



## **DESENVOLVIMENTO DE ALIMENTOS ESTRUTURADOS BASEADOS EM EMULSÕES PICKERING**

**Lucas Shinti Iwamura**

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

Orientadores

**Prof. Doutora Maria Filomena F. Barreiro**

**Doutora Arantzazu Santamaria-Echart**

**Professor Doutor Bogdan Demczuk Junior**

**Bragança**

**2023**

“ It's times like these you learn to live again  
It's times like these you give and give again  
It's times like these time and time again”

~Dave Grohl

## AGRADECIMENTOS

Trilhar este caminho só foi possível com o apoio, energia e força de várias pessoas, a quem dedico especialmente este projeto de vida. Assim, gostaria agradecer por aqueles que contribuíram para que esse sonho se tornasse uma realidade

Aos meus orientadores Prof. Doutora Maria Filomena F. Barreiro,. Doutora Arantzazu Santamaria-Echart e Prof. Doutor Bogdan Demczuk Junior pelo suporte e confiança a mim depositada para o desenvolvimento deste trabalho. Obrigado por tudo que eu pude aprender com vocês, e por todas as oportunidades que me ajudaram a me tornar um profissional melhor.

A toda a equipa CIMO-IPB pelos momentos que vivi e amizade que fiz ao longo dessa jornada .

Aos meus amigos de Bragança, em especial Diogo Salvati, Daniela Elsenbach, Mariana Moia, Alexandre de Oliveira Júnior, Gustavo Funchal, Vitória Melo, Sabina Zubek, Paulina Szweda, Bruna Miskalo, Karol Almeida, Eleonora Di Felice, Anja Švikart e Benedetta Tosti pelo apoio, por todos os momentos compartilhados, pelas risadas, e por me proporcionarem novas experiências que foram fundamentais na minha vida.

Agradecer a todos os meus amigos da UTFPR de Campo Mourão, em especial Igor Thadeu Krupek. Esta jornada foram os melhores anos de minha vida, obrigado por todos os momentos de alegria, tristeza, aventura e aprendizado que passamos juntos ao longo da graduação.

Agradeço também à UTFPR de Campo Mourão, por todas as experiências prestados nos últimos 5 anos, pela oportunidade de fazer parte do programa de dupla diplomação, e agradecer sinceramente a todos os professores do Departamento Acadêmico de Alimentos e Engenharia Química e Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos-PPGTA que tanto me ensinou.

Por último, um agradecimento especial a todos os meus familiares, essencialmente aos meus pais: Takahalu Iwamura e Teresa S.K. Iwamura, pelo incentivo, paciência, por sempre estarem ao meu lado que, apesar de todas dificuldades, nunca medirem esforços para me permitir estar aqui. Um agradecimento aos meus irmãos: Orlando Yuzo Iwamura ,Vitor Seiji Iwamura e Igor Eizo Iwamura pela inspiração e exemplo que foram em minha vida.

Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) e aos fundos nacionais FCT/MCTES (PIDDAC) pelo apoio financeiro ao CIMO (UIDB/00690/2020 e UIDP/00690/2020) e SusTEC (LA/P/0007/2020). Financiamento nacional pela FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, no âmbito da celebração do contrato-programa de emprego científico institucional com Arantzazu Santamaria Echart. Este trabalho foi financiado por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto “2022.01308.PTDC”. Este trabalho foi financiado pelo Centro de Investigação de Montanha (CIMO) no âmbito do projeto interno CIMO “EXPL2021CIMO\_03 (NatSpinningTech)”

## SUMÁRIO

<b>MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS</b> .....	xv
<b>1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
1.1. EMULSÕES .....	18
1.2. EMULSÕES PICKERING .....	21
1.3. APLICAÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING EM ALIMENTOS.....	25
1.4. NANOPARTÍCULAS .....	27
1.5. VITAMINA D .....	29
1.6. ALIMENTOS ESTRUTURADOS .....	31
1.7 ALGINATO .....	32
1.8 IMPRESSORA 3D.....	32
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	33
2.1 MATERIAS.....	35
2.2 PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS .....	35
2.3PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING .....	36
2.4 CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING .....	36
2.4.1 Tipo de emulsão .....	36
2.4.2 Microestrutura .....	37
2.4.3 Índice de creme.....	37
2.4.4 Determinação do pH. ....	37
2.5 DESENVOLVIMENTO DO ALIMENTO ESTRUTURADO.....	37
2.6 ENCAPSULAÇÃO DA VITAMINA D3 .....	37
2.7 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO .....	38
2.8VALIDAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ALIMENTOS ESTRUTURADOS.....	38
2.9 TEXTURA.....	39
2.10 TESTES PRELIMINARES: IMPRESSORA 3D .....	40

<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	43
<b>3.1 DEFINIÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING</b> .....	43
3.1.1 Formulação das emulsões .....	43
3.1.2 Efeito da fração de óleo .....	44
3.1.3 Efeito da concentração de nanopartículas .....	47
3.1.4. Otimização das emulsões.....	50
<b>3.2 DESENVOLVIMENTO DO ALIMENTO ESTRUTURADO</b> .....	50
<b>3.3 VALIDAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ALIMENTOS ESTRUTURADOS</b> .....	53
<b>3.4 FUNCIONALIZAÇÃO DOS ALIMENTOS ESTRUTURADOS COM VITAMINA D</b> .....	57
<b>3.5 ANÁLISE DA TEXTURA DOS ALIMENTOS ESTRUTURADOS</b> .....	59
<b>3.6 TESTES PRELIMINARES DE IMPRESSÃO 3D</b> .....	60
<b>4. CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS</b> .....	65
4.1. CONCLUSÕES.....	65
4.2. TRABALHOS FUTUROS .....	66
<b>5.REFERÊNCIAS</b> .....	69
<b>ANEXO A</b> .....	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação de emulsões simples água em óleo e óleo em água.....	19
<b>Figura 2.</b> Representação das emulsões múltiplas.....	20
<b>Figura 3.</b> Representação dos mecanismos de desestabilizações de emulsões.....	21
<b>Figura 4.</b> Representação da emulsão Pickering.....	23
<b>Figura 5.</b> Representação do ângulo de contato e posição das partículas na interface óleo-água.....	24
<b>Figura 6.</b> Estrutura química da quitina e do quitosano.....	28
<b>Figura 7.</b> Estrutura Química da goma arábica.....	29
<b>Figura 8.</b> Estrutura química do colecalciferol (vitamina D3).....	30
<b>Figura 9.</b> Figura esquemática ilustrando o modelo egg-box para Ca-alginato.....	32
<b>Figura 10.</b> Processo de Preparação das nanopartículas.....	35
<b>Figura 11.</b> Analisador de Textura.....	40
<b>Figura 12.</b> Impressora 3D utilizada para realização dos testes preliminares.....	41
<b>Figura 13.</b> Resultado do teste da gota.....	44
<b>Figura 14.</b> Morfologia e diâmetro médio de gota das emulsões Pickering contendo de 1,5% de nanopartículas examinada por microscopia ótica.....	45
<b>Figura 15.</b> Aparência das emulsões contendo 1,5% de CH/GA em t21 com seu respectivo IC.....	46
<b>Figura 16.</b> Aspeto das emulsões das amostras contendo 1,5% de nanopartícula.....	46
<b>Figura 17.</b> Morfologia e diâmetro médio de gota das emulsões Pickering das amostras contendo de 3% de nanopartículas.....	47
<b>Figura 18.</b> Morfologia e diâmetro médio de gota das emulsões Pickering das amostras contendo de 4% de nanopartículas.....	47
<b>Figura 19.</b> Aparência das emulsões contendo 3% de CH/GA em t21 e seu respectivo IC.....	48
<b>Figura 20.</b> Aparência das emulsões contendo 4% de CH/GA em t21 e seu respectivo IC.....	49
<b>Figura 21.</b> Aspeto das emulsões das amostras contendo 3% de nanopartícula.....	49
<b>Figura 22.</b> Diâmetro médio da gota de emulsões produzidas com ácido acético 0,1N e ácido cítrico 4% da amostra E-1.5%-0.5.....	50
<b>Figura 23.</b> Morfologia e diâmetro médio da gota da amostra L1.....	52
<b>Figura 24.</b> Morfologia e diâmetro médio da gota da amostra P1.....	52

<b>Figura 25.</b> Morfologia e diâmetro médio da gota da amostra M1.....	53
<b>Figura 26.</b> Resultado da análise do índice de creme das emulsões do alimento estruturado após 21 dias.....	53
<b>Figura 27.</b> Aspetto dos alimentos estruturados desenvolvidos.....	54
<b>Figura 28.</b> Amostra L1 após sujeita ao tratamento térmico (80 e 90 °C) e sua morfologia através do MO (imagens 20x).....	55
<b>Figura 29.</b> Amostra P1 após sujeita ao tratamento térmico (80 e 90 °C) e sua morfologia através do MO (imagens 20x).....	56
<b>Figura 30.</b> Amostra M1 após sujeita ao tratamento térmico (80 e 90 °C) e sua morfologia através do MO (imagens 20x).....	56
<b>Figura 31.</b> Amostra L1 após sujeita ao tratamento térmico em temperaturas menores que 70°C.....	56
<b>Figura 32.</b> Morfologia da amostra L1 após sujeita ao tratamento térmico em temperaturas menores que 70°C através do MO (imagens 20x).....	57
<b>Figura 33.</b> Dez concentrações (g/L) conhecidas de vitamina D3 dissolvidas em metanol para construção da curva padrão.....	58
<b>Figura 34.</b> Curva padrão da vitamina D3 obtida no UV-vis a 265 nm.....	58
<b>Figura 35.</b> Análises de textura dos alimentos estruturados e produtos similares (flan e gelatina).....	59
<b>Figura 36.</b> Cubo com apenas uma camada de dimensões 10x10 mm impressos da amostra M1.....	61
<b>Figura 37.</b> Modelo de cilindro com 5 camadas e 50 mm de diâmetro da amostra M1.....	62
<b>Figura 38.</b> Modelo de cilindro com 18 camadas e 25 mm de diâmetro da amostra L1.....	62

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Partículas de base quitosano com capacidade para atuar como estabilizadores Pickering e com potencial de utilização em aplicações alimentares.....	27
<b>Tabela 2.</b> Formulações de emulsões Pickering desenvolvidas para os testes preliminares.....	43
<b>Tabela 3.</b> Composição dos alimentos estruturados preparados com diferentes sumos.....	51
<b>Tabela 4.</b> pH das amostras produzidas para o desenvolvimento do alimento estruturado.....	54
<b>Tabela 5.</b> Resultados da análise de eficiência de encapsulação da vitamina D3.....	59
<b>Tabela 6.</b> Propriedades de textura das matrizes alimentares e emulsões Pickering.....	60

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>A/O</b>	Água-em-óleo
<b>(A/O/A)</b>	Água Em Óleo Em Água
<b>ap</b>	Área Da Partícula Projetada Na Interface
<b>C</b>	Cobertura Da Superfície
<b>CH</b>	Quitosano
<b>CH/GA</b>	Quitosano/Goma Arábica
<b>D</b>	Diâmetro Final Da Gota
<b>EE</b>	Eficiência De Encapsulação
<b>EP</b>	Emulsão Pickering
<b>GA</b>	Goma Arábica
<b>HIPPEs</b>	Emulsões Pickering Com Alta Fração Volumétrica De Fase Dispersa
<b>HLB</b>	Balanco Hidrofílico-Lipofílico
<b>Hs</b>	Altura Da Camada Aquosa
<b>Ht</b>	Altura Total
<b>IC</b>	Índice De Creme
<b>mp</b>	Massa Das Partículas
<b>nm</b>	Nanometro
<b>O/A</b>	Óleo-Em-Água
<b>O/A/O</b>	Óleo-Em-Água-Óleo
<b>R</b>	Raio Da Interface
<b>UV</b>	Ultra Violeta
<b>Vd</b>	Volume Da Fase Dispersa
<b>Θ</b>	Angulo De Contato Trifásico Óleo/Água

$\alpha_p$	Área Da Partícula
$\vartheta_p$	Volume Da Partícula
$\rho_p$	Densidade Das Partículas
$\gamma_{po}$	Tensões Interfaciais Partícula-Óleo
$\gamma_{pw}$	Tensões Interfaciais Partícula-Água
$\gamma_{ow}$	Tensões Interfaciais Óleo-Água,
$\Delta E$	Energia

## RESUMO

As emulsões Pickering (EPs) são caracterizadas pelo uso de partículas sólidas como estabilizantes. Comparativamente com as emulsões convencionais, são menos tóxicas, apresentam maior estabilidade e maior capacidade de incorporação de funcionalidades. Dado estas vantagens as EPs estão sendo cada vez mais utilizadas em aplicações alimentares, cosméticas, farmacêuticas e em engenharia de tecidos. O uso desses sistemas como materiais estruturantes oferece um elevado potencial, nomeadamente para o desenvolvimento de alimentos estruturados, tirando partido do seu comportamento predominantemente elástico e da sua estrutura de gel. Neste contexto, o presente projeto visa o desenvolvimento de nanopartículas de Quitosano/Goma Arábica, sua utilização no desenvolvimento de EPs e posterior teste no desenvolvimento de alimentos estruturados. Usualmente, muitas das soluções de alimentos estruturados são produzidos pela adição de hidrocoloides, propondo-se neste trabalho uma alternativa inovadora à sua produção.

Os resultados obtidos indicaram viabilidade da utilização das nanopartículas de Quitosano/Goma Arábica com ação Pickering promissoras para o desenvolvimento de novas matrizes alimentares. O processo resultou em duas formulações O/A com boa estabilidade: E-1.5%-0.5 e E-3.0%-0.7, porém, apesar da estabilidade durante 18 e 15 dias, respectivamente, essas emulsões não apresentavam aparência de gel. Foram produzidas novas emulsões utilizando Alginato como uma alternativa para o melhoramento da aparência de gel das emulsões para que o sistema se tornasse adequado para o desenvolvimento do alimento estruturado. A partir da amostra E-1.5%-0.5, com a utilização do alginato na formulação e três tipos de sumos (Laranja, Pêra e Maçã) foi possível desenvolver alimentos estruturados com emulsões com características de géis e que mantiveram-se estáveis durante os 28 dias de teste, de acordo com a avaliação do índice de creme. Estas apresentaram pH ácido e uma morfologia formada por gotículas na microescala tal como observado por microscopia ótica (MO). Foi possível desenvolver o alimento estruturado com encapsulação de vitamina D3, apresentando boa eficiência de encapsulação e um potencial na veiculação de compostos hidrofóbicos. Tendo definido as amostras desenvolvidas com substitutos de produtos já existente do mercado, de acordo com análise de textura, as amostras foram semelhantes a uma gelatina (amostra L1) e um flan (amostra M1). Foi possível imprimir estas amostras na impressora em três tipos de design, fato que pode ser relacionado com as propriedades texturais das amostras, visto que, não foi possível imprimir as amostras que apresentavam alta firmeza. Sendo assim, foi possível

desenvolver o alimento estruturado baseado nas emulsões Pickering, utilizando nanopartículas de Quitosano/Goma arábica como partícula sólida. Os sistemas desenvolvidos indicam ser promissores para a indústria alimentar devido à possibilidade de encapsular a vitamina D3, para além da possibilidade de serem impressas por impressão 3D, facto que agrega valor ao produto devido à funcionalidade e explorar uma tecnologia inovadora.

Palavras-chave: Emulsões Pickering; Nanopartículas; Quitosano, Impressão 3D; Alimentos estruturados

## ABSTRACT

Pickering emulsions (PEs) are characterized by the use of solid particles as stabilizers. Compared to conventional emulsions, they are less toxic, present greater stability and improved capacity for the incorporation of functionalities. The use of these systems as structuring materials offers a high potential, particularly for the development of structured foods taking advantage of their predominantly elastic behavior and gel structure. In this context, this project aims at the development of Chitosan/Gum Arabic nanoparticles, their use in the development of PEs and subsequent testing in the design of structured foods. Usually, many structured food solutions are produced by the addition of hydrocolloids, being proposed in this work an innovative alternative for their production.

The results obtained indicated the feasibility of using the Chitosan/Arabic gum nanoparticles with Pickering action as promising systems for the development of new food matrices. The process resulted in two O/A formulations with good stability: E-1.5%-0.3 and E-3.0%-0.7, but despite this stability, 18 and 15 days, respectively, these emulsions lacked gel appearance. New emulsions were produced using alginate as an alternative for improving the gel appearance of the emulsions to make the system suitable for structured food development. From sample E-1.5%-0.5, with the use of alginate in the formulation and three types of juices (Orange, Pear, and Apple) it was possible to develop structured food with emulsions with gel-like characteristics that remained stable during the 28 days, according to the evaluation of the creaming index. They had an acidic pH and droplets at the microscale morphology as observed by optical microscopy (MO). It was possible to develop the structured food encapsulated with vitamin D3, showing good encapsulation efficiency, presenting a potential benefit in protecting hydrophobic compounds. Comparing the developed samples with existing market substitutes, according to texture analysis, the samples were similar with gelatin (sample L1) and flan (sample M1) products. It was possible to print the samples on the printer in three design types, fact that can be related to the textural properties of the samples, since it was not possible to print highly firm samples. Therefore, it was possible to develop the structured food based on a Pickering emulsion, using Chitosan/Gum Arabic nanoparticles as solid particles. The developed systems indicate to be promising for the food industry due to the possibility of encapsulating vitamin D3, besides the 3D printing ability, fact that adds value to the product due to the functionality and exploitation of an innovative technology.

Keywords: Pickering Emulsions; Nanoparticles; Chitosan, 3D Printing; Structured Foods

## **MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS**

As emulsões Pickering são definidas como emulsões estabilizadas por partículas coloidais sólidas que são adsorvidas na interface de dois líquidos imiscíveis.

Nos primeiros estudos sobre emulsões Pickering era muito comum o uso de partículas de sílica como estabilizadoras, porém nas emulsões alimentares tem sido investigada a utilização de algumas nanopartículas naturais. As partículas orgânicas naturais possuem algumas vantagens em relação às partículas sintéticas devido à sua biodegradabilidade, possibilitando também a valorização da biomassa e subprodutos da indústria. As partículas à base de biopolímeros têm atraído cada vez mais a atenção para o desenvolvimento de emulsões Pickering para aplicações alimentares devido à procura dos consumidores por produtos alimentares mais saudáveis e apresentarem melhor biocompatibilidade.

Recentemente têm surgido diversos estudos sobre a utilização de partículas orgânicas de grau alimentar, nomeadamente partículas produzidas utilizando proteínas e materiais lipídicos. Neste contexto, o presente trabalho visa o desenvolvimento de emulsões Pickering com alta viscosidade para o desenvolvimento de alimentos estruturados e sua caracterização (tamanho, morfologia, molhabilidade, etc).

### **Objetivo geral:**

O presente trabalho visa o desenvolvimento de emulsões Pickering com alta viscosidade utilizando nanopartículas de Quitosano/GomaArábica e subsequente desenvolvimento de alimentos estruturados.

### **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;
- (ii) Caracterização das nanopartículas produzidas;
- (iii) Desenvolvimento e otimização da formulação de emulsões Pickering estáveis;
- (iv) Caracterização das emulsões elaboradas;
- (v) Incorporação da Vitamina D3 nas emulsões;

- (vi) Teste de aplicação e comparação com matrizes alimentares de referência
- (vii) Teste Preliminares de impressão 3D.

### **Estrutura da Dissertação:**

A presente dissertação está organizada em vários capítulos que abordam desde o estado da arte atual na área, 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 dividida 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 no 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*

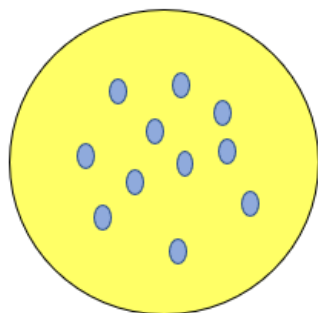
# Revisão bibliográfica

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

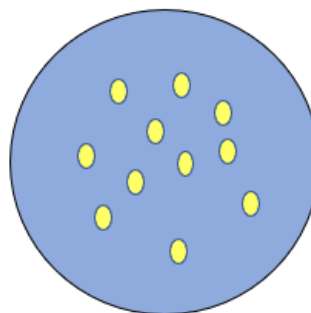
### 1.1. EMULSÕES

Uma emulsão consiste num sistema composto pela mistura de dois líquidos imiscíveis (óleo e água) na forma de pequenas gotículas esféricas, cujo diâmetro é em torno de 0,1 a 100  $\mu\text{m}$  em grande parte dos alimentos. O líquido que compõe as gotículas, é denominada de fase dispersa, sendo o outro líquido denominada de fase contínua. O tipo de emulsão depende do líquido que compõe a fase dispersa e a fase contínua (McClements, 2015). Um sistema de emulsão composto por gotas de óleo dispersas em uma fase aquosa é denominado de emulsão óleo em água (O/A), como por exemplo, maionese, leite e diversos molhos. Um sistema composto por gotas de água dispersas em uma fase oleosa é denominado de emulsão água em óleo (A/O), como por exemplo a manteiga e margarina. A representação de ambas pode ser observada na **Figura 1**.

EMULSÃO ÁGUA EM ÓLEO (A/O)

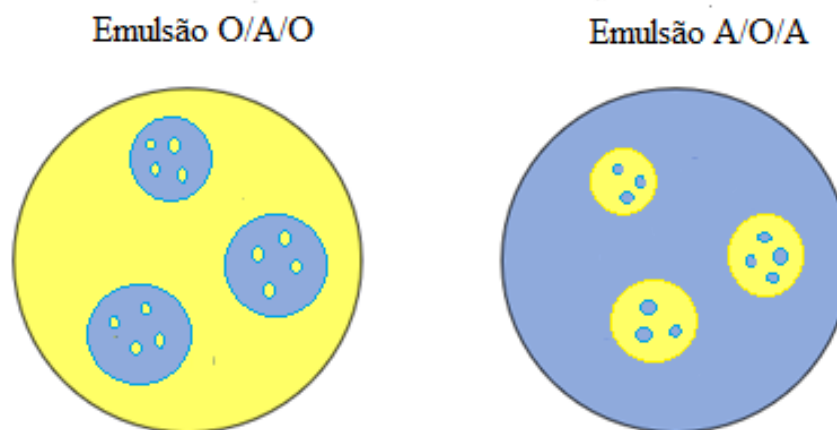


EMULSÃO ÓLEO EM ÁGUA(O/A)



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

Além das emulsões simples, é possível encontrar sistemas mais complexos como é o caso das emulsões duplas do tipo óleo em água em óleo (O/A/O) ou água em óleo em água (A/O/A) como está representada na **Figura 2** (Santos, 2011). A emulsão dupla também pode ser denominada como emulsão múltipla, cujo objetivo principal é garantir a estabilidade dos compostos instáveis nas fases internas da emulsão. Estas apresentam gotículas grandes e a sua formação ocorre quando a primeira emulsão é dispersa novamente numa fase imiscível (Zhang & Reineccius, 2016).



**Figura 2.** Representação das emulsões múltiplas.

As emulsões são formadas a partir do processo de homogeneização da mistura de dois líquidos imiscíveis e para isso, é necessária a aplicação de energia, utilizando-se misturadores do tipo homogeneizadores de alta pressão, rotor-estator, ou ultrassônicos. Após a homogeneização da mistura, a tendência é que ocorra a separação de fases, onde o líquido com menor densidade (óleo) fica sobre o líquido de maior densidade (água). Este fenómeno ocorre devido ao facto de a mistura de ambas as fases ser termodinamicamente desfavorável, sendo que a emulsão tende a desestabilizar com o tempo. O mecanismo e a velocidade com a qual a emulsão desestabiliza depende da sua composição, microestrutura, e das condições de armazenamento como por exemplo a temperatura (McClements, 2015).

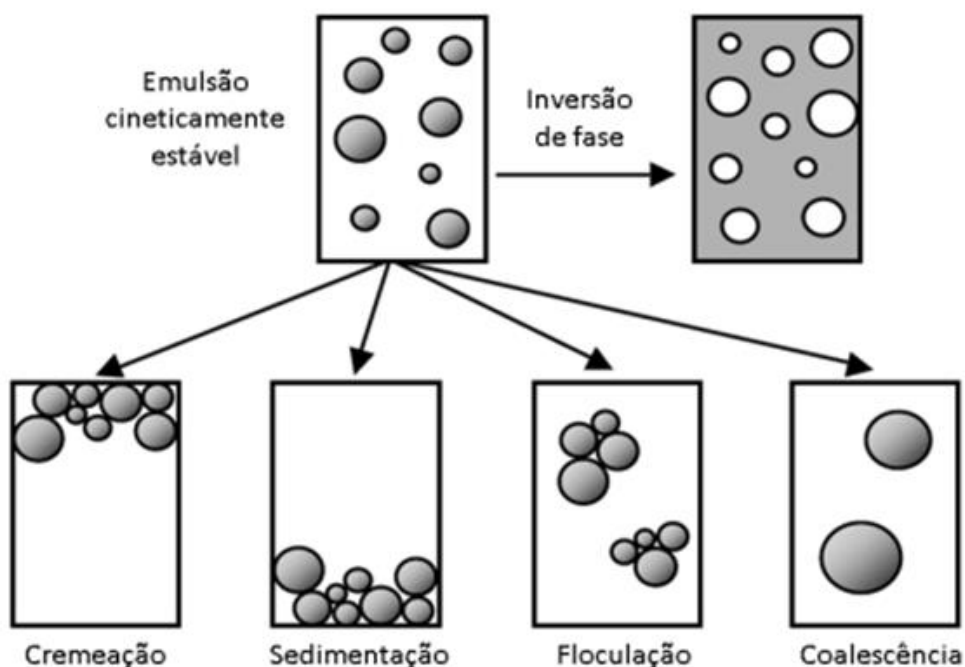
Para melhorar a estabilidade da emulsão é necessário adicionar agentes emulsionantes. Estes agentes são moléculas tensoativas que atuam na interface das gotas formadas na homogeneização, cujo objetivo é reduzir a tensão interfacial formando uma barreira protetora ao redor da gota e impedindo a colisão entre estas o que pode resultar em fenómenos de desestabilização, nomeadamente floculação ou coalescência, entre outros (D.J. McClements, Decker, & Weiss, 2007).

Há diversas classes de emulsionantes como os iónicos ou não iónicos, proteínas, zwitteriónicos, polímeros anfifílicos ou combinações de polímeros e surfactantes. Na indústria alimentar os mais utilizados são as proteínas anfifílicas (possuem regiões polares e apolares) ou fosfolipídios (McClements, 2015).

Com o objetivo de selecionar o emulsionante mais adequado para cada tipo de sistema, Griffin (1949) definiu o parâmetro do balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) (Schott, 1969). O HLB descreve a natureza anfifílica dos emulsionantes a partir de uma escala empírica sendo

que para valores abaixo de 6 o agente de superfície é classificado como lipofílico e tende a formar emulsões água em óleo. Emulsionantes com HLB maiores que 10, são identificados como agentes de superfície hidrofílicos, logo tendem a formar emulsões do tipo óleo em água (Yamashita & Sakamoto, 2016).

A desestabilização das emulsões acontece através de diferentes mecanismos de desestabilização que em consequência alteram as suas propriedades. Entre os processos que conduzem à instabilidade cabe destacar a cremeação/flotação, sedimentação, floculação, coalescência e envelhecimento de Ostwald (McClements, 2015). Na **Figura 3** estão representados os principais tipos de desestabilizações que ocorrem nas emulsões.



**Figura 3.** Representação dos mecanismos de desestabilizações de emulsões.

FONTE: Adaptado McClements (2015).

Na cremeação/flotação e sedimentação tem lugar a separação gravitacional das gotas. No processo de cremeação as gotículas da fase dispersa realizam um movimento ascendente, migrando para o topo da emulsão, enquanto que na sedimentação, as gotas realizam um movimento descendente (para a base da emulsão). Este fenómeno depende das características do sistema, como a viscosidade da fase contínua, densidade ou natureza química das fases (McClements, 2015; Damodaran; Parkin, 2018).

Na floculação as gotículas de emulsão se aproximam e agregam em unidades maiores, mantendo a sua integridade individual. Este processo ocorre quando as forças de repulsão do sistema não são suficientemente fortes para manter as gotículas afastadas a uma distância em que as forças de atração de van der Waals não conseguem atuar (Friberg, 2007).

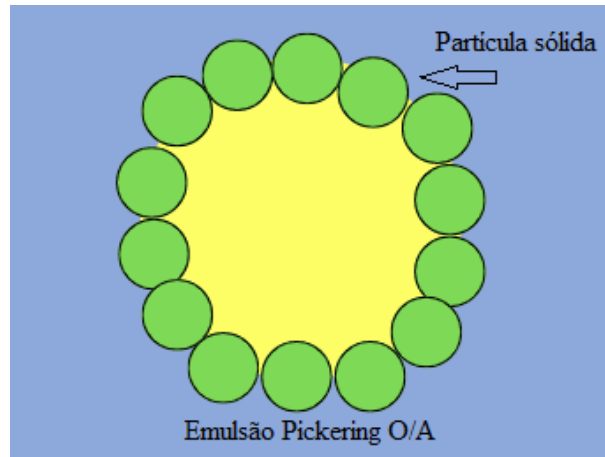
O processo de coalescência ocorre quando há o rompimento da interface das gotículas da emulsão, resultando na fusão destas, e, conseqüentemente, na formação gotículas de tamanho maior (Almeida, 2012).

O envelhecimento de Ostwald acontece quando as gotículas menores aderem às gotículas maiores durante o armazenamento. Como as gotículas maiores possuem menor energia livre e maior estabilidade, este processo é considerado espontâneo (Han et al., 2018).

A inversão de fases é o processo que implica a inversão das fases contínua e dispersa com o passar do tempo. Com este fenômeno, 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 estabilizadas por partículas coloidais sólidas que são adsorvidas na interface de dois líquidos imiscíveis. Os primeiros estudos foram realizados por Ramsden (1904) e Pickering (1907) no início do século 20. Nas emulsões clássicas a estabilidade do sistema ocorre devido à adsorção de compostos anfifílicos que alteram as propriedades da interface das duas fases (óleo e água). Desta forma, o emulsionante age diminuindo a tensão interfacial, facilitando a quebra das gotículas durante a emulsificação e diminuindo a energia livre de Gibbs da emulsão. Pelo contrário, nas emulsões Pickering tem lugar a adsorção (que pode ser irreversível) das partículas sólidas na interface entre os dois líquidos formando uma barreira rígida que limita a união (coalescência) entre as gotículas e também diminui a energia livre de Gibbs garantindo uma elevada estabilidade ao sistema de emulsão (Hu et al., 2016; Mwangi et al., 2016). Na **Figura 4** apresenta-se uma representação esquemática de uma emulsão Pickering.



**Figura 4.** Representação da emulsão Pickering

As emulsões Pickering proporcionam propriedades específicas às emulsões, como elevada resistência à coalescência, e, conseqüentemente, elevada estabilidade para longos períodos de tempo, além da biocompatibilidade conferida por determinadas partículas sólidas orgânicas, o que é atrativo para diversas aplicações (Xiao et al., 2016).

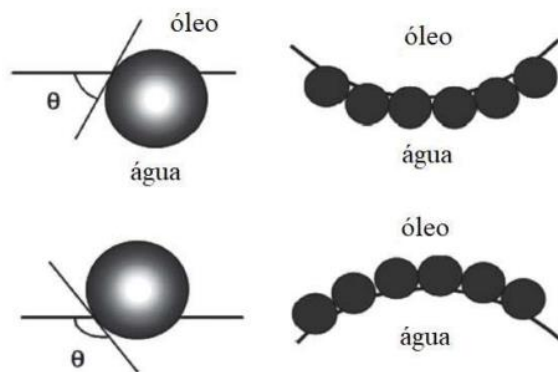
Para que uma partícula sólida atue como estabilizador de emulsões Pickering é necessário atender a alguns requisitos. As partículas não devem ser totalmente solúveis em nenhuma das fases, isto é, devem apresentar molhabilidade parcial adequada, concentração adequada e o tamanho da partícula deve ser menor (no mínimo uma ordem de grandeza) comparativamente com o tamanho da gotícula da emulsão (Chevalier & Bolzinger, 2013).

O equivalente ao valor de HLB que auxilia na escolha do emulsionante nas emulsões clássicas, é considerado o grau de molhabilidade da partícula sólida no caso das emulsões Pickering. Este parâmetro é definido como um ângulo de contacto trifásico ( $\theta$ ) formado no cruzamento entre a partícula sólida, fase contínua e fase dispersa. O grau de molhabilidade é expresso pela equação de Young (**Equação 1**) e determina a localização de uma partícula em relação à interface óleo-água, nomeadamente o tipo de emulsão (O/A ou A/O) a partir dos valores de  $\gamma_{po}$ ,  $\gamma_{pw}$ ,  $\gamma_{ow}$  que correspondem às tensões interfaciais partícula-óleo, partícula-água e óleo-água, respetivamente (Chevalier & Bolzinger, 2013).

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

As partículas cujo  $\theta < 90^\circ$  são mais hidrofílicas e formarão emulsões O/A enquanto as partículas cujo  $\theta > 90^\circ$  são mais hidrofóbicas e formarão emulsões A/O, como pode ser observado na **Figura 5**. A adesão na interface dos líquidos é mais forte quando o ângulo de

contato trifásico for mais próximo de 90°, e conseqüentemente, as emulsões Pickering serão mais estáveis (Harman et al., 2019). O valor de  $\theta$  proveniente da equação de Young (Equação 1) depende das tensões interfaciais do óleo e da água ( $\gamma_{po}$  e  $\gamma_{ow}$ ), assim o óleo tem uma influência direta no ângulo de contato trifásico. Por isso, as propriedades do óleo como a viscosidade, polaridade, além da proporção de fase oleosa/aquosa, irão influenciar no tamanho de gota e, portanto, a estabilidade da emulsão (Albert et al., 2019a). Na **Figura 5** estão representados o ângulo de contato e a posição das partículas na interface óleo-água dependendo da sua molhabilidade.



**Figura 5.** Representação do ângulo de contato e posição das partículas na interface óleo-água.

FONTE: Adaptado de (Wu & Ma, 2016).

Para que a adsorção seja irreversível na interface, as partículas devem apresentar um valor  $\theta$  entre 30° e 150°, pois nesse valor a energia de dessorção é muito maior que a energia térmica do movimento browniano. A **Equação 2** apresenta o cálculo da energia necessária para separar partículas de raio R da interface,  $\Delta E$ , tal que,  $\gamma_{ow}$  é a tensão interfacial e  $\theta$  é o ângulo de contato trifásico (Xiao et al., 2016)

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

Outro fator muito importante que influencia diretamente nas características da emulsão formada é a concentração de partículas. Se a concentração de partículas for baixa, apenas será estabilizada uma pequena área interfacial, e, conseqüentemente, haverá formação de gotas grandes e instáveis. Quando a concentração é intermédia, a área interfacial que as partículas conseguem cobrir é maior, ocorrendo, normalmente, o efeito de coalescência até que as gotículas sejam inteiramente cobertas. Se a concentração de partículas for elevada pode haver

a formação de emulsões muito finas, sendo que quando há excesso de partículas, estas não são adsorvidas e ficam em suspensão na fase contínua (Albert et al., 2019).

Quanto mais partículas são usadas para estabilizar a emulsão, menor é o tamanho da gota. Esse fenômeno é denominado “coalescência limitada” e a partir deste é possível ter um controle do tamanho de gotícula. O parâmetro pode ser determinado a partir da **Equação 3** onde se demonstra que a distribuição homogênea do tamanho de gotícula é diretamente proporcional à massa de partículas e à cobertura das gotículas (French et al., 2015).

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

Onde D é o diâmetro final da gota,  $m_p$  é a massa das partículas,  $\rho_p$  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  $\vartheta_p$  é o volume da partícula (French et al., 2015).

Nas emulsões Pickering existe uma família específica denominada, emulsões Pickering com alta fração volumétrica (HIPPEs). Estas são um tipo de emulsão que apresentam uma fase hidrofóbica com fração volumétrica >74%, pelo que são consideradas emulsões altamente concentradas e utilizam partículas sólidas como emulsificante. As HIPPEs têm diversas vantagens em comparação com as emulsões baseadas em emulsionantes, tais como maior estabilidade à coalescência e maior estabilidade ao armazenamento. Além disso, os HIPPEs podem suportar tratamento térmico e força centrífuga (Jiao et al., 2018). Devido a estas vantagens, um grande interesse tem surgido na utilização de HIPPEs, sendo cada vez mais usadas nas indústrias alimentar e cosmética como mostram os estudos de Lu et al (2022) que preparou emulsões Pickering O/A utilizando nanopartículas de quitosano e ácido fítico-Ciclodextrina e obteve uma estrutura elástica tipo gel que podem ser fornecidas nas áreas alimentícia, cosmética e farmacêutica.

### 1.3.APLICAÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING EM ALIMENTOS

Atualmente, devido à preocupação com a segurança alimentar e a saúde da população diversas pesquisas estão a ser realizadas visando o desenvolvimento de alimentos saudáveis. Neste contexto, as emulsões Pickering possuem elevado potencial na indústria de alimentos, porque além de apresentar melhor estabilidade, trazem novas propriedades de textura,

sensoriais e nutricionais aos alimentos, evitando o uso de surfactantes convencionais. Há diversos sistemas de emulsão utilizando partículas sólidas de origem natural e trabalhos recentes mostram o potencial de encapsulamento de compostos bioativos permitindo a produção de alimentos com baixo teor de gordura, atrativo para o desenvolvimento de alimentos mais saudáveis (Chen et al., 2020).

Um dos desafios atuais da aplicação das emulsões Pickering é o custo de produção devido à dificuldade de se produzir em larga escala. Apesar disso, com o desenvolvimento de novos métodos de preparação em conjunto com os avanços no âmbito da nanotecnologia, a tendência é encontrar diversas aplicações das emulsões Pickering na indústria de alimentos (Dai et al., 2018; Yang et al., 2017). Apesar de seu alto potencial, ainda é necessário progredir no que respeita ao uso da nanotecnologia em termos de formulações assim como na legislação, a fim de se determinar a segurança do uso de nanopartículas no corpo humano, incluindo a sua biodegradação e toxicidade, efeito que pode estar associado a processos químicos a que as partículas são submetidas para desenhar a sua molhabilidade (Zhu et al., 2018).

As emulsões Pickering podem contribuir com vários benefícios para o desenvolvimento de alimentos funcionais, dado que possibilitam a incorporação de compostos bioativos lipofílicos como ácido linoleico conjugado, ácidos gordos,  $\omega$ -3, fitoesteróis e vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K). A incorporação desses compostos em alimentos, pode oferecer benefícios à saúde humana, nomeadamente no combate da hipertensão, doenças cardíacas, ou ganho de peso, entre outros (Tavernier et al., 2016).

Nos primeiros estudos sobre emulsões Pickering era muito comum o uso de partículas de sílica como estabilizadoras, porém nas emulsões alimentares tem sido investigada a utilização de algumas nanopartículas baseadas em polímeros naturais potencialmente compatíveis com alimentos como o amido ou quitosano (Murray, 2019). As partículas orgânicas naturais possuem algumas vantagens em relação às partículas sintéticas devido à sua biodegradabilidade, possibilitando também valorização da biomassa e subprodutos da indústria. As partículas à base de biopolímeros têm atraído cada vez mais a atenção para o desenvolvimento de emulsões Pickering para aplicações alimentares devido à procura dos consumidores por produtos alimentares mais saudáveis, apresentarem melhor biocompatibilidade e menor risco de toxicidade (Dupont et al., 2021).

Nos últimos anos, houve um crescimento considerável do interesse nas emulsões Pickering. Na **Tabela 1** listam-se alguns exemplos de pesquisas relacionadas com o estudo de partículas de quitosano estabilizadoras Pickering com potencial de aplicação alimentar.

**Tabela 1.** Partículas à base de quitosano com capacidade para atuar como estabilizadores Pickering e com potencial de utilização em aplicações alimentares.

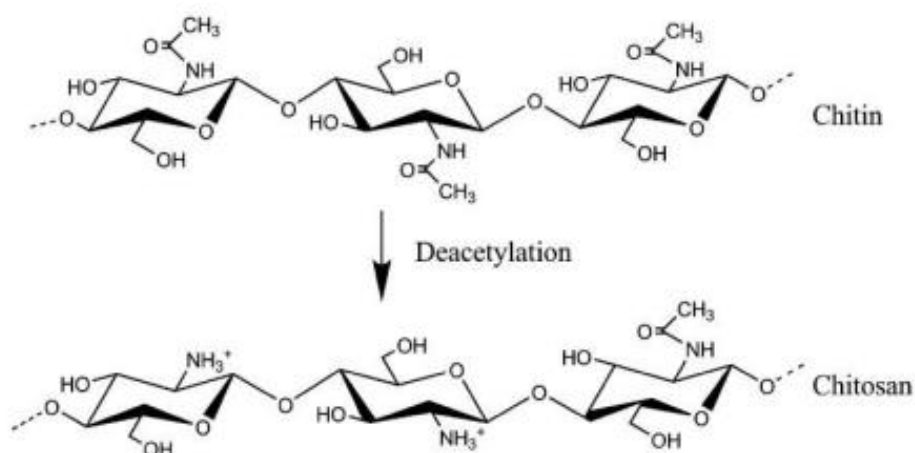
<b>Partícula sólidas</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Referências</b>
Quitosano/ácido esteárico	Emulsões Pickering O/A com óleo de girassol	(Atarian et al., 2019)
Quitosano/d-limoneno	Emulsões Pickering O/A com óleo de casca de laranja	(Alehosseini et al., 2021)
Zeína/Quitosano	Emulsão O/A com encapsulamento de Vitamina D3	(Shah et al., 2021 <sup>a</sup> )
Quitosano/goma Arábica	Emulsões Pickering O/A baseadas em polissacarídeos livres de surfactante	(Sharkawy et al., 2019)
cloridrato de quitosano/carboximetilamido	Emulsões Pickering O/A baseadas em polissacarídeos livres de surfactante	(X.-M. Li et al., 2019)

#### 1.4. NANOPARTÍCULAS

Nanopartículas são partículas sólidas que estão na forma de nanoesferas ou nanocápsulas e de tamanho submicrônico. Entre elas, é de salientar as nanopartículas poliméricas constituídas por polímeros derivados de fontes naturais, sendo estas atrativas devido ao seu baixo custo, propriedades químicas versáteis e biodisponibilidade (Medeiros et al., 2021).

Um exemplo de polímeros derivados de fontes naturais são os polissacarídeos que têm sido uma alternativa devido à sua natureza anfifílica que proporciona a automontagem em ambientes aquosos, auxiliando na formação de estruturas específicas. Os polissacarídeos possuem estruturas moleculares de tamanho grande e, logo, são muito utilizados devido à capacidade de encapsular compostos bioativos. Um exemplo são as nanopartículas de quitosano, que podem estar associadas com outras substâncias, como óleos essenciais e vitamina C (Aguirre & Borneo, 2019). O quitosano é um polissacarídeo catiónico obtido a partir da reação da desacetilação da quitina em meio alcalino. A quitina é um polímero linear, natural extraído de exoesqueleto de crustáceos e insetos. Esta é composta por monômeros de  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-

2-amino-2-desoxi-D-glucose e  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glucose (Mwangi et al., 2016). As estruturas químicas da quitina e do quitosano são apresentadas na **Figura 6**.



**Figura 6.** Estrutura química da quitina e do quitosano.

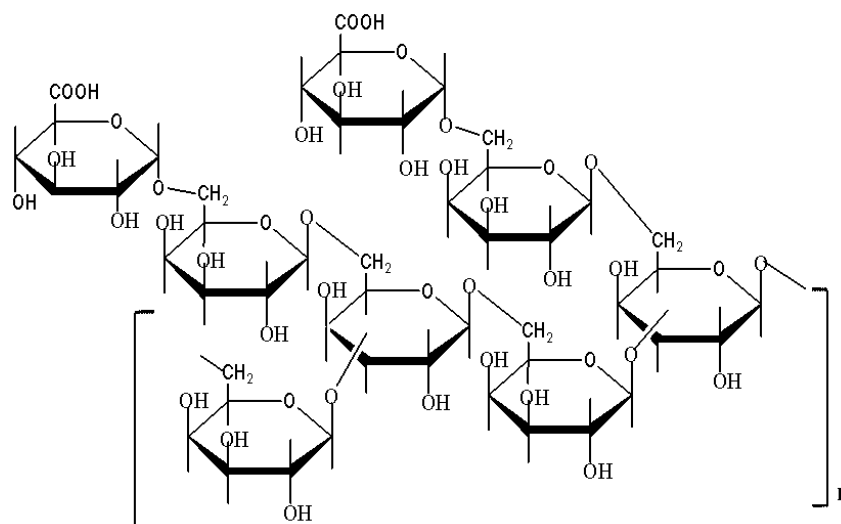
FONTE: Adaptado de Nilsen-Nygaard et al (2015)

O quitosano é um biopolímero promissor para aplicações industriais por apresentar diversas propriedades como biodegradabilidade, biocompatibilidade, antimicrobiana, ser solúvel em meio aquoso ácido e também por ser extraído de uma fonte abundante na natureza e economicamente viável. Assim, muitos estudos sobre o quitosano estão sendo explorados em diversos setores como agrícola, alimentar, farmacêutico, médico e têxtil. Os estudos mostram o desenvolvimento de aplicações como aerogéis, hidrogéis, fibras eletrofiadas, microcápsulas e nanopartículas visando desenvolver produtos inovadores e ecológicos (Rajabi et al., 2019).

As partículas de quitosano podem ser utilizadas como estabilizadores de emulsões Pickering com considerável estabilidade a longo prazo, e apresentando grande potencial para produzir emulsões O/A, livres de surfactante, biodegradáveis e comestíveis (Wang & Heuzey, 2016). Suas propriedades emulsificantes dependem muito do pH porque este afeta a densidade de carga e a conformação da cadeia polimérica. Para abordar esta sensibilidade, é comum combinar o quitosano com outros biopolímeros, nomeadamente a goma arábica.

A goma arábica (GA) é um polissacarídeo anfifílico produzido a partir do processo de exsudação da árvore de acácia (Islam et al., 1997). Ela é muito utilizada na indústria de alimentos devido à sua estabilidade a temperaturas elevadas, alta força iônica e ampla faixa de pH (Bai et al., 2017; Chen & Zhong, 2015). A GA possui ação antioxidante, anti-inflamatória e é solúvel em água, podendo atuar como agente floculante, estabilizante e espessante. Além

disso, é um polímero biodegradável, biocompatível e forma complexos capazes de transportar moléculas devido as suas propriedades estruturais e funcionais. A goma arábica é utilizada em alguns sistemas de emulsão Pickering devido à sua capacidade de modificar a molhabilidade e proporcionar alta estabilidade à emulsão (Ali et al., 2009; Vuillemin et al., 2020). A estrutura química da goma arábica está representada na **Figura 7**.



**Figura 7.** Estrutura química da goma arábica

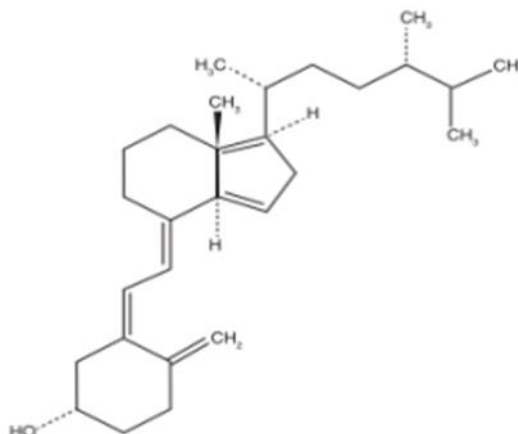
FONTE: Cissé et al (2020)

Nos últimos anos, há um grande interesse na utilização de nanopartículas biodegradáveis como sistema de entrega de compostos bioativos, como por exemplo vitaminas e óleos essenciais. O quitosano é um carboidrato biodegradável que possui diversas aplicações e as suas nanopartículas são promissoras como carregadores de compostos bioativos devido à capacidade de proteger as moléculas bioativas sensíveis à ação de enzimas e da degradação química, tal como relatado nos trabalhos de Alishahi et al. (2011), Azevedo et al. (2014) e Shi & Tan (2002) que utilizaram as nanopartículas de quitosano para encapsulamento e liberação controlada de vitaminas (de Moura et al., 2011).

### 1.5. VITAMINA D

A vitamina D<sub>3</sub>, também conhecida como colecalciferol, é uma vitamina lipossolúvel que é sintetizada pela pele humana quando exposta à luz solar (radiação UV). Também pode

ser obtida a partir da ingestão de diversos alimentos como fígado bovino, peixe e gema do ovo, porém a quantidade de vitamina D disponível nos alimentos é baixa. A vitamina D contribui na absorção de cálcio no intestino, consequentemente, ela é fundamental para a formação óssea (Jakobsen & Knuthsen, 2014). A **Figura 8** representa a estrutura química do colecalciferol (vitamina D3).



**Figura 8.** Estrutura química do colecalciferol (vitamina D3).

FONTE: Champe, Harvey; Ferrier (2006).

Os indivíduos que sofrem de doenças gastrointestinais, com baixa exposição à luz solar tem alto risco de apresentar deficiência de vitamina D3, consequentemente, a falta dessa vitamina pode causar algumas doenças no tecido ósseo como a osteopenia e osteoporose. Assim, o desenvolvimento de alimentos e bebidas enriquecidos ou fortificados com vitamina D3 pode trazer benefícios à saúde de indivíduos que não conseguem obter quantidade suficiente via alimentação ou até mesmo os indivíduos que vivem em ambientes de baixa exposição à luz solar (Adams & Hewison, 2010; Luo et al., 2012). Neste contexto, o desenvolvimento de alimentos fortificados com a vitamina D3 apresenta como desafio a dificuldade de esta ser incorporada em alimentos. A sua baixa solubilidade em água, baixa biodisponibilidade oral, além de ser sensível à luz, ao oxigênio, e ao calor, faz com que ela se degrade rapidamente. Assim, para incorporar a vitamina D3 nos alimentos de forma eficaz é necessário a sua encapsulação através de micropartículas à base de biopolímeros de grau alimentar ou usando sistemas de emulsão Pickering, entre outras possibilidades (Abbasi et al., 2014; Lin et al., 2016). Por exemplo, o trabalho Shah et al (2021) reporta a produção de emulsões Pickering utilizando partículas de zeína/quitosano enriquecidas com Vitamina D3 para avaliar o potencial de entrega desta emulsão. A vitamina D3 foi encapsulada com um sucesso até 91,8% de eficiência de encapsulação e apresentou liberação prolongada por um período de tempo significativo.

## 1.6. ALIMENTOS ESTRUTURADOS

Diversos produtos alimentares possuem estruturas complexas, que podem condicionar o sabor e a textura, e conseqüentemente, o prazer e desejabilidade do produto. O processo de desenvolvimento de um alimento estruturado é complexo, considerando as particulares propriedades intrínsecas das matérias primas, e processos de produção para garantir a estruturação dos mesmos. O processo consiste na destruição/desestabilização da estrutura alimentar, na criação de novas fases por meios bioquímicos ou por transições de fase, no dimensionamento de fases e na estabilização da nova estrutura (Norton, Moore & Fryer, 2007).

Grande parte de compostos bioativos como ácidos gordos, carotenoides e vitaminas são facilmente degradados pela luz, enzimas, oxigênio e altas temperaturas. Assim, um sistema de entrega de compostos bioativos deve impedir a sua degradação, além de preservar a bioatividade do ativo encapsulado. Para desenvolver um alimento estruturado que possua um sistema de entrega baseado em emulsões Pickering é necessário atender alguns requisitos como: utilização de reagentes de grau alimentar e utilização de técnicas de processamento economicamente viáveis. Por fim, o sistema de entrega deve ser compatível com a matriz alimentar onde seja adicionado e deve ser fisicamente estável durante a preparação, transporte e armazenamento (McClements, 2015; Sagalowicz & Leser, 2010).

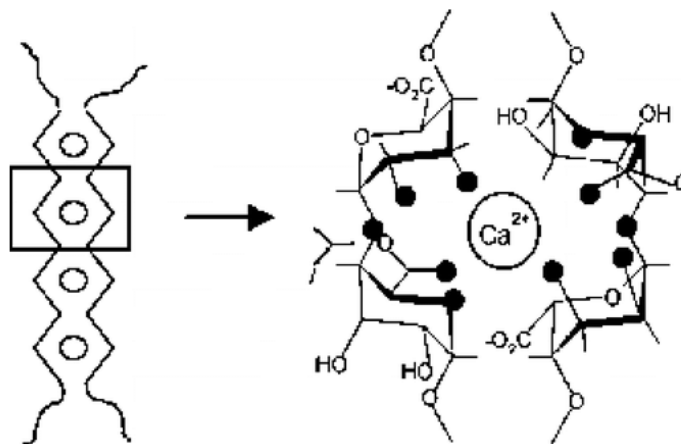
Estudos de Zhao et al (2014) mostraram que as emulsões Pickering oferecem a proteção necessária aos ingredientes ativos. O trabalho demonstrou um aumento da estabilidade da curcumina ao esta ser encapsulada numa emulsão estabilizada com partículas de sílica. O aumento observado na estabilidade da curcumina foi atribuído às propriedades de barreira aprimoradas devido à formação de uma camada interfacial protetora espessa.

Outro exemplo reportado por Fu et al (2019) evidenciou o uso de nanopartículas de glúten de trigo e goma de xantano para estabilizar emulsões Pickering contendo  $\beta$ -caroteno. O Sistema apresentou alta capacidade de retenção de bioativos e um aumento da bioacessibilidade. O trabalho de Chen et al. (2016) também apresentou uma retenção de mais de 88% de  $\beta$ -caroteno quando este foi incorporado numa emulsão de elevada viscosidade (gel) obtida por estabilização com zeína, funcionando como um produto alternativo à margarina.

## 1.7 ALGINATO

O alginato é um polissacarídeo abundante na natureza presente na estrutura de algas marrons marinhas (Phaeophyceae). Possui diversas aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica e têxtil, devido à sua capacidade de reter água e suas propriedades gelificantes. Devido à sua capacidade de reter grandes quantidades de fluido, o alginato pode ser utilizado como matriz de imobilização para diversas aplicações, como liberação de fármacos (Hecht & Srebnik, 2016).

Alginatos são copolímeros lineares compostos por uma cadeia de sequência aleatória de resíduos de  $\alpha$ -1-gulurônicos (G) e  $\beta$ -d-manurônicos (M) ligados em (1  $\rightarrow$  4). Essa cadeia de sequência aleatória apresenta blocos M e G intercalados cujas frequências são conhecidas como mônada, diádica e tríade. O mecanismo que envolve o processo de gelificação envolve resíduos gulurônicos com a quelação específica de  $\text{Ca}^{2+}$  formando a chamada estrutura “egg-box” (**Figura 9**) (Segale et al., 2016).



**Figura 9.** Figura esquemática ilustrando o modelo egg-box para Ca-alginato.

FONTE: Li et al (2007)

## 1.8 IMPRESSORA 3D

A tecnologia de impressão 3D de alimentos é uma tecnologia moderna de processamento de alimentos que permite o desenvolvimento de alimentos com design personalizado, com texturas mais fáceis de ingerir, além de fornecer nutrientes personalizados. As três principais tecnologias de impressão 3D de alimentos são do tipo extrusão, condensação

de pó e impressão a jato de tinta, no qual a mais comum é a impressão do tipo extrusão. O processo de extrusão é controlado digitalmente, e um produto alimentício 3D será finalmente obtido pela impressão camada por camada de acordo com o perfil definido (Wu et al., 2022)

As matérias-primas na impressão 3D de alimentos são divididas em três tipos: matérias-primas imprimíveis naturais como chocolates, matérias-primas naturais não imprimíveis que precisam ser processadas para impressão como frutas, e recursos alimentares avançados que podem substituir os alimentos tradicionais como algas (Bhat et al., 2021)

O processo de impressão de alimentos é dividido em quatro etapas como: *design* de modelo, impressão 3D e pós-processamento. Esse processo depende do método de extrusão, das características do material de impressão como propriedades reológicas, além dos parâmetros de impressão, como temperatura e distância de impressão, que podem afetar o efeito da impressão 3D (Li et al., 2021).

---

*Capítulo 2*

# Materiais e Métodos

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAS

Para o preparo das nanopartículas foram utilizadas quitosano (85/10/A1 da Biotechnologie GmbH) com grau de desacetilação de 85 %, goma arábica (Sigma Aldrich). O ácido cítrico (Panreac, 99,5% de pureza) e Ácido acético (Honeywell, 99,8% de purez) foram utilizados para dissolução do quitosano e os sumos de Laranja, Pêra e Maçã (Pingo Doce) que foram adquiridas no mercado do comércio local de Bragança- Portugal. Na preparação das emulsões Pickering, o óleo utilizado foi miglyol 812N (densidade de 0.96g/mL, Acofarma). Para o desenvolvimento do alimento estruturado foi utilizado sal de sódio de ácido algínico (Sigma Aldrich), cloreto de cálcio dihidratado (Panreac), lactato de cálcio (Panreac) e gluconato de cálcio (Sigma Aldrich). A Vitamin D3 com pureza de 99% foi adquirida na Alfa Aesar.

### 2.2 PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

As nanopartículas foram preparadas conforme a metodologia descrita no trabalho de (Sharkawy et al., 2019), com algumas modificações. As nanopartículas de razão quitosano/goma arábica (CH/GA )1:1 (m/m) foram preparadas em concentrações de 1,5%, 3% e 4% (p/v). O quitosano foi dissolvido em ácido cítrico 4% (p/v) ou ácido acético 0,1 N. Após a dissolução do quitosano, foi preparada a solução de goma arábica da mesma concentração e adicionada gota a gota com o auxílio de uma bomba peristáltica (Ismatec). A mistura foi mantida em agitação magnética constante (800 rpm) durante 30 min para permitir a complexação entre a quitosana e goma arábica. A **Figura 10** apresenta o processo de preparação das nanopartículas.



**Figura 10.** Processo de preparação das nanopartículas

## **2.3 PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING**

A preparação das emulsões Pickering consiste na junção da fase hidrofóbica a partículas coloidais geralmente dispersas em água utilizando um método de alta energia para formar a emulsão (Niro et al., 2021). Neste caso, a homogeneização foi realizada através de um rotor-estator ou ultraturrax. O equipamento é composto por um rotor com pás e um estator com aberturas. Para formar as emulsões e reduzir o tamanho das gotículas as forças envolvidas são a tensão de cisalhamento entre o rotor e estator e o impacto do fluido em velocidade contra a parede, dado a rotação rápida do motor. Para o desenvolvimento das emulsões Pickering, as velocidades de rotação variaram entre 5000 e 30000 rpm. Os parâmetros a serem controlados neste método para o dimensionamento da partícula são o tempo de homogeneização e a velocidade de rotação (Albert et al., 2019).

As vantagens deste método são a facilidade e a rapidez do processo que geralmente é feito em minutos, conduzindo a um baixo custo de operação. As desvantagens são a possível taxa de cisalhamento elevada que pode causar uma desestabilização das partículas, falta de uniformidade das gotículas da amostra homogeneizada, ou o aumento da temperatura devido ao atrito durante o processo que também pode causar a desestabilização da emulsão (Albert et al., 2019). Para a preparação das emulsões foram testadas diferentes razões O/A em diferentes concentrações de nanopartículas a uma velocidade de rotação de 13500 rpm em 7 minutos. Para os estudos da incorporação da vitamina D3, esta foi adicionada à fase óleo sendo o procedimento de preparação idêntico ao descrito para a emulsões base (sem vitamina D3).

## **2.4 CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING**

### **2.4.1 Tipo de emulsão**

O tipo de emulsão é determinado com base no método citado por Lv et al., (2020). Foram utilizados dois recipientes, um contendo 40 mL de água destilada e o outro 40 mL óleo. Através da análise visual, uma gota da emulsão foi colocada em cada recipiente para verificar a sua solubilidade. Se a emulsão solubilizar em óleo, será definida como emulsão do tipo A/O, se corresponder ao contrário, serão consideradas emulsões O/A.

#### 2.4.2 Microestrutura

Para as análises de rotina da morfologia e microestrutura foi utilizado um microscópio óptico (MO). Estas medidas serviram também para confirmar o tamanho de gotícula e apoiar os estudos de estabilidade da emulsão com o tempo (observação de fenômenos de coalescência que correspondem ao aumento do tamanho das gotículas com o tempo). A análise morfológica das emulsões de Pickering foi realizada em microscópio óptico Nikon Eclipse 50i (Kawasaki, Japão) equipado com câmera Nikon Digital Sight, obtendo-se imagens nos aumentos de 200x e 400x. A análise das emulsões foi realizada em t0, t7 e t21 para avaliar a evolução de sua estabilidade no dia da preparação e após 7 e 21 dias.

Adicionalmente, o tamanho da gota da emulsão foi medido a partir das imagens. Para cada emulsão foram medidas 80 gotas no software do equipamento, obtendo-se o tamanho médio das gotas e um desvio padrão das amostras.

#### 2.4.3 Índice de creme

O Índice de creme (IC%) é determinado conforme descrito por Nikolovski et al.,(2016) em que é utilizado como indicador da estabilidade das emulsões frente à separação. A estabilidade é medida a partir da quantificação da separação de fases, nomeadamente por determinação da camada aquosa (sérum) e da camada de emulsão. O índice de creme (IC), expresso em percentagem, é determinado através da razão, entre a altura da camada aquosa (Hs) e a altura total (Ht), tal como descrito na **Equação 4**.

$$CI (\%) = \frac{Hs}{Ht} \times 100 \quad \text{(Equação 4)}$$

#### 2.4.4 Determinação do pH.

Os valores de pH das emulsões que foram consideradas mais promissoras foram determinados em triplicado com o auxílio de um medidor de pH (Inolab pH 720, WTW, Alemanha) à temperatura ambiente.

## 2.5 DESENVOLVIMENTO DO ALIMENTO ESTRUTURADO

O alimento estruturado contendo emulsões Pickering foi preparado através do método de gelificação ionotrópica (Lim et al., 2020). Primeiramente, uma solução de alginato (2% p/v) foi preparada dissolvendo o alginato em água e sumos de sabor Laranja, Pera e Maçã (Pingo Doce) sob agitação a 800 rpm por 3 h. Seguidamente, a emulsão Pickering (preparada na hora) foi misturada com um volume igual da solução de alginato. A mistura foi homogeneizada no ultraturrax a 5000 rpm por 5 minutos. Após este passo, a mistura foi deixada em repouso para desgaseificar a solução e derramada em moldes. A gelificação foi promovida pela injeção da solução de  $\text{CaCl}_2$  (2% p/v) na mistura. Os moldes foram deixados à temperatura ambiente por 12 horas.

## 2.6 ENCAPSULAÇÃO DA VITAMINA D3

A emulsão Pickering contendo vitamina D3 encapsulada foi preparada com base no trabalho de Shah et al., (2021) com ligeiras modificações. Primeiramente, a vitamina D3 na concentração de 0,1% ( $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) foi dissolvida em óleo miglyol sob agitação magnética constante (800 rpm) durante 1h. Em seguida, a fase oleosa contendo a vitamina dissolvida foi misturada no complexo Quitosano e Goma Arábica contendo sumos e homogeneizada a 13500 rpm por 5 min usando um Ultra-Turrax (IKA-T25) digital. Logo após preparação, as amostras foram transferidas para frascos, que foram bem fechados e armazenados no escuro à temperatura ambiente para evitar a oxidação e degradação da vitamina D3.

## 2.7 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO

Para as análises de encapsulação, a eficiência de encapsulação da vitamina D3 foi determinada com base no artigo de Shah et al., (2021b). A eficiência de encapsulação é determinada com base na quantificação por espectrofotometria ultravioleta-visível (UV-Vis). Primeiramente, foi feita uma curva padrão de Vitamina D3 utilizando a espectrofotometria ultravioleta-visível a 265 nm no Espectrofotômetro UV-Visível V-730 Jasco Inc. A curva padrão foi feita a partir da medição da absorbância de concentrações conhecidas de Vitamina D3 dissolvidas em Metanol (Honeywell, 99,8%) e a partir destes dados foi realizada a regressão

linear no software Matlab2022b para determinar a equação linear, o coeficiente de determinação (r<sup>2</sup>) e a curva padrão.

Para determinar a eficiência de encapsulação de vitamina D<sub>3</sub>, 5 mL de emulsão Pickering com vitamina D<sub>3</sub> encapsulada recém preparada foi centrifugada (Scanspeedmini,2010, Dinamarca) a 13000 rpm por 30 min para desestabilizar a emulsão e assim separar as fases. Após desestabilizar a emulsão, a fase óleo foi extraída e analisada por espectrofotometria ultravioleta-visível (UV-vis) (Espectrofotômetro UV-Visível V-730 Jasco Inc) a 265 nm. A absorbância medida foi então convertida para a concentração de vitamina D<sub>3</sub> usando a curva padrão previamente construída. Todo o processo foi realizado em triplicata. A seguinte fórmula (Equação5) foi usada para medir a EE expressa em porcentagem, cuja quantidade total de vitamina D<sub>3</sub> corresponde à massa de vitamina D<sub>3</sub> inserida na amostra e a quantidade em alíquota corresponde à massa de vitamina D<sub>3</sub> encontrada nas amostras após a análise.

$$EE (\%) = \frac{\text{quantidade total de vitamina D}_3 - \text{quantidade em alíquota}}{\text{quantidade total de vitamina D}_3} \times 100 \text{ (Equação 5)}$$

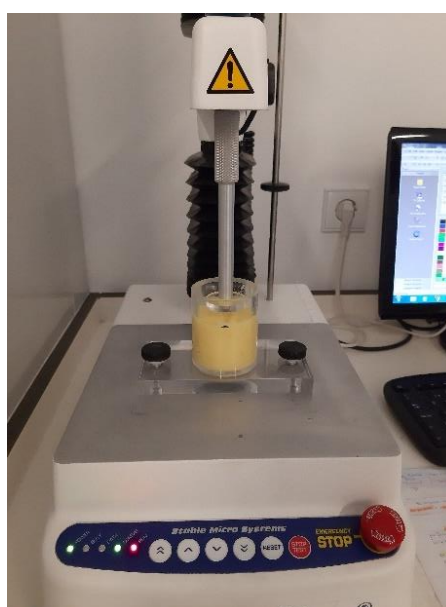
## 2.8 VALIDAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ALIMENTOS ESTRUTURADOS

Foram preparados vinte mililitros das emulsões (1,5% de concentração de complexo Quitosano/Goma Arábica e 0,5 de teor de óleo) que foram incubadas em temperaturas fixas (20-90 °C) por 30 min para investigar o efeito do processamento térmico. As amostras foram então deixadas à temperatura ambiente por 7 dias antes da análise de índice de creme (Mwangi et al., 2016)

## 2.9 TEXTURA

A textura foi determinada para as amostras mais promissoras dos alimentos estruturados desenvolvidos tendo sido comparada com dois produtos semelhantes, nomeadamente com uma gelatina e um flan do supermercado Pingo Doce. A análise de textura foi efetuada 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 analisador de textura foi configurado para “compressão”, tendo-se medido os seguintes parâmetros: firmeza, consistência, coesividade e trabalho de coesão. Para

análise 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. As amostras foram colocadas num recipiente cilíndrico de acrílico perspex (48 mm de diâmetro e 45 mm de altura), cobrindo até cerca de 75% do recipiente. O modo alvo foi definido como “distância” e configurado a 20 mm, enquanto o modo de disparo foi configurado em “força” como 5 g. Para cada amostra, foram efetuadas três repetições da análise do perfil de textura (TPA), empregando 3 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.

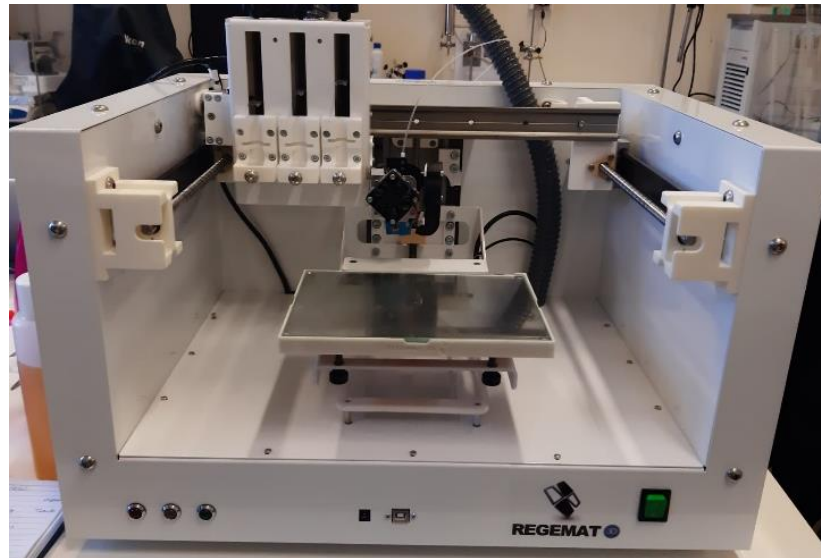


**Figura 11.** Analisador de textura.

## 2.10 TESTES PRELIMINARES: IMPRESSORA 3D

As emulsões formuladas para o desenvolvimento do alimento estruturado (descritas na metodologia 2.5), foram impressas utilizando uma impressora 3D REGEMAT 3D BIO V1 (**Figura 12**). Para a impressão das emulsões foram selecionados três tipos de design que foram desenvolvidos durante a formação fornecida pelo fabricante REGEMAT3D. Os modelos de impressão fornecidos possuem todos os parâmetros, tais como velocidade de injeção, diâmetros entre outros. Para a impressão do cilindro com 5 camadas e 50 mm de diâmetro foram utilizados alguns parâmetros como tamanho dos poros de 2x2 mm, altura da camada de 0,25mm, velocidade de retração de 15 mm/s, velocidade de enchimento de 10 mm/s, velocidade de saída

de 20 mm/s. Já para impressão do cubo com 1 camada e dimensões de 10x10 mm, os parâmetros foram: tamanho dos poros 1x1 mm, altura da camada de 0,25 mm, velocidade de retração de 5 mm/s , velocidade de enchimento de 10 mm/s, velocidade de saída de 20 mm/s. As emulsões foram impressas utilizando seringas com um bocal de 0,41mm. Após a impressão, as amostras foram armazenadas a 25 °C por 1h para avaliar sua capacidade de impressão e estabilidade de impressão.



**Figura 12.** Impressora 3D utilizada para realização dos testes preliminares

---

*Capítulo 3*

# Resultados e Discussão

### 3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 DEFINIÇÃO DAS EMULSÕES PICKERING

Foram desenvolvidos testes preliminares fundamentados em estudos anteriores realizados por Sharkawy et al., (2019) com o objetivo de avaliar a capacidade de ação Pickering das partículas produzidas ao utilizar o óleo Mygliol 812, O objetivo de produzir estas emulsões iniciais foi definir as faixas de trabalho mais promissoras para otimizar as formulações focadas no desenvolvimento do alimento estruturado.

##### 3.1.1 Formulação das emulsões

Inicialmente, foram testadas formulações de emulsão Pickering de base sem a presença da vitamina D3 e com o quitosano dissolvido em ácido acético 0,1 N. As emulsões foram codificadas como E (emulsão) - percentagem de CH/GA- fração de óleo . Sendo assim, foram desenvolvidas nove formulações de emulsões Pickering, produzidas através da técnica rotor-estator, no qual variou a concentração de nanopartículas do complexo CH/GA e a fração de óleo ( $\phi$ ) da emulsão conforme resumido na Tabela 2. As emulsões Pickering foram preparadas com óleo de Miglyol 810N.

**Tabela 2.** Formulações de emulsões Pickering desenvolvidas para os testes preliminares.

Amostra	Concentração de nanopartículas (% p/v)	Fração de óleo ( $\phi$ )
E-1.5% -0.3	1,5	0,3
E-1.5% -0.5	1,5	0,5
E-1.5% -0.7	1,5	0,7
E-3.0% -0.3	3	0,3
E-3.0% -0.5	3	0,5
E-3.0% -0.7	3	0,7
E-4.0% -0.3	4	0,3
E-4.0% -0.5	4	0,5
E-4.0% -0.7	4	0,7

A concentração de partícula e a fração de óleo são fatores fundamentais para avaliar o comportamento e estabilidade de armazenamento das emulsões Pickering, neste caso, nas faixas

de 1,5%–4,0% (p/v) e 0,3-0,7, respetivamente. Após decorrido um período de 1 h após a produção das emulsões, os sistemas resultantes foram avaliados através de análise visual, e efetuou-se o teste da gota para identificar o tipo de emulsão formada (O/A ou A/O), índice de creme e microscopia ótica. Na **Figura 13** é possível observar o resultado do teste da gota.

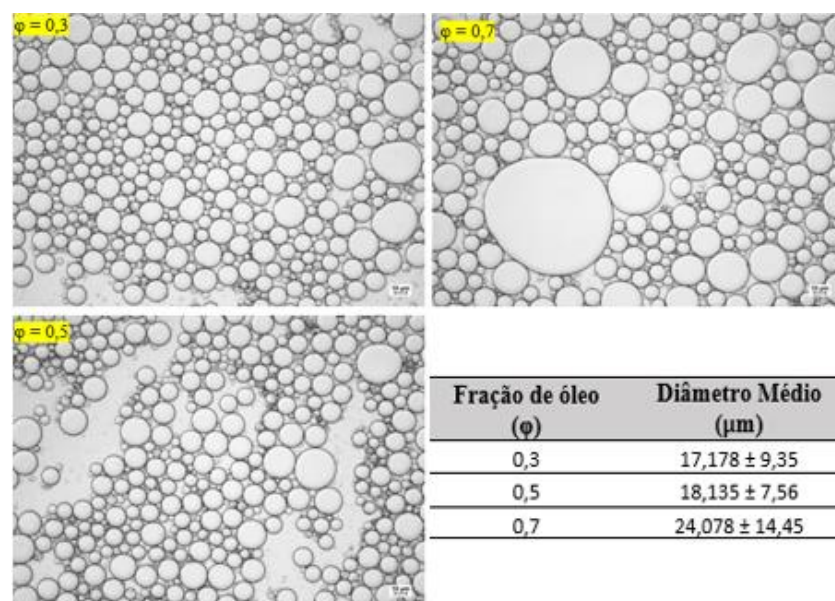


**Figura 13.** Resultado do teste da gota.

Através de análise visual do teste da gota, verificou-se a solubilização rápida da emulsão em água, assim todas as emulsões foram consideradas do tipo O/A. Uma outra forma de determinar o tipo de emulsão pode ser indicada através do parâmetro de ângulo de contato. Este parâmetro indica molhabilidade das partículas, um fator importante para determinar o tipo de emulsão favorecida a ser formada e a sua estabilidade (Sharkawy et al., 2020). Partículas hidrofílicas que apresentam ângulos de contato abaixo de  $90^\circ$  são geralmente adequadas para fazer emulsões O/A, enquanto para partículas hidrofóbicas, os ângulos de contato apresentam valores acima de  $90^\circ$ , e são frequentemente adequadas para fazer emulsões A/O (Zhao, Wang & Zhang, 2021). Estudos anteriores de Sharkawy et al., (2019) mostraram que as partículas na proporção 1:1 do complexo Quitosano/Goma Arábica apresentaram ângulos de contato de  $89,2^\circ$ , indicando sua hidrofiliicidade e possibilidade de estabilizar emulsões O/A, facto que foi confirmado pelo teste da gota.

### 3.1.2 Efeito da fração de óleo

Para estudar o efeito da fração de volume de óleo, foram produzidas emulsões Pickering com diferentes frações de óleo ( $\phi = 0,3,0,5,0,7$ ) usando a dispersão de nanopartículas CH/GA 1:1 com concentração fixa de 1,5% (p/v). A morfologia das emulsões Pickering produzidas foi examinada por microscopia ótica, e os resultados obtidos são mostrados na **Fig. 14**.



**Figura 14.** Morfologia e diâmetro médio de gota das emulsões Pickering contendo de 1,5% de nanopartículas examinada por microscopia ótica

A partir do resultado obtido da microscopia óptica, foi possível observar que a amostra preparada com a concentração de nanopartículas 1,5% a 0,3 de óleo (E-1.5% -0.3) deu origem a uma emulsão Pickering com padrão esférico não uniforme.

As condições de preparação (volume total da emulsão, rotação e tempo) foram os mesmos para todas as amostras, assim observou-se que o tamanho de gota aumentou conforme a fração de volume de óleo aumentou. De acordo com os estudos de Atarian et al., (2019) e Dai, et al., (2018) a diminuição da quantidade total relativa de nanopartículas disponíveis para serem adsorvidas na interface óleo/água, resulta na formação de gotículas maiores.

Outro resultado observado foi que quando a fração de volume de óleo aumentou para 0,7 ocorreu o fenômeno de floculação de gotículas, acompanhado de uma deformação das gotas provocando a perda da sua forma esférica. Esse facto pode estar relacionado com o número de nanopartículas disponíveis não ser suficiente para estabilizar as gotículas contra a coalescência. Observações semelhantes foram relatadas nos trabalhos de Li et al., (2018) que produziram emulsões Pickering de zeína/goma arábica com uma fração de óleo acima de 0,6.

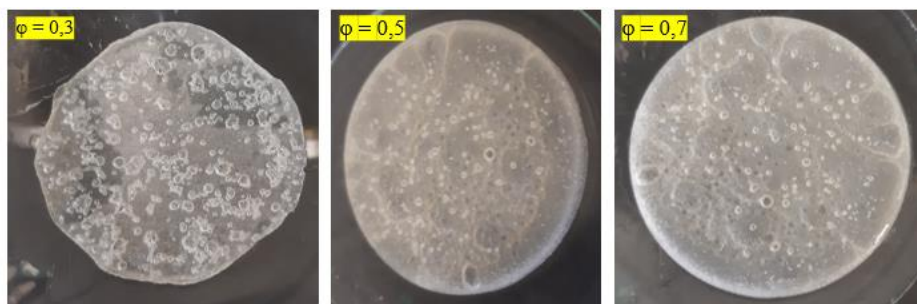
Em relação à análise do índice de creme foi feito o registo após 1h do preparo das emulsões e durante um período de tempo de 21 dias (t21). A **Figura 15** mostra a aparência e o

índice de creaming das emulsões Pickering estabilizadas para diferentes teores de óleo após 21 dias de armazenamento.



**Figura 15.** Aparência das emulsões contendo 1,5% de CH/GA em t21 com seu respectivo IC

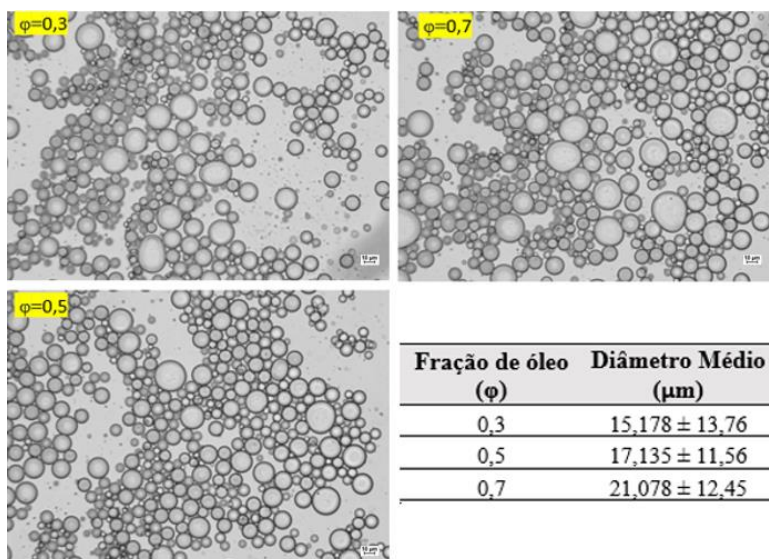
A partir da observação visual notou-se que 3 dias após o preparo, algumas emulsões (E-1.5% -0.3) apresentavam separação de fases resultante de instabilidade física sendo que as fases superiores mantinham as características próprias de uma emulsão, enquanto a fase inferior correspondia a uma fase sérum (fase aquosa). Observou-se também que as formulações com menores frações de Miglyol sofreram separação mais rápida tendo-se observado valores de IC%, indicando menor estabilidade. No entanto, quando a fração de óleo aumentou de 0,3 para 0,5, o valor do IC% diminuiu de 30,7% para 4%, o que implica na formação de emulsões Pickering mais estáveis ao aumentar a fração de volume de óleo para 0,5. Pode-se observar na **Figura 15** que a emulsão contendo a concentração de 1,5% de nanopartículas e um teor de óleo de 0,5 (E-1.5% -0.5) apresentou o melhor índice de creme (4,0%) após 21 dias. Porém, apesar de apresentar melhor índice de creme, o sistema só ficou estável até 18 dias, além de que, as emulsões não apresentaram aparência semelhante a gel (**Figura 16**) tendo formado filmes pelo método de *casting*. O método *casting* consiste em despejar a solução sobre uma superfície lisa, fazendo com que o solvente evapore e as macromoléculas se reorganizem coesivamente (Hossain et al.,2018)



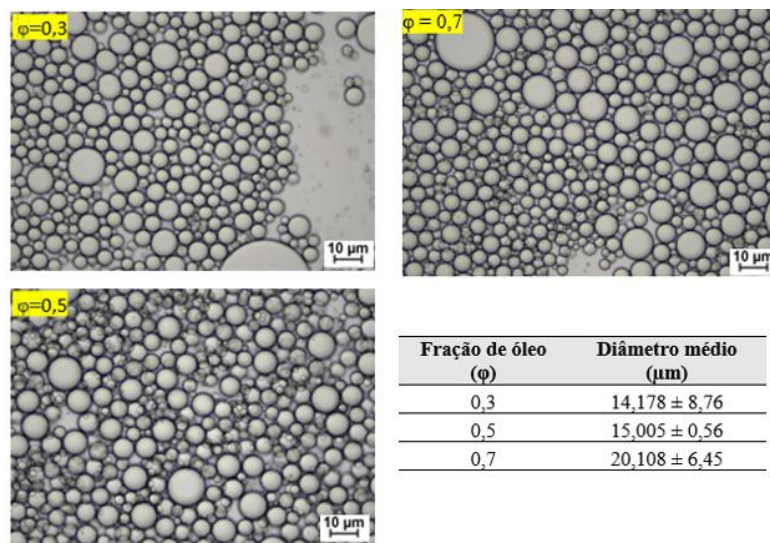
**Figura 16.** Aspetto das emulsões das amostras contendo 1,5% de nanopartícula

### 3.1.3 Efeito da concentração de nanopartículas

Para avaliar o efeito da concentração de nanopartículas, foram analisadas emulsões Pickering com frações de óleo fixa em 0,3 0,5 e 0,6 para as quais a concentração de nanopartículas variou em 1,5% e 3% e 4% (p/v) (mantendo o rácio CH/GA em 1:1). A **Figura 17 e Figura 18** mostram as imagens de microscopia ótica das formulações contendo 3% e 4% de nanopartículas, respetivamente, assim como os valores de diâmetro medio das mesmas.



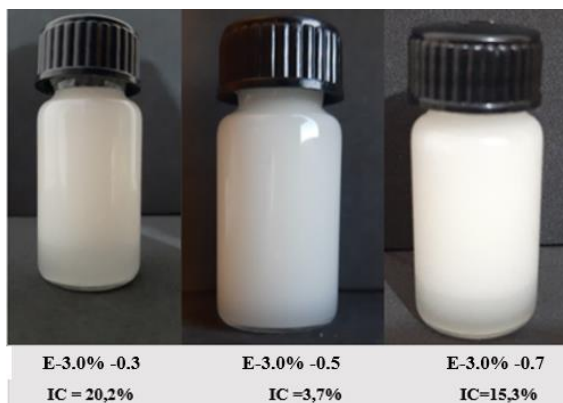
**Figura 17.** Morfologia e diâmetro médio de gota das emulsões Pickering das amostras contendo 3% de nanopartículas.



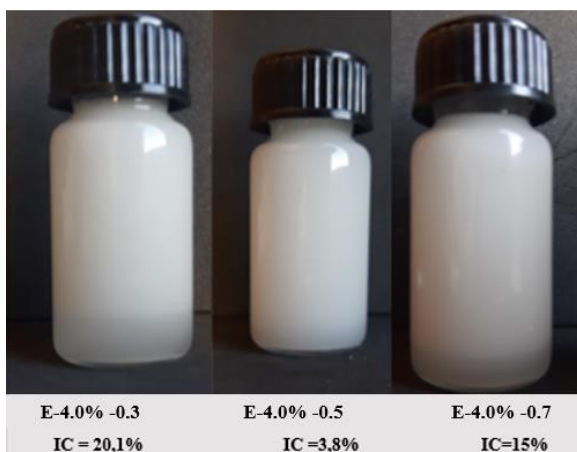
**Figura 18.** Morfologia e diâmetro médio de gota das emulsões Pickering das amostras contendo 4% de nanopartículas

A partir do resultado obtido na microscopia óptica, observou-se que as gotículas adquiriram uma morfologia ligeiramente mais esférica e uniforme assim como um tamanho médio menor com o aumento da concentração de nanopartículas, pois houve a diminuição do diâmetro médio ao comparar a amostra E-1.5%-0.5 com a amostra E-3.0%-0.5. Este comportamento é devido à maior concentração de nanopartículas de CH/GA que induz a uma maior cobertura da área interfacial, o que pode evitar fenômenos de coalescência das gotas (Mwangi et al., 2016).

A estabilidade de armazenamento das emulsões foi observada a partir do índice de creme e são mostradas nas **Figura 19** e **Figura 20**. Em geral, observou-se uma melhor estabilidade com o aumento da concentração de nanopartículas, uma vez que os índices de creme diminuíram. Particularmente, a amostra E-3.0%-0.7, preparada com 3% de nanopartículas e  $\phi=0,7$  não desenvolveu separação de fases até 15 dias. De facto, o seu índice de creme diminuiu comparativamente à emulsão contendo 1,5% de nanopartículas (E-1.5% -0.7) indicando que as nanopartículas promovem uma maior cobertura das gotas de óleo, o que pode inibir a sua agregação e impedir os fenômenos de formação de creme e separação. Adicionalmente, foi observado que quando a concentração de nanopartículas foi aumentada, as emulsões Pickering quando feito o *casting* em molde exibiram textura de filme ligeiramente mais espesso (**Figura 21**)



**Figura 19.** Aparência das emulsões contendo 3% de CH/GA em t21 e seu respectivo IC



**Figura 20.** Aparência das emulsões contendo 4% de CH/GA em t21 e seu respectivo IC

Com relação às amostras E-4.0% -0.3, E-4.0% -0.5 e E-4.0% -0.6 composta por 4% de CH/GA houve uma diminuição no diâmetro médio das gotas, porém apresentaram valores semelhantes de IC em relação às amostras contendo 3% de nanopartículas. Inclusive, a amostra E-4.0% -0.7, (4% CH/GA e  $\phi=0,7$ ) apresentou estabilidade durante 15 dias, semelhante à E-3.0% -0.7. Em geral, concluiu-se que ao aumentar a concentração de nanopartículas para 4%, não houve diferenças significativas em termos de estabilidade comparativamente a utilizar 3%, porém houve um melhoramento em termos da morfologia das gotas.



**Figura 21.** Aspeto das emulsões das amostras contendo 3% de nanopartícula

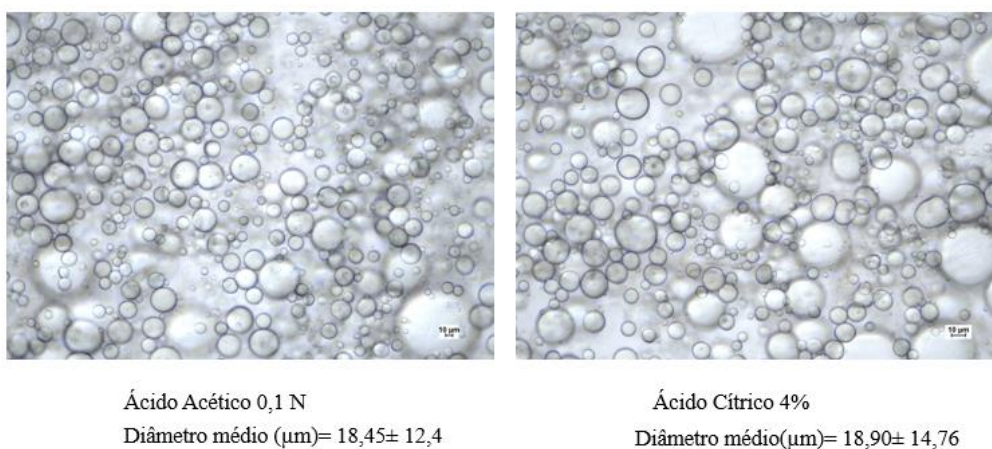
Através destes testes preliminares, foi possível observar a efetiva adsorção das partículas na interface óleo/água, o que promoveu a estabilidade entre os líquidos e, conseqüentemente, o potencial do complexo Quitosano/Goma Arábica em agirem como partículas Pickering. As amostras E-1.5%-0.5(1,5% CH/GA e  $\phi$  0.5) e E-3.0%-0.7(3% CH/GA e  $\phi$  0,7) apresentaram formação de gotículas típicas de emulsões Pickering e apresentaram total estabilidade, durante 7 dias, porém apresentaram separação de fases após 18 e 15 dias, respectivamente. Assim, estas duas amostras foram selecionadas para serem otimizadas.

#### 3.1.4. Otimização das emulsões

Nos testes preliminares foram testadas formulações de emulsão Pickering base sem a presença da vitamina D e com o quitosano dissolvido em ácido acético 0,1 N, porém devido ao aroma indesejável foram desenvolvidas outras formulações em que se substituiu o ácido acético por ácido cítrico 4%.

A substituição do ácido acético 0,1 N pelo ácido cítrico 4% para a dissolução do quitosano não alterou o tamanho do diâmetro médio da gota das emulsões, além disso, melhorou o odor do produto final, aspeto sensorial importante para um produto alimentar. Porém, o ácido cítrico apresentou dificuldade para dissolver o quitosano, sendo necessário aplicar uma temperatura de 60 °C por 17 horas para sua total dissolução em uma concentração de apenas 1,5% de nanopartículas. Devido à dificuldade de dissolver o quitosano, a amostra E-3.0%-0.7 que contém uma concentração de 3% de nanopartículas foi descartada. De facto, o trabalho desenvolvido por Chen et al., (2007) que comparou a dissolução do quitosano em quatro diferentes solventes (ácido acético, ácido málico, ácido ascórbico e ácido cítrico), já mostrou a dificuldade do ácido cítrico, não ser um solvente ideal para a dissolver o quitosano. Mesmo assim, neste trabalho, tendo em conta a aplicação final do produto, foi escolhido como

alternativa ao ácido acético. A **Figura 22** ilustra os resultados do diâmetro médio de gota obtidos no microscópio óptico para a formulação contendo 1.5% CH/GA e  $\phi$  0,5.



**Figura 22.** Diâmetro médio da gota de emulsões produzidas com ácido acético 0,1N e ácido cítrico 4% da amostra E-1.5%-0.5

### 3.2 DESENVOLVIMENTO DO ALIMENTO ESTRUTURADO

Considerando a estabilidade promissora da amostra E-1.5%-0.5, compostas, por  $\phi$  0,5 e 1,5% CH/GA foram planejados os testes de desenvolvimento do produto. Neste ponto, é importante ressaltar que as emulsões não apresentaram aparência de gel. Por isso, foi necessário o desenho de uma estratégia complementar para estruturar o alimento final. Para isso, após o preparo das emulsões Pickering, estas foram sujeitas a uma etapa de estruturação de acordo com a metodologia 2.5 utilizando alginato. Além disso, de forma a desenhar um alimento estruturado atrativo, a água utilizada durante o processo de preparo dos sistemas foi substituída com diferentes tipos de sumos (Laranja, Pera e Maçã). A **Tabela 3** apresenta a composição das emulsões desenvolvidas.

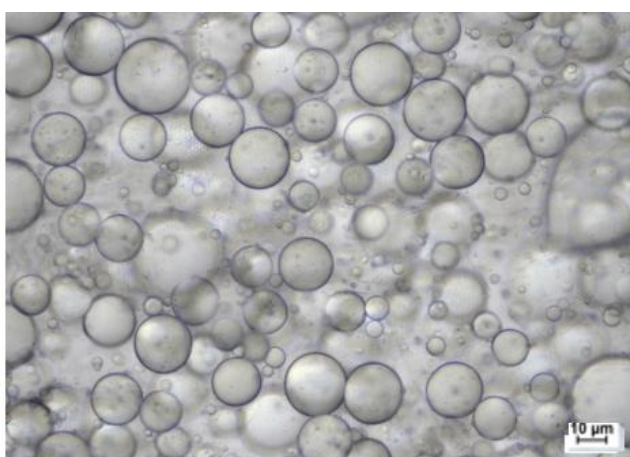
O alginato foi utilizado devido à sua capacidade de formar uma estrutura de gel tridimensional, fenômeno no qual, é descrito como modelo *egg-box*. A formação do gel é obtida através do *crosslinking* de alginato de sódio e íons divalentes, no qual, os íons divalentes como  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$  que interagem com os monômeros gulurônicos e formam pontes iônicas que levam à formação de uma estrutura 3D hidrofílica. Sendo assim, o alginato contribui no desenvolvimento do alimento estruturado devido à capacidade de formar uma estrutura de gel 3D hidrofílica, resultando, conseqüentemente, na formação de emulsões com aspectos de gel (Segale et al., 2016).

Sendo assim, foram realizados testes preliminares com três tipos de sais de cálcio (cloreto de cálcio, lactato de cálcio e gluconato de cálcio), com diferentes concentrações de alginato e sem a utilização dos sumos. A partir dos testes preliminares foi otimizada uma formulação para o desenvolvimento do alimento estruturado com o sal de cloreto de cálcio e alginato 2% por apresentar melhor desempenho na formação de gel . Os testes preliminares estão descritos e ilustrados no **ANEXO A**.

**Tabela 3.** Composição dos alimentos estruturados preparados com diferentes sumos

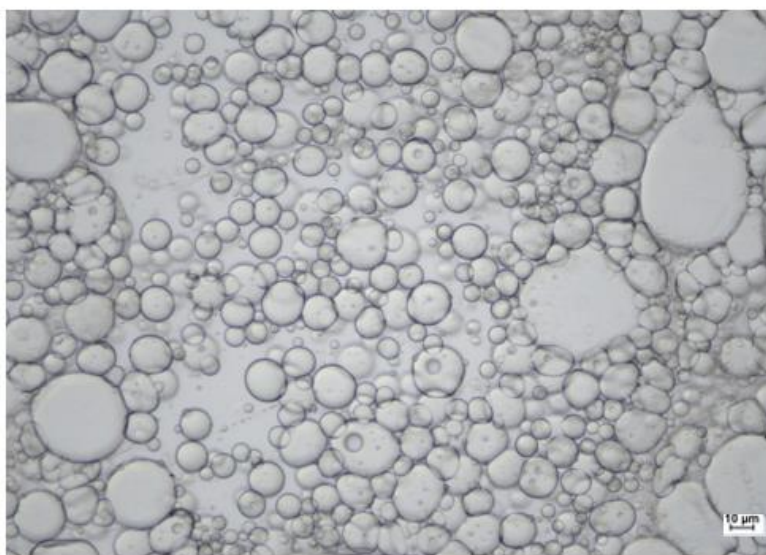
Amostra	Concentração de Nanopartículas (% p/v)	Fração de óleo	Concentração de alginato (%)	Sal	Sumo
L1	1,50	0,5	2	CaCl <sub>2</sub>	Laranja
P1	1,50	0,5	2	CaCl <sub>2</sub>	Pêra
M1	1,50	0,5	2	CaCl <sub>2</sub>	Maçã

A partir da análise no microscópio foi possível observar que houve um aumento no diâmetro médio das gotas na amostra A2CIO produzida nos testes preliminares (**ANEXO A**). Isso pode estar relacionado com a diminuição do pH do sistema devido à substituição da água por sumos (Laranja, Pêra e Maçã), nomeadamente para dissolver a goma arábica e alginato. O pH das amostras foi medido e está resumido na Tabela 4. As **Figura 23**, **Figura 24** e **Figura 25** apresentam a microscopia ótica das emulsões produzidas com os sumos antes de ser adicionado o alginato nas formulações .



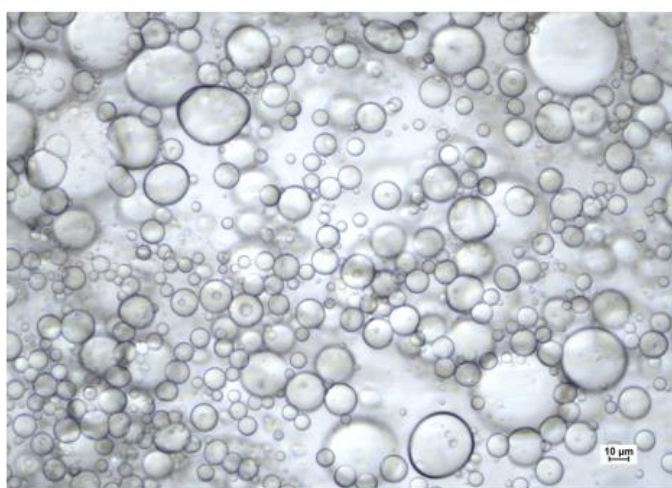
Diâmetro médio (µm)= 23,13± 9,40

**Figura 23.** Morfologia e diâmetro médio da gota da amostra L1.



Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )=  $18,36 \pm 12,4$

**Figura 24.** Morfologia e diâmetro médio da gota da amostra P1



Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )=  $18,77 \pm 67,9$

**Figura 25.** Morfologia e diâmetro médio da gota da amostra M1

As emulsões Pickering produzidas ao adicionar 2% do alginato apresentaram uma estabilidade melhorada. Houve uma diminuição completa da formação de IC das emulsões após 21 dias (IC=0%) em comparação às emulsões que não continham alginato (produzidas nos testes preliminares). Este facto foi devido à presença do alginato, um polissacarídeo que pode ser utilizado para estabilizar o hidrogel e melhorar a estabilidade de emulsões, incluindo emulsões Pickering (Lim et al.,2020). Quando o alginato é adicionado a uma emulsão, é

formada uma película fina em torno das gotas da emulsão Pickering, aumentando assim a repulsão eletrostática e a resistência dimensional entre elas, evitando que coalesçam, e ajudando a estabilizar a emulsão (Tang et al., 2021). A **Figura 26.** apresenta os resultados da análise do índice de creme das emulsões do alimento estruturado.



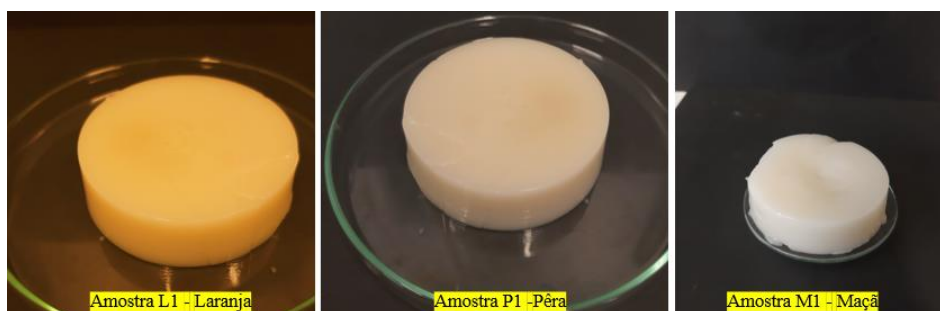
**Figura 26.** Resultado da análise do índice de creme das emulsões do alimento estruturado após 21 dias.

**Tabela 4.** pH das amostras produzidas para o desenvolvimento do alimento estruturado

Amostra	pH
A2CIO	$4,0 \pm 0,01$
L1	$3,3 \pm 0,01$
P1	$4,1 \pm 0,02$
M1	$4,2 \pm 0,02$

A relação entre o aumento do tamanho médio das gotas com a diminuição do pH está de acordo com o trabalho desenvolvido por Ahmed et al., (2021) que avaliou o efeito do pH em emulsões Pickering utilizando quitosano. De facto, observou-se que pHs mais altos ( $\text{pH} = 6$ ) promovem a emulsificação, resultando em emulsões com gotas menores. Isso ocorre, devido ao equilíbrio entre a protonação e a antiprotonação do quitosano, levando à formação de partículas agregadas para estabilizar a gota da emulsão em  $\text{pH} = 6$ . Em pHs menores ( $\text{pH} = 3$ ), pode ocorrer a quebra da camada de partículas de quitosano, resultando em fenómenos de coalescência, aumento do tamanho de gota ou até a instabilidade das emulsões. Esse efeito foi também observado ao analisar o diâmetro médio de gota das emulsões, onde a amostra L1 (Laranja) que possui um pH mais ácido ( $\text{pH} = 3,3$ ), apresentou tamanhos maiores que as amostras M1 e P1 (Maçã e Pêra, respetivamente) que possuem pHs próximos ( $\text{pH} = 4,1$ ). Apesar de haver uma diferença no diâmetro médio das gotas, as amostras apresentaram estabilidade durante 30 dias, sendo que após esse período houve separação de fase nas três formulações.

Desta forma, foi possível desenvolver emulsões Pickering com textura tipo gel (**Figura 27**) e estabilidade melhorada utilizando os três tipos de sumo (Laranja, Pêra e Maçã) devido à utilização do alginato e o ácido cítrico, solvente também responsável pelo melhoramento sensorial das amostras. As amostras foram utilizadas na encapsulação da Vitamina D3, análise de textura e impressão 3D.



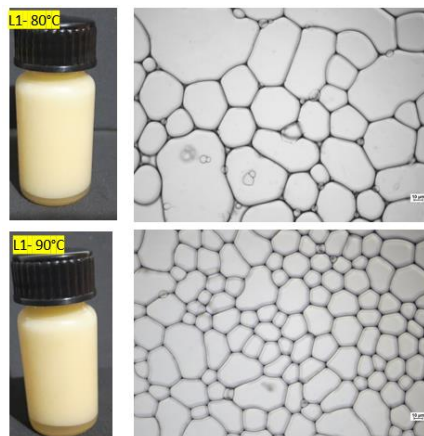
**Figura 27.** Aspetto dos alimentos estruturados desenvolvidos

### 3.3 VALIDAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ALIMENTOS ESTRUTURADOS

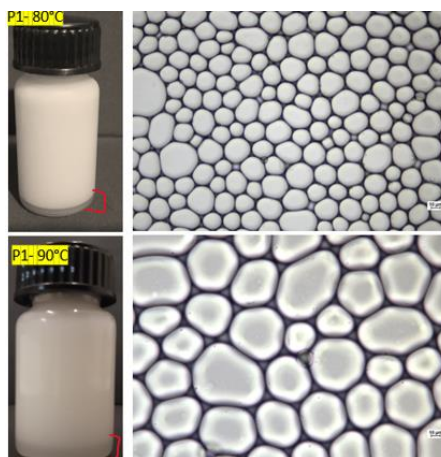
Considerando que os produtos alimentares sofrem tratamento térmico durante a sua produção (ou utilização), foi verificado a influência da temperatura na estabilidade da emulsão. Para verificar o comportamento da emulsão em relação à temperatura, foram incubadas emulsões Pickering em intervalos de temperatura de 20 a 90 °C por 30 min. As amostras foram armazenadas à temperatura ambiente e após sete dias foi analisado o IC e o diâmetro médio das gotículas. As emulsões apresentaram estabilidade até à temperatura de 70°C. Temperaturas acima de 70°C apresentaram desestabilização, pois o aumento na temperatura provocou um aumento considerável no índice de creme e no diâmetro médio das gotas, tal como apresentado nas **Figuras 28, 29 e 30**. Estes resultados podem estar relacionados com a aglomeração das partículas devido ao aumento das colisões partícula-partícula. O aumento da temperatura incrementa a energia cinética média das partículas, o que, por sua vez, intensifica seu movimento aleatório e a frequência de colisão, efeito que pode induzir a fenômenos de coalescência (Mwangi et al., 2016).

Já as emulsões que foram incubadas a temperaturas abaixo de 70°C, apresentaram estabilidade. Os resultados apresentaram uma ampla gama de temperatura para o armazenamento, pois não há necessidade de manter as amostras armazenadas em ambientes

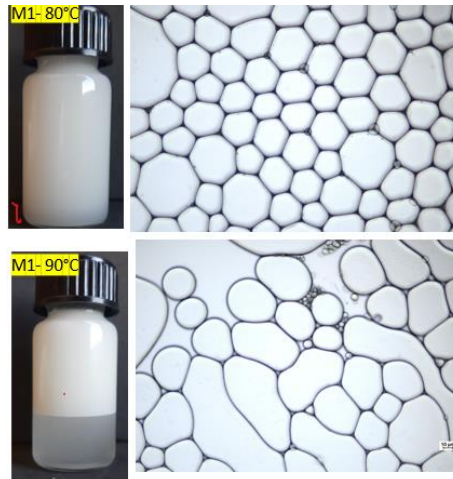
refrigerados para que as emulsões permaneçam estáveis. A **Figura 31** e **Figura 32** apresentam, respectivamente, o aspecto das amostras L1 temperaturas abaixo de 70°C e a sua morfologia através da microscopia óptica.



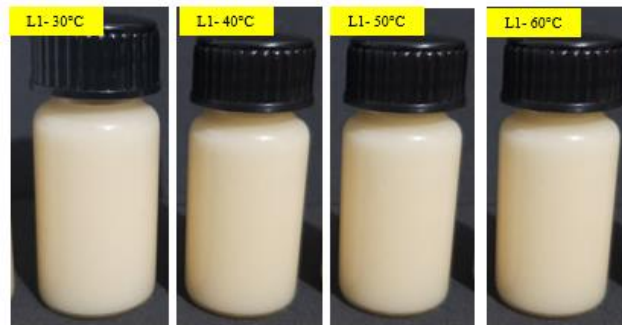
**Figura 28.** Amostra L1 após sujeita ao tratamento térmico (80 e 90 °C) e sua morfologia através do MO (imagens 20x)



**Figura 29.** Amostra P1 após sujeita ao tratamento térmico (80 e 90 °C) e sua morfologia através do MO (imagens 20x)

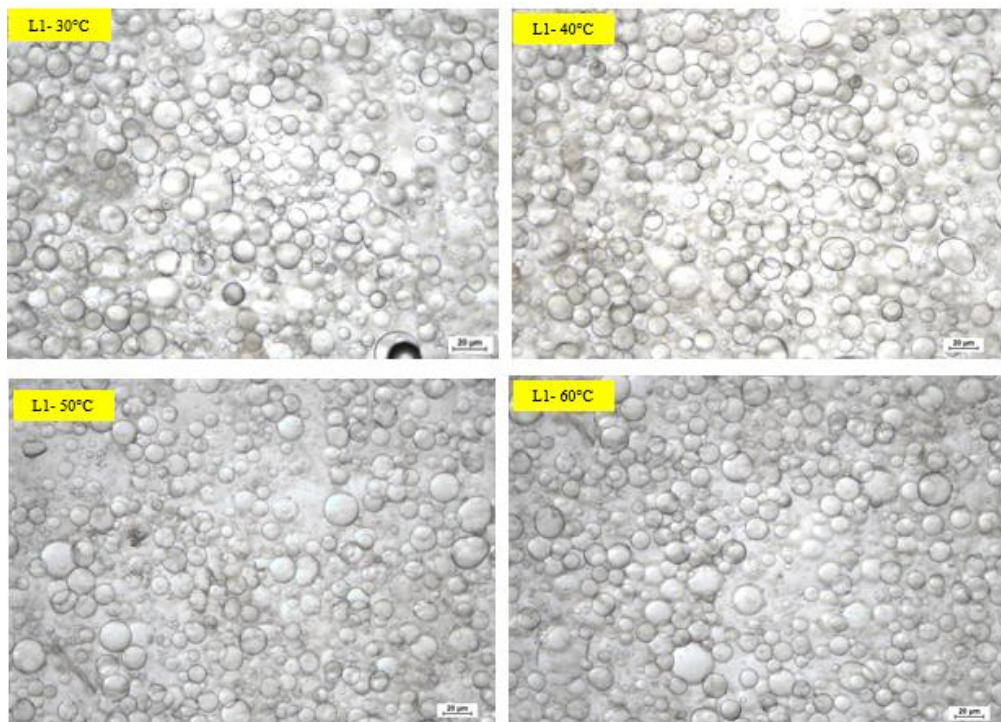


**Figura 30.** Amostra M1 após sujeita ao tratamento térmico (80 e 90 °C) e sua morfologia através do MO (imagens 20x)



**Figura 31.** Amostra L1 após sujeita ao tratamento térmico em temperaturas menores que 70°C

0



**Figura 32.** Morfologia da amostra L1 após sujeita ao tratamento térmico em temperaturas menores que 70°C através do MO (imagens 20x)

### 3.4 FUNCIONALIZAÇÃO DOS ALIMENTOS ESTRUTURADOS COM VITAMINA D3

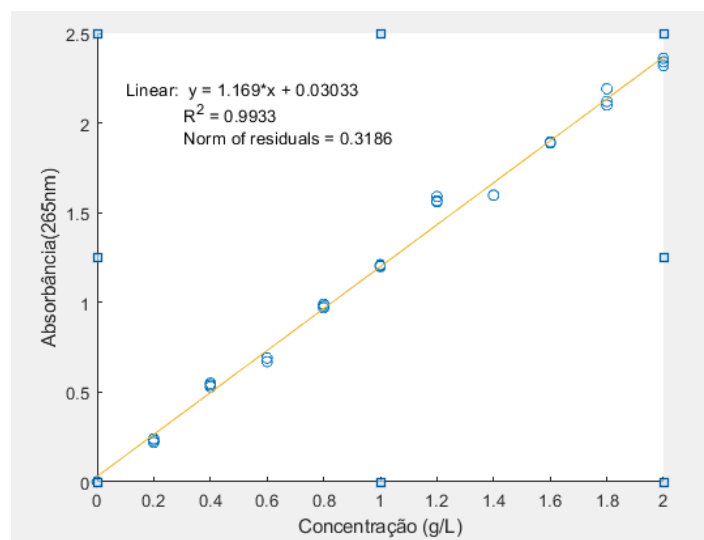
Devido à vitamina D3 apresentar baixa solubilidade em água, baixa biodisponibilidade oral, além de ser sensível à luz, ao oxigênio, e ao calor, que faz com que ela se degrade rapidamente, o que torna a incorporação desse composto em alimentos um desafio. Assim, uma alternativa para incorporar a vitamina D3 nos alimentos de forma eficaz é desenvolver sistemas de emulsão Pickering incorporando a vitamina na fase óleo da emulsão, proporcionando a encapsulação, proteção e absorção desses compostos, agregando valor ao produto, uma vez que pode torna-lo funcional (Abbasi et al., 2014; Lin et al., 2016). Para analisar a eficiência de encapsulação (EE), nomeadamente o efetivo grau de encapsulamento da vitamina D3 no sistema de EP preparado, foi necessário, primeiramente, desenvolver uma curva padrão com concentrações conhecidas de vitamina D3 no UV-vis, relacionando a absorbância das amostras com a concentração. Desta forma, é possível converter a absorbância medida numa amostra desconhecida em concentração de vitamina D3. Assim, foi medida a absorbância de dez concentrações conhecidas de Vitamina D3 dissolvidas em Metanol (a um comprimento de onda

fixo em 265nm) (**Figura 33**). Os dados de absorvância obtidos foram relacionados com a concentração de Vitamina D3, através de uma análise de regressão linear no software Matlab 2022a e obter assim uma curva padrão.



**Figura 33.** Dez concentrações (g/L) conhecidas de vitamina D3 dissolvidas em metanol para construção da curva padrão.

A partir dos dados obtidos construiu-se a curva de calibração (**Figura 34**), descrita pela equação matemática representada por  $y = 1,169x + 0,03033$ , que obteve um valor para o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9933. Um dos parâmetros para verificar um bom ajuste dos pontos experimentais é justamente o  $R^2$ . Quanto mais próximo de 1, melhor os resultados experimentais se ajustam à reta de calibração



**Figura 34.** Curva padrão da vitamina D3 obtida no UV-vis a 265 nm

Para determinar a eficiência de encapsulação da Vitamina D3 nas amostras L1, M1 e P1, estas foram centrifugadas (conforme se descreve na metodologia 2.7, a 13000 rpm por 30 min). Porém, o alginato presente nas amostras dificultou a separação de fases para libertar a

vitamina D3 presente, facto que interferia nos resultados da análise de UV-vis. Por isso, a análise foi realizada sem a presença de alginato na formulação.

Desta forma, foi possível determinar a eficiência de encapsulação a partir da absorbância medida e da curva padrão, conforme é apresentado na **Tabela 5**. Os resultados demonstraram uma eficiência de encapsulação significativa correspondendo a percentagens de vitamina D3 elevados. Essa capacidade de encapsulamento elevada em EPs é um benefício potencial na proteção de compostos hidrofóbicos, como é o caso da vitamina D3, tornando-a dispersável em água, superando assim o problema da sua baixa solubilidade em água e melhorando a bioacessibilidade.

**Tabela 5.** Resultados da análise de eficiência de encapsulação da vitamina D3

Amostra	Absorbância	Eficiência de Encapsulação
L1	1,029	85,42%
P1	1,079	89,70%
M1	1,064	88,42%

### 3.5 ANÁLISE DA TEXTURA DOS ALIMENTOS ESTRUTURADOS

Com o objetivo de analisar a aparência e textura das 3 amostras produzidas com diferentes sumos (Laranja, Pêra, e Maçã) e comparar com produtos semelhantes já existentes no mercado como flan e gelatina de sabor de morango, foram realizadas análises de textura (**Figura 35**). Os resultados obtidos estão incluídos na **Tabelas 6**.



**Figura 35.** Análises de textura dos alimentos estruturados e produtos similares (flan e gelatina)

**Tabela 6.** Propriedades de textura das matrizes alimentares e emulsões Pickering.

<b>Amostra</b>	<b>Firmeza (g)</b>	<b>Consistência (g·sec)</b>	<b>Coesividade (g)</b>	<b>Viscosidade (g·sec)</b>
<b>Flan</b>	45,43 ± 2	815,15 ± 31	50,17 ± 1	82,97 ± 2
<b>Gelatina</b>	136,14 ± 15	2091,48 ± 172	172,07 ± 6	204,87 ± 16
<b>L1</b>	182,47 ± 28	2673,14 ± 364	114,08 ± 18	120,90 ± 27
<b>P1</b>	420,78 ± 12	5316,15 ± 188	157,73 ± 20	127,22 ± 34
<b>M1</b>	63,83 ± 9	1029,14 ± 119	57,85 ± 5	97,27 ± 7

Os resultados mostraram que as amostras que contêm sumo de Pêra e Laranja originaram valores superiores nas propriedades de textura, nomeadamente firmeza, consistência, coesividade e viscosidade em relação à amostra que contém o sumo de maçã. Esses resultados podem estar relacionados com o facto de que os sumos de pêra e laranja apresentarem viscosidades aparentemente superiores ao sumo de maçã, e, consequentemente, originarem emulsões e géis mais firmes e consistentes. Sendo assim, os resultados obtidos para cada sumo indicaram emulsões/géis com comportamentos diferentes, visto que, quanto mais viscoso o sumo, maiores foram os valores de firmeza, consistência, coesividade e viscosidade.

Ao comparar as amostras desenvolvidas com produtos similares já existentes no mercado (flan e gelatina), observou-se que, a amostra de maçã apresentou um comportamento semelhante ao do Flan em termos de firmeza, consistência, coesividade e viscosidade. As amostras de maçã demonstraram potencial em termos de textura semelhantes ao flan.

As amostras de pêra apresentaram comportamento distintos em relação aos produtos do mercado, pois apresentaram valores elevados em todos os parâmetros. A amostra de Laranja também apresentou um comportamento distinto em relação ao flan e gelatina, porém possui um perfil de textura mais próximo da gelatina, apesar de demonstrar resultados ligeiramente superiores em relação à firmeza (182,47 g) e apresentarem menor viscosidade ((-)120,90 g. sec).

### 3.6 TESTES PRELIMINARES DE IMPRESSÃO 3D

O método de extrusão da impressão 3D pode afetar significativamente a qualidade da impressão. Os métodos de extrusão mais utilizados são tipo seringa, pneumático e parafuso. Os parâmetros de impressão como, a velocidade de movimento do bocal e altura do bocal também são fatores que podem ter um impacto significativo na impressão do alimento, pois parâmetros e métodos de impressão inadequados podem causar desvios e falha na impressão (Shahbazi et al., 2021).

Foram realizados alguns testes preliminares para examinar a aplicação potencial das emulsões Pickering desenvolvidas para aplicações de impressão 3D. De acordo com Ma et al., 2022 as propriedades reológicas dos materiais estão diretamente relacionadas com a sua capacidade de impressão, logo, é importante que o material flua através da seringa quando a pressão é aplicada e que mantenha a sua forma após a remoção da pressão.

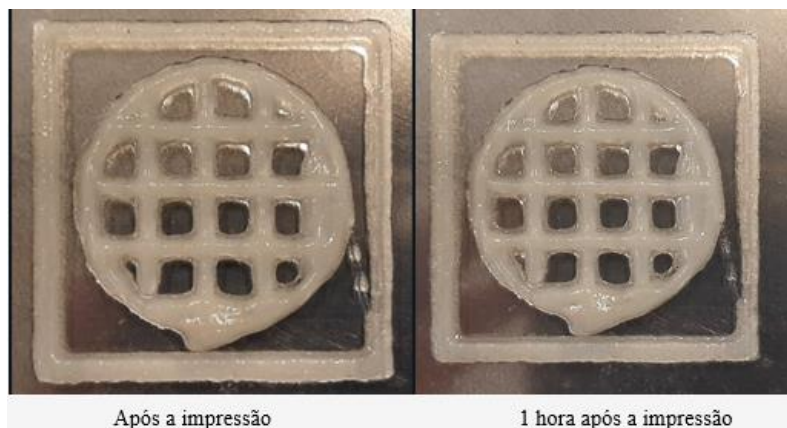
As emulsões desenvolvidas para os alimento estruturados com sumos foram testadas, porém a amostra de pêra não foi possível de imprimir, dado que a emulsão não fluiu através da seringa ao aplicar pressão. Este facto foi devido à formulação apresentar características de um gel mais sólido com alta firmeza (420,78 g) e consistência (5316,15 g.sec) conforme foi observado nos resultados da análise de textura. Assim, os testes de impressão 3D foram realizados apenas com as amostras de Maçã e Laranja.

Nos testes preliminares foram utilizados 3 modelos para imprimir as emulsões. As amostras foram impressas seguindo as configurações e instruções fornecido pelo próprio fabricante da impressora (REGEMAT3D). No primeiro teste foram impressos modelos de cubo com apenas uma camada de dimensões 10 mm x10 mm. Após a impressão, as amostras foram armazenadas a 25 °C por 1 h para avaliar sua capacidade de impressão e estabilidade de impressão. A aparência das amostras impressas é mostrada na **Figura 36**, sendo que as amostras foram extrudidas em contínuo e suavemente. As primeiras peças foram impressas com baixa resolução, apresentando camadas descontínuas, com sinais de colapso. Assim, foi necessário alterar parâmetros de velocidade de impressão como o *flow speed* que aumentou desde 2,50 mm/s até 2,75 mm/s, Desta forma foi possível realizar a impressão com camadas contínuas e sem colapsos.



**Figura 36.** Cubo com apenas uma camada de dimensões 10x10 mm impressos da amostra M1

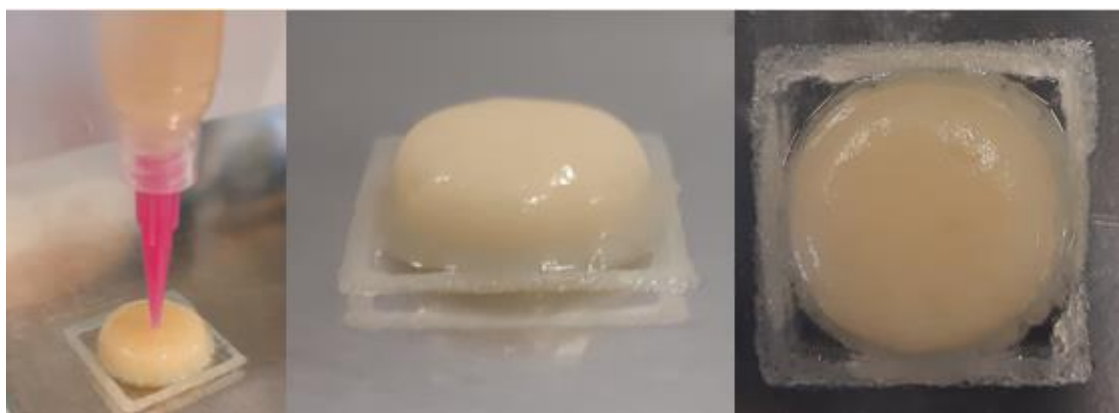
No segundo teste foram impressos modelos de cilindro com 5 camadas e 50 mm de diâmetro. Após a impressão, as amostras foram armazenadas a 25 °C por 1h para avaliar a sua capacidade de impressão e estabilidade de impressão. A aparência das amostras impressas é a mostrada na **Figura 37**.



**Figura 37.** Modelo de cilindro com 5 camadas e 50 mm de diâmetro da amostra M1

Foi possível realizar a impressão com camadas contínuas e sem colapsos tendo as peças mantido o formato após 1 hora, apresentando semelhança aos modelos pré-concebidos e com estabilidade significativa.

Já no terceiro teste, foram impressos modelos de cilindros preenchidos com 18 camadas e 25 mm de diâmetro. Após a impressão, as amostras foram armazenadas a 25 °C por 1h para avaliar sua capacidade de impressão e estabilidade de impressão. A aparência das amostras impressas é mostrada na **Figura 38**.



**Figura 38.** Modelo de cilindro com 18 camadas e 25 mm de diâmetro da amostra L1

As emulsões Pickering desenvolvidas foram facilmente extrudidas, porém as amostras impressas deformaram-se rapidamente, resultando num fundo mais espesso. Provavelmente, tal deveu-se ao facto de os géis não serem capazes de suportar o peso das camadas posteriormente depositadas, causando pequenos desvios de impressão. Porém, apesar da pequena deformação, as impressões apresentaram semelhança aos modelos pré-concebidos e aparente estabilidade após a impressão, sugerindo que é possível realizar a criação de estruturas alimentares personalizadas usando impressão 3D.

O tempo de impressão necessário para imprimir o cubo com a amostra M1 foi de 5 min e 3 s; o cilindro com a amostra M1 foi de 3 min e 27 s; e o cilindro com a amostra L1 foi de 15 min e 19 s. Estas velocidades de impressão 3D podem ser consideradas relativamente lentas (é um parâmetro a otimizar), o que seria neste momento uma restrição para a aplicação industrial da tecnologia de impressão 3D. No entanto, a impressão 3D pode originar novas estruturas e formas personalizadas, sendo assim uma tecnologia promissora.

---

*Capítulo 4*

# Conclusão e Trabalhos futuros

## 4. CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

### 4.1. CONCLUSÕES

O presente trabalho foi dedicado ao desenvolvimento de alimentos estruturados com sistemas de emulsões Pickering O/A estabilizadas através de nanopartículas de quitosano e goma arábica. Visou-se o desenvolvimento de produtos para aplicação no setor alimentar, nomeadamente produtos similares à gelatina. 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. O desenvolvimento de produtos utilizando emulsões Pickering é uma tecnologia muito utilizada na área farmacêutica para desenvolvimento de cremes, géis e filmes, proporcionando solubilidade a compostos hidrofóbicos por meio da sua encapsulação em matrizes hidrofílicas (geralmente polímeros). Entretanto na área alimentar é uma tecnologia que foi pouco explorada e que está em desenvolvimento. Neste trabalho as nanopartículas de quitosano/goma arábica 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) Produção de nanopartículas; (ii) Desenvolvimento e otimização da formulação de emulsões Pickering estáveis; (iii) Caracterização das emulsões elaboradas; (iv) Incorporação da vitamina D3 nas emulsões; (v) Teste de aplicação e comparação com uma matriz alimentar de referência (vi); Teste preliminares na impressora 3D.

Os resultados obtidos indicaram viabilidade na utilização das nanopartículas de Quitosano/Goma Arábica com ação Pickering promissoras para o desenvolvimento de novas matrizes alimentares. Assim, o processo resultou em duas formulações O/A com relativa estabilidade: E-1.5% -0.5 e E-3.0 %-0.7, porém, apesar da relativa estabilidade durante 18 e 15 dias, respetivamente, essas emulsões não apresentavam aparência de gel. A partir destas, foram produzidas novas emulsões utilizando alginato como uma alternativa para o melhoramento da formação de gel das emulsões. A emulsão E-3.9%-0.7 revelou ser viável para o desenvolvimento, porém devido à dificuldade de dissolver o quitosano com ácido cítrico, esta amostra foi descartada. Entretanto a partir da amostra E-1.5% -0.5, com a utilização do alginato na formulação e 3 tipos de sumos (Laranja, Pera e Maçã) foi possível desenvolver um alimento

estruturado correspondendo a emulsões viscosas, com características de géis e que se mantiveram estáveis durante os 28 dias de teste, de acordo com a avaliação do índice de creme. Estas apresentaram pH ácido e uma morfologia formada por gotículas um pouco maiores que as dos testes preliminares, tal como observado por o MO.

Foi possível desenvolver um alimento estruturado com a vitamina D3 encapsulada, apresentando uma eficiência de encapsulação significativa, apresentando um benefício potencial na proteção de compostos hidrofóbicos. Tendo definido a comparação das amostras desenvolvidas com produtos já existente no mercado, a análise de textura indicou a sua semelhança com gelatina (amostra L1) e flan (amostra M1)

Com relação aos testes preliminares com a impressora 3D, foi possível imprimir as amostras na impressora com três tipos de designs. A capacidade de impressão das amostras foi relacionada com as propriedades texturais das amostras, visto que, a amostra P1 não foi possível imprimir devido à sua alta firmeza.

Sendo assim, foi possível desenvolver o alimento estruturado baseado nas emulsões Pickering, utilizando nanopartículas de quitosano/goma arábica como partícula sólida. O sistema desenvolvido indicou ser um sistema promissor para a indústria alimentar devido à possibilidade de encapsular a vitamina D3, para além da possibilidade da impressão 3D, fato que agrega valor ao produto devido à funcionalidade e oportunidade de desenho que implica esta tecnologia inovadora.

#### **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 a utilização de uma nova tecnologia nesta área, nomeadamente a impressão 3D, fato que agrega valor ao produto devido à funcionalidade e desenho que pode aportar. Assim, os seguintes pontos podem ser considerados quanto a trabalhos futuros:

- Teste com outras emulsões Pickering estabilizadas com maiores concentrações de Quitosano/Goma Arábica, melhorando o aspetos de textura das amostras e impressão 3D
- Análise sensorial do alimento estruturado das amostras P1, M1 e L1, para que possa ser identificada 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;
- Teste com a impressão 3D de amostras contendo vitamina D3 e verificação da degradação da vitamina durante o processo.

---

*Capítulo 5*  
**Referências  
Bibliográficas**

## 5.REFERÊNCIAS

- Abbasi, A., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, M. A. E., & Davoodi, D. (2014). Stability of vitamin D3 encapsulated in nanoparticles of whey protein isolate. *Food Chemistry*, 143, 379–383. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.018>
- Adams, J. S., & Hewison, M. (2010). Update in Vitamin D. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(2), 471–478. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-1773>
- Aguirre, A., & Borneo, R. (2019). Improving Bioavailability of Polyphenols Using Nanodelivery Systems Based on Food Polymers. In *Polyphenols in Plants* (pp. 59–65). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00004-9>
- Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., & Huang, N. (2019a). Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. 302–332. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.003i>
- Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., & Huang, N. (2019b). 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>
- Alehosseini, E., Jafari, S. M., & Shahiri Tabarestani, H. (2021). Production of d-limonene-loaded Pickering emulsions stabilized by chitosan nanoparticles. *Food Chemistry*, 354, 129591. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129591>
- Ali, B. H., Ziada, A., & Blunden, G. (2009). Biological effects of gum arabic: A review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.001>
- Alishahi, A., Mirvaghefi, A., Tehrani, M. R., Farahmand, H., Koshio, S., Dorkoosh, F. A., & Elsabee, M. Z. (2011). Chitosan nanoparticle to carry vitamin C through the gastrointestinal tract and induce the non-specific immunity system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Carbohydrate Polymers*, 86(1), 142–146. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.028>
- Almeida. (2012). Avaliação da estabilidade de emulsões concentradas em bebidas. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Ahmed, R., Wang, M., Qi, Z., Hira, N. ul ain, Jiang, J., Zhang, H., Iqbal, S., Wang, J., Stuart, M. A. C., & Guo, X. (2021). Pickering Emulsions Based on the pH-Responsive Assembly of Food-Grade Chitosan. *ACS Omega*, 6(28), 17915–17922. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c01490>

- 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>
- Azevedo, M. A., Bourbon, A. I., Vicente, A. A., & Cerqueira, M. A. (2014). Alginate/chitosan nanoparticles for encapsulation and controlled release of vitamin B2. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71, 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.036>
- Bai, L., Huan, S., Li, Z., & McClements, D. J. (2017). Comparison of emulsifying properties of food-grade polysaccharides in oil-in-water emulsions: Gum arabic, beet pectin, and corn fiber gum. *Food Hydrocolloids*, 66, 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.019>
- Bhat, Z. F., Morton, J. D., Kumar, S., Bhat, H. F., Aadil, R. M., & Bekhit, A. E.-D. A. (2021). 3D printing: Development of animal products and special foods. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 87–105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.09.020>
- Champe, P.C.; Harvey, R.A.; Ferrier, D.R. (2006). *bioquímica ilustrada*. Porto alegre:artmed, p. 533,
- Chen, H., & Zhong, Q. (2015). A novel method of preparing stable zein nanoparticle dispersions for encapsulation of peppermint oil. *Food Hydrocolloids*, 43, 593e602-602. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.018>
- Chen, L., Ao, F., Ge, X., & Shen, W. (2020). Food-grade pickering emulsions: Preparation, stabilization and applications. In *Molecules* MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25143202>
- Chen, X. W., Fu, S. Y., Hou, J. J., Guo, J., Wang, J. M., & Yang, X. Q. (2016). Zein based oil-in-glycerol emulgels enriched with  $\beta$ -carotene as margarine alternatives. *Food Chemistry*, 211, 836–844. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.133>
- Chen, P.-H., Hswang, Y.-H., Ting-Yun, K., Liu, F.-H., Lai, J.-Y., & Hsieh, H.-J. (2007). Improvements in the properties of chitosan membranes using natural organic acid solutions as solvents for chitosan dissolution. *Journal of Medical and Biological Engineering*, 23–28.
- 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>
- Cissé, K., Gassama, D., Diagne, A. A., & Badji, M. (2020). Influence of the Inhibition of Corrosion of S235 Steel in a Solution of Perchloric Acid by Gum Arabic. *American Journal of Materials Science and Engineering*, 8(1), 17–21. <https://doi.org/10.12691/ajmse-8-1-3>

- Dai, L., Zhan, X., Wei, Y., Sun, C., Mao, L., McClements, D. J., & Gao, Y. (2018). Composite zein - propylene glycol alginate particles prepared using solvent evaporation: Characterization and application as Pickering emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 85, 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.013>
- Damodaran, S., Parkin, K. L., & Fennema, O. R. (2010). *Fennema's Food Chemistry*. CRC Press, 4 ed
- de Moura, M. R., Lorevice, M. v., Mattoso, L. H. C., & Zucolotto, V. (2011). Highly Stable, Edible Cellulose Films Incorporating Chitosan Nanoparticles. *Journal of Food Science*, 76(2), N25–N29. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02013.x>
- Dupont, H., Maingret, V., Schmitt, V., & Héroguez, V. (2021). New Insights into the Formulation and Polymerization of Pickering Emulsions Stabilized by Natural Organic Particles. *Macromolecules*, 54(11), 4945–4970. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.1c00225>
- French, D. J., Taylor, P., Fowler, J., & Clegg, P. S. (2015). Making and breaking bridges in a Pickering emulsion. *Journal of Colloid and Interface Science*, 441, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.11.032>
- Friberg, S. E. (2007). Some emulsion features. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 28(8), 1299–1308. <https://doi.org/10.1080/01932690601107229>
- Fu, D., Deng, S., McClements, D. J., Zhou, L., Zou, L., Yi, J., Liu, C., & Liu, W. (2019). Encapsulation of  $\beta$ -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized Pickering emulsions: Enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*, 89, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.032>
- Ghirro, L. C., Rezende, S., Ribeiro, A. S., Rodrigues, N., Carocho, M., Pereira, J. A., Barros, L., Demczuk, B., Barreiro, M. F., & Santamaria-Echart, A. (2022). Pickering Emulsions Stabilized with Curcumin-Based Solid Dispersion Particles as Mayonnaise-like Food Sauce Alternatives. *Molecules*, 27(4). <https://doi.org/10.3390/molecules27041250>
- Han, S. W., Song, H. Y., Moon, T. W., & Choi, S. J. (2018). Influence of emulsion interfacial membrane characteristics on Ostwald ripening in a model emulsion. *Food Chemistry*, 242, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.018>
- Harman, C. L. G., Patel, M. A., Guldin, S., & Davies, G. L. (2019). Recent developments in Pickering emulsions for biomedical applications. In *Current Opinion in Colloid and Interface Science* (Vol. 39, pp. 173–189). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.01.017>
- Hecht, H., & Srebnik, S. (2016). Structural Characterization of Sodium Alginate and Calcium Alginate. *Biomacromolecules*, 17(6), 2160–2167. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b00378>

- Hossain, K. M. Z., Felfel, R. M., Ogbilikana, P. S., Thakker, D., Grant, D. M., Scotchford, C. A., & Ahmed, I. (2018). Single Solvent-Based Film Casting Method for the Production of Porous Polymer Films. *Macromolecular Materials and Engineering*, 303(4), 1700628. <https://doi.org/10.1002/mame.201700628>
- Hu, Y., Ma, S., Yang, Z., Zhou, W., Du, Z., Huang, J., Yi, H., & Wang, C. (2016). Facile fabrication of poly(L-lactic acid) microsphere-incorporated calcium alginate/hydroxyapatite porous scaffolds based on Pickering emulsion templates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 140, 382–391. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.01.005>
- Islam, A. M., Phillips, G. O., Sljivo, A., Snowden, M. J., & Williams, P. A. (1997). A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. In *Food Hydrocolloids* (Vol. 11, Issue 4, pp. 493–505). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(97\)80048-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(97)80048-3)
- Jakobsen, J., & Knuthsen, P. (2014). Stability of vitamin D in foodstuffs during cooking. *Food Chemistry*, 148, 170–175. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.043>
- Jiao, B., Shi, A., Wang, Q., & Binks, B. P. (2018). High-Internal-Phase Pickering Emulsions Stabilized Solely by Peanut-Protein-Isolate Microgel Particles with Multiple Potential Applications. *Angewandte Chemie - International Edition*, 57(30), 9274–9278. <https://doi.org/10.1002/anie.201801350>
- Li, L., Fang, Y., Vreeker, R., Appelqvist, I., & Mendes, E. (2007). Reexamining the Egg-Box Model in Calcium–Alginate Gels with X-ray Diffraction. *Biomacromolecules*, 8(2), 464–468. <https://doi.org/10.1021/bm060550a>
- Li, P., Li, X., Nisar, T., Yang, X., Sun, J., Yang, X., & Guo, Y. (2021). Structural characteristics of binary biopolymers-based emulsion-filled gels: A case of mixed sodium caseinate/methyl cellulose emulsion gels. *Food Structure*, 30, 100233. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100233>
- Li, X., Fan, L., Liu, Y., & Li, J. (2021). New insights into food O/W emulsion gels: Strategies of reinforcing mechanical properties and outlook of being applied to food 3D printing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–23. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1965953>
- Li, X.-M., Xie, Q.-T., Zhu, J., Pan, Y., Meng, R., Zhang, B., Chen, H.-Q., & Jin, Z.-Y. (2019). Chitosan hydrochloride/carboxymethyl starch complex nanogels as novel Pickering stabilizers: Physical stability and rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 93, 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.02.021>

- Lim, H.-P., Ho, K.-W., Surjit Singh, C. K., Ooi, C.-W., Tey, B.-T., & Chan, E.-S. (2020). Pickering emulsion hydrogel as a promising food delivery system: Synergistic effects of chitosan Pickering emulsifier and alginate matrix on hydrogel stability and emulsion delivery. *Food Hydrocolloids*, 103, 105659. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105659>
- Lin, Y., Wang, Y.-H., Yang, X.-Q., Guo, J., & Wang, J.-M. (2016). Corn protein hydrolysate as a novel nano-vehicle: Enhanced physicochemical stability and in vitro bioaccessibility of vitamin D3. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.020>
- Lu, J., Li, X., Qiu, C., McClements, D. J., Jiao, A., Wang, J., & Jin, Z. (2022). Preparation and Characterization of Food-Grade Pickering Emulsions Stabilized with Chitosan-Phytic Acid-Cyclodextrin Nanoparticles. *Foods*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/foods11030450>
- Luo, Y., Teng, Z., & Wang, Q. (2012). Development of Zein Nanoparticles Coated with Carboxymethyl Chitosan for Encapsulation and Controlled Release of Vitamin D3. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(3), 836–843. <https://doi.org/10.1021/jf204194z>
- 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., Decker, E. A., & Weiss, J. (2007). Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. *Journal of Food Science*, 72(8), R109–R124. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x>
- McClements, D. J. (2015). *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press.
- Medeiros, J. A. da C., Nunes, I. dos S., Araújo, A. S., Carvalho, E. A., & Stamford, T. C. M. (2021). Nanopartículas de quitosana na conservação e produção de alimentos. In *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Volume 4* (pp. 417–429). Editora Científica Digital. <https://doi.org/10.37885/210203317>
- Murray, B. S. (2019). Pickering emulsions for food and drinks. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 27, pp. 57–63). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.05.004>
- Mwangi, W. W., Ho, K. W., Tey, B. T., & Chan, E. S. (2016). Effects of environmental factors on the physical stability of pickering-emulsions stabilized by chitosan particles. *Food Hydrocolloids*, 60, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.023>

- 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(4), 919–931. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20160334s20140140>
- Nilsen-Nygaard, J., Strand, S., Vårum, K., Draget, K., & Nordgård, C. (2015). Chitosan: Gels and Interfacial Properties. *Polymers*, 7(3), 552–579. <https://doi.org/10.3390/polym7030552>
- Niro, C. M., Medeiros, J. A., Freitas, J. A., & Azeredo, H. M. (2021). Advantages and challenges of Pickering emulsions applied to <scp>bio-based</scp> films: a <scp>mini-review</scp>. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(9), 3535–3540. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11029>
- Norton, I., Moore, S., & Fryer, P. (2007). Understanding food structuring and breakdown: engineering approaches to obesity. *Obesity Reviews*, 8(s1), 83–88. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2007.00324.x>
- Rajabi, H., Jafari, S. M., Rajabzadeh, G., Sarfarazi, M., & Sedaghati, S. (2019). Chitosan-gum Arabic complex nanocarriers for encapsulation of saffron bioactive components. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 578. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123644>
- Roriz, C. L., Heleno, S. A., Carocho, M., Rodrigues, P., Pinela, J., Dias, M. I., Fernandes, I. P., Barreiro, M. F., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (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>
- Sagalowicz, L., & Leser, M. E. (2010). Delivery systems for liquid food products. In *Current Opinion in Colloid and Interface Science* (Vol. 15, Issues 1–2, pp. 61–72). <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2009.12.003>
- Segale, L., Giovannelli, L., Mannina, P., & Pattarino, F. (2016). Calcium Alginate and Calcium Alginate-Chitosan Beads Containing Celecoxib Solubilized in a Self-Emulsifying Phase. *Scientifica*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/5062706>
- Schott, H. (1969). Hydrophile-Lipophile Balance and Cloud Points of Nonionic Surfactants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58(12), 1443–1449. <https://doi.org/10.1002/jps.2600581203>
- Shah, B. R., Xu, W., & Mráz, J. (2021a). Formulation and characterization of zein/chitosan complex particles stabilized Pickering emulsion with the encapsulation and delivery of vitamin D3. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(13), 5419–5428. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11190>

- Shah, B. R., Xu, W., & Mráz, J. (2021b). Formulation and characterization of zein/chitosan complex particles stabilized Pickering emulsion with the encapsulation and delivery of vitamin D<sub>3</sub>. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(13), 5419–5428. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11190>
- Shahbazi, M., Jäger, H., Chen, J., & Ettelaie, R. (2021). Construction of 3D printed reduced-fat meat analogue by emulsion gels. Part II: Printing performance, thermal, tribological, and dynamic sensory characterization of printed objects. *Food Hydrocolloids*, 121, 107054. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107054>
- 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>
- Shi, X.-Y., & Tan, T.-W. (2002). Preparation of chitosan/ethylcellulose complex microcapsule and its application in controlled release of Vitamin D<sub>2</sub>. *Biomaterials*, 23(23), 4469–4473. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00165-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00165-5)
- Tavernier, I., Wijaya, W., van der Meeren, P., Dewettinck, K., & Patel, A. R. (2016). Food-grade particles for emulsion stabilization. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 50, pp. 159–174). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.023>
- Tang, Y., Gao, C., Zhang, Y., & Tang, X. (2021). The microstructure and physiochemical stability of Pickering emulsions stabilized by chitosan particles coating with sodium alginate: Influence of the ratio between chitosan and sodium alginate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1402–1409. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.098>
- Vuillemin, M. E., Michaux, F., Adam, A. A., Linder, M., Muniglia, L., & Jasniewski, J. (2020). Physicochemical characterizations of gum Arabic modified with oxidation products of ferulic acid. *Food Hydrocolloids*, 107, 105919. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105919>
- Wang, X. Y., & Heuzey, M. C. (2016). Chitosan-Based Conventional and Pickering Emulsions with Long-Term Stability. *Langmuir*, 32(4), 929–936. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b03556>
- Wu, J., & Ma, G.-H. (2016). Recent Studies of Pickering Emulsions: Particles Make the Difference. *Small*, 12(34), 4633–4648. <https://doi.org/10.1002/sml.201600877>
- Wu, C., Liu, Z., Zhi, L., Jiao, B., Tian, Y., Liu, H., Hu, H., Ma, X., Pignitter, M., Wang, Q., & Shi, A. (2022). Research Progress of Food-Grade High Internal Phase Pickering Emulsions and Their Application in 3D Printing. *Nanomaterials*, 12(17), 2949. <https://doi.org/10.3390/nano12172949>

- Xiao, J., Li, Y., & Huang, Q. (2016). Recent advances on food-grade particles stabilized Pickering emulsions: Fabrication, characterization and research trends. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 55, pp. 48–60). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.010>
- Yamashita, Y., & Sakamoto, K. (2016). Hydrophilic-Lipophilic Balance (HLB): Classical Indexation and Novel Indexation of Surfactant. In *Encyclopedia of Biocolloid and Biointerface Science* 2V Set (pp. 570–574). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781119075691.ch45>
- 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. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 8, Issue MAY). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00287>
- Zhang, J., & Reineccius, G. A. (2016). Preparation and stability of W/O/W emulsions containing sucrose as weighting agent. *Flavour and Fragrance Journal*, 31(1), 51–56. <https://doi.org/10.1002/ffj.3269>
- Zhao, Y., Pan, Y., Nitin, N., & Tikekar, R. v. (2014). Enhanced stability of curcumin in colloidosomes stabilized by silica aggregates. *LWT - Food Science and Technology*, 58(2), 667–671. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.017>
- Zhu, X.-F., Zheng, J., Liu, F., Qiu, C.-Y., Lin, W.-F., & Tang, C.-H. (2018). Freeze-thaw stability of Pickering emulsions stabilized by soy protein nanoparticles. Influence of ionic strength before or after emulsification. *Food Hydrocolloids*, 74, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.017>

## ANEXO A

Teste preliminares para formulação do alimento estruturado.

Amostra	Concentração de Nanopartículas (% p/v)	Fração de óleo	Concentração de alginato (%)	Sal
A1CIO	1,5	0,5	1	cloreto de cálcio
A2CIO	1,5	0,5	2	cloreto de cálcio
A3CIO	1,5	0,5	3	cloreto de cálcio
A1LAC	1,5	0,5	1	lactato de cálcio
A2LAC	1,5	0,5	2	lactato de cálcio
A3LAC	1,5	0,5	3	lactato de cálcio
A1GLU	1,5	0,5	1	gluconato de cálcio
A2GLU	1,5	0,5	2	gluconato de cálcio
A3GLU	1,5	0,5	3	gluconato de cálcio

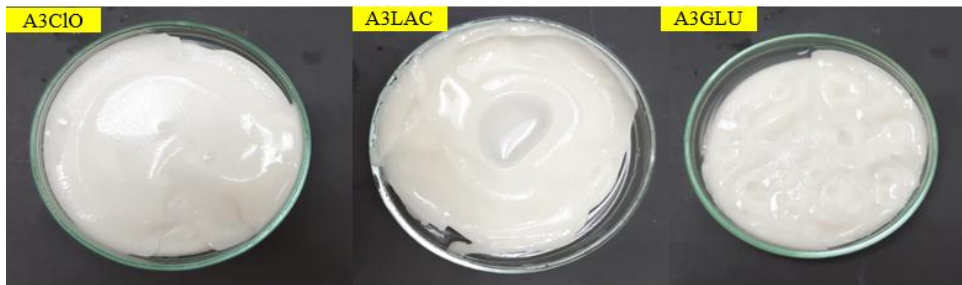
**Figura A1.** Teste preliminares para formulação do alimento estruturado com 1% de alginato



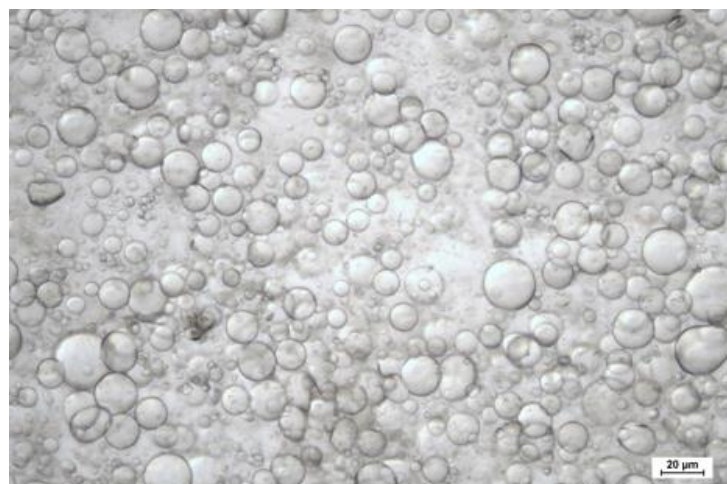
**Figura A2.** Teste preliminares para formulação do alimento estruturado com 2% de alginato



**Figura A3.** Teste preliminares para formulação do alimento estruturado com 3% de alginato



**Figura A4.** Morfologia e diâmetro médio da gota da amostra A2C1O



Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ ) =  $15,2 \pm 1,36$