos limiares hedônicos variando três estímulos pode auxiliar na solução de vários problemas enfrentados pela indústria. Por exemplo, quando se

deseja alterar as condições de processos, tais como, parâmetros de tratamento térmico para aumentar a vida de prateleira de produtos, alterando a temperatura do tratamento, tempo do tratamento e tempo de armazenamento. Para reformulação de produtos, por exemplo, para reduzir ingredientes, como gordura e sacarose, e na adição de ingredientes saudáveis com a finalidade de enriquecimento dos alimentos.