



DESENVOLVIMENTO DE EMULSÕES *PICKERING* PARA APLICAÇÃO ALIMENTAR

Larissa Camargo Ghirro

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do
Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar no âmbito da dupla diplomação
com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná.*

Orientada por:
Prof. Doutora Maria Filomena F. Barreiro
Doutora Arantzazu Santamaria-Echart
Prof. Doutor Bogdan Demczuk Junior

Bragança
2020

“In the middle of difficulty lies opportunity”
“No meio da dificuldade encontra-se a oportunidade”

~Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Essa dissertação de mestrado é resultado de muitas horas de trabalho, colaboração, estímulo e empenho de diversas pessoas. Por esse fato, gostaria de expressar toda a minha gratidão por aqueles que contribuíram para que esse sonho se tornasse uma realidade.

À minha orientadora, Prof. Doutora Maria Filomena F. Barreiro, por todo o conhecimento transmitido, pela confiança, disponibilidade, zelo e apoio durante todo o período do trabalho.

Aos meus coorientadores Doutora Arantzazu Santamaria-Echart e Prof. Doutor Bogdan Demczuk Junior por terem sido pilares essenciais para que essa dissertação fosse possível, pela total colaboração no solucionar de dúvidas e problemas, pelo incentivo e pela amizade.

A toda a equipa CIMO-IPB em especial Stephany Rezende, pela sua disponibilidade irrestrita, por toda sabedoria, empenho, encorajamento, pela importante amizade e por ter sido meu suporte em tantos momentos.

Aos meus amigos, em especial Barbara Sena, Bruno Mourad, Carlos Seiti, Felipe Macedo, Karolina Rodrigues, Leticia Cabrera, Pedro Franch e Tawane Milhan pelo incansável apoio, por todos os momentos compartilhados e por me proporcionarem tanto carinho, que foram fundamentais para me manter perseverante à conclusão desse trabalho.

A todos os professores e colaboradores da UTFPR-CM e do IPB por todos os ensinamentos, oportunidades e confiança ao longo do meu percurso acadêmico.

A todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a concretização dessa dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

Por último, dirijo um agradecimento especial a todos os meus familiares, essencialmente aos meus pais: Lucília J. C. Ghirro e Valdecir R. Ghirro, e ao meu irmão Saulo C. Ghirro pelo amor incondicional, incentivo, paciência, por não medirem esforços para me permitir estar aqui e por serem minha inspiração de todos os dias. A eles dedico este trabalho.

Este trabalho foi parcialmente financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) e FEDER no âmbito do programa PT2020 - apoio financeiro ao CIMO (UIDB/00690/2020).



SUMÁRIO

MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS	1
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1.1. EMULSÕES	4
1.1.1. Fenómenos de desestabilização de emulsões	6
1.2. EMULSÕES PICKERING	8
1.3. PARTÍCULAS PRODUZIDAS PELA TÉCNICA DE DISPERSÃO SÓLIDA (DS)	12
1.4. APLICAÇÕES POTENCIAIS DAS EMULSÕES PICKERING NA ÁREA ALIMENTAR	17
2. MATERIAIS E MÉTODOS	20
2.1. MATERIAIS	20
2.2. PRODUÇÃO DAS PARTÍCULAS POR DISPERSÃO SÓLIDA	20
2.3. CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS	21
2.3.1. Determinação da cor	21
2.3.2. Ângulo de contato.....	22
2.3.3. Determinação do tamanho de partícula	22
2.4. PRODUÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING	23
2.5. CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING	23
2.5.1. Tipo de emulsão.....	23
2.5.2. Microscopia ótica	24
2.5.3. Determinação do <i>creaming index</i>	24
2.5.4. Determinação do pH.....	24
2.5.5. Estabilidade oxidativa.....	25
2.5.6. Propriedades de textura	25
2.5.7. Análise nutricional.....	26
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
3.1. TESTES PRELIMINARES	28

3.2. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS COM POTENCIAL PARA ATUAR COMO ESTABILIZADORES <i>PICKERING</i>.....	35
3.2.1. Análise de cor	36
3.2.2. Ângulos de contato	37
3.2.3. Tamanho de partícula por DLS	37
3.3. PRODUÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS EMULSÕES <i>PICKERING</i>.....	41
3.3.1. Otimização da razão óleo/água.....	41
3.3.2. Otimização da concentração de partículas.....	46
3.3.3. Otimização da razão óleo-água utilizando 4% de partículas.....	47
3.3.4. Otimização dos sistemas baseados nas partículas KC1 e KC2	50
3.4. CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES <i>PICKERING</i> PRODUZIDAS	53
3.4.1. Estabilidade das emulsões <i>Pickering</i> ao longo do tempo.....	53
3.4.1.1. Microscopia ótica	53
3.4.1.2. <i>Creaming Index</i>	57
3.4.2. Cor	60
3.4.3. pH	61
3.5. TESTES PARA APLICAÇÃO ALIMENTAR.....	63
3.5.1. Estabilidade oxidativa.....	63
3.5.2. Propriedades de textura	64
3.5.3. Propriedades nutricionais	66
4. CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS.....	70
4.1. CONCLUSÃO.....	70
4.2. TRABALHOS FUTUROS.....	72
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação de emulsões óleo em água e água em óleo.	4
Figura 2. Representação de emulsões duplas.	5
Figura 3. Representação das possíveis desestabilizações em emulsões.	7
Figura 4. Formatos de surfactante e partículas estabilizadores de emulsões <i>Pickering</i> . .	9
Figura 5. Representação do tipo de emulsão formada em relação ao ângulo de contato trifásico.	9
Figura 6. Representação da coalescência de partículas.	11
Figura 7. Composição e propriedades das quatro gerações de dispersões sólidas.	14
Figura 8. Diagrama do equipamento e processo de secagem por spray-drying convencional.	16
Figura 9. Equipamento de spray-dryer utilizado para a produção das partículas.	21
Figura 10. Colorímetro.	22
Figura 11. Analisador de Textura.	26
Figura 12. Distribuição do tamanho de partículas em volume.	39
Figura 13. Distribuição do tamanho de partículas em número.	40
Figura 14. Análise de Rancimat das maioneses de referência e as emulsões <i>Pickering</i> produzidas.	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Partículas com potencial para uso como <i>Pickering</i>	12
Tabela 2. Formulações das partículas selecionadas para os testes preliminares.	28
Tabela 3. Resultados das emulsões produzidas com ϕ : 0,6 e 1,5% de partículas em relação ao total da emulsão.....	30
Tabela 4. Resultados das emulsões produzidas através da razão ϕ : 0,6 com 1,5% e 3,0% de partículas em relação a fase aquosa.	33
Tabela 5. Partículas produzidas por dispersão sólida.	35
Tabela 6. Valores médios para os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) das partículas produzidas.....	36
Tabela 7. Ângulos de contato das partículas sólidas produzidas.....	37
Tabela 8. Distribuição do tamanho de partículas em volume.....	39
Tabela 9. Distribuição do tamanho de partículas em número.	40
Tabela 10. Otimização da fase oleosa na estabilidade de emulsões <i>Pickering</i>	42
Tabela 11. Altura das fases superior e inferior das emulsões produzidas.	45
Tabela 12. Otimização da concentração de partículas na estabilidade de emulsões <i>Pickering</i>	47
Tabela 13. Otimização da fase oleosa associada a concentração de partículas de 4% em emulsões <i>Pickering</i>	48
Tabela 14. Otimização dos sistemas de KC1 e KC2 (ϕ 0,4) sob concentração de partículas.....	51
Tabela 15. Emulsões <i>Pickering</i> finais do estudo de otimização.....	52
Tabela 16. Imagens (aumento 200x) de microscopia ótica das emulsões <i>Pickering</i> produzidas com azeite neutro.	55
Tabela 17. Imagens (aumento 200x) de microscopia ótica das emulsões <i>Pickering</i> produzidas com azeite virgem.	56
Tabela 18. Imagens da estabilidade das emulsões <i>Pickering</i> preparadas com azeite neutro ao longo do tempo e os resultados do índice de estabilidade (CI%).	58
Tabela 19. Imagens da estabilidade das emulsões <i>Pickering</i> preparadas com azeite virgem ao longo do tempo e os resultados do índice de estabilidade (CI%).....	59
Tabela 20. Análise de cor das emulsões <i>Pickering</i> produzidas com azeite neutro.....	60
Tabela 21. Análise de cor das emulsões <i>Pickering</i> produzidas com azeite virgem.	60
Tabela 22. pH das emulsões <i>Pickering</i>	61

Tabela 23. pH maionese tradicional e light.	62
Tabela 24. Propriedades de textura das matrizes alimentares e emulsões <i>Pickering</i> - tempo 0 min.	65
Tabela 25. Propriedades de textura das matrizes alimentares e emulsões <i>Pickering</i> - tempo 10 min.	65
Tabela 26. Informações nutricionais das maioneses selecionadas como matrizes alimentares e das 3 emulsões otimizadas produzidas com azeite virgem.	67

LISTA DE ABREVIATURAS

A/O	Água-em-óleo
A/O/A	Água-em-óleo-em-água
C	Cobertura da superfície
CI	Creaming Index
D	Diâmetro
DLS	Difração a laser
DS	Dispersão sólida
D₁₀	Tamanho de partícula correspondente a 10% da amostra
D₅₀	Tamanho de partícula correspondente a 50% da amostra
D₉₀	Tamanho de partícula correspondente a 90% da amostra
HLB	Balanço hidrofílico-lipofílico
H_s	Altura da camada aquosa
H_t	Altura total
mp	Massa da partícula
O/A	Óleo-em-água
O/A/O	Óleo-em-água-em-óleo
PA	Polímero amorfo
PEG	Polietilenoglicol de elevado peso molecular
PIA	Polímero insolúvel em água
PS	Polímero surfactante

PVA	Alc3ool polivin3ilico
PVP	Polivinilpirrolidona
PD	Pol3mero dilat3vel
R	Raio
SF	Surfactante
TEM	Microscopia eletr3nica de transmiss3o
Tg	Temperatura de transi3o v3trea
TPA	An3lise de perfil de textura
Tween 80	Monooleato de polioxietileno sorbitano
VC	Ve3culo cristalino
Vd	Volume da fase dispersa
θ	3ngulo de contato trif3sico 3leo/3gua
a_p	3rea da part3cula
\mathfrak{V}_p	Volume da part3cula
ρ_p	Densidade da part3cula
γ_{po}	Tens3o interfacial part3cula-3leo
γ_{pw}	Tens3o interfacial part3cula-3gua
γ_{ow}	Tens3o interfacial 3leo-3gua
ΔE	Energia

RESUMO

Os óleos e gorduras são os principais ingredientes de diversos produtos alimentares, no entanto o consumo em excesso desses compostos está diretamente associado a doenças como obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares. Tendo em consideração este aspecto, a procura pelo desenvolvimento de alimentos com baixo teor de gordura e que mantenham uma qualidade sensorial similar à dos produtos tradicionais representa um desafio para a indústria alimentar. Um dos métodos explorados pela tecnologia de alimentos para a substituição de gorduras compreende a preparação de emulsões. Entre outras, cabe destacar, as emulsões *Pickering*, sistemas inovadores estabilizados por partículas coloidais, caracterizadas por possuírem elevada resistência a fenômenos de coalescência e amadurecimento de Ostwald em comparação com as emulsões tradicionais baseadas em surfactantes. Além disso, oferecem a oportunidade de incorporar compostos bioativos por meio da utilização das partículas como encapsulantes. Assim, o presente trabalho teve como principal objetivo desenvolver emulsões *Pickering* estabilizadas com partículas contendo curcumina obtidas pelo método de dispersão sólida. Com essa estratégia pretendeu-se obter uma emulsão promissora para aplicação na indústria alimentar como substituto de maionese com redução de gordura. Inicialmente, com base em testes preliminares foram selecionadas quatro formulações de nanopartículas que manifestaram potencial em atuar como partículas *Pickering*, nomeadas de KC1, KC2, PVA e PVP, quais foram produzidas pela técnica de dispersão sólida utilizando os polímeros k-carragenina, álcool polivinílico ou polivinilpirrolidona, e caracterizadas através da análise de cor, molhabilidade e tamanho de partícula. Deste modo, o trabalho prosseguiu com a produção e otimização das emulsões *Pickering* testando-se diferentes razões óleo/água e concentração de partículas, com o fim de obter formulações estáveis. As emulsões, produzidas com azeite neutro para minimizar a influência das propriedades da fase óleo nos sistemas, foram avaliadas quanto à morfologia, tipo de emulsão e analisadas visualmente. Por conseguinte, foram atingidos três sistemas estáveis, sendo esses: KC1 ϕ 0,4 (4,7%), KC2 ϕ 0,4 (4,7%) e KC2 ϕ 0,6 (4,0%). Conforme os resultados obtidos, as emulsões otimizadas foram produzidas substituindo o azeite neutro por um azeite virgem para adequação à aplicação alimentar. A partir de testes de estabilidade ao longo do tempo e análises de cor e pH, as emulsões com azeite virgem demonstraram ser tão estáveis e atrativas à aplicação quanto as produzidas com azeite neutro. Por fim, as emulsões otimizadas com azeite virgem foram

sujeitas a análises de estabilidade oxidativa, avaliação das propriedades de textura e caracterização nutricional, utilizando como matrizes alimentares de comparação dois tipos de maioneses comerciais (tradicional e light). As três emulsões apresentaram estabilidade oxidativa significativamente superior às das maioneses comerciais, representando um tempo de prateleira superior. A emulsão KC1 ϕ 0,4 (4,7%) apresentou textura e valor nutricional próximos da maionese light comercial, indicando assim, ser uma emulsão promissora para aplicação como produto natural substituto de maionese com baixo teor de gordura, além de proporcionar benefícios para a saúde do consumidor derivado das propriedades da curcumina e do azeite virgem.

Palavras-chave: Emulsões *Pickering*; dispersão sólida; curcumina; aplicações alimentares.

ABSTRACT

Oils and fats are the main ingredients of several food products; however, the excessive consumption of these compounds is directly associated with diseases such as obesity, diabetes and cardiovascular diseases. In this context, the demand for developing foods with fat reduction maintaining the sensorial quality similar to that of traditional products, represents a challenge for the food industry. One of the methods explored by food technology for fats replacement is based on emulsion approaches. Among others, it is to highlight that *Pickering* emulsions consist on innovative systems stabilized through colloidal particles, characterized by holding high resistance to coalescence and Ostwald ripening phenomena in comparison with conventional surfactant based emulsions. Moreover, they provide the opportunity to incorporate bioactive compounds through the encapsulation in the particles. In this context, the main objective of the present work comprise the development of *Pickering* emulsions stabilized by particles incorporating curcumin produced by the solid dispersion method. With this strategy it was intended to obtain a promising emulsion to be used in the food industry as a substitute of low fat mayonnaise. Initially, based on preliminary tests, four nanoparticle formulations were selected, which showed the potential to act as *Pickering* stabilizers, designated as KC1, KC2, PVA and PVP, which were produced by the solid dispersion technique with the polymers k-carrageenan, polyvinyl alcohol or polyvinylpyrrolidone, and characterized in terms of color, wettability and particle size. Afterwards, the work proceeded with the production and optimization of the *Pickering* emulsions by testing different oil/water ratios and particle concentrations, in order to obtain stable formulations. The emulsions, produced with neutral oil to minimize the influence of the oil properties in the systems, were evaluated by means of morphology, type of emulsion and visually inspected. Three stable systems were obtained, corresponding to the formulations: KC1 ϕ 0.4 (4.7%), KC2 ϕ 0.4 (4.7%) and KC2 ϕ 0.6 (4.0%). According to the obtained results, the optimized emulsions were produced by replacing the neutral olive oil with virgin olive oil to be directed to food applications. Based on stability tests over time and color and pH analysis, emulsions prepared with virgin olive oil demonstrated to be as stable and attractive as those prepared with neutral olive oil. Finally, the emulsions optimized with virgin olive oil in view of food applications, were evaluated through oxidative stability, texture and nutritional properties, using two types of commercial mayonnaise (traditional and light) for comparison purposes. The three emulsions showed significantly higher oxidative

stability in comparison with commercial mayonnaise, implying their longer shelf life. The KC1 ϕ 0.4 (4.7%) emulsion showed textural and nutritional results similar to that one of the commercial light mayonnaise, thus indicating its potential applicability as a natural substitute of low fat content, besides providing health benefits to the consumer derived from the curcumin and virgin olive oil properties.

Keywords: *Pickering* emulsions; Solid dispersion; curcumin; food applications.

MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS

As emulsões estabilizadas por partículas sólidas, denominadas por emulsões *Pickering*, apresentam-se como uma alternativa às emulsões clássicas estabilizadas por surfactantes. Possuem elevado potencial para aplicação na indústria alimentar, mas o seu uso é ainda muito escasso.

As emulsões *Pickering* potenciam novas abordagens para o desenvolvimento de alimentos com baixo teor de gordura, bem como para o encapsulamento e libertação controlada de ingredientes ativos, todas úteis ao desenvolvimento de novos alimentos funcionais. No entanto, a maior parte dos sistemas desenvolvidos são baseados em partículas de sílica ou partículas de sílica modificadas, o que não é compatível com sistemas naturais ou mesmo de grau alimentar. Assim, um dos pontos mais importante no estudo das emulsões *Pickering* consiste na necessidade de produzir partículas compatíveis com aplicações alimentares e compreender o seu comportamento na estabilização das emulsões produzidas.

Recentemente têm surgido diversos estudos sobre a utilização de partículas orgânicas de grau alimentar, nomeadamente partículas produzidas utilizando glúcidos, proteínas e materiais lipídicos. Neste contexto, o presente trabalho visa o desenvolvimento de nanopartículas compatíveis com aplicações alimentares e sua caracterização (tamanho, morfologia, molhabilidade, etc.), bem como a produção de emulsões *Pickering* estáveis para aplicação na área alimentar.

Objetivo geral:

O presente trabalho tem como objetivo produzir partículas incorporando curcumina, compatíveis com a área alimentar e que possuam potencial para atuar como estabilizadores *Pickering*, visando o desenvolvimento de emulsões estáveis que possam ser utilizadas em aplicações alimentares.

Objetivos específicos:

Tendo em consideração o objetivo geral de desenvolver sistemas *Pickering* compatíveis com a área alimentar, o presente trabalho possui os seguintes objetivos específicos:

- (i) Produção de nanopartículas (contendo curcúmina) pela técnica de dispersão sólida;
- (ii) Caracterização das nanopartículas produzidas;
- (iii) Desenvolvimento e otimização da formulação de emulsões *Pickering* estáveis;
- (iv) Caracterização das emulsões elaboradas;
- (v) Teste de aplicação e comparação com uma matriz alimentar de referência.

Estrutura da dissertação

A presente dissertação está organizada em vários capítulos que abordam desde o estado da arte atual da área que foi usada como base para o desenvolvimento do trabalho até aos resultados e discussão dos sistemas analisados, incluindo as principais conclusões e propostas para trabalhos futuros. Está dividido nos seguintes capítulos:

O capítulo 1 é referente à revisão bibliográfica, discorrendo definições importantes para o trabalho desenvolvido e análises relevantes para abordagem do tema.

O capítulo 2 aborda a descrição dos materiais e métodos utilizados ao decorrer do desenvolvimento do trabalho.

O capítulo 3 aborda a apresentação e discussão dos resultados obtidos.

O capítulo 4 inclui as conclusões do atual estudo e indicações a trabalhos futuros.

O capítulo 5 reúne as referências bibliográficas utilizadas no trabalho.

Capítulo 1

Revisão bibliográfica

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. EMULSÕES

As características sensoriais presentes nos produtos alimentares processados dependem de uma série de fatores que envolvem a interação entre os ingredientes, o processo e as condições de preparação selecionadas. Entre as estruturas e unidades formadoras dos alimentos, as emulsões exercem um papel importante. Estas promovem sensações e características desejáveis em muitos produtos, incluindo o leite, maionese, molhos, sorvetes e margarinas (Friberg, Larsson & Sjoblom, 2003).

Uma emulsão é composta pela mistura de dois líquidos imiscíveis, geralmente água e óleo. Um dos líquidos é disperso na forma de gotículas (fase dispersa ou interna), em outro, denominado fase contínua ou externa. Em grande parte dos alimentos, as gotículas apresentam diâmetro em torno de 0,1 a 100 μm (McClements, 2015). Há dois tipos principais de emulsões, que podem ser distinguidas de acordo com o tipo de líquido que compõe a fase contínua, as emulsões óleo em água (O/A), onde o óleo é disperso no meio aquoso e as emulsões água em óleo (A/O), em que a água é dispersa no óleo. A representação esquemática de ambas pode ser observada na **Figura 1** (Schramm, 2005).

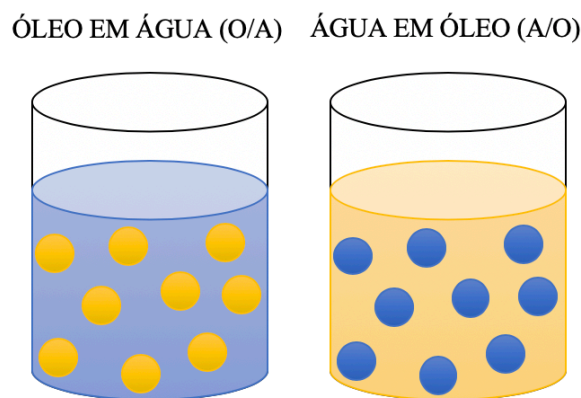


Figura 1. Representação de emulsões óleo em água e água em óleo.

Em situações reais, é possível encontrar algumas situações mais complexas, como o caso das emulsões duplas, que podem ser do tipo óleo em água em óleo (O/A/O) e água em óleo em água (A/O/A), como ilustrado na **Figura 2**. São caracterizadas normalmente

por apresentarem gotículas grandes (dezenas de μm) e serem mais difíceis de produzir e estabilizar (Friberg, Larsson & Sjoblom, 2003; Schramm, 2005).

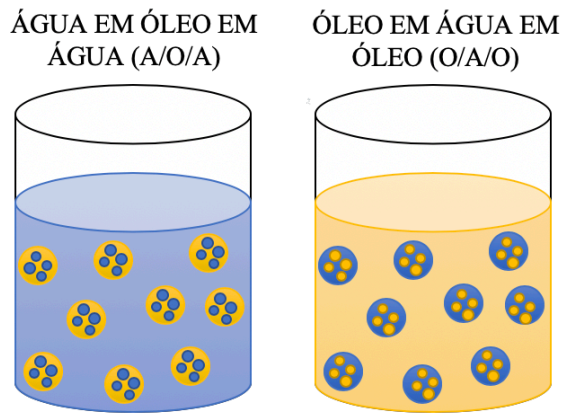


Figura 2. Representação de emulsões duplas.

Após a homogeneização do óleo com a água, a tendência é que ocorra rapidamente a separação de fases ficando a camada de óleo (menor densidade) sobre a camada de água (maior densidade), principalmente devido ao fato de o contato entre as moléculas de água e óleo ser termodinamicamente desfavorável (McClements, 2015). Contudo, para que ocorra a formação de uma emulsão estável por um dado período de tempo, é necessário além do óleo e da água e uso de energia, a utilização de um emulsionante e/ou espessante (Benetti, 2018).

Para favorecer a homogeneização dos componentes e a formação da emulsão, geralmente são utilizados dispositivos mecânicos conhecidos como homogeneizadores, tais como moinhos coloidais, homogeneizadores ultrassônicos e de alta pressão (McClements, 2015).

Os emulsionantes são moléculas com atividade tensioativa que são adsorvidas na interface das gotículas formadas na homogeneização, diminuindo a tensão interfacial, impedindo a colisão entre as moléculas e assim, prevenindo os fenômenos de desestabilização da emulsão (Benetti, 2018). Esses podem ser emulsionantes iônicos, zwitteriônicos ou não iônicos, proteínas, polímeros anfífilicos ou combinações de polímeros e surfactantes (Friberg, Larsson & Sjoblom, 2003). Grande parte dos emulsionantes são moléculas anfífilicas, ou seja, possuem regiões polares e apolares. Os mais utilizados na indústria de alimentos são as proteínas anfífilicas, surfactantes constituídos por moléculas pequenas e fosfolipídios (McClements, 2015).

Além dos emulsionantes líquidos, nos últimos anos tem-se observado grande interesse pela utilização de partículas sólidas que agem como estabilizadores de emulsões, também conhecidas como partículas *Pickering*. Diferentemente dos emulsionantes clássicos, essas são adsorvidas na interface óleo/água agindo como uma barreira física, resultando em emulsões estáveis a longo prazo (Rayner et al., 2012).

Os agentes espessantes também melhoram a estabilidade das emulsões, porém atuando como impedimento ao movimento das gotículas. O aumento da viscosidade da fase contínua diminui, conseqüentemente, o movimento das gotículas. Os mais encontrados na indústria alimentar são os polissacarídeos (McClements, 2015).

Além de promover a estabilização das emulsões, a natureza do agente emulsionante pode determinar o arranjo das fases. Como descrito pela Regra de Bancroft, a fase em que o emulsionante for mais solúvel tende a ser a fase contínua (Schramm, 2005). A natureza anfifílica dos emulsionantes pode ser expressa em função de uma escala empírica conhecida como HLB (balanço hidrofílico-lipofílico). Números baixos de HLB, abaixo de 6, mostram que o agente de superfície é lipofílico e tende a formar emulsões água em óleo, enquanto altos números de HLB, maiores que 10, mostram que o agente de superfície é hidrofílico e, portanto, são adequados para formar emulsões óleo em água (Shi et al., 2019).

1.1.1. Fenómenos de desestabilização de emulsões

Há uma série de mecanismos físico-químicos que podem alterar as propriedades de uma emulsão, intervindo na sua estabilidade. Alterações na distribuição espacial ou organização estrutural das moléculas são o resultado de instabilidade física. Já alterações nos tipos de moléculas presentes no meio são fatores de instabilidade química (McClements, 2015). Na **Figura 3** estão representados os principais tipos de fenômenos de desestabilizações que podem ocorrer no sistema e que são descritos em seguida.

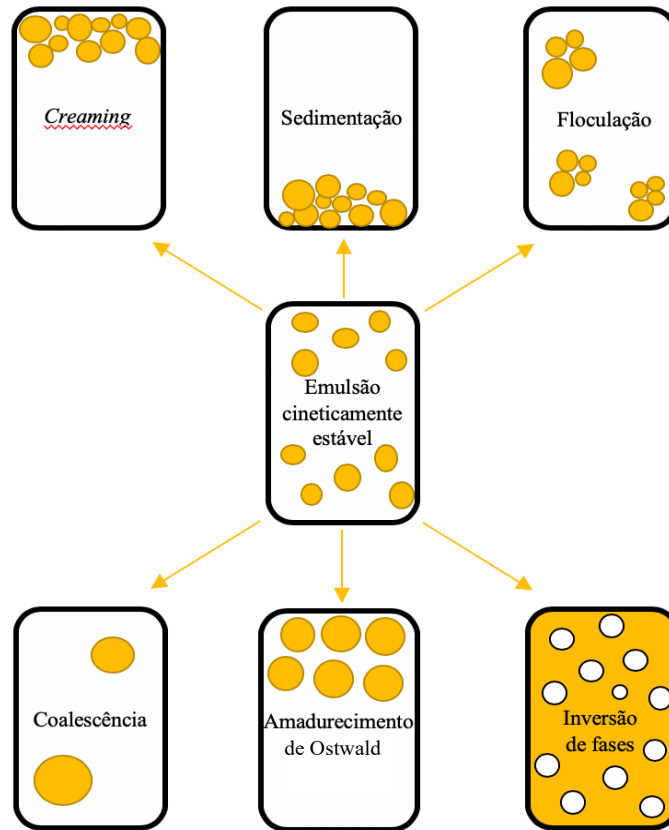


Figura 3. Representação das possíveis destabilizações em emulsões.

Creaming e sedimentação: Destabilização resultante de forças externas, como gravitacional e/ou centrífuga. Ocorre quando essas forças excedem o movimento da energia interna das gotículas, acumulando um gradiente de concentração no sistema. As gotículas maiores movem-se até ao topo do recipiente (*creaming*), se a densidade for menor que a do meio, ou para o fundo (sedimentação), se a densidade for maior que a do meio (Tadros, 2009).

Coalescência: Ocorre quando os filmes formados entre as gotículas se rompem e, conseqüentemente, há fusão dessas gotículas (Langevin, 2019).

Floculação: Processo de agregação de gotículas. A floculação ocorre quando não há repulsão suficiente para manter as gotículas afastadas a uma distância onde as atrações de Van der Waals se mantenha fraca (Tadros, 2009).

Amadurecimento de Ostwald: Resulta da solubilidade finita das fases líquidas. Consiste no crescimento do raio das gotículas e na diminuição do número total de gotículas dispersas. Este processo pode levar também à separação das fases da emulsão com o passar do tempo (Franzol & Rezende, 2015).

Inversão de fases: Como o próprio nome sugere, o processo equivale à inversão das fases contínua e dispersa. Como por exemplo, com o passar do tempo uma emulsão O/A pode inverter para A/O ou vice-versa (McClements, 2015).

1.2. EMULSÕES PICKERING

As emulsões *Pickering* são definidas como emulsões onde a estabilização da interface em vez de ser feita por emulsionantes convencionais (ou seja, surfactantes), ocorre por ação de partículas coloidais sólidas. Nas emulsões clássicas, o emulsionante age diminuindo a tensão interfacial entre o óleo e a água, o que facilita a quebra das gotículas na emulsificação, diminuindo a energia livre de Gibbs da emulsão. Já no caso das partículas sólidas, essas são adsorvidas e ancoradas quase que irreversivelmente na interface dos líquidos, formando uma barreira física rígida, comparada a uma casca de ovo, também diminuindo a energia livre de Gibbs e garantindo uma elevada estabilidade da emulsão (Berton-Carabin & Schroën, 2015; Dai et al., 2018).

A estabilização por partículas sólidas retém propriedades básicas das emulsões convencionais, podendo substituí-las na maioria dos casos. Além disso, as emulsões *Pickering* conferem propriedades específicas às emulsões, tal como elevada resistência à coalescência. A ideia de ser “livre de surfactantes” também pode ser atrativo para diversas aplicações (Chevalier & Bolzinger, 2013).

Para que uma partícula seja utilizada como *Pickering* é fundamental que ela apresente molhabilidade parcial apropriada, expressa pelo ângulo de contato trifásico partícula/óleo/água (θ). θ é correspondente ao HLB dos surfactantes, indicando a afinidade relativa das partículas pelo óleo e pela água. É calculado pela equação de Young (**Equação 1**), onde γ_{po} , γ_{pw} , γ_{ow} são, respectivamente, as tensões interfaciais partícula-óleo, partícula-água e óleo-água (Berton-Carabin & Schroën, 2015; Albert et al., 2019).

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{po} - \gamma_{pw}}{\gamma_{ow}} \quad \text{(Equação 1)}$$

Além da molhabilidade, o tamanho e a forma das partículas são também fatores importantes para que estas possam ser utilizadas como estabilizadores de *Pickering*. As partículas devem ser necessariamente menores que as gotículas da emulsão. A forma também determina seu comportamento interfacial e, conseqüentemente, o seu

desempenho, podendo estas ter formato de fibrilas, esferas/glóbulos e plaquetas (**Figura 4**), servindo como “partículas de separação” (Berton-Carabin & Schroën, 2015; Chevalier & Bolzinger, 2013; Calabrese et al., 2018).

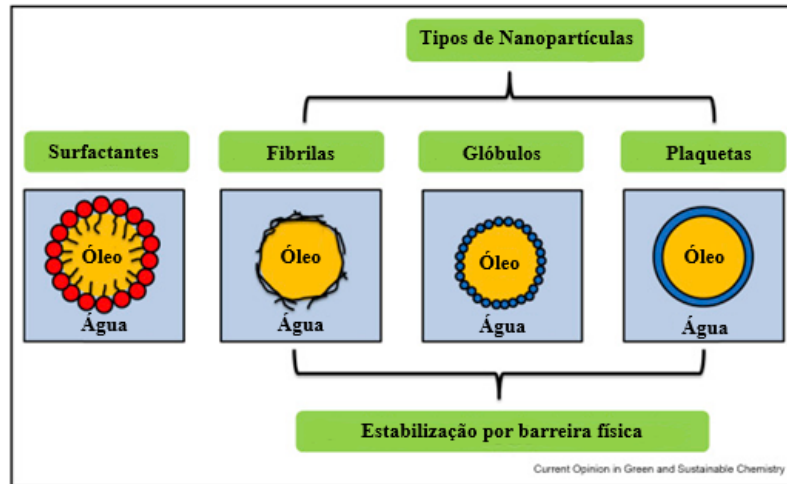


Figura 4. Formatos de surfactante e partículas estabilizadores de emulsões *Pickering*.
FONTE: Adaptado de Calabrese et al., 2018.

O tipo de emulsão é definido principalmente pela afinidade das partículas pelas fases. Assim, partículas mais hidrofílicas ($\theta < 90^\circ$) formarão preferencialmente emulsões O/A e partículas mais hidrofóbicas ($\theta > 90^\circ$) formarão emulsões A/O, como pode ser observado na **Figura 5**. As emulsões *Pickering* estáveis correspondem aquelas que geram um ângulo de contato trifásico próximo de 90° , situação em que a adesão na interface dos líquidos é mais forte (Berton-Carabin & Schroën, 2015; Harman et al., 2019).

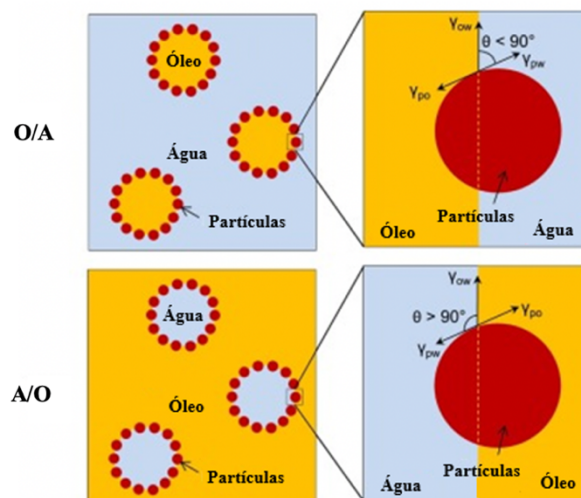


Figura 5. Representação do tipo de emulsão formada em relação ao ângulo de contato trifásico.
FONTE: Adaptado de Albert, et al., 2019.

A fase em que as partículas são dispersas antes da emulsificação assume também um papel importante no tipo de emulsão obtida. Partículas dispersas inicialmente na fase aquosa tendem a formar emulsões O/A e partículas dispersas inicialmente na fase oleosa tendem a formar emulsões do tipo A/O (Albert et al., 2019).

Para que haja adsorção irreversível entre as interfaces, as partículas devem apresentar um valor θ entre 30° e 150° , situação em que a energia de desorção é várias ordens de magnitude maior que a energia térmica do movimento browniano. A energia necessária para separar partículas de raio R da interface, ΔE , pode ser calculada pela **Equação 2**, onde, γ_{ow} é a tensão interfacial e θ é o ângulo de contato trifásico (Xiao, Li & Huang, 2016; Xiao, Lu, & Huang, 2017).

$$\Delta E = \pi R^2 \gamma_{ow}(1 \pm \cos\theta)^2 \quad \text{(Equação 2)}$$

De acordo com a equação de Young (**Equação 1**), o valor de θ está associado ao óleo utilizado através das tensões interfaciais (γ_{po} e γ_{ow}). Portanto, a escolha do óleo influencia diretamente o ângulo de contato trifásico. Além disso, a sua polaridade, viscosidade e a proporção de fase oleosa/aquosa pode alterar o tamanho da gota, o tipo e a estabilidade da emulsão (Albert et al., 2019).

As propriedades físicas e mecânicas das interfaces estabilizadas por *Pickering* também diferem das estabilizadas por emulsionantes convencionais. A espessura da interface é muito maior quando comparada à interface de uma emulsão clássica. Conseqüentemente, a carga superficial também se torna superior. Em ambiente industrial, geralmente os surfactantes são colocados em contato com a interface por convecção e/ou difusão. No caso da utilização de partículas, é necessário um fluxo convectivo para superar a barreira de alta adsorção de energia (Berton-Carabin & Schroën, 2015).

A concentração de partículas tem uma influência considerável nas características da emulsão formada. Quando se utiliza uma concentração baixa de partículas, apenas uma pequena área interfacial pode ser estabilizada, o que resulta em instabilidade e formação de partículas muito grandes. Para concentração intermediária, a área interfacial é um pouco maior do que a que as partículas são capazes de cobrir, assim essas coalescem até que as gotículas sejam inteiramente cobertas, como pode ser observado na **Figura 6**. Já quando há uma elevada concentração de partículas, pode ocorrer a formação de emulsões muito finas. Contudo, neste último caso é conveniente um processo eficiente para garantir

que todas as partículas sejam adsorvidas e que não sobrem partículas em suspensão na fase contínua (Chevalier & Bolzinger, 2013; Albert et al., 2019).

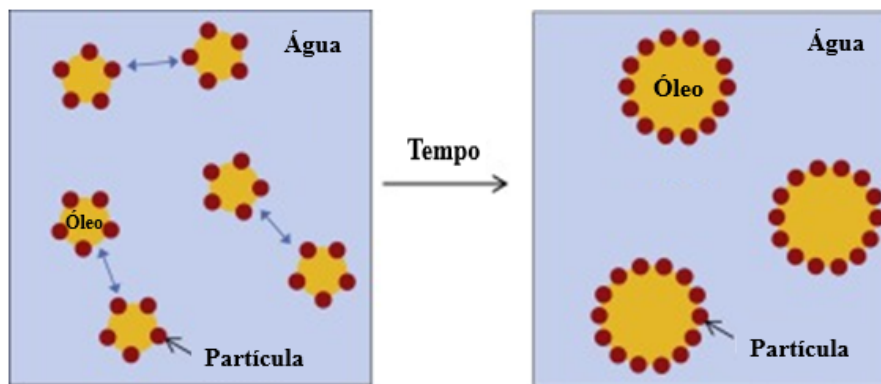


Figura 6. Representação da coalescência de partículas.
FONTE: Adaptado de Albert et al., 2019.

Ainda assim, o excesso de partículas na fase externa pode levar à formação de emulsões viscosas estáveis. A alta viscosidade retarda a desestabilização pelo fato de as partículas se movimentarem de forma mais lenta. Seguindo a mesma teoria, a estabilidade de emulsões gelificadas, leva a produtos com um prazo de armazenamento excelente (Chevalier & Bolzinger, 2013).

O tamanho da gotícula diminui quando a concentração de partículas aumenta, sendo desta forma possível obter emulsões com tamanho de gotícula controlado. Este fenômeno é chamado de “coalescência limitada”. As emulsões apresentam uma distribuição homogênea do tamanho de gotícula diretamente proporcional à massa de partículas e à cobertura das gotículas. Tal comportamento pode ser descrito pela **Equação 3** (Albert et al., 2019).

$$\frac{1}{D} = \frac{m_p}{6 \times C \times \rho_p \times V_d} \frac{a_p}{\vartheta_p} \quad \text{(Equação 3)}$$

Onde D é o diâmetro final da gota, m_p é a massa das partículas, ρ_p é a densidade das partículas, V_d é o volume da fase dispersa, C é a cobertura da superfície (fração da área interfacial da gota coberta pelas partículas), a_p é a área da partícula projetada na interface e ϑ_p é o volume da partícula (Albert et al., 2019).

Diversos tipos de materiais podem ser utilizados como estabilizantes *Pickering*. A sílica tem sido amplamente estudada por ser facilmente obtida e modificada. Em sua

forma natural tende a estabilizar emulsões O/A devido à sua hidrofiliçidade, enquanto a sílica hidrofobicamente modificada tende a estabilizar emulsões A/O (Yang et al., 2017).

Nas emulsões alimentares tem sido explorado o uso de materiais como partículas de cristais orgânicos, que talvez sejam as partículas hidrofóbicas mais naturais. Também têm sido utilizadas partículas à base de prolaminas, que são proteínas encontradas em cereais, partículas à base de celulose e quitina, que em conjunto formam cristais ou fibras em proporção elevada e insolúveis em água, partículas à base de amido, biopolímero abundante na natureza e partículas de microgéis, que são formados por materiais superficialmente ativos (Murray, 2019).

Nos últimos anos, o interesse em relação às emulsões *Pickering* tem crescido consideravelmente. Na **Tabela 1**, estão reunidos alguns exemplos de pesquisas relacionadas com o estudo de materiais com potencial para tal fim.

Tabela 1. Partículas com potencial para uso como *Pickering*.

Natureza das Partículas	Aplicação	Referências
Quitosano-ácido esteárico	Emulsões <i>Pickering</i> O/A com óleo de girassol	(Atarian et al., 2019)
Quitosano-goma arábica	Emulsões <i>Pickering</i> O/A baseadas em polissacarídeos livres de surfactante	(Sharkawy, Barreiro & Rodrigues, 2019)
Kafirina	Emulsões duplas A/O/A	(Xiao, Lu, & Huang, 2017)
Quitina	Emulsão <i>Pickering</i> de estireno	(Noguchi, Yamamoto & Kadokawa, 2019)
Microgel de proteína de ervilha	Emulsões <i>Pickering</i> O/A	(Zhang et al., 2020)
Zein-gliadina	Emulsões <i>Pickering</i> baseadas em proteínas de cereais integrais	(Liu et al., 2019b)
Amido de quinoa	Emulsões <i>Pickering</i> O/A	(Rayner et al., 2012)

1.3. PARTÍCULAS PRODUZIDAS PELA TÉCNICA DE DISPERSÃO SÓLIDA (DS)

Diversos métodos físicos e químicos são capazes de melhorar a solubilidade de produtos hidrofóbicos. Como exemplo de método físico, pode-se utilizar a redução do tamanho de partícula, entretanto, em alguns casos pode ocorrer aglomeração, o que

durante o armazenamento causará um efeito contrário ao desejado, dificultando a sua posterior dissolução (Patel et al., 2015).

A dispersão sólida é um método promissor para melhorar a dissolução e a biodisponibilidade de compostos pouco solúveis em água, sendo utilizado principalmente na área farmacêutica (Li et al., 2013). Infelizmente, esta técnica tem sido pouco explorada em aplicações destinadas à área alimentar. O processo envolve a incorporação de compostos hidrofóbicos em um transportador inerte ou numa matriz transportadora hidrofílica, geralmente um polímero, preparados por fusão, dissolução em solvente ou pelo método de evaporação de solvente. O processo resulta num perfil de libertação do composto ativo que é governado pelas propriedades do transportador (Chuah et al., 2014; Patel et al., 2015).

Os polímeros são adicionados visando reduzir a mobilidade molecular do composto para evitar a separação de fases e cristalização durante o período de armazenagem. O aumento da solubilidade deve-se principalmente ao fato do composto permanecer na forma amorfa, o que está associado a um estado de energia superior quando comparado com a forma cristalina, assim, exigindo menor quantidade de energia para que ocorra a sua dissolução (Patel et al., 2015).

As partículas resultantes, além de se apresentarem na forma amorfa, possuem melhor molhabilidade e maior grau de porosidade, o que depende principalmente das características do transportador. Polímeros lineares produzem partículas mais porosas comparativamente ao caso de se utilizarem reticulantes. Devido à redução do tamanho das partículas, também se verifica um aumento da área superficial, fatores que também são responsáveis pelo aumento da solubilidade e biodisponibilidade dos compostos (Seo et al., 2012; Vasconcelos, Sarmiento, & Costa, 2007).

Grande parte dos polímeros utilizados na produção de dispersões sólidas são solúveis em água em todas as gamas de pH. Porém, em alguns casos, também são utilizados polímeros entéricos, que possuem grupos ácidos que são ionizados em condições de pH elevado, facilitando a dilatação da partícula e sua solubilidade (Jankovic et al., 2019). A miscibilidade entre o composto e o polímero é importante para obter um sistema solúvel e estável, portanto a escolha do transportador é um dos parâmetros mais importantes deste processo (Meng et al., 2015).

Para a seleção do polímero devem avaliar-se diversos fatores, nomeadamente a temperatura de transição vítrea (Tg), a natureza aniónica ou catiónica, a presença de grupos funcionais, a higroscopicidade, a solubilidade em solventes orgânicos comuns,

estabilidade térmica, entre outros (Patel et al., 2015). Transportadores hidrofílicos como os polietilenoglicóis de elevado peso molecular (PEGs) e as polivinilpirrolidonas (PVPs) têm sido muito utilizados na produção de dispersões sólidas (Szűts et al., 2011).

Dependendo do estado físico do veículo, as dispersões sólidas podem ser cristalinas ou amorfas, e também podem ser divididas em quatro gerações de acordo com sua composição, como descrito na **Figura 7** (Vo, Park & Lee, 2013).

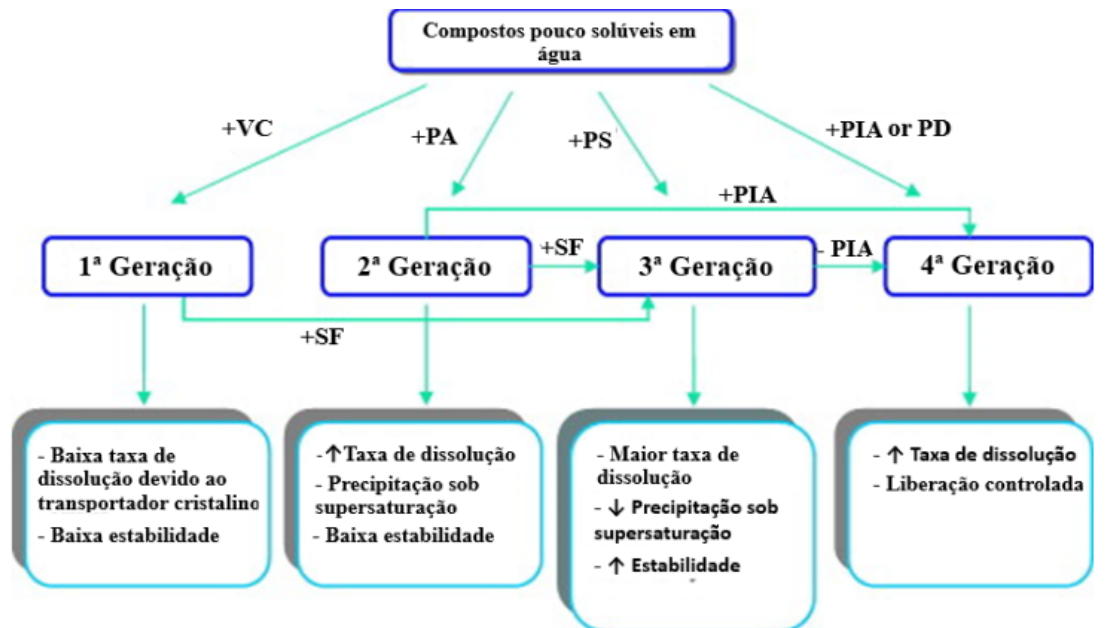


Figura 7. Composição e propriedades das quatro gerações de dispersões sólidas.

Nota. VC: veículo cristalino, PA: polímero amorfo, PS: polímero surfactante, PIA: polímero insolúvel em água, PD: polímero dilatável, SF: surfactante, (↑): aumentar, (↓): diminuir.

FONTE: Adaptado de Vo, Park & Lee, 2013.

Na primeira geração, há a formação de dispersões sólidas cristalinas, onde um composto cristalino é disperso num veículo também cristalino formando uma mistura eutética ou monotética. A mistura eutética é preferível devido ao fato de a temperatura necessária para a fusão da mistura ser menor e também pelo fato de ocorrer a cristalização simultânea do composto e do veículo durante o processo de resfriamento, originando uma melhor dispersão e, conseqüentemente, aumentando a taxa de dissolução (Vo, Park & Lee, 2013).

Já nas dispersões sólidas de segunda geração, são utilizados veículos amorfos ao invés de cristalinos, geralmente polímeros. Podem ser classificadas de acordo com a interação molecular dos compostos e transportadores, como soluções sólidas, suspensões sólidas ou uma mistura de ambos. Em soluções sólidas os componentes são totalmente

miscíveis e solúveis, resultando numa interação molecular homogênea. Nestes sistemas a energia de interação é extremamente elevada (Vasconcelos, Sarmiento, & Costa, 2007).

No caso das suspensões sólidas, o composto cristalino possui solubilidade limitada em relação ao transportador ou um ponto de fusão muito alto. Molecularmente, a dispersão obtida possui uma estrutura heterogênea. Na segunda geração, o composto está no seu estado supersaturado devido à solubilidade forçada no transportador. São sistemas que produzem partículas menores que a geração anterior, com melhor molhabilidade e conseqüentemente melhor dispersibilidade (Vasconcelos, Sarmiento, & Costa, 2007).

Os sistemas de dispersões sólidas de terceira geração contêm um surfactante ou uma mistura de polímeros amorfos e surfactantes como transportadores. Nessas situações é possível obter um grau de biodisponibilidade dos componentes hidrofóbicos elevado, além de garantir melhor estabilização física e química (Szűts et al., 2011). O uso de surfactantes com estruturas anfífilas promove o aumento da miscibilidade entre os constituintes, além de melhorar a molhabilidade e impedir a precipitação do elemento devido à supersaturação (Vo, Park & Lee, 2013).

Por fim, a quarta geração corresponde a uma dispersão sólida de libertação controlada, utilizada principalmente na área farmacêutica para medicamentos pouco solúveis em água e com uma meia-vida biológica curta. A utilização de polímeros insolúveis em água ou intumescentes pode retardar a libertação da droga no meio de dissolução. Este processo pode garantir o fornecimento de uma quantidade adequada de medicamento por um longo período de tempo (Vo, Park & Lee, 2013).

Em relação às técnicas utilizadas para a secagem das DS, a de spray-drying destaca-se por apresentar elevada produtividade, custo de produção relativamente baixo, aumento da estabilidade microbiológica dos produtos fito-farmacêuticos e diminuição do risco de degradação química e/ou biológica. Além disso, fornece partículas pequenas de formato uniforme e esférico (Gangurde et al., 2015). Na área alimentar, também é muito utilizada como meio de encapsulamento de substâncias, pelo fato de ser um processo flexível em termos de agentes encapsulantes e princípios ativos (Leimann et al., 2019).

O processo de secagem por spray-drying torna-se bastante atraente para a preparação de dispersões sólidas amorfas, pelo fato proporcionar uma evaporação muito rápida do solvente dissolvido na solução fornecida ao sistema. Deste modo, o método promove um rápido aumento da viscosidade e permite a captura cinética do composto de

interesse na matriz transportadora, resultando numa dispersão molecular supersaturada (Paudel et al., 2013).

O procedimento de funcionamento da secagem por atomização consiste basicamente em quatro etapas. Num primeiro momento, o fluido é alimentado à câmara de secagem por meio de uma bomba peristáltica. Através de um atomizador ou um bico de dois fluidos, a atomização pode ocorrer por força centrífuga, de pressão ou cinética. Assim, as gotículas geradas são submetidas à rápida evaporação do solvente quando em contato com o gás de secagem, levando à formação de partículas secas. Por fim, essas partículas são separadas do gás de secagem por meio de um ciclone, que as deposita num recipiente de vidro. Em relação a formulação, é importante considerar a composição da alimentação, teor de sólidos na alimentação, tipo de solvente, viscosidade e tensão superficial da solução de secagem (Paudel et al., 2013).

A temperatura do ar é um dos parâmetros mais importantes a ser controlado, pois afeta a morfologia do produto, como por exemplo o tamanho da partícula, rugosidade da superfície, densidade, viscosidade, humidade e níveis de solvente. Geralmente, a remoção eficiente do solvente é necessária para garantir a qualidade do composto resultante, pois sua presença pode resultar na plastificação da dispersão sólida e conseqüentemente, afetar a estabilidade do complexo final (Patel et al., 2015).

A **Figura 8** representa de forma esquemática um sistema de *spray-drying* (Sosnik & Seremeta, 2015).

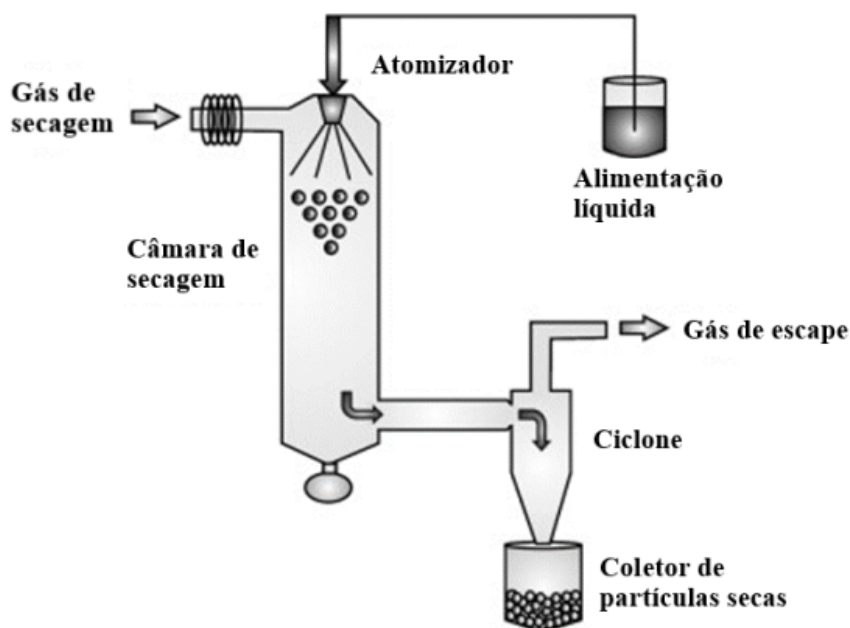


Figura 8. Diagrama do equipamento e processo de secagem por *spray-drying* convencional.
FONTE: Adaptado de Sosnik & Seremeta, 2015.

1.4. APLICAÇÕES POTENCIAIS DAS EMULSÕES *PICKERING* NA ÁREA ALIMENTAR

Grande parte do conhecimento sobre emulsões *Pickering* vem de sistemas estabilizados por nanopartículas à base de sílica e outros compostos inorgânicos. Porém, devido às preocupações de biodegradabilidade e biocompatibilidade, estas são limitantes para utilização na área alimentar. O interesse em partículas naturais de biopolímeros que sejam eficazes como estabilizadores *Pickering* e compatíveis com alimentos vem crescendo nos últimos anos (Xiao, Li & Huang, 2016).

Apesar dos desafios, as emulsões *Pickering* têm elevado potencial para aplicação em alimentos. Apresentam capacidade de serem utilizadas como encapsulantes de compostos bioativos e também trazem novas propriedades sensoriais, nutricionais e de textura aos produtos. Concentrações elevadas de partículas na fase contínua podem ter um efeito de preenchimento ou até funcionar como substituto da gordura. Já em relação à aceitabilidade dos consumidores, o conceito de “rótulo limpo” será atendido devido a ausência de surfactantes (Tavernier et al., 2016; Xiao, Li & Huang, 2016).

Essa abordagem também pode oferecer novas possibilidades para o desenvolvimento de alimentos funcionais. A incorporação de compostos bioativos lipofílicos como ácidos gordos, ω -3, ácido linoléico conjugado, carotenoides, fitoesteróis e vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) em sistemas alimentares, pode proporcionar benefícios fisiológicos no combate a doenças cardíacas, como ganho de peso, hipertensão, degeneração macular, cancro e saúde óssea (Tavernier et al., 2016).

A curcumina, composto polifenólico natural encontrado no rizoma da erva perene açafrão, ganhou bastante interesse nas últimas décadas devido às suas propriedades promotoras de saúde, como anti-inflamatórias, anticarcinogênicas e antioxidantes (Araiza-Calahorra, Akhtar & Sarkar, 2018). Porém, a sua baixa bioacessibilidade é uma grande barreira devido à sua hidrofobicidade, baixa solubilidade em água e baixa biodisponibilidade oral. Adicionalmente, apresenta baixa bioacessibilidade no trato intestinal dado que só se decompõe em soluções alcalinas (Tang et al., 2019).

Desta forma, as emulsões *Pickering* podem ser modelos eficazes para encapsular a curcumina e melhorar a sua estabilidade e biodisponibilidade, incrementando a bioacessibilidade desses sistemas (Araiza-Calahorra, Akhtar & Sarkar, 2018). Seguindo esse pensamento, o presente estudo tem como objetivo desenvolver partículas com

potencial *Pickering* incorporando curcumina e produzidas pela técnica de dispersão sólida, visando aplicações em produtos alimentares.

Capítulo 2

Materiais e Métodos

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATERIAIS

A curcumina, com pureza de 65%, foi adquirida na Sigma-Aldrich. No procedimento da dispersão sólida foram utilizados Álcool polivinílico (PVA, Celanese Chemicals) e polivinilpirrolidona (PVP, Sigma-Aldrich) como materiais encapsulantes sintéticos e k-carragenina (Acros Organics) como natural. Tween 80 (Alfa Aesar) e etanol absoluto (Honeywell, 99,8%) foram manuseados como surfactante e solvente, respectivamente. Ácido cítrico (PanReac 99,5%) e citrato de sódio (PanReac 99,0%) foram utilizados para o preparo da solução tampão responsável pelo controle do pH durante a produção das partículas.

No preparo das emulsões, utilizou-se azeite neutro (Vencilab) e azeite virgem (Fagron). Por fim, as maioneses tradicional e light (Pingo Doce) selecionadas como matrizes alimentares comparativas, foram adquiridas no mercado do comércio local de Bragança- Portugal.

2.2. PRODUÇÃO DAS PARTÍCULAS POR DISPERSÃO SÓLIDA

As partículas foram produzidas pela técnica de dispersão sólida, conforme descrito por Leimann et al. (2019), método eficaz para melhorar a solubilidade de compostos pouco solúveis em água (Tran & Tran, 2020), como é o caso da curcumina, cuja hidrofobicidade tem sido uma barreira à sua bioacessibilidade (Tang et al., 2019). Para tal, o Tween 80 juntamente com o polímero encapsulante álcool polivinílico (PVA), Polivinilpirrolidona (PVP) ou k-carregenina foram solubilizados em 100 mL de uma solução tampão aquosa composta por ácido cítrico/citrato de sódio com o pH necessário. Simultaneamente, a curcumina foi solubilizada em 50 mL de etanol. Seguidamente, a solução de curcumina em etanol foi vertida na solução tampão (contendo o Tween 80 e polímero). A mistura foi sonicada (modelo Qsonica, Q500, 500W) com 70% de potência durante 10 minutos (com ciclos de 30 segundos *on* e 10 segundos *off* para evitar sobreaquecimento). Posteriormente, a dispersão elaborada seguiu para secagem por *spray-drying* (Mini Spray Dryer B290 Büchi, Flawil, Switzerland) (**Figura 9**) sob as seguintes condições: Fluxo de nitrogênio a 667 L/h, temperatura de entrada a 140 °C,

temperatura de saída na gama de 70 °C, caudal da solução de 11 ml/min e taxa de aspiração de 35 m³/h. Por fim, as partículas produzidas foram armazenadas a 4 °C e mantidas sob proteção de luz.

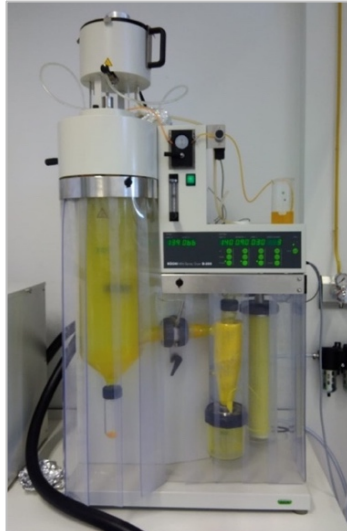


Figura 9. Equipamento de spray-dryer utilizado para a produção das partículas.

2.3. CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS

2.3.1. Determinação da cor

A análise da cor foi efetuada através de um colorímetro (modelo CR-400, Konica Monolta Sensing Inc., Japão) (**Figura 10**) equipado com um acessório de suporte e um recipiente próprio para amostras líquidas. Os valores de L*, a* e b* foram determinados utilizando na abertura do diafragma de 8 mm. O valor de L* indica a luminosidade da amostra; a coordenada a* representa a influência da cor verde quando negativa (-a*) e do vermelho quando positiva (+a*); o valor de b* manifesta a variação do azul quando negativo (-b*) e do amarelo quando positivo (+b*).



Figura 10. Colorímetro.
FONTE: Konica Minolta (2020).

2.3.2. Ângulo de contato

A molhabilidade das partículas produzidas foi avaliada usando um dispositivo de medição de ângulo de contato ótico (OCA15 Plus, Dataphysics, Alemanha), usado para avaliar seu caráter hidrofílico/hidrofóbico. Para tal, as dispersões de partículas foram colocadas em lâminas de vidro liso e deixadas secar à temperatura ambiente. O filme seco foi colocado sobre a plataforma do dispositivo e, em seguida, 4 μL de água deionizada foram depositados na superfície usando um injetor de alta precisão a 25 °C. As imagens das gotículas formadas foram adquiridas usando uma câmera digital acoplada ao equipamento e as medidas foram calculadas como a média de pelo menos 4 gotículas. Os valores dos ângulos de contato foram calculados automaticamente pelo software do equipamento, ajustando os dados do perfil das gotículas formadas à equação de Laplace-Young (**Equação 4**), onde Δp é a variação de pressão, γ é a tensão interfacial e H é a curvatura da superfície.

$$\Delta p = 2\gamma H \quad \text{(Equação 4)}$$

2.3.3. Determinação do tamanho de partícula

O tamanho médio das partículas foi determinado pela técnica de difração de laser (DLS). Utilizou-se um equipamento Malvern Mastersizer 3000 provido de uma unidade de dispersão Hydro MV (Malvern), usando água destilada como meio dispersante. As distribuições de tamanho em volume e em número foram obtidas e correspondem às distribuições médias calculadas a partir de cinco medições consecutivas para cada amostra. Os parâmetros avaliados foram D_{10} , D_{50} e D_{90} , indicando o tamanho de partícula

correspondente a 10, 50 e 90% do total de partículas (ou volume) na amostra, respetivamente.

2.4. PRODUÇÃO DAS EMULSÕES *PICKERING*

As emulsões *Pickering* (tanto as emulsões produzidas nos testes preliminares como na otimização das formulações) foram produzidas conforme a metodologia descrita no trabalho de Sharkawy, Barreiro & Rodrigues (2019) com algumas alterações, a partir das partículas elaboradas pela técnica de dispersão sólida. Assim, estas foram dispersadas em água destilada e com o auxílio de uma bomba peristáltica (ISM596B, Ismatec SA, Suíça), adicionou-se o azeite lentamente mantendo a mistura sob agitação constante de 3.500 rpm usando uma placa de agitação (VWR, USA). Posteriormente, através de um homogeneizador Ultra-Turrax (Unidrive X1000 Homogenizer Drive da CAT Scientific, Staufen, Alemanha), procedeu-se à agitação contínua a 13.500 rpm por 7 minutos. Por fim, as emulsões foram armazenadas sob temperatura ambiente. As amostras preparadas para os testes preliminares, assim como para otimizar a composição das emulsões, foram produzidas com azeite neutro, enquanto as formulações otimizadas para avaliar sua aplicabilidade na área alimentar foram produzidas com azeite virgem.

2.5. CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES *PICKERING*

As emulsões *Pickering* preparadas nos testes preliminares (com azeite neutro) visando selecionar as partículas que apresentam maior potencial para atuar como estabilizadores *Pickering*, foram analisadas por inspeção visual e microscopia ótica. Adicionalmente confirmou-se o tipo de emulsão formada (o/a ou a/o). Posteriormente, as emulsões otimizadas foram produzidas com azeite neutro e azeite virgem, tendo-se analisado estas quanto à estabilidade (microscopia ótica, análise visual, *cream index*), cor (de acordo a análise descrita na seção 2.2.1) e pH. Adicionalmente, as emulsões otimizadas baseadas em azeite virgem, juntamente com as maioneses referentes às matrizes alimentares, foram analisadas em termos de estabilidade oxidativa, textura e propriedades nutricionais.

2.5.1. Tipo de emulsão

O tipo de emulsão foi determinado com base no método citado por Lv et al. (2020). Para tal, uma gota da emulsão foi adicionada a água pura. Se através de análise visual se verificar a solubilização rápida, a emulsão é considerada uma emulsão do tipo o/a. Se ocorrer o oposto, isto é, se a gotícula de emulsão permanecer aglomerada na fase aquosa, esta é do tipo a/o.

2.5.2. Microscopia ótica

A morfologia das emulsões foi examinada por microscopia ótica (MO) usando um microscópio ótico Nikon Eclipse 50i (Kawasaki, Japan), equipado com uma câmera Nikon Digital Sighth para aquisição de imagem e tratamento de resultados. As imagens obtiveram-se após a preparação das emulsões e também para monitorizar a evolução da morfologia e tamanho de gotícula das emulsões ao longo do tempo de forma a visualizar fenómenos de desestabilização.

2.5.3. Determinação do *creaming index*

O *creaming Index* (CI) foi utilizado como um indicador da estabilidade, tendo-se usado apenas para estudar a estabilidade das emulsões otimizadas e determinado conforme descrito por Nikolovski, Ilić & Sovilj, (2016) com modificações. O método consiste em medir a estabilidade mediante quantificação da separação de fases, nomeadamente por determinação da camada de sêrum (aquosa) e da camada de emulsão. Sucintamente, as emulsões após preparo foram transferidas para provetas graduadas de 25 mL que foram vedadas para evitar evaporação e mantidas à temperatura ambiente por 28 dias. O *cream index*, CI, é definido através da razão, expressa em percentagem, entre a altura da camada aquosa (H_s) e a altura total (H_t), tal como descrito na **Equação 5**. Esta avaliação foi realizada em diferentes tempos, nomeadamente 7, 14, 21 e 28 dias.

$$CI (\%) = \frac{H_s}{H_t} \times 100 \quad \text{(Equação 5)}$$

2.5.4. Determinação do pH

Os valores de pH das emulsões otimizadas e das maioneses de referência foram medidos em triplicado com o auxílio de um medidor de pH (Inolab pH 720, WTW, Alemanha) à temperatura ambiente.

2.5.5. Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa das emulsões produzidas com azeite virgem e das maioneses comerciais (tradicional e light), produtos alimentares usados como referência, foram avaliadas em duplicado por um método de condutividade utilizando o equipamento Rancimat 743 (Methrom, Suíça). O método consiste em borbulhar ar seco, limpo e filtrado com uma vazão de 20 L/h através de 3 g de amostra aquecida a 120 °C. Os compostos de oxidação formados ao longo do tempo, que são mais polares que os triglicerídeos (por exemplo, hidroperóxidos, álcoois e compostos carbonílicos), são transportados pelo fluxo de ar e borbulhando em água destilada, cuja condutividade aumenta. O dispositivo mede continuamente a condutividade e o período de tempo decorrente entre o início do ensaio até a formação dos produtos de oxidação (período de indução), permite obter a estabilidade da amostra à oxidação. Quando maior for esse valor, maior é a estabilidade da amostra. O parâmetro é calculado através de um software associado ao equipamento e corresponde ao intervalo de tempo entre o início do registro e o ponto de intersecção das tangentes à curva.

2.5.6. Propriedades de textura

A textura das emulsões otimizadas e das maioneses referência foram efetuadas por meio de um analisador de textura TA-XT plus da Stable Micro Systems (Vienna Court, Godalming UK) (**Figura 11**), equipado com uma célula de carga de 5 kg, de acordo com o método modificado de Roriz et al. (2020). O modo do teste foi configurado para “compressão”, tendo-se medido os seguintes parâmetros: firmeza, consistência, coesividade e trabalho de coesão. Utilizou-se uma sonda de alumínio P/45 de 45 mm e uma célula de extrusão traseira com disco de compressão de 35 mm de diâmetro para a análise. As amostras foram colocadas em um recipiente cilíndrico de acrílico (50 mm de diâmetro e 35 mm de altura), cobrindo até cerca de 75% do recipiente. O modo alvo foi definido como “distância” e configurado a 10 mm, enquanto o modo de disparo foi configurado em “força” com 5 g. Para cada amostra, foram efetuadas duas repetições da

análise do perfil de textura (TPA), nomeadamente nos tempos 0 e 10 minutos, empregando 5 mm/s como velocidade de pré- e pós-teste e 3 mm/s como velocidade de teste. Os resultados foram obtidos com o software Exponent versão 6.1.11.0, proprietário da Stable Micro Systems.



Figura 11. Analisador de Textura.

2.5.7. Análise nutricional

Para a análise nutricional foi efetuada uma previsão teórica tendo por base as propriedades do azeite virgem usado na preparação das emulsões *Pickering* otimizadas. Para efeitos de comparação utilizaram-se as tabelas nutricionais das maionesés usadas como referência de matrizes alimentares.

Capítulo 3

Resultados e Discussão

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. TESTES PRELIMINARES

Conforme descrito no capítulo 2, inicialmente foram desenvolvidos testes preliminares fundamentados em estudos anteriores realizados por Leimann et al. (Leimann et al., 2019) e Sharkawy, Barreiro & Rodrigues (Sharkawy, Barreiro & Rodrigues, 2019), com o objetivo de avaliar a capacidade de ação *Pickering* das partículas produzidas, para posteriormente seguirem-se estudos mais aprofundados. Desta forma, foram selecionadas cinco formulações de partículas, produzidas através da técnica de dispersão sólida, utilizando como matriz transportadora o polímero k-carragenina. É importante destacar que o polímero k-carragenina é obtido através de extratos de algas marinhas vermelhas, sendo portanto uma opção natural adequada para a preparação das partículas, resultando num produto que satisfaz a tendência de ingredientes e alimentos naturais disponibilizados pela engenharia alimentar.

Entre as cinco formulações escolhidas variou-se o teor de surfactante Tween 80, o teor de curcumina e o pH, conforme os valores apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Formulações das partículas selecionadas para os testes preliminares.

Amostra	Teor de curcumina (% m/m, base polímero)	pH	Surfactante Tween 80 (% m/m, base polímero)
KC1	15,00	4,50	15,00
KC2	8,88	3,58	24,19
KC3	21,12	5,42	24,19
KC4	8,88	5,42	5,81
KC5	21,12	3,58	5,81

Com a finalidade de observar se as partículas baseadas em k-carragenina apresentavam capacidade de formar emulsões *Pickering*, após a sua preparação, foram produzidas emulsões simples utilizando azeite neutro numa fração ϕ : 0,6 e 1,5% de partículas, calculado em relação ao total da emulsão. Os sistemas resultantes foram avaliados através de análise visual, microscopia ótica (MO) e efetuou-se o teste para

identificar o tipo de emulsão formada. Os resultados obtidos encontram-se resumidos na **Tabela 3**.

As análises visuais e microscópicas foram registradas logo após o preparo das emulsões. A partir da observação visual notou-se que 2 h após o preparo, as emulsões apresentavam completa separação de fases resultante de instabilidade física e/ou química, sendo que as fases superiores exibiam características mais próximas de uma emulsão, enquanto a fase inferior correspondia a uma fase sérum (fase aquosa). Face a esta observação, após o período de 2 h da produção das partículas, avaliou-se a fase superior pelo teste do tipo de emulsão, para estabelecer se as mesmas correspondiam a emulsões O/A ou A/O, e por MO com o propósito de avaliar a morfologia formada.

Adicionalmente, e com o propósito de avaliar se houve mudanças de instabilidade na morfologia das emulsões em função do tempo, uma semana após o preparo, as fases superiores das amostras foram novamente submetidas a análise por MO. As emulsões iniciais foram analisadas a uma ampliação de 200x, enquanto as fases superiores foram observadas a uma ampliação de 100x.

Através dos resultados apresentados, é possível observar que houve adsorção das partículas na interface óleo/água, promovendo alguma estabilidade entre os líquidos e, por conseguinte, manifestando potencial em agirem como partículas *Pickering*. Adicionalmente, não houve mudanças significantes da estabilidade da fase superior das emulsões uma semana após o preparo, exceto para a amostra KC5.

A amostra KC5 formou uma emulsão água em óleo, o que contrapõe os objetivos do trabalho, resultando na sua exclusão para estudos adicionais. Para a amostra KC3 não houve formação de gotículas numa fase inicial, embora após desestabilização se tenham formado gotículas em sua fase superior, contudo não foi possível verificar um padrão na sua morfologia, sendo também esta amostra eliminada para testes posteriores. Por fim, as amostras KC1, KC2 e KC4, as quais apresentaram formação de gotículas típicas de emulsões *Pickering*, foram escolhidas para os estudos seguintes.

Tabela 3. Resultados das emulsões produzidas com ϕ : 0,6 e 1,5% de partículas em relação ao total da emulsão.



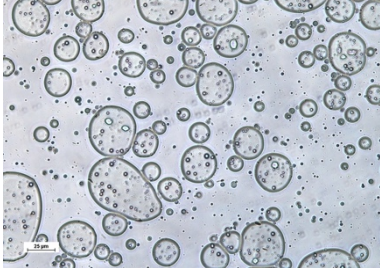
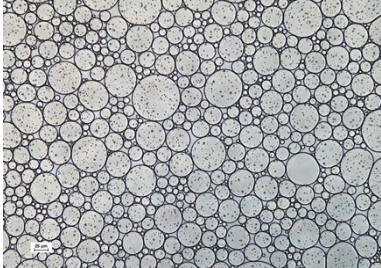
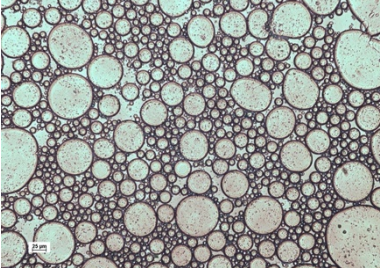


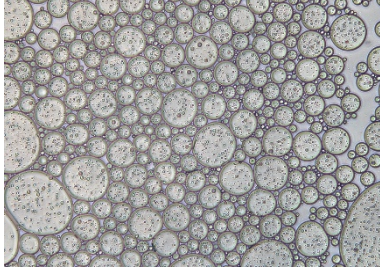
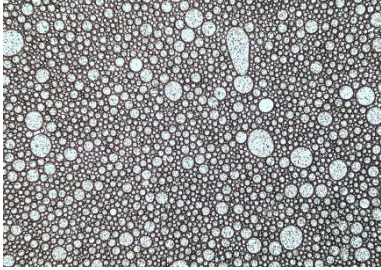
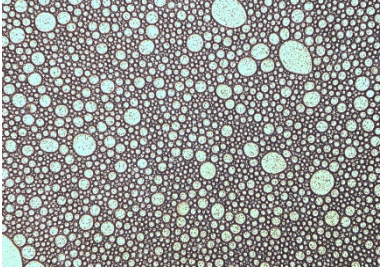


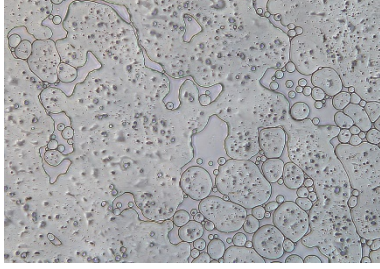
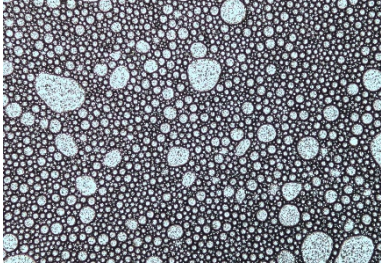
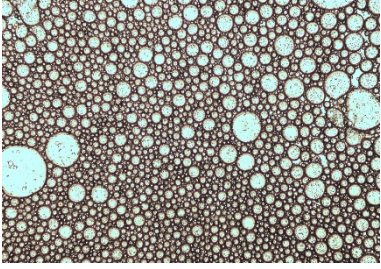
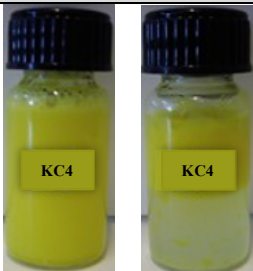
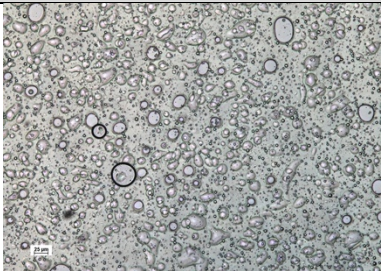
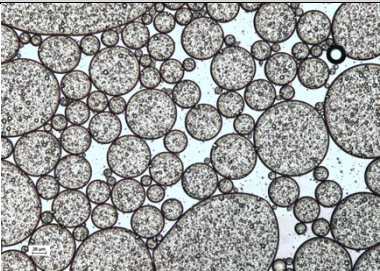
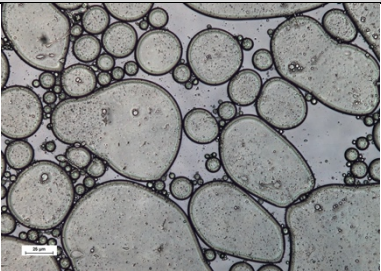
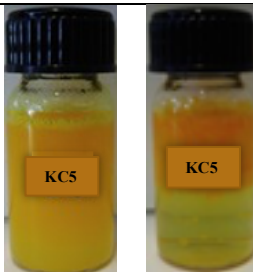
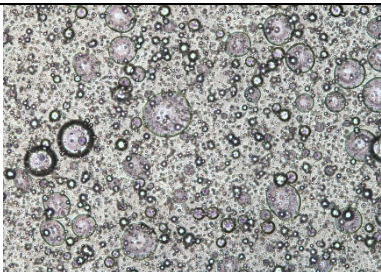
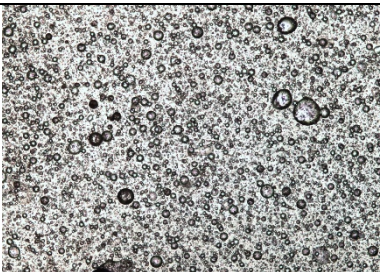
Partícula <i>Pickering</i>	Emulsão		Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 2 horas após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 1 semana após preparo	Tipo de emulsão
	logo após preparo	2 horas após preparo				
			200x	100x	100x	
KC1						O/A
KC2						O/A
KC3						O/A

Tabela 3. Resultados das emulsões produzidas com ϕ : 0,6 e 1,5% de partículas em relação ao total da emulsão (continuação).

Partícula <i>Pickering</i>	Emulsão logo após preparo	Emulsão 2 horas após preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 2 horas após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 1 semana após preparo	Tipo de emulsão
			200x	100x	100x	
KC4					O/A	
KC5				*	A/O	

*Obs: Não foi efetuada análise MO após uma semana para a amostra KC5, uma vez que a mesma apresentava separação de fases também na fase superior da emulsão.

Apesar da confirmação da formação de emulsão, nomeadamente com gotículas características de emulsão *Pickering*, a análise visual indicou separação de fases em todas as emulsões, o que motivou uma segunda fase de estudo, com a finalidade de avaliar a influência do conteúdo de partículas na estabilidade da emulsão. Seguindo os procedimentos já citados, foram preparadas novas emulsões simples com as partículas KC1, KC2 e KC4, variando a percentagem de partículas entre 1,5 e 3,0% em relação à fase aquosa e mantendo a fração de volume de azeite neutro fixa em ϕ : 0,6.

O registo visual das novas emulsões, bem como a análise de MO realizada para as mesmas e o teste do tipo de emulsão das fases superiores após 2 h do preparo, estão descritos na **Tabela 4**. Não foi realizada emulsão com uma percentagem de partículas de 1,5% para a amostra KC2, devido à falta de disponibilidade de partículas.

O aumento da concentração de partículas de 1,5 para 3,0% proporcionou resultados mais promissores em termos de morfologia e estabilidade da emulsão, fato perceptível na análise por microscopia ótica. As amostras com 3,0% de partículas mostraram maior capacidade no desenvolvimento de gotículas, em geral com menores tamanhos, mais estáveis e mais homogêneas ao longo do tempo, fato relacionado com a quantidade de partículas adsorvidas na superfície. Estes resultados encontram-se em concordância com a revisão de Albert et al. (Albert et al. 2019), que expõe que um baixo teor de partículas não é suficiente para estabilizar a área interfacial presente do meio, resultando na coalescência das gotículas antes mesmo que as partículas tenham tempo para estabilizá-las, levando geralmente a emulsões instáveis.

A utilização das partículas KC4 a 1,5% em relação a fase aquosa, proporcionou a formação de uma emulsão A/O, que contrapõe o objetivo do trabalho. Com o aumento da percentagem de KC4 para 3,0%, houve o desenvolvimento de uma emulsão do tipo O/A, porém esta apresentou uma morfologia caracterizada por gotículas de grandes dimensões e pouco homogêneas, desfavorável ao desenvolvimento de emulsões estáveis, de acordo com outros trabalhos. Por exemplo, Franzol e Rezende, (Franzol & Rezende, 2015), consideraram que tamanhos de partícula pequenos e que apresentem uma distribuição uniforme evitam fenômenos de coalescência. Entretanto, este efeito foi mais notório nas amostras produzidas com KC1 e KC2 utilizado 3% de partículas. Deste modo, a amostra produzida com KC4 foi descartada e as amostras com KC1 e KC2 foram selecionadas para prosseguir o trabalho dado o seu potencial em atuar como agentes estabilizadores *Pickering*.

Tabela 4. Resultados das emulsões produzidas através da razão ϕ : 0,6 com 1,5% e 3,0% de partículas em relação a fase aquosa.



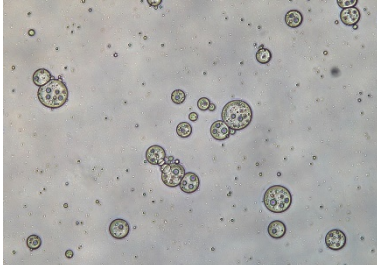
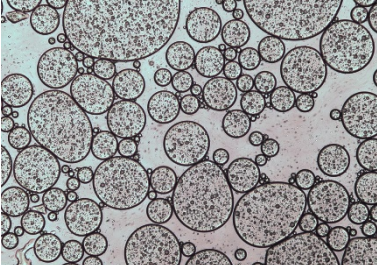
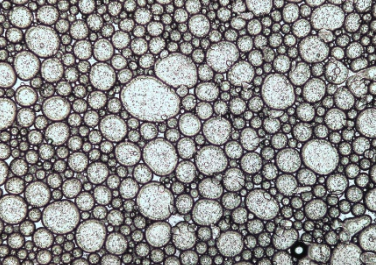


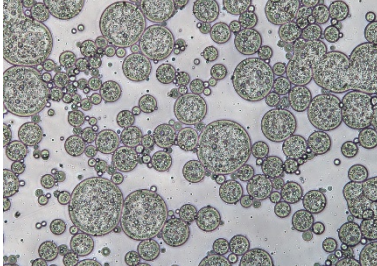
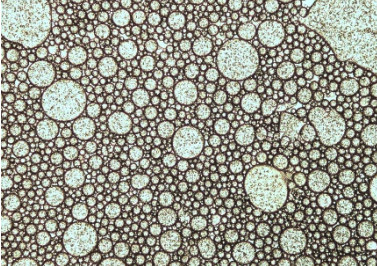
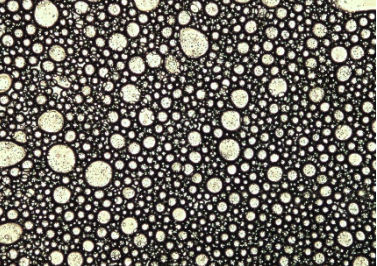


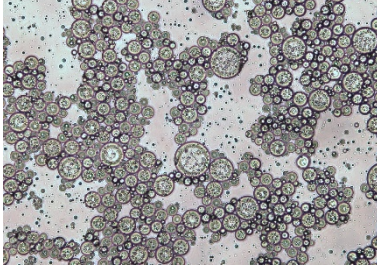
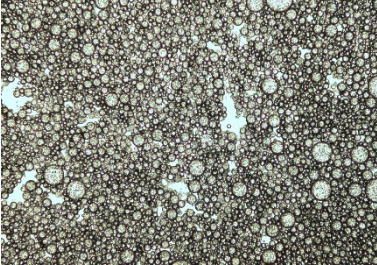
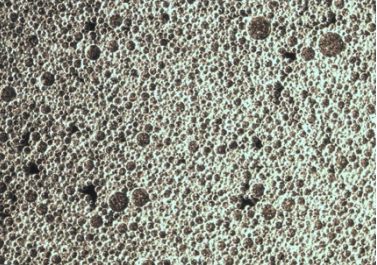


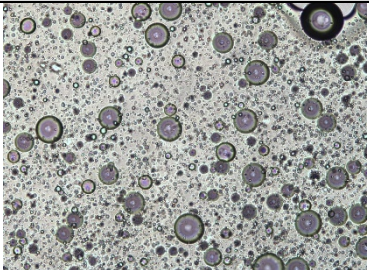
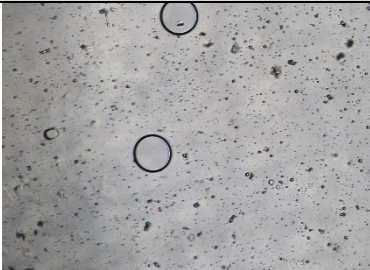
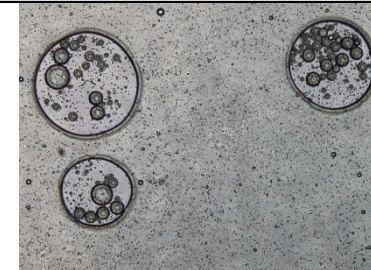


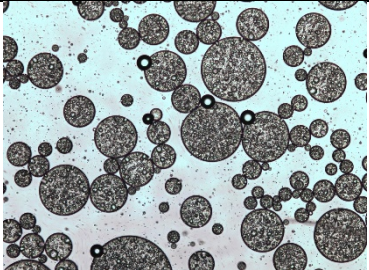
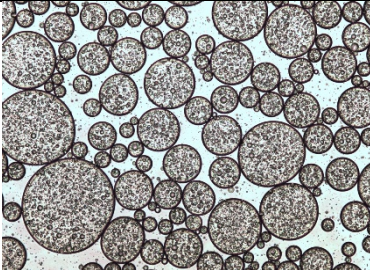
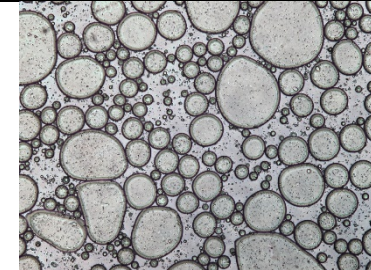
Partícula <i>Pickering</i>	Partículas em relação à fase aquosa (%)	Emulsão logo após preparo	Emulsão 2 horas após preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 2 horas após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 1 semana após preparo	Tipo de Emul são
				200x	100x	100x	
KC1	1,5						O/A
KC1	3,0						O/A
KC2	3,0						O/A

Tabela 4. Resultados das emulsões produzidas através da razão ϕ : 0,6 com 1,5% e 3,0% de partículas em relação a fase aquosa (continuação).

Partícula Pickering	Partículas em relação à fase aquosa (%)	Emulsão logo após preparo	Emulsão 2 horas após preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 2 horas após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 1 semana após preparo	Tipo de emulsão
				200x	100x	100x	
KC4	1,5						A/O
KC4	3,0						O/A

3.2. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS COM POTENCIAL PARA ATUAR COMO ESTABILIZADORES *PICKERING*

De acordo com os estudos preliminares, as partículas KC1 e KC2 foram selecionadas para a preparação e otimização de formulações de emulsões *Pickering*. Adicionalmente, o estudo foi estendido para incluir formulações semelhantes à KC1 substituindo o polímero por PVA ou PVP, visando incluir a influência do tipo de polímero utilizado na produção das partículas e na estabilidade das emulsões resultantes. As formulações e imagens das partículas elaboradas para o estudo encontram-se reunidas na **Tabela 5**. As partículas sólidas foram caracterizadas em termos de cor, molhabilidade e tamanho de partícula antes de serem utilizadas como agentes *Pickering* na preparação das emulsões.

Tabela 5. Partículas produzidas por dispersão sólida.





Ensaio	Teor de curcumina (% m/m, base polímero)	pH	Tween 80 (% m/m, base polímero)	Polímero	Partículas produzidas
KC1	15,00	4,50	15,00	k-carragenina	
KC2	8,88	3,58	24,19	k-carragenina	
PVA	15,00	4,50	15,00	PVA	

Tabela 5. Partículas produzidas por dispersão sólida (continuação).

Ensaio	Teor de curcumina (% m/m, base polímero)	pH	Tween 80 (% m/m, base polímero)	Polímero	Partículas produzidas
PVP	15,00	4,50	15,00	PVP	

3.2.1. Análise de cor

Os valores dos parâmetros de cor das quatro formulações de partículas *Pickering* produzidas estão apresentados na **Tabela 6**. As partículas contêm curcumina, principal corante presente nos rizomas da cúrcuma (*Curcuma longa*), muito utilizado como corante e condimento alimentar, além de apresentar atividade antimicrobiana e antioxidante. Quando adequadamente dispersa em meio aquoso, a curcumina apresenta cor amarela limão em meio ácido e laranja em meio básico (Constant, Stringheta & Sandi, 2002). Sendo assim, em geral as partículas apresentaram tonalidade amarelo/laranja. Os altos valores de luminosidade (L^*) indicaram que as amostras são claras. Os valores de a^* próximos a 0, essencialmente para as amostras KC2 e PVP, indicam que não houve efeito significativo fornecido pela cor verde (a^* muda para valores negativos) e vermelho (a^* muda a valores positivos). Por último, através dos valores de b^* elevados é possível concluir que todas as amostras se apresentaram com um tom fortemente amarelo ao considerar os valores de b^* positivos, como era de se esperar devido ao baixo valor de pH usado na produção das partículas.

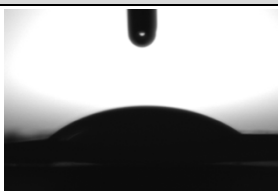
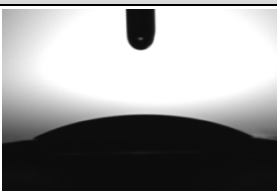
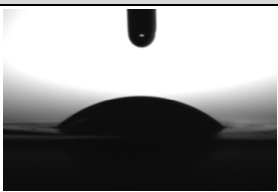
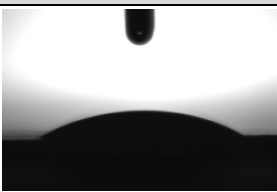
Tabela 6. Valores médios para os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) das partículas produzidas.

Parâmetros	KC1	Cor RGB	KC2	Cor RGB	PVA	Cor RGB	PVP	Cor RGB
L^*	85,57 ± 0,02		88,21 ± 0,03		88,43 ± 0,02		88,85 ± 0,01	
a^*	6,69 ± 0,02		0,77 ± 0,02		2,20 ± 0,04		0,34 ± 0,02	
b^*	93,95 ± 0,02		97,70 ± 0,00		98,32 ± 0,03		108,49 ± 0,01	

3.2.2. Ângulos de contato

As propriedades interfaciais das partículas produzidas foram avaliadas através do ângulo de contato e os resultados obtidos são apresentados na **Tabela 7**. Este parâmetro representa a molhabilidade das partículas, um dos fatores mais importantes na determinação do tipo de emulsão formada, assim como na sua estabilidade (Sharkawy et al., 2020). Partículas hidrofílicas originam valores de θ menores do que 90° sendo geralmente adequadas para preparar emulsões O/A, enquanto partículas hidrofóbicas originam valores de θ maiores do que 90° e frequentemente são adequadas para preparar emulsões A/O (Zhao, Wang & Zhang, 2021). Para todas as partículas obtiveram-se valores de θ entre 15° e 90° , manifestando o seu caráter hidrofílico e por consequência, o potencial para estabilizar emulsões O/A, seguindo o objetivo do trabalho. Os valores de ângulo de contato mais elevados foram $38,80^\circ$ e $34,97^\circ$ obtidos para as partículas de PVA e KC1, respetivamente. Consequentemente, estas apresentam predisposição para produzirem emulsões mais estáveis devido às propriedades irreversíveis de adsorção da emulsão *Pickering* serem favorecidas se o θ estiver entre 30° e 150° , quando a energia de desorção das partículas é várias ordens de magnitude superior à da energia térmica do movimento browniano (Low et al., 2020).

Tabela 7. Ângulos de contato das partículas solidas produzidas.

Ângulos de contato ($^\circ$)			
KC1	KC2	PVA	PVP
			
$34,97 \pm 1,21$	$23,78 \pm 1,72$	$38,80 \pm 6,66$	$29,33 \pm 2,23$

3.2.3. Tamanho de partícula por DLS

O tamanho das partículas foi determinado em volume e número por DLS. O tamanho de partícula em volume D_{10} , D_{50} e D_{90} correspondentes a 10, 50 e 90%, respetivamente, do volume total de partículas na amostra é apresentado na **Tabela 8**, enquanto os seus perfis de distribuição são mostrados na **Figura 12**. Os valores D_{10} , D_{50}

e D90 e a distribuição em número são apresentados na **Tabela 9** e na **Figura 13**, respetivamente.

As dimensões das partículas *Pickering* interferem substancialmente em duas propriedades da emulsão final, na estabilidade e no tamanho das gotículas. Partículas menores geralmente originam emulsões mais estáveis devido à cinética de adsorção mais rápida, o que corresponde a um empacotamento mais eficiente na interface dos líquidos (Low et al., 2020). Adicionalmente, o tamanho das partículas também determina a concentração mínima de partículas necessária para estabilizar uma emulsão. As partículas menores possuem superfície de contato superior às de uma partícula grande, atingindo desta forma uma cobertura de interface superior e, conseqüentemente, conseguindo estabilizar um volume superior de emulsão, comparativamente com partículas de maior tamanho (Niroula et al., 2020).

Neste contexto, as partículas apresentaram tamanhos em volume consideravelmente pequenos, variando de 2,37 a 4,21 μm , indicando que têm potencial para serem utilizadas de forma efetiva na produção de emulsões *Pickering*. Com respeito ao perfil de distribuição (**Figura 12**), observou-se uma distribuição multimodal, que pode resultar de aglomerações de partículas menores, problema frequentemente ocasionado pela secagem por *spray-drying* (Gharsallaoui et al., 2007).

Diversos parâmetros do processo de dispersão sólida podem interferir no tamanho das partículas geradas, tal como o conteúdo sólido, a taxa do fluxo de alimentação e a temperatura de entrada (Ziaee et al., 2017). Adicionalmente, é importante ter em consideração que a miscibilidade entre o polímero transportador e o composto a encapsular deve ser significativa (Kwon et al., 2019). Por exemplo, alguns polímeros sintéticos hidrofílicos são amplamente empregues em DS como transportadores. O PVP encontra-se entre os mais frequentemente utilizados pela sua capacidade de melhorar a solubilidade e dissolução de muitos compostos pouco solúveis em água (Kumavat et al., 2013). Posto isto, foi constatado que as partículas produzidas a partir do polímero PVP apresentaram um bom desempenho, tendo-se observado a média de tamanho mais baixa (2,37 μm). Outro polímero sintético hidrofílico que foi utilizado no estudo é o PVA. Neste caso, as partículas de PVA, apesar de possuir boa solubilidade em água, a energia elevada associada à dissolução da fase cristalina exige temperaturas elevadas para que ocorra a sua dissolução (Aranha & Lucas, 2001), fato que pode ter interferido no desenvolvimento das DS, originando partículas de maior tamanho (4,21 μm).

Com respeito aos compostos a encapsular, o uso de surfactantes em dispersões sólidas auxilia na miscibilidade dos compostos hidrofóbicos devido à sua natureza anfifílica, além de propiciar diversos outros benefícios como a melhora da estabilidade física e a redução da recristalização (Chaudhari & Dugar, 2017). Neste contexto, observou-se que as partículas KC2, nomeadamente a amostra que utilizou a maior percentagem de surfactante Tween 80 (Tabela 5), originou tamanhos de partículas pequenas (2,39 μm), comparativamente ao que sucedeu com a amostra KC1, que usou os mesmos componentes mas em outra proporção. Contudo, a formulação baseada em KC1, originou uma distribuição de tamanhos relativamente pequenos (3,29 μm).

É importante notar que apesar das partículas produzidas usando PVP serem ligeiramente menores, KC2 (e KC1 embora em menor grau) originou um valor muito aproximado possuindo como vantagem o fato de utilizar K-carragenina, um polímero de origem natural amplamente empregado em produtos alimentares (Geonzon et al., 2020).

Tabela 8. Distribuição do tamanho de partículas em volume.

Amostra	D10 (μm)	D50 (μm)	D90 (μm)
KC1	0,56 \pm 0,00	3,29 \pm 0,02	164 \pm 1,69
KC2	0,53 \pm 0,00	2,39 \pm 0,01	70,2 \pm 2,26
PVA	0,63 \pm 0,00	4,21 \pm 0,11	167 \pm 2,63
PVP	0,56 \pm 0,00	2,37 \pm 0,01	88,6 \pm 1,09

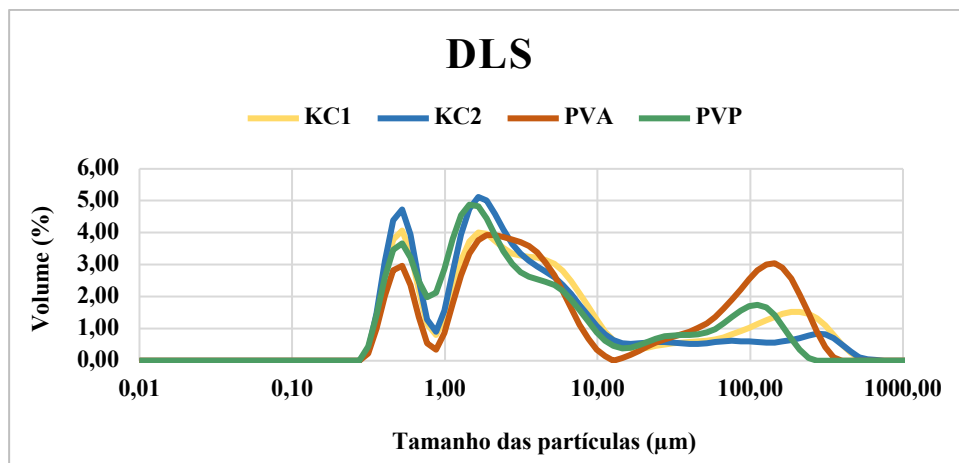


Figura 12. Distribuição do tamanho de partículas em volume.

Quando analisado o tamanho e a distribuição do tamanho de partícula em número (Tabela 9 e Figura 13), observou-se que todas as formulações apresentaram a mesma média de tamanho (0,48 μm) e distribuição uniforme, fato importante na produção de

emulsões *Pickering* estáveis (Wu & Ma, 2016). A reprodutibilidade dos resultados supõe uniformidade nos procedimentos e nas formulações, mesmo que estas tenham diferido no polímero utilizado, demonstrando ser um processo eficiente na produção de partículas padronizadas, característica de extrema importância na indústria alimentar para garantir a qualidade e a segurança dos alimentos.

Tabela 9. Distribuição do tamanho de partículas em número.

Amostra	D10 (µm)	D50 (µm)	D90 (µm)
KC1	0,37 ± 0,00	0,48 ± 0,00	0,69 ± 0,00
KC2	0,37 ± 0,00	0,48 ± 0,00	0,69 ± 0,00
PVA	0,37 ± 0,00	0,48 ± 0,00	0,69 ± 0,00
PVP	0,36 ± 0,00	0,48 ± 0,00	0,79 ± 0,00

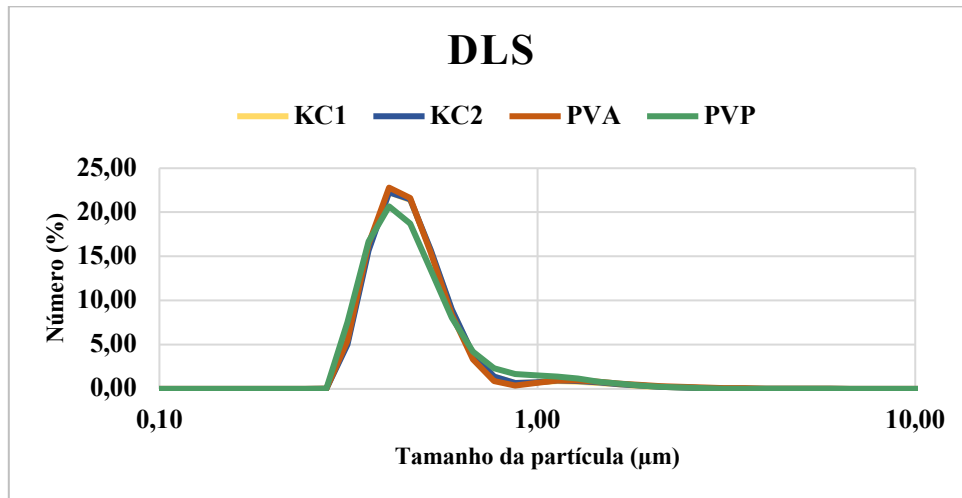


Figura 13. Distribuição do tamanho de partículas em número.

3.3. PRODUÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS EMULSÕES *PICKERING*

Diversos fatores podem afetar a estabilidade e o desempenho funcional das emulsões *Pickering* destinadas à indústria alimentar, tal como o tamanho de gotícula, molhabilidade e a concentração de partículas, além das propriedades das fases (óleo e água) e a razão óleo/água (Yan et al., 2020). Assim, um estudo de otimização das concentrações de azeite e concentração de partículas (com as quatro formulações produzidas) foi efetuado com o propósito de obter as melhores formulações para se obterem emulsões *Pickering* estáveis. Análises de morfologia através de microscopia ótica e observação visual foram utilizadas como principais parâmetros de avaliação.

3.3.1. Otimização da razão óleo/água

O volume da fase dispersa influencia significativamente a estabilidade e o tipo de emulsão formada. As variações na razão óleo/água podem levar a mudanças significativas, como por exemplo inversão de fases e alterações de estabilidade (Ortiz et al., 2020).

Devido às evidências dos testes preliminares de que o aumento da percentagem de partículas de 1,5 para 3,0% resultou em melhorias na estabilidade, fixou-se a percentagem de partículas em 3,0% e variou-se ϕ (fração de óleo) em 0,4 e 0,6, possibilitando analisar sua influência. Além das observações visuais e microscópicas realizadas imediatamente após preparo das emulsões e após 2 horas, momento em que as amostras apresentavam separação de fases, caracterizaram-se as fases superiores por meio de microscopia ótica e análise do tipo de emulsão. Os resultados obtidos encontram-se reunidos na **Tabela 10**. Adicionalmente, todas as amostras originaram separação de fases e conseqüente instabilidade física e/ou química tendo-se verificado durante 2 semanas a variabilidade da altura destas (fase superior e inferior). Os resultados são apresentados na **Tabela 11**, onde foi observado que a altura das fases se manteve estável no decorrer do tempo. Todas as emulsões *Pickering* produzidas foram catalogadas como O/A, de acordo com o esperado para o prosseguimento do trabalho. Não obstante, os sistemas comportaram-se de forma distinta no que respeita à variação da fração da fase óleo.

Tabela 10. Otimização da fase oleosa na estabilidade de emulsões *Pickering*.



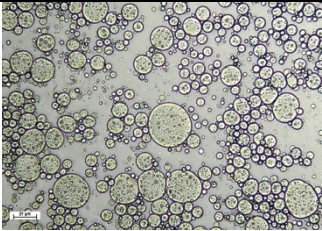
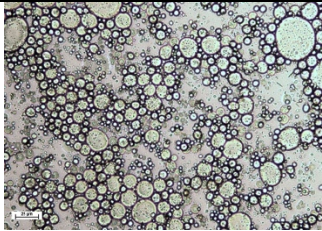


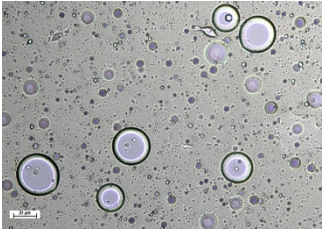
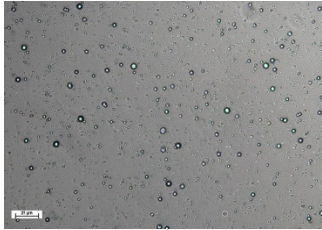
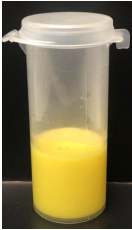

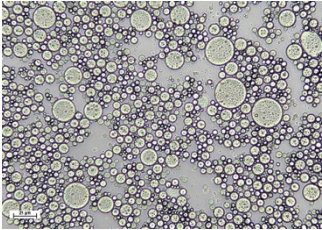
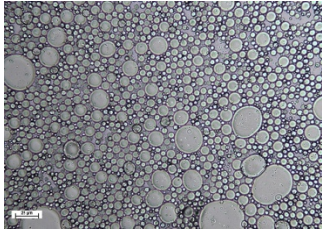
Partícula <i>Pickering</i>	Partículas em relação à fase aquosa (%)	ϕ	Registo de imagem logo após preparo	Registo de imagem 2 horas após o preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo		Tipo de emulsão	Características
					200x	100x		
KC1	3,0	0,4					O/A	Fase superior com aspecto de gel; Fase inferior composta em maioria por água contendo grande quantidade de óleo;
KC1	3,0	0,6					O/A	Fase superior com aspecto líquido; Fase inferior composta em maioria por água contendo grande quantidade de óleo; Não houve formação de emulsão;
KC2	3,0	0,4					O/A	Fase superior densa com aspecto de gel; Fase inferior composta em maioria por água contendo pequena quantidade de óleo;

Tabela 10. Otimização da fase oleosa na estabilidade de emulsões *Pickering* (continuação).

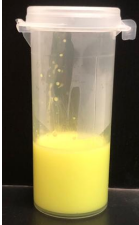

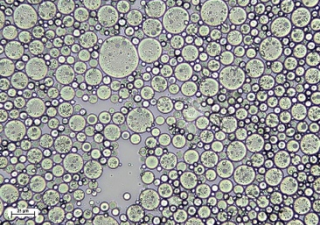
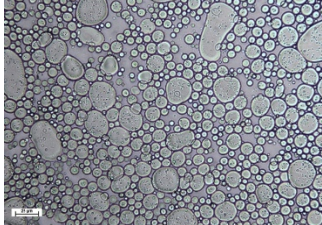


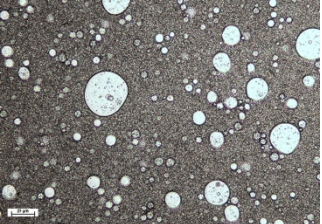
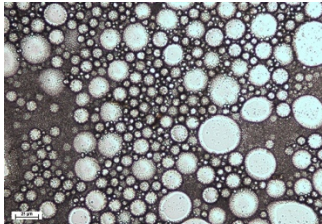


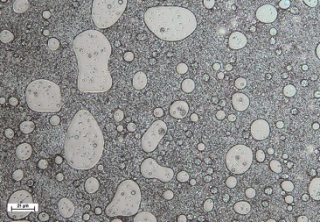
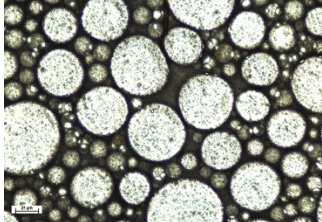
Partícula <i>Pickering</i>	Partículas em relação à fase aquosa (%)	ϕ	Registo de imagem logo após preparo	Registo de imagem 2 horas após o preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 2 horas após preparo	Tipo de emulsão	Características
					200x	200x		
KC2	3,0	0,6					O/A	Fase superior com aspecto de gel; Fase inferior composta em maioria por água contendo pequena quantidade de óleo;
PVA	3,0	0,4					O/A	Fase inferior densa (maior dureza); Separação na fase superior e aspecto líquido;
PVA	3,0	0,6					O/A	Fase inferior densa (maior dureza); Separação na fase superior e aspecto líquido;

Tabela 10. Otimização da fase oleosa na estabilidade de emulsões *Pickering* (continuação).



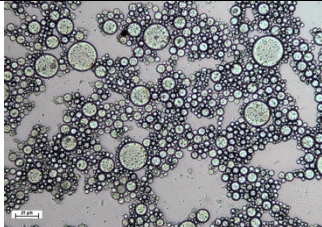
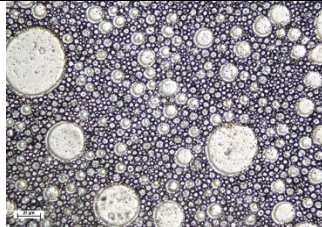
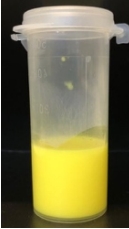
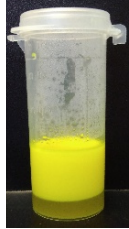
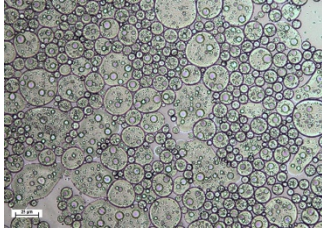
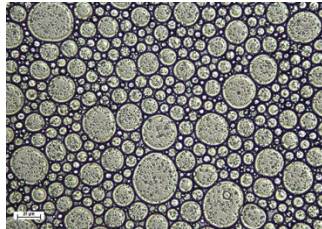
Partícula <i>Pickering</i>	Partículas em relação à fase aquosa (%)	ϕ	Registo de imagem logo após preparo	Registo de imagem 2 horas após o preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Microscopia ótica da fase superior da emulsão 2 horas após preparo	Tipo de emulsão	Características
					200x	200x		
PVP	3,0	0,4					O/A	Fase superior densa; Fase inferior composta em maioria por água contendo pequena quantidade de óleo;
PVP	3,0	0,6					O/A	Fase superior densa; Fase inferior composta em maioria por água contendo pequena quantidade de óleo.

Tabela 11. Altura das fases superior e inferior das emulsões produzidas.

Partícula <i>Pickering</i> - ϕ	Altura Fase superior (cm)	Altura fase inferior (cm)
KC1 - 0,4	1,8	0,9
KC1 - 0,6	1,4	1,0
KC2 - 0,4	1,4	1,3
KC2 - 0,6	1,9	0,6
PVA - 0,4	1,0	1,8
PVA - 0,6	1,5	0,9
PVP - 0,4	1,4	1,5
PVP - 0,6	1,9	0,6

O sistema baseado nas partículas KC1 utilizando ϕ 0,4 originou uma fase superior composta por uma emulsão gelificada, aspecto que origina uma elevada estabilidade durante armazenamento devido ao lento movimento das gotículas de óleo (Lin, Kelly & Miao, 2020). Para ϕ 0,6 não houve formação de emulsão. Assim, concluiu-se que para as partículas KC1 o uso de ϕ inferiores, ou seja 0,4, favoreceu o fenômeno de gelificação podendo este ser ajustado na formulação final destas emulsões dando lugar a emulsões *Pickering* de elevada estabilidade.

No caso dos sistemas produzidos com as partículas KC2, observou-se que independentemente da proporção ϕ (0,4 ou 0,6), para ambas as situações houve formação de gel na fase superior (fenômeno desejado para a sua aplicação em matrizes alimentares), porém com o aumento da fase óleo a separação de fases diminuiu significativamente. Neste contexto, é importante assinalar que a sedimentação e o *creaming* de uma emulsão são caracterizados como funções de separação gravitacional com o tempo. A separação mínima de fases é considerada como indicador de maior estabilidade da emulsão (Nishad et al., 2021). Consequentemente, nos sistemas baseados em KC2 o uso de ϕ elevados favoreceria a formação de emulsões *Pickering* estáveis em forma de gel.

As amostras preparadas a partir do polímero PVA, para ambos valores de ϕ , manifestaram separação (também na fase superior) ao longo do tempo, além de apresentarem gotículas de tamanho superior ao das emulsões produzidas a partir dos polímeros PVP e k-carragenina. Estes resultados indicaram que as partículas baseadas em PVA não conduziram a emulsões *Pickering* com propriedades prometedoras.

O sistema das partículas baseadas no PVP apresentou, tanto para ϕ 0,4 como ϕ 0,6, fases superiores compostas por emulsões densas, porém sem aspecto de gel. Assim,

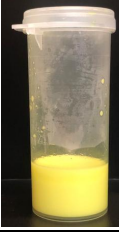
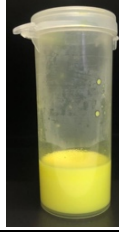
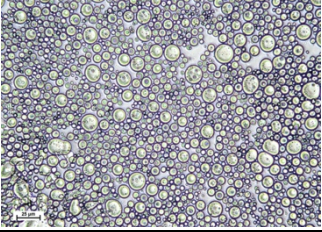
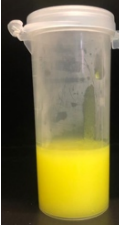

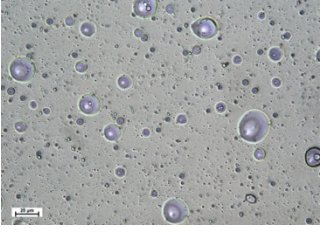
tal como no caso da KC2, com o aumento de ϕ a separação de fases foi consideravelmente menor, isto é, o aumento da fase óleo favoreceu na estabilidade da emulsão.

Entre as amostras produzidas foi observado que apenas as provenientes do polímero k-carragenina evidenciaram a capacidade de formar géis, competência característica das carragenas, muito utilizadas para gelificação, espessamento e estabilização em diversas aplicações, particularmente na área alimentar (Sason & Nussinovitch, 2018). Face a esta observação, entre todas as emulsões testadas, a KC2 com ϕ 0,6 indicou ser a mais estável dado que originou uma emulsão gelificada, com menor separação de fases e apresentou uma morfologia formada por partículas relativamente pequenas. Deste modo, esta formulação foi empregue na etapa seguinte do processo de otimização, onde se avaliou a influência do fator concentração de partículas em relação à estabilidade das emulsões *Pickering*.

3.3.2. Otimização da concentração de partículas

A concentração de partículas influencia de forma significativa a estabilidade e o tamanho das gotas da emulsão. Para que as partículas coloidais atuem como emulsificantes estas são adsorvidas na interface óleo/água, deste modo a estabilidade da emulsão tende a aumentar proporcionalmente à concentração de partículas. Adicionalmente, quando as gotículas da emulsão são cobertas com uma camada compacta de partículas, a coalescência pode ser evitada (Ortiz et al., 2020). Assim, e com base nos resultados da secção anterior, para o sistema das partículas KC2 utilizando ϕ 0,6, variou-se a concentração de partículas entre 4,0 e 5,0% visando avaliar a estabilidade da emulsão face a este fator. Os resultados obtidos encontram-se reunidos na **Tabela 12**.

Tabela 12. Otimização da concentração de partículas na estabilidade de emulsões *Pickering*.

Partícula <i>Pickering</i>	Partículas em relação à fase aquosa (%)	ϕ	Registo de imagem logo após preparo	Registo de imagem 2 horas após o preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Características
					200x	
KC2	4,0	0,6				Emulsão se manteve estável apresentando-se sob aspecto de gel;
KC2	5,0	0,6				Prevê-se que a emulsão atingiu o limite de solubilidade. Aspecto líquido;

A amostra produzida com 4,0% de partículas manifestou excelente estabilidade, desenvolvendo uma emulsão gelificada, sem separação de fases e apresentando uma morfologia de gotículas relativamente pequenas e uniformes. Assim, esta formulação mostrou potencial tendo em vista o principal objetivo do trabalho, ou seja, produzir emulsões estáveis com potencial para serem utilizados como matrizes alimentares.

Para o ensaio utilizando 5,0% de partículas, observou-se a formação de uma emulsão muito instável, ocorrendo separação de fases logo após preparo. Neste caso, acredita-se que a emulsão tenha atingido o limite de solubilidade devido à presença de um número elevado de partículas, superior ao que o processo de homogeneização promovido pelo Ultra-Turrax consegue incorporar na emulsão para garantir sua estabilidade.

Devido ao resultado promissor obtido para a emulsão contendo 4,0% de partículas, no próximo estágio da otimização o fator concentração de partículas foi fixado em 4%, e variou-se a razão de óleo/água para todos os sistemas, com o intuito de avaliar a possibilidade de obter formulações estáveis com as outras partículas.

3.3.3. Otimização da razão óleo-água utilizando 4% de partículas

No presente estudo, o aumento da concentração de partículas para 4,0% evidenciou, quando aplicado às partículas KC2, resultados promissores. Desta forma,

como a razão óleo/água revelou um comportamento distinto para os diferentes sistemas, analisou-se o desempenho destes em função da fração óleo usando uma concentração de partículas fixa (4,0%). Os resultados obtidos encontram-se listados na **Tabela 13**.

Tabela 13. Otimização da fase oleosa associada a concentração de partículas de 4% em emulsões Pickering.



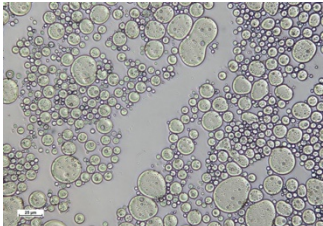
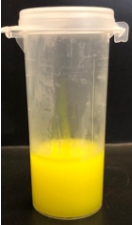
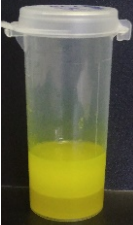



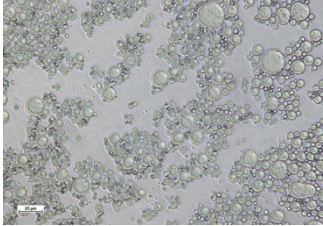
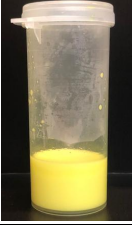
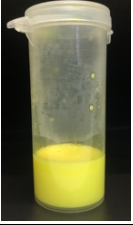
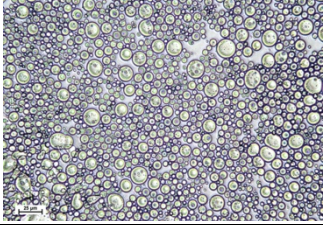
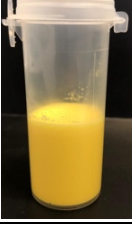

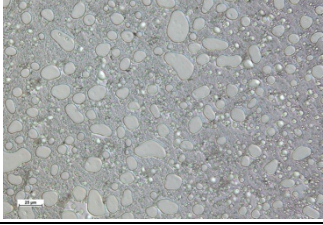
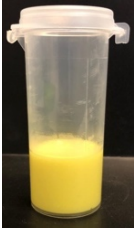

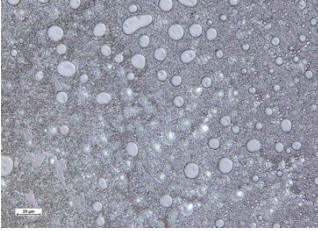
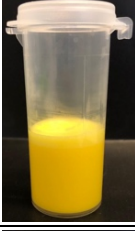
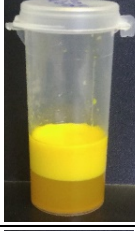
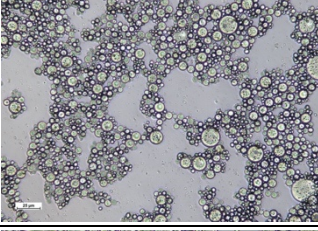
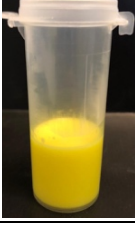

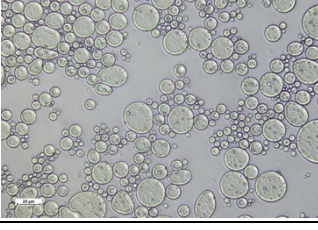
Partícula Pickering	ϕ	Registo de imagem logo após preparo	Registo de imagem 2 horas após o preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Características
				200x	
KC1	0,4				Fase superior composta por gel; Pouca separação de fases;
KC1	0,6				Fase superior líquida; Fase inferior espessa;
KC2	0,4				Fase superior composta por gel; Pouca separação de fases;
KC2	0,6				Emulsão se manteve estável apresentando-se sob aspecto de gel;
PVA	0,4				Sem formação de emulsão;

Tabela 13. Otimização da fase oleosa associada a concentração de partículas em emulsões *Pickering* (continuação).

Partícula <i>Pickering</i>	ϕ	Registo de imagem logo após preparo	Registo de imagem 2 horas após o preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Características
				200x	
PVA	0,6				Sem formação de emulsão;
PVP	0,4				Fase superior espessa; Fase inferior líquida;
PVP	0,6				Fase superior espessa; Fase inferior líquida.

Analisando os resultados observou-se que os sistemas mantiveram um comportamento diferente relativamente à razão óleo/água (tal como aconteceu com a concentração de partículas inferior). Assim, considerando o sistema baseado nas partículas KC1, quando produzidas com ϕ 0,4 gerou-se uma emulsão gelificada com estabilidade promissora, apresentando apenas uma separação de fases mínima. Já quando elaboradas com ϕ 0,6 não houve formação de emulsão. Para as partículas KC2, ambas as razões O/A (0,4 e 0,6) originaram emulsões gelificadas com estabilidade significativa, no entanto com ϕ 0,4 acabou por se observar separação de fases, enquanto com ϕ 0,6 a emulsão apresentou-se integralmente estável.

Com o sistema baseado em partículas de PVA não houve formação de emulsões na gama de condições estudadas. Já com PVP, para a concentração de partículas de 4,0% não ocorreram diferenças significativas, comparativamente às emulsões utilizando 3,0%. Assim, o aumento da razão O/A de 0,4 para 0,6, tal como mostram os resultados apresentados na **Tabela 10**, verificou-se uma melhoria na estabilidade da emulsão, porém apresentando ainda separação de fases.

Por conseguinte, para progredir com o objetivo do trabalho, a emulsão baseada em KC2 com ϕ 0,6 foi selecionada para as análises adicionais devido ao seu potencial para as aplicações previstas. Relativamente a KC1 ϕ 0,4 e a KC2 ϕ 0,4 seguiu-se a otimização de suas estabilidades estudando a influência da concentração de partículas.

3.3.4. Otimização dos sistemas baseados nas partículas KC1 e KC2

Devido aos resultados promissores dos sistemas baseados em KC1 e KC2 para ϕ 0,4 e 4,0% de partículas, e tendo conhecimento que para um conteúdo de 5,0% de partículas é excedido o limite de solubilidade, avaliou-se o comportamento das amostras fixando a razão óleo/água em ϕ 0,4 e aumentando a concentração de partículas na gama de valores de 4 a 5%, com o intuito de ultrapassar a instabilidade que origina a separação de fases. Os resultados obtidos encontram-se listados na **Tabela 14**.

O aumento da concentração de partículas para 4,5% promoveu um incremento significativo da estabilidade das emulsões produzidas, tendo ambas desenvolvido uma separação de fases mínima. Assim, aumentou-se a concentração de partículas para 4,7% visando obter emulsões totalmente estáveis.

Como é possível observar pela análise dos resultados da **Tabela 14**, as emulsões baseadas nas partículas KC1 e KC2 com ϕ 0,4 e 4,7% de partículas resultaram em emulsões gelificadas, completamente estáveis, apresentando uma morfologia caracterizada por partículas pequenas e uniformes, satisfazendo desta forma as condições de estabilidade pretendidas. Assim, conclui-se que foi possível obter 3 formulações adequadas para produzir emulsões *Pickering* estáveis para dar continuidade ao trabalho, as quais se encontram resumidas na **Tabela 15**.

Tabela 14. Otimização dos sistemas de KC1 e KC2 (ϕ 0,4) sob concentração de partículas.


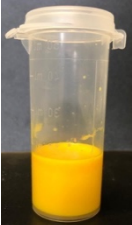
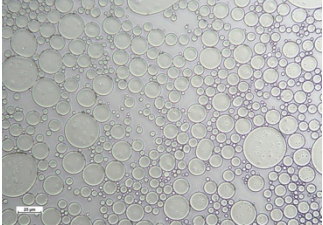
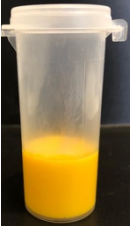

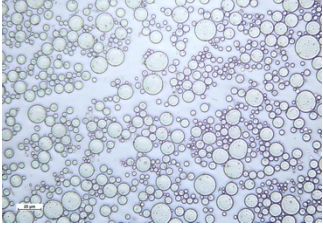


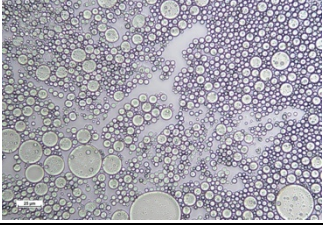

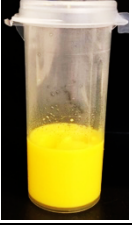
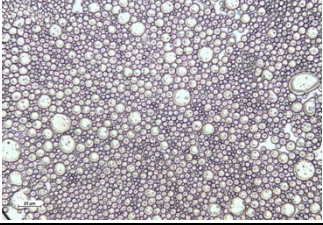


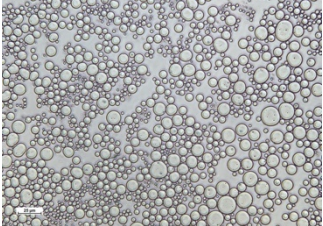


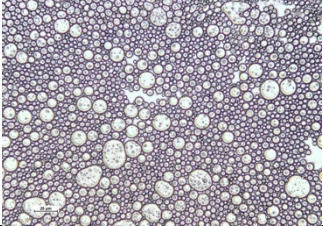


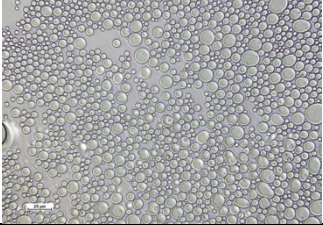
Partícula Pickering	Partículas em relação à fase aquosa (%)	Registo de imagem logo após preparo	Registo de imagem 2 horas após o preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo	Características
				200x	
KC1	4,5				Emulsão estável, formação de gel, pouca separação;
KC1	4,7				Emulsão se manteve estável apresentando-se sob aspecto de gel;
KC2	4,5				Emulsão estável, formação de gel, pouca separação.
KC2	4,7				Emulsão se manteve estável apresentando-se sob aspecto de gel.

Tabela 15. Emulsões *Pickering* finais do estudo de otimização.

Partícula <i>Pickering</i>	Partículas em relação à fase aquosa (%)	ϕ	Registo de imagem logo após preparo	Registo de imagem 2 horas após o preparo	Microscopia ótica da emulsão logo após preparo
					200x
KC1	4,7	0,4			
KC2	4,7	0,4			
KC2	4,0	0,6			

3.4. CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES *PICKERING* PRODUZIDAS

Para o processo de otimização descrito anteriormente, todas as amostras foram produzidas com azeite neutro para que não houvesse interferência nas propriedades de sabor, cor e odor aos sistemas, possibilitando deste modo que a avaliação fosse exclusivamente sobre a intervenção das partículas *Pickering* e das proporções das fases dispersa e contínua na estabilidade. Contudo, o objetivo do presente trabalho consiste em aplicar estes sistemas como matriz alimentar, deste modo, foram produzidas novas emulsões dos sistemas otimizados substituindo o azeite neutro por um azeite virgem. As caracterizações foram efetuadas para as emulsões *Pickering* desenvolvidas com ambos azeites.

3.4.1. Estabilidade das emulsões *Pickering* ao longo do tempo

As emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis, portanto as suas propriedades tendem a alterar-se com o tempo. Todavia, estas podem permanecer inalteradas por um tempo determinado, ocorrência conhecida como “estabilidade da emulsão” (Ortiz et al., 2020). A estabilidade das emulsões *Pickering* produzidas foi avaliada durante um período de 28 dias à temperatura ambiente e com base em duas técnicas: (i) microscopia ótica, com o intuito de analisar a variação da morfologia; (ii) determinação do *creaming index* (CI %).

3.4.1.1. Microscopia ótica

As propriedades morfológicas e estruturais das emulsões *Pickering* podem ser identificadas de modo eficaz através da sua visualização, no entanto sabe-se que o olho humano só é capaz de observar objetos até ao tamanho de cerca de 0,1 mm, enquanto as componentes estruturais das emulsões *Pickering* são muito inferiores a esse valor. Deste modo, uma série de técnicas microscópicas foram desenvolvidas, entre estas a microscopia ótica, permitindo assim a visualização destas características (Low et al., 2020).

Assim, as **Tabelas 16 e 17** representam a morfologia das emulsões preparadas com azeite neutro e virgem, respetivamente. É importante destacar que a proporção entre as fases contínua e dispersa e o tipo de óleo empregue na produção da emulsão são fatores

determinantes para a estabilidade da mesma. O tipo de óleo interfere na tensão interfacial óleo/água e, conseqüentemente, pode interferir na interação entre as gotículas (Ortiz et al., 2020). Comparando as amostras elaboradas com os dois azeites é possível notar que não houve diferenças significativas em relação ao comportamento observado para as gotículas. Contudo, em particular para a emulsão KC2 ϕ 0,6 (4,0%), observou-se um aumento mais significativo do raio das gotículas a partir dos 14 dias de armazenamento (t14), para a situação onde se utilizou azeite virgem.

Como já focado, a concentração de partículas afeta substancialmente a estabilidade e o tamanho das gotas da emulsão. Para concentrações baixas há tendência a formarem-se gotas maiores e, por conseguinte, emulsões menos estáveis (Chen et al., 2020). Assim, as emulsões baseadas em KC2 com 4,0% de partículas, para ambos os azeites testados, originaram gotículas nitidamente maiores que apresentaram um maior aumento de tamanho com o tempo, comparativamente às emulsões com 4,7% de partículas, revelando ser a formulação menos estável entre as 3 selecionadas.

Os sistemas baseados em KC1 e KC2 com ϕ 0,4 e 4,7% de partículas, com ambos os azeites, originaram gotículas muito pequenas e com boa estabilidade ao longo do período de análise, indicando deste modo uma elevada resistência às instabilidades físicas, tais como coalescência e amadurecimento de Ostwald.

Tabela 16. Imagens (aumento 200x) de microscopia ótica das emulsões *Pickering* produzidas com azeite neutro.

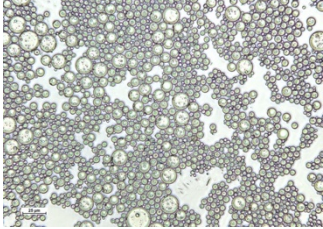
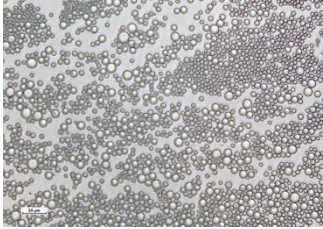
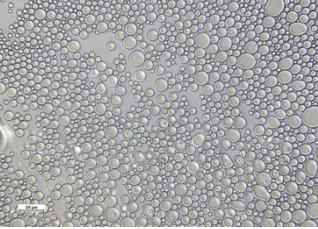
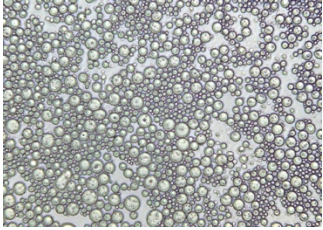
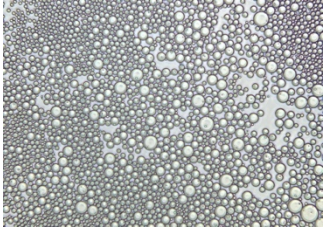
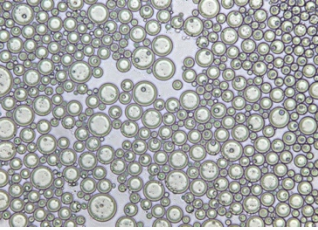
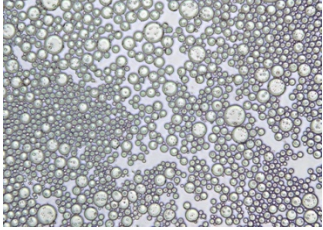
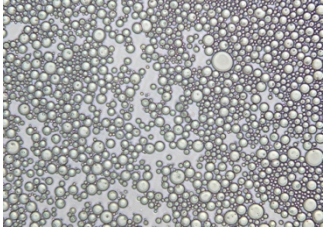
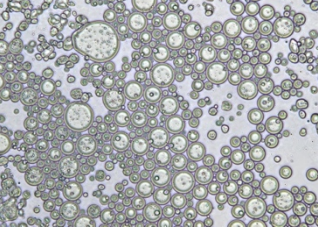
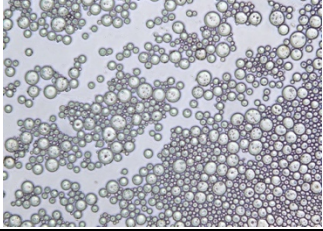
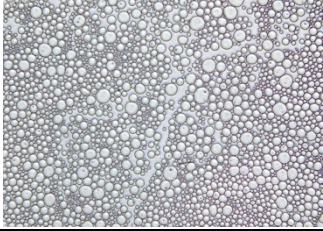
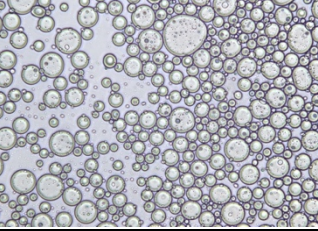
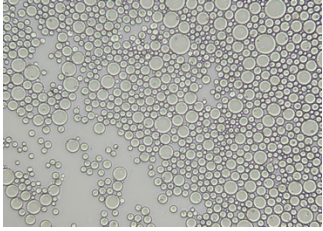
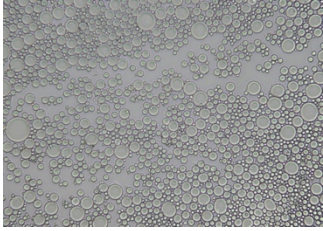
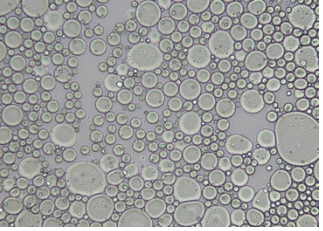
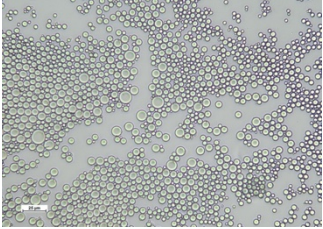
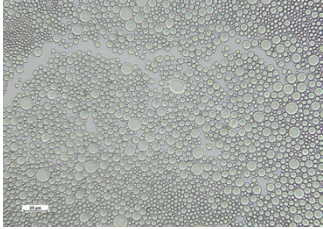
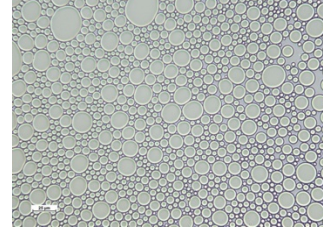
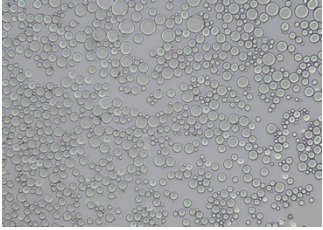

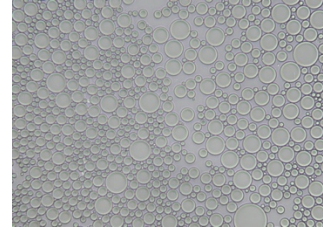
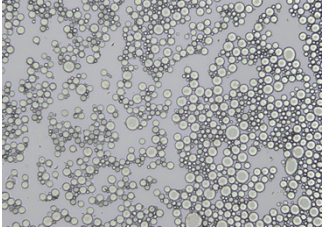
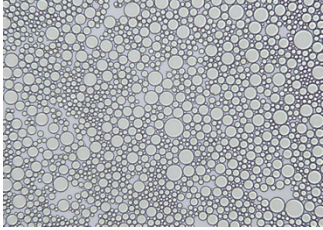
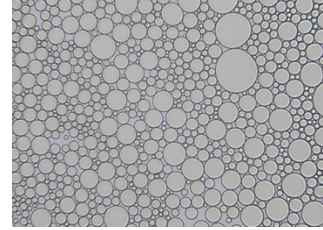
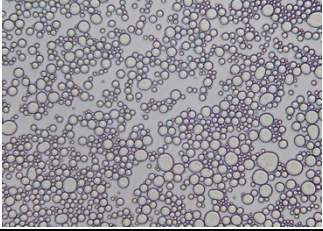
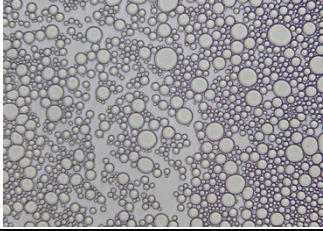
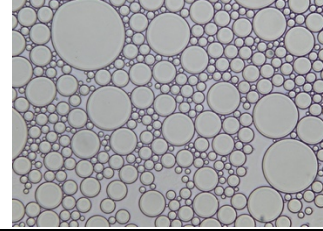
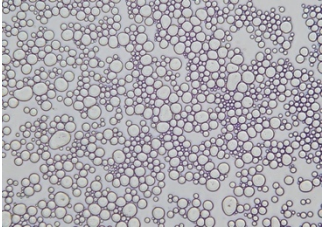
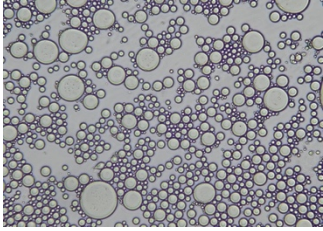
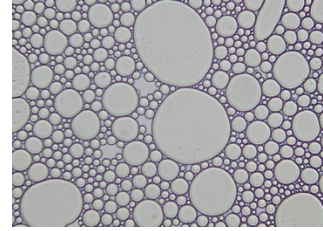
Tempo (dias)	KC1 ϕ 0,4 (4,7%)	KC2 ϕ 0,4 (4,7%)	KC2 ϕ 0,6 (4,0%)
t0			
t7			
t14			
t21			
t28			

Tabela 17. Imagens (aumento 200x) de microscopia ótica das emulsões *Pickering* produzidas com azeite virgem.

Tempo (dias)	KC1 ϕ 0,4 (4,7%)	KC2 ϕ 0,4 (4,7%)	KC2 ϕ 0,6 (4,0%)
t0			
t7			
t14			
t21			
t28			

3.4.1.2. *Creaming Index*

Sabe-se que as emulsões são geralmente compostas pela mistura de uma fase óleo e uma fase aquosa, com o auxílio de um emulsificante. Assim, devido à menor densidade da fase óleo, as gotículas de óleo tendem a subir ao topo do recipiente da amostra e a fase aquosa a se acumular ao fundo (Krebs et al., 2013) quando ocorrem fenômenos de instabilidade. O *creaming index* é uma técnica muito citada na literatura para avaliar a estabilidade de emulsões através da observação visual, analisando a altura da formação do *cream* e do sérum e conseqüente separação de fases resultante de processos de instabilidade como *creaming*, sedimentação, coalescência e amadurecimento de Ostwald.

As **Tabelas 18 e 19** apresentam os resultados obtidos para as análises do *creaming index* para as emulsões produzidas com azeite neutro e virgem, respectivamente. Os resultados mostraram o potencial destas emulsões *Pickering*, sendo que para ambos os azeites as 3 emulsões escolhidas mantiveram-se estáveis durante os 28 dias usados na avaliação, indicando CI% igual a 0. No entanto, para a emulsão usando KC2 ϕ 0,6 (4,0%) observou-se uma pequena acumulação de óleo no topo da emulsão quando esta foi produzida com azeite virgem. Este fato indicou ser a emulsão menos estável, resultado que está em concordância com os apresentados nas análises de microscopia ótica.

Tabela 18. Imagens da estabilidade das emulsões *Pickering* preparadas com azeite neutro ao longo do tempo e os resultados do índice de estabilidade (CI%).
















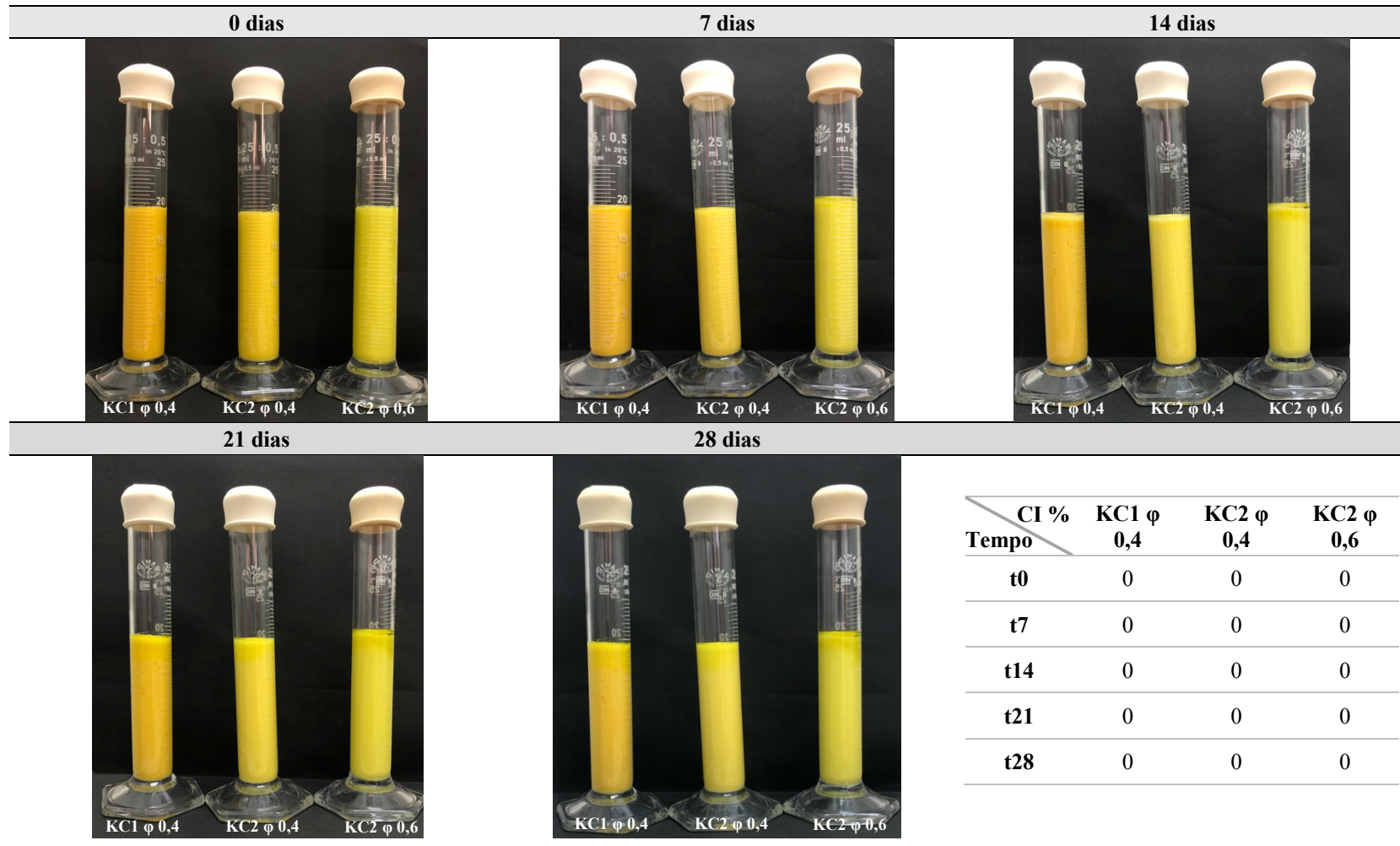
0 dias			7 dias			14 dias																										
																																
KC1 φ 0,4	KC2 φ 0,4	KC2 φ 0,6	KC1 φ 0,4	KC2 φ 0,4	KC2 φ 0,6	KC1 φ 0,4	KC2 φ 0,4	KC2 φ 0,6																								
21 dias			28 dias			<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tempo \ CI %</th> <th>KC1 φ 0,4</th> <th>KC2 φ 0,4</th> <th>KC2 φ 0,6</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>t0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>t7</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>t14</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>t21</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>t28</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>			Tempo \ CI %	KC1 φ 0,4	KC2 φ 0,4	KC2 φ 0,6	t0	0	0	0	t7	0	0	0	t14	0	0	0	t21	0	0	0	t28	0	0	0
Tempo \ CI %	KC1 φ 0,4	KC2 φ 0,4	KC2 φ 0,6																													
t0	0	0	0																													
t7	0	0	0																													
t14	0	0	0																													
t21	0	0	0																													
t28	0	0	0																													
																																
KC1 φ 0,4	KC2 φ 0,4	KC2 φ 0,6	KC1 φ 0,4	KC2 φ 0,4	KC2 φ 0,6																											

Tabela 19. Imagens da estabilidade das emulsões *Pickering* preparadas com azeite virgem ao longo do tempo e os resultados do índice de estabilidade (CI%).



3.4.2. Cor

A aparência é um importante parâmetro de qualidade, particularmente na área alimentar. Assim, a qualidade percebida muitas vezes é dependente da cor dos produtos. A procura comercial por corantes destinados a conferir cor aos alimentos continua a aumentar, sendo que o uso de corantes artificiais torna-se cada vez mais complicado devido à percepção dos malefícios causados para a saúde e o meio ambiente (Liu et al., 2019a), existindo assim uma tendência crescente do uso de corantes naturais.

Neste contexto, a curcumina, corante selecionado para este trabalho, é um polifenol natural, sendo muito utilizada como corante alimentar, para além de possuir propriedades promotoras de saúde, como antitumoral, antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória, o que tem atraído, nos últimos anos, a atenção das indústrias de alimentos funcionais e farmacêuticas (Araiza-Calahorra et al., 2020). A cor de uma emulsão é dependente de diversos fatores incluindo as propriedades da dispersão (influenciada pelas características da gota, concentração de partículas, etc.) e a eficiência de absorção do agente corante (Low et al., 2020). As **Tabelas 20 e 21** apresentam as coordenadas das cores das emulsões *Pickering* produzidas a partir das partículas baseadas em curcumina produzidas com os azeites neutro e virgem, respetivamente.

Tabela 20. Análise de cor das emulsões *Pickering* produzidas com azeite neutro.

Parâmetros	KC1 φ 0,4 (4,7%)	Cor RGB	KC2 φ 0,4 (4,7%)	Cor RGB	KC2 φ 0,6 (4,0%)	Cor RGB
L*	80,58 ± 0,36		85,48 ± 0,15		86,01 ± 0,49	
a*	8,50 ± 0,14		-9,06 ± 0,10		-22,96 ± 0,19	
b*	80,35 ± 0,31		75,48 ± 0,29		63,94 ± 0,48	

Tabela 21. Análise de cor das emulsões *Pickering* produzidas com azeite virgem.

Parâmetros	KC1 φ 0,4 (4,7%)	Cor RGB	KC2 φ 0,4 (4,7%)	Cor RGB	KC2 φ 0,6 (4,0%)	Cor RGB
L*	80,13 ± 0,15		84,42 ± 0,35		81,18 ± 0,16	
a*	1,74 ± 0,20		-6,40 ± 0,10		-15,61 ± 0,06	
b*	72,87 ± 0,47		71,58 ± 0,24		70,42 ± 0,14	

Para ambos os azeites, as amostras apresentaram elevada luminosidade, representada pela variável L* e forte influência da cor amarela refletida no valor elevado e positivo do parâmetro b*, propriedade marcante da curcumina em meios ácidos. Os valores positivos de a* para as amostras de KC1 φ 0,4 (4,7%) demonstram alguma

influência da cor vermelha que, prevê-se seja resultante do maior teor de curcumina utilizado na produção das respectivas partículas conjuntamente ao pH ligeiramente ácido (4,5). Já os valores negativos de a^* encontrados para as amostras KC2 ϕ 0,4 (4,7%) e KC2 ϕ 0,6 (4,0%) representam intervenção da cor verde, característica do azeite, fato que justifica o valor mais elevado de $-a^*$ para as amostras em que a concentração de azeite é maior, KC2 ϕ 0,6 (4,0%). Adicionalmente, as partículas KC2 apresentaram valores de a^* menores do que as partículas KC1 (**Tabela 6**), fato que também poderia ter influência na cor das emulsões. Resumidamente, para o mesmo sistema observou-se uma semelhança, isto é, a cor não foi influenciada pelo tipo de azeite, revelando a maior influência das partículas no parâmetro em análise.

3.4.3. pH

A **Tabela 22** contém os valores de pH medidos para as 3 emulsões selecionadas, elaboradas com o azeite neutro e virgem. As partículas *Pickering* foram produzidas a pH ácido (KC1 a pH 4,50 e KC2 a pH 3,58) utilizando como tampão ácido cítrico/citrato de sódio. Deste modo, todas as emulsões apresentaram valores de pH ácido, circunstância que comprova a relevante influência das partículas nas propriedades dos sistemas. Nota-se ainda que nas emulsões produzidas com azeite neutro, o pH se manteve próximo do pH utilizado para a produção das respectivas partículas. Quando as emulsões foram elaboradas com o azeite virgem, houve um ligeiro aumento no pH, fato que pode ser atribuído a este tipo de azeite conter diferentes compostos que podem contribuir para o deslocamento do valor do pH.

Tabela 22. pH das emulsões *Pickering*.

Tipo de azeite	Emulsões	pH
Neutro	KC1 ϕ 0,4 (4,7%)	4,47 \pm 0,02
	KC2 ϕ 0,4 (4,7%)	3,43 \pm 0,02
	KC2 ϕ 0,6 (4,0%)	3,36 \pm 0,01
Virgem	KC1 ϕ 0,4 (4,7%)	4,62 \pm 0,02
	KC2 ϕ 0,4 (4,7%)	4,55 \pm 0,04
	KC2 ϕ 0,6 (4,0%)	3,70 \pm 0,03

Devido ao fato de um dos objetivos deste trabalho consistir no desenvolvimento de um molho tipo maionese ou cremes para salada, foi medido o pH de dois tipos de maionese, tradicional e light, para fins comparativos, conforme apresentado na **Tabela 23**. O pH ácido característico dos produtos alvos, como comprovado através das maioneses, além de interferir nas propriedades sensoriais, garante a segurança microbiológica, impedindo o desenvolvimento de microrganismos que possam ser prejudiciais à saúde do consumidor. Assim sendo, as emulsões produzidas indicaram resultados promissores, apresentando tanto com o azeite neutro quanto com azeite virgem, valores de pH próximos aos das maioneses, permitindo desta forma garantir a capacidade de satisfazer os atributos relacionados com este parâmetro. Assim, na próxima seção, as emulsões *Pickering* vão ser analisadas em relação às propriedades de interesse para a área alimentar e comparadas com as maioneses selecionadas como matrizes alimentares de referência.

Tabela 23. pH maionese tradicional e light.

Maionese	pH
Tradicional	3,61 ± 0,02
Light	3,42 ± 0,07

3.5. TESTES PARA APLICAÇÃO ALIMENTAR

De acordo com a caracterização das emulsões, foi possível constatar que mesmo quando produzidas com o azeite virgem estas mantiveram-se estáveis e com propriedades atrativas para a aplicação alimentar (incluindo pH similar às matrizes alimentares de referência). Portanto, nesta etapa do trabalho apenas as emulsões elaboradas a partir do azeite virgem foram analisadas, tendo em consideração as vantagens de incorporar as propriedades do azeite virgem à emulsão. Com o propósito de se alcançar uma única formulação ideal para desenvolver um produto funcional substituto de molhos alimentares tipo maionese, comparou-se as amostras com dois tipos de maioneses, tradicional e light, por meio de três parâmetros: (i) Estabilidade oxidativa; (ii) Propriedades de textura; (iii) Propriedades nutricionais.

3.5.1. Estabilidade oxidativa

A oxidação lipídica é uma deterioração importante em emulsões alimentares comerciais, pois tem efeito negativo na qualidade dos alimentos, podendo interferir nos aspectos sensoriais, além do desenvolvimento de ranço indesejável e compostos potencialmente tóxicos. A degradação das propriedades nutricionais e sensoriais geralmente ocorrem devido à formação de compostos primários e secundários, como peróxidos, aldeídos e cetonas (Song et al, 2020). O Rancimat é uma análise de oxidação acelerada que mede o tempo necessário para que os óleos comestíveis formem subprodutos de peroxidação induzidos termicamente (Raikos et al., 2016). Na **Figura 14** estão representadas a evolução da estabilidade oxidativa das emulsões *Pickering* produzidas e das amostras de maionese referência ao longo do tempo.

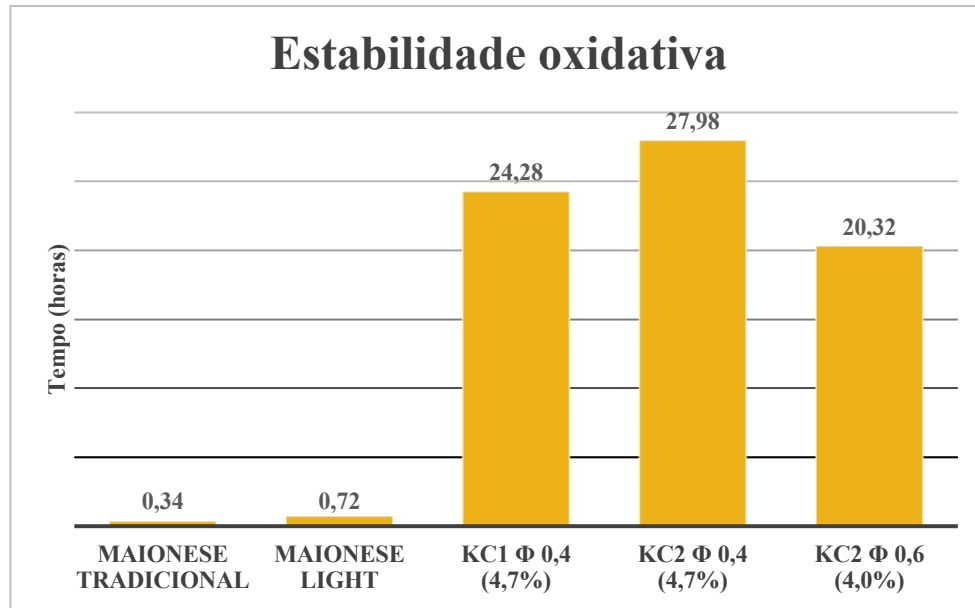


Figura 14. Análise de Rancimat das maioneses de referência e as emulsões *Pickering* produzidas.

As 3 emulsões *Pickering* propiciaram estabilidade oxidativa significativamente melhorada em comparação com as maioneses, indicando elevada resistência à formação de subprodutos de peroxidação. Este fato indica o potencial das emulsões *Pickering*, cujo tempo de vida útil é muito maior do que as maioneses de referência (tanto a tradicional como a light). De fato, é importante ressaltar que as emulsões *Pickering* promovem melhor estabilidade química quando comparadas às emulsões convencionais. Esta melhoria ocorre geralmente pela melhor separação dos pró-oxidantes da fase aquosa do óleo dado a formação de uma camada interfacial espessa. Além disso, quando utilizadas partículas produzidas a partir de materiais com propriedades antioxidantes, como a curcumina, estas também podem ajudar a repelir os compostos pró-oxidantes, aprimorando ainda mais a estabilidade oxidativa da emulsão (Mwangi et al., 2020).

Quando comparadas, as 3 emulsões *Pickering* apresentaram resultados próximos entre elas, sendo o tempo superior (27,98 h) obtido para a KC2 ϕ 0,4, seguido da KC1 ϕ 0,4 com 24,28 h. A KC2 ϕ 0,6 resultou no menor tempo (20,32 h). Tal pode estar relacionado com a maior quantidade de azeite contido nesta amostra, produto principal da emulsão sujeito à oxidação ao longo do tempo.

3.5.2. Propriedades de textura

Nas últimas décadas a indústria alimentar tem investido em alimentos que contém reposição parcial de gorduras e o uso de compostos naturais para atender à demanda de

alimentos mais saudáveis. Entretanto, manter as características físicas e sensoriais desses produtos próximas das dos tradicionais ainda é um desafio (Prosapio & Norton, 2019). Sendo assim, as emulsões *Pickering* tem apresentado grande potencial como substitutos de gordura em matrizes alimentares (Niroula et al., 2020), com vista a manter o aspecto e textura similar dos alimentos que já existem no mercado. Neste contexto, com o fim de analisar a aparência e textura das 3 emulsões produzidas a partir do azeite virgem e fazer a comparação com as amostras de maionese tradicional e light, foram realizadas análises de textura. As propriedades de textura foram analisadas em diferentes tempos (0 e 10 minutos). Os resultados obtidos estão incluídos nas **Tabelas 24 e 25**, respectivamente.

Tabela 24. Propriedades de textura das matrizes alimentares e emulsões *Pickering* - tempo 0 min.

Amostra (t= 0 min)	Firmeza (g)	Consistência (g·sec)	Coabilidade (g)	Viscosidade (g·sec)
Maionese trad.	395,37 ± 0,94	946,25 ± 61,99	(-) 219,57 ± 19,38	(-) 3,52 ± 0,96
Maionese light	374,30 ± 13,20	865,54 ± 48,07	(-) 204,30 ± 0,26	(-) 1052,84 ± 315,56
KC1 (φ 0,4; 4,7%)	359,29 ± 6,41	885,44 ± 15,89	(-) 204,04 ± 2,94	(-) 1081,38 ± 289,98
KC2 (φ 0,4; 4,7%)	273,33 ± 1,06	643,29 ± 26,07	(-) 180,06 ± 0,68	(-) 329,26 ± 78,99
KC2 (φ 0,6; 4,0%)	189,67 ± 15,87	427,78 ± 0,88	(-) 148,62 ± 8,22	(-) 151,73 ± 3,05

Tabela 25. Propriedades de textura das matrizes alimentares e emulsões *Pickering* - tempo 10 min.

Amostra (t= 10 min)	Firmeza (g)	Consistência (g·sec)	Coabilidade (g)	Viscosidade (g·sec)
Maionese trad.	369,81 ± 44,83	563,88 ± 489,83	(-) 239,21 ± 4,79	(-) 42,39 ± 38,64
Maionese light	361,70 ± 7,24	762,67 ± 184,49	(-) 211,01 ± 9,92	(-) 773,27 ± 7,06
KC1 (φ 0,4; 4,7%)	332,94 ± 0,34	787,70 ± 34,28	(-) 196,46 ± 1,70	(-) 817,55 ± 50,21
KC2 (φ 0,4; 4,7%)	260,40 ± 8,48	581,90 ± 87,06	(-) 177,87 ± 8,97	(-) 324,47 ± 62,52
KC2 (φ 0,6; 4,0%)	184,77 ± 13,91	465,50 ± 7,71	(-) 150,47 ± 9,39	(-) 170,48 ± 0,17

Devido às 3 emulsões terem sido elaboradas com processamentos idênticos, a diferença de textura entre estas deve-se essencialmente à distinção de suas morfologias. Considerando o produto-alvo, a teoria suporta que em geral, sistemas com gotas menores resultam em emulsões mais firmes e adesivas (Olsson et al., 2018). Este princípio está em concordância com os resultados obtidos, onde as medições de firmeza, consistência, coabilidade e viscosidade das emulsões *Pickering* produzidas foram inversamente proporcionais aos tamanhos de gotículas encontrados pela técnica de MO (**Tabela 17**).

Os resultados mostraram que a amostra KC1 ϕ 0,4 (4,7%), isto é a emulsão com as gotículas de menor tamanho, originou valores superiores nas propriedades de textura consideradas, nomeadamente firmeza, consistência, coesividade e viscosidade.

Adicionalmente, é importante assinalar que as emulsões indicaram apenas deslocamentos ligeiros dos valores dos parâmetros em análise quando comparados os resultados em função do tempo (0 para 10 minutos). Este fato indicou que o impacto causado pelo texturômetro, não afetou significativamente nas propriedades das emulsões, revelando a sua estabilidade ao impacto mecânico. O fenômeno está relacionado com um atributo característico das emulsões *Pickering*, onde as camadas rígidas que recobrem as interfaces das gotículas (Xu et al., 2020) reforçam a resistência do sistema.

Quando analisadas as propriedades de textura das emulsões *Pickering* com as das maioneses, observaram-se comportamentos similares, principalmente no caso da amostra KC1 (ϕ 0,4; 4,7%), que manifestou valores muito aproximados da maionese light. Outros trabalhos reportados na bibliografia, como o de Liu, Xu & Guo (Liu, Xu & Guo, 2007) que analisou a textura de maioneses com baixo teor de gordura com diferentes substitutos de gordura referem resultados aproximados ao do presente estudo, manifestando valores de firmeza compreendidos entre 256,56 e 349,35 g, coesividade (-) 120,45 e 198,45 g e viscosidade de 983,53 e 1685,41 g·sec. Contudo, os valores de consistência foram ligeiramente superiores, estando compreendidos entre 2785,35 e 3654,78 g·sec. Assim, constata-se que a emulsão KC1 (ϕ 0,4; 4,7%), a que apresentou um comportamento muito próximo ao das maioneses de referência (incluindo ao de outros trabalhos publicados), demonstrou potencial em termos de textura como substituto de maionese com redução de gordura.

3.5.3. Propriedades nutricionais

Diversos produtos alimentares possuem como um de seus principais componentes óleos e gorduras vegetais, como é o caso dos cremes para barrar, chantilly, sorvetes e maionese. No entanto, a ciência afirma que o elevado consumo de gorduras está diretamente ligado a inúmeras doenças, como a obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e cancro (Ahmadi et al., 2020).

Tendo por base que o objetivo do presente trabalho consiste no desenvolvimento de uma emulsão que substitua produtos do tipo maionese, com foco na redução de gordura e na incorporação dos benefícios fornecidos pela curcumina e pelo azeite, efetuou-se uma

previsão do seu valor nutricional. Com base nas tabelas nutricionais fornecidas pelas maioneses comerciais selecionadas e considerando que entre os constituintes das emulsões produzidas (azeite, água e partículas *Pickering*) somente o azeite possui influência significativa ao nível nutricional, foram calculados teoricamente as propriedades nutricionais das 3 emulsões otimizadas produzidas com azeite virgem considerando exclusivamente os atributos da respectiva fase óleo. Os resultados estão apresentados na **Tabela 26**.

Tabela 26. Informações nutricionais das maioneses selecionadas como matrizes alimentares e das 3 emulsões otimizadas produzidas com azeite virgem.

INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS					
Porção: 100 g					
	Maionese tradicional	Maionese light	KC1 (φ 0,4; 4,7%)	KC2 (φ 0,4; 4,7%)	KC2 (φ 0,6; 4,0%)
Energia	3033 kJ / 737 Kcal	1418 kJ / 341 Kcal	1374,8 kJ / 328,4 Kcal	1374,8 kJ / 328,4 Kcal	2062,2 kJ / 492,6 Kcal
Lípidos	80 g	26,4 g	36,5 g	36,5 g	54,7 g
Dos quais saturados	9,6 g	3,3 g	5,2 g	5,2 g	7,9 g
Hidratos de carbono	3 g	24,5 g	0 g	0 g	0 g
Dos quais açúcares	3 g	8,6 g	0 g	0 g	0 g
Fibras	0 g	0 g	0 g	0 g	0 g
Proteínas	1,3 g	1,5 g	0 g	0 g	0 g
Sal	0,7 g	1 g	0 g	0 g	0 g

Relativamente à maionese tradicional, as 3 emulsões otimizadas apresentaram resultados promissores na redução de lípidos (gordura); a maionese light comercial evidenciou o valor inferior, com 26,4 g dos quais 3,3 g saturados. Contudo, a maionese light possui um elevado teor de hidratos de carbono (carboidratos), 24,5 g, dos quais 8,6 g são açúcares, sendo que estudos recentes como o de Pompili et al. (Pompili et al., 2020) afirmam que o uso excessivo de carboidratos e açúcares processados tem-se tornado uma emergência nutricional dramática. Deste modo, as emulsões *Pickering* apresentaram-se como uma alternativa potencial para a substituição de gordura através de um produto sem conter hidratos de carbono.

Os sistemas produzidos com 40% de azeite possuem quantidades de lípidos inferiores quando comparados com o sistema contendo 60%. Assim, as emulsões KC1 e KC2 (φ 0,4; 4,7%) indicaram resultados otimistas, correspondendo a valores de lípidos de 36,5 g, dos quais 5,2 g são saturados. Concluindo, deve notar-se que o sistema de KC1 (φ 0,4; 4,7%) que apresentou os resultados mais promissores em termos nutricionais e com base nos dados apresentados anteriormente na seção (3.5), foi a emulsão que revelou maior potencial para aplicação no mercado alimentar como um substituto de maionese com redução de gordura.

Capítulo 4

Conclusão e Trabalhos futuros

4. CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS

4.1. CONCLUSÃO

O presente trabalho foi dedicado ao desenvolvimento de sistemas de emulsões *Pickering* O/A estabilizadas através de partículas contendo curcumina e obtidas pela técnica de dispersão sólida. Visou-se o desenvolvimento de produtos para aplicação no setor alimentar, nomeadamente como um substituto de produtos tipo maionese com baixo teor de gordura. De acordo com a revisão bibliográfica efetuada, e tanto quanto é do nosso conhecimento, esta estratégia nunca foi utilizada para o fim proposto neste estudo.

A técnica de dispersão sólida é uma técnica muito utilizada na área farmacêutica para melhorar questões de solubilidade de compostos hidrofóbicos por meio da dispersão destes em matrizes hidrofílicas (geralmente polímeros), contudo tem sido pouco explorado em outras áreas. Neste trabalho as partículas obtidas por DS foram analisadas como estabilizantes *Pickering* com vista à preparação de emulsões *Pickering* ajudando à substituição das partículas geralmente mais usadas, baseadas em sílica modificadas, que não são compatíveis com sistemas de grau alimentar.

Assim, o desenvolvimento do trabalho seguiu as seguintes fases: (i) testes preliminares para verificar se as nanopartículas agiam como estabilizantes *Pickering* e selecionar as que indicavam melhor desempenho; (ii) produção das nanopartículas com diferentes polímeros através da técnica de dispersão sólida e caracterização das mesmas; (iii) produção e otimização dos sistemas de emulsões variando a razão óleo/água e a concentração de partículas; (iv) testes de caracterização e estabilidade das emulsões otimizadas; (v) testes para aplicação alimentar das emulsões otimizadas como substituto de maionese com baixo teor de gordura.

Os resultados obtidos indicaram a viabilidade da técnica de DS para a obtenção de partículas com ação *Pickering* promissoras para o desenvolvimento de novas matrizes alimentares. Entre os três polímeros testados na produção das partículas (k-carragenina, PVA e PVP), o processo de otimização revelou que as partículas com k-carragenina resultaram no desenvolvimento de emulsões *Pickering* gelificadas, as quais manifestaram elevada estabilidade ao longo do tempo, além de proporcionar à emulsão o benefício de satisfazer a demanda atual da indústria alimentar por produtos naturais.

Os testes de otimização das emulsões foram realizados utilizando azeite neutro para minimizar a interferência das propriedades da fase óleo na estabilidade dos sistemas. Assim, o processo resultou em três formulações O/A estáveis: KC1 (ϕ 0,4; 4,7%), KC2 (ϕ 0,4; 4,7%) e KC2 (ϕ 0,6; 4,0%). A partir destas, foram produzidas novas emulsões substituindo o azeite neutro por um azeite virgem, para que o sistema se tornasse adequado para aplicações alimentares. As emulsões com azeite virgem, assim como as obtidas com azeite neutro, mantiveram-se estáveis durante os 28 dias de teste, de acordo com a avaliação do *creaming index*. Estas apresentaram pH ácido, cor característica amarelada e uma morfologia formada por gotículas de pequena dimensão, tal como observado por MO. A emulsão KC2 (ϕ 0,6; 4,0%) quando produzida com azeite virgem, a partir de 14 dias, manifestou uma pequena acumulação de óleo no topo da emulsão e um aumento significativo do tamanho das gotículas, revelando ser a emulsão menos estável dos três sistemas otimizados.

Tendo definido a aplicação das emulsões como substitutos de produtos do tipo maionese com foco na redução de gordura, foram selecionadas duas maioneses comerciais (tradicional e light) e utilizadas como referências nos testes de estabilidade oxidativa, propriedades de textura e análise nutricional face à sua aplicabilidade. A emulsão KC1 (ϕ 0,4; 4,7%) apresentou propriedades texturais e nutricionais próximas às da maionese light, indicando ser um sistema promissor para a indústria alimentar como um produto natural substituto de maionese com baixo teor de gordura, agregando os benefícios propiciados pela curcumina e o azeite virgem.

4.2. TRABALHOS FUTUROS

O atual trabalho abordou estudos iniciais de uma solução inovadora para o desenvolvimento de novos produtos destinados à indústria alimentar, possibilitando suprir a crescente demanda por alimentos naturais, com redução de gordura e propriedades bioativas. Assim, os seguintes pontos que podem ser considerados quanto a trabalhos futuros são:

- Análise sensorial da emulsão KC1 (ϕ 0,4; 4,7%), para que possa ser identificado a aceitabilidade e intenção de compra de potenciais consumidores, além de permitir identificar possíveis ajustes à formulação para aperfeiçoamento da qualidade sensorial;
- Análises microbiológicas para definição dos cuidados que devem ser adotados para garantir a segurança do consumidor;
- Análise nutricional completa, identificando quantitativamente todos os compostos presentes no sistema;
- Testes para a elaboração de emulsões *Pickering* estabilizadas através de partículas produzidas por dispersão sólida, abordando o encapsulamento de outros compostos que sejam atrativos à aplicação alimentar.

Capítulo 5

Referências Bibliográficas

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmadi, P., Tabibiazar, M., Roufegarinejad, L., & Babazadeh, A. (2020). Development of behenic acid-ethyl cellulose oleogel stabilized Pickering emulsions as low calorie fat replacer. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 974-981. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.205>.
- Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., & Huang, N. (2019). Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*, 309, 302-332. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.003>.
- Araiza-Calahorra, A., Akhtar, M., & Sarkar, A. (2018). Recent advances in emulsion-based delivery approaches for curcumin: From encapsulation to bioaccessibility. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 155-169. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.009>.
- Araiza-Calahorra, A., Wang, Y., Boesch, C., Zhao, Y., & Sarkar, A. (2020). Pickering emulsions stabilized by colloidal gel particles complexed or conjugated with biopolymers to enhance bioaccessibility and cellular uptake of curcumin. *Current Research in Food Science*, 3, 178-188. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.05.001>.
- Aranha, I. B., & Lucas, E. F. (2001). Poli (álcool vinílico) modificado com cadeias hidrocarbônicas: avaliação do balanço hidrófilo/lipófilo. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 11(4), 174-181.
- Atarian, M., Rajaei, A., Tabatabaei, M., Mohsenifar, A., & Bodaghi, H. (2019). Formulation of Pickering sunflower oil-in-water emulsion stabilized by chitosan-stearic acid nanogel and studying its oxidative stability. *Carbohydrate Polymers*, 210, 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.008>.
- Benetti, J. V. M. (2018). Emulsões estabilizadas por microgéis de isolado proteico de soja: Reologia e produção de microcápsulas por spray drying. <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/157152>.
- Berton-Carabin, C. C., & Schroën, K. (2015). Pickering emulsions for food applications: background, trends, and challenges. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6, 263-297. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-081114-110822>.
- Calabrese, V., Courtenay, J. C., Edler, K. J., & Scott, J. L. (2018). Pickering emulsions stabilized by naturally derived or biodegradable particles. *Current Opinion in*

- Green and Sustainable Chemistry*, 12, 83-90.
<https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.07.002>.
- Chaudhari, S. P., & Dugar, R. P. (2017). Application of surfactants in solid dispersion technology for improving solubility of poorly water soluble drugs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 41, 68-77.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.06.010>.
- Chen, L., Ao, F., Ge, X., & Shen, W. (2020). Food-Grade Pickering Emulsions: Preparation, Stabilization and Applications. *Molecules*, 25, 3202.
<https://doi.org/10.3390/molecules25143202>.
- Chevalier, Y., & Bolzinger, M. A. (2013). Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 439, 23-34. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.054>.
- Chuah, A. M., Jacob, B., Jie, Z., Ramesh, S., Mandal, S., Puthan, J. K., Deshpande, P., Vaidyanathan, V. V., Gelling, R. W., Patel, G., Das, T., & Shreeram, S. (2014). Enhanced bioavailability and bioefficacy of an amorphous solid dispersion of curcumin. *Food Chemistry*, 156, 227-233.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.108>.
- Constant, P. B. L., Stringheta, P. C., & Sandi, D. (2002). Corantes alimentícios. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 20, 203-220.
<http://dx.doi.org/10.5380/cep.v20i2.1248>.
- Dai, L., Sun, C., Wei, Y., Mao, L., & Gao, Y. (2018). Characterization of Pickering emulsion gels stabilized by zein/gum arabic complex colloidal nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 74, 239-248.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.040>.
- Franzol, A., & Rezende, M. C. (2015). Estabilidade de emulsões: Um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. *Polímeros*, 25, 1-9.
<https://doi.org/10.1590/0104-1428.1669>.
- Friberg, S., Larsson, K., & Sjoblom, J. (Eds.). (2003). *Food Emulsions* (4^o ed). CRC Press.
- Gangurde, A. B., Kundaikar, H. S., Javeer, S. D., Jaiswar, D. R., Degani, M. S., & Amin, P. D. (2015). Enhanced solubility and dissolution of curcumin by a hydrophilic polymer solid dispersion and its insilico molecular modeling studies. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 29, 226-237.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2015.08.005>.

- Geonzon, L. C., Descallar, F. B. A., Du, L., Bacabac, R. G., & Matsukawa, S. (2020). Gelation mechanism and network structure in gels of carrageenans and their mixtures viewed at different length scales—A review. *Food Hydrocolloids*, 108, 106039. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106039>.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40, 1107-1121. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>.
- Harman, C. L. G., Patel, M. A., Guldin, S., & Davies, G.-L. (2019). Recent developments in Pickering emulsions for biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 39, 173–189. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.01.017>
- Jankovic, S., O'Dwyer, P. J., Box, K. J., Imanidis, G., Reppas, C., & Kuentz, M. (2019). Biphasic drug release testing coupled with diffusing wave spectroscopy for mechanistic understanding of solid dispersion performance. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 137, 105001. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105001>.
- Konica Minolta (2020). Chroma Meters CR-400 / CR-410. Disponível em <https://www5.konicaminolta.eu/en/measuring-instruments/products/colour-measurement/chroma-meters/cr-400-410/introduction.html>
- Krebs, T., Ershov, D., Schroen, C. G. P. H., & Boom, R. M. (2013). Coalescence and compression in centrifuged emulsions studied with in situ optical microscopy. *Soft Matter*, 9, 4026-4035. <https://doi.org/10.1039/C3SM27850F>.
- Kumavat, S. D., Chaudhari, Y. S., Borole, P., Shenghani, K., Duvvuri, P., Bubera, N., & Shah, P. (2013). Characterization and evaluation of curcumin-PVP Solid dispersion by solvent evaporation technique. *Int J Pharm Res Sci*, 2, 693-706.
- Kwon, J., Giri, B. R., Song, E. S., Bae, J., Lee, J., & Kim, D. W. (2019). Spray-dried amorphous solid dispersions of atorvastatin calcium for improved supersaturation and oral bioavailability. *Pharmaceutics*, 11, 461. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11090461>.
- Langevin, D. (2019). Coalescence in foams and emulsions: Similarities and differences. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 44, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.09.001>.
- Leimann, V. F., Gonçalves, O. H., Sorita, G. D., Rezende, S., Bona, E., Fernandes, I. P. M., Ferreira, I. C. F. R., & Barreiro, M. F. (2019). Heat and pH stable curcumin-

- based hydrophilic colorants obtained by the solid dispersion technology assisted by spray-drying. *Chemical Engineering Science*, 205, 248–258. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2019.04.044>.
- Li, B., Konecke, S., Wegiel, L. A., Taylor, L. S., & Edgar, K. J. (2013). Both solubility and chemical stability of curcumin are enhanced by solid dispersion in cellulose derivative matrices. *Carbohydrate Polymers*, 98, 1108–1116. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.017>.
- Lin, D., Kelly, A. L., & Miao, S. (2020). Preparation, structure-property relationships and applications of different emulsion gels: Bulk emulsion gels, emulsion gel particles, and fluid emulsion gels. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 123-137. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.024>.
- Liu, H., Xu, X. M., & Guo, S. D. (2007). Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 946-954. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.11.007>.
- Liu, J., Tan, Y., Zhou, H., Mundo, J. L. M., & McClements, D. J. (2019a). Protection of anthocyanin-rich extract from pH-induced color changes using water-in-oil-in-water emulsions. *Journal of Food Engineering*, 254, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.02.021>.
- Liu, X., Huang, Y.-Q., Chen, X.-W., Deng, Z.-Y., & Yang, X.-Q. (2019b). Whole cereal protein-based Pickering emulsions prepared by zein-gliadin complex particles. *Journal of Cereal Science*, 87, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.02.004>.
- Low, L. E., Siva, S. P., Ho, Y. K., Chan, E. S., & Tey, B. T. (2020). Recent advances of characterization techniques for the formation, physical properties and stability of Pickering emulsion. *Advances in Colloid and Interface Science*, 277, 102117. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102117>.
- Lv, P., Wang, D., Dai, L., Wu, X., Gao, Y., & Yuan, F. (2020). Pickering emulsion gels stabilized by high hydrostatic pressure-induced whey protein isolate gel particles: Characterization and encapsulation of curcumin. *Food Research International*, 132, 109032. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109032>.
- McClements, D. J. (2015). *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press.
- Meng, F., Trivino, A., Prasad, D., & Chauhan, H. (2015). Investigation and correlation of drug polymer miscibility and molecular interactions by various approaches for the preparation of amorphous solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutical*

- Sciences*, 71, 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.02.003>.
- Murray, B. S. (2019). Pickering emulsions for food and drinks. *Current Opinion in Food Science*, 27, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.05.004>.
- Mwangi, W. W., Lim, H. P., Low, L. E., Tey, B. T., & Chan, E. S. (2020). Food-grade pickering emulsions for encapsulation and delivery of bioactives. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 320-332. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.020>.
- Nikolovski, B. G., Ilić, J. D., & Sovilj, M. N. (2016). How to formulate a stable and monodisperse water-in-oil nanoemulsion containing pumpkin seed oil: the use of multiobjective optimization. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 33, 919-931. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20160334s20140140>.
- Niroula, A., Gamot, T., Wei, O. C., & Dhital, S. (2020). Biomolecule-based pickering food emulsions: Intrinsic components of food-matrix, recent trends and prospects. *Food Hydrocolloids*, 112, 106303. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106303>.
- Nishad, J., Dutta, A., Saha, S., Rudra, S. G., Varghese, E., Sharma, R. R., Tomar, M., Kumar, M. & Kaur, C. (2021). Ultrasound-assisted development of stable grapefruit peel polyphenolic nano-emulsion: Optimization and application in improving oxidative stability of mustard oil. *Food Chemistry*, 334, 127561. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127561>.
- Noguchi, S., Yamamoto, K., & Kadokawa, J. I. (2020). Preparation of chitin-based fluorescent hollow particles by Pickering emulsion polymerization using functional chitin nanofibers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 157, 680-686. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.225>.
- Olsson, V., Håkansson, A., Purhagen, J., & Wendin, K. (2018). The effect of emulsion intensity on selected sensory and instrumental texture properties of full-fat mayonnaise. *Foods*, 7, 9. <https://doi.org/10.3390/foods7010009>.
- Ortiz, D. G., Pochat-Bohatier, C., Cambedouzou, J., Bechelany, M., & Miele, P. (2020). Current Trends in Pickering Emulsions: Particle Morphology and Applications. *Engineering*, 6, 468-482. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.08.017>.
- Patel, B. B., Patel, J. K., Chakraborty, S., & Shukla, D. (2015). Revealing facts behind spray dried solid dispersion technology used for solubility enhancement. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23, 352–365. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2013.12.013>.
- Paudel, A., Worku, Z. A., Meeus, J., Guns, S., & Van den Mooter, G. (2013).

- Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. *International Journal of Pharmaceutics*, 453, 253–284. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.07.015>.
- Pompili, S., Vetusch, A., Gaudio, E., Tessitore, A., Capelli, R., Alesse, E., Latella, G., Sferra, R. & Onori, P. (2020). Long-term abuse of high-carbohydrate diet is as harmful as high-fat diet for development and progression of liver injury in a mouse model of NAFLD/NASH: Chronic high-carbohydrate diet induced NAFLD/NASH. *Nutrition*, 75-76, 110782. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110782>.
- Prosapio, V., & Norton, I. T. (2019). Development of fat-reduced chocolate by using water-in-cocoa butter emulsions. *Journal of Food Engineering*, 261, 165-170. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.06.018>.
- Raikos, V., McDonagh, A., Ranawana, V., & Duthie, G. (2016). Processed beetroot (*Beta vulgaris* L.) as a natural antioxidant in mayonnaise: Effects on physical stability, texture and sensory attributes. *Food Science and Human Wellness*, 5, 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.10.002>.
- Rayner, M., Timgren, A., Sjöo, M., & Dejmeck, P. (2012). Quinoa starch granules: A candidate for stabilising food-grade Pickering emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 1841–1847. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5610>.
- Roriz, C. L., Heleno, S. A., Caroch, M., Rodrigues, P., Pinela, J., Dias, M. I., Fernandes, I. P., Barreiro, M. F., Morales, P., Barros, L. & Ferreira, I. C. (2020). Betacyanins from *Gomphrena globosa* L. flowers: incorporation in cookies as natural colouring agents. *Food Chemistry*, 329, 127178. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127178>.
- Sason, G., & Nussinovitch, A. (2018). Characterization of κ -carrageenan gels immersed in ethanol solutions. *Food Hydrocolloids*, 79, 136-144. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.025>.
- Schramm, L. L. (2005). *Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/3527606750>.
- Seo, S.-W., Han, H.-K., Chun, M.-K., & Choi, H.-K. (2012). Preparation and pharmacokinetic evaluation of curcumin solid dispersion using Solutol® HS15 as a carrier. *International Journal of Pharmaceutics*, 424, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.12.051>.
- Sharkawy, A., Barreiro, M. F., & Rodrigues, A. E. (2019). Preparation of chitosan/gum

- Arabic nanoparticles and their use as novel stabilizers in oil/water Pickering emulsions. *Carbohydrate Polymers*, 224, 115190. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115190>.
- Sharkawy, A., Barreiro, M. F., & Rodrigues, A. E. (2020). Chitosan-based Pickering emulsions and their applications: A review. *Carbohydrate Polymers*, 250, 116885. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116885>.
- Shi, Y., Yan, F., Jia, Q., & Wang, Q. (2019). Norm descriptors for predicting the hydrophile-lipophile balance (HLB) and critical micelle concentration (CMC) of anionic surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 583, 123967. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123967>.
- Song, X., Zheng, F., Ma, F., Kang, H., & Ren, H. (2020). The physical and oxidative stabilities of Pickering emulsion stabilized by starch particle and small molecular surfactant. *Food Chemistry*, 303, 125391. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125391>.
- Sosnik, A., & Seremeta, K. P. (2015). Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. *Advances in Colloid and Interface Science*, 223, 40–54. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.05.003>.
- Szűts, A., Láng, P., Ambrus, R., Kiss, L., Deli, M. A., & Szabó-Révész, P. (2011). Applicability of sucrose laurate as surfactant in solid dispersions prepared by melt technology. *International Journal of Pharmaceutics*, 410, 107–110. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.03.033>.
- Tadros, T. F. (2009). *Emulsion Science and Technology*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9783527626564>.
- Tang, Q., Xie, X., Li, C., Zhen, B., Cai, X., Zhang, G., Zhou, C., & Wang, L. (2019). Medium-chain triglyceride/water Pickering emulsion stabilized by phosphatidylcholine-kaolinite for encapsulation and controlled release of curcumin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 183, 110414. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110414>.
- Tavernier, I., Wijaya, W., Van der Meeren, P., Dewettinck, K., & Patel, A. R. (2016). Food-grade particles for emulsion stabilization. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 159–174. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.023>.
- Tran, T. T., & Tran, P. H. (2020). Molecular Interactions in Solid Dispersions of Poorly Water-Soluble Drugs. *Pharmaceutics*, 12, 745.

- <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080745>.
- Vasconcelos, T., Sarmiento, B., & Costa, P. (2007). Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. *Drug Discovery Today*, 12, 1068–1075. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.09.005>.
- Vo, C. L.-N., Park, C., & Lee, B.-J. (2013). Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 85, 799–813. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.09.007>.
- Wu, J., & Ma, G. H. (2016). Recent studies of Pickering emulsions: particles make the difference. *Small*, 12, 4633-4648. <https://doi.org/10.1002/smll.201600877>.
- Xiao, J., Li, Y., & Huang, Q. (2016). Recent advances on food-grade particles stabilized Pickering emulsions: Fabrication, characterization and research trends. *Trends in Food Science & Technology*, 55, 48–60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.010>.
- Xiao, J., Lu, X., & Huang, Q. (2017). Double emulsion derived from kafirin nanoparticles stabilized Pickering emulsion: Fabrication, microstructure, stability and in vitro digestion profile. *Food Hydrocolloids*, 62, 230–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.014>.
- Xu, T., Yang, J., Hua, S., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z. & Li, C. (2020). Characteristics of starch-based Pickering emulsions from the interface perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 334-346. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.026>.
- Yang, Y., Fang, Z., Chen, X., Zhang, W., Xie, Y., Chen, Y., Liu, Z., & Yuan, W. (2017). An overview of Pickering emulsions: solid-particle materials, classification, morphology, and applications. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 287-287. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00287>.
- Yan, X., Ma, C., Cui, F., McClements, D. J., Liu, X., & Liu, F. (2020). Protein-stabilized pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 293-303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.005>.
- Zhang, S., Holmes, M., Ettelaie, R., & Sarkar, A. (2020). Pea protein microgel particles as Pickering stabilisers of oil-in-water emulsions: Responsiveness to pH and ionic strength. *Food Hydrocolloids*, 102, 105583. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105583>.

Zhao, H., Li, J., Wang, L., Li, C., & Zhang, S. (2021). Pickering emulsion stabilized by dual stabilizer: a novel reaction/separation system for methacrolein synthesis. *Chemical Engineering Science*, 229, 116038. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2020.116038>.

Ziaee, A., Albadarin, A. B., Padrela, L., Faucher, A., O'Reilly, E., & Walker, G. (2017). Spray drying ternary amorphous solid dispersions of ibuprofen—An investigation into critical formulation and processing parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 120, 43-51. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.08.005>.