

BÁRBARA MOREIRA SILVA

EMULSÕES ÁGUA EM ÓLEO DE BARU (*Dipteryx alata* Vogel) CARREADORAS DE VITAMINA C

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

Orientadora: Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal

Coorientador: Luis Antonio Minim

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2022**

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

T

S586e
2022
Silva, Bárbara Moreira, 1996-
Emulsões água em óleo de baru (*Dipteryx alata* Vogel)
carreadoras de vitamina C / Bárbara Moreira Silva. – Viçosa,
MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (32 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2022.

Referências bibliográficas: f. 28-32.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.454>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Baru. 2. Óleos vegetais. 3. Vitamina C. 4. Emulsão.
5. Antioxidantes. I. Vidigal, Márcia Cristina Teixeira Ribeiro,
1981-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

CDD 22. ed. 665.35

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB6/2552

BÁRBARA MOREIRA SILVA

EMULSÕES ÁGUA EM ÓLEO DE BARU (*Dipteryx alata* Vogel) CARREADORAS DE VITAMINA C

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

APROVADA: 28 de maio de 2022.

Assentimento:



Bárbara Moreira Silva
Autora



Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal
Orientadora

Aos meus pais, irmã e avó, Gilson, Mirian, Nathalia e Terezinha, por serem meus exemplos de amor, perseverança e dedicação.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida. Por iluminar meus pensamentos, me manter firme e me fazer crer que seria possível.

Aos meus pais, Gilson e Mirian, por todo apoio emocional e financeiro além do amor e incentivo à educação desde a infância. Vocês são a base e a inspiração para eu ser uma pessoa cada vez melhor. A minha irmã e avó Nathalia e Terezinha pelo amor e amizade. Ao meu noivo Gustavo pelo amor e companheirismo. À toda minha família, por sempre estarem ao meu lado.

À minha orientadora, Profa. Dra. Márcia, pela oportunidade de realização deste trabalho e pela orientação feita com excelência. Obrigada pela paciência, ensinamentos diários, disponibilidade e humanidade, que tornaram essa etapa enriquecedora.

Aos Professores e técnicos da Universidade Federal de Viçosa, por todos os ensinamentos, os quais me possibilitaram concluir esse processo acadêmico.

Aos meus amigos do laboratório e pós-graduandos em especial as Mestres Linamarys, Leonara e Raquel por todo companheirismo, parceria, conselhos e auxílio durante a pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo e pelo apoio financeiro ao projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos pela oportunidade em realizar o mestrado.

À Universidade Federal de São João del-Rei – Campus Sete Lagoas, todos os professores e amigos de graduação, em especial a Profa. Lanamar de Almeida Carlos, pelo incentivo à minha incursão no universo acadêmico e pelo auxílio e disponibilização do laboratório.

A todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho.

BIOGRAFIA

BÁRBARA MOREIRA SILVA, filha de Gilson Rocha da Silva e Mirian Moreira Silva, nasceu em Ouro Branco, em 24 de maio de 1996.

Em agosto de 2014, iniciou o Curso de Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de São João del-Rei – *Campus Sete Lagoas*, graduando-se em Julho de 2019.

Em agosto de 2019, iniciou o Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa.

Em maio de 2022 submeteu-se a defesa da dissertação.

RESUMO

SILVA, Bárbara Moreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2022. **Emulsões água em óleo de baru (*Dipteryx alata* Vogel) carreadoras de vitamina C.** Orientadora: Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal. Coorientador: Luis Antonio Minim.

A vitamina C é altamente solúvel em água e é facilmente oxidada na forma solubilizada. Desta forma, emulsões do tipo água em óleo podem ser utilizadas para promover a sua proteção. Dentre os óleos vegetais, fontes alternativas como o baru tem ganhado atenção por sua composição, principalmente pela presença de compostos bioativos. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade cinética, bem como a capacidade antioxidante (CA), retenção do ácido ascórbico e composição química de emulsões água em óleo (A/O) na proporção 35:65, contendo na fase aquosa 1 % (m/m) de gelatina, 1 % de sulfato de sódio (m/m) com diferentes concentrações de ácido ascórbico (AA - 0, 10, 20 e 30 % m/m). A fase contínua continha óleo de baru e 3,5 % de surfactante (PGPR). As amostras foram preparadas em um homogeneizador de alta velocidade, à 7500 rpm por 7 min e posteriormente armazenadas à 25 °C e à 4 °C, durante 7 dias. O tamanho médio das gotículas dispersas foram analisados por meio de imagens microscópicas e determinado usando o software Carl Zeiss Vision AxioVision Viewer 4.8. A composição química foi determinada pela técnica de FTIR. O tamanho médio das gotículas foi influenciado pelo tempo de armazenamento ($p < 0,05$), variando de (3,0 μm - 4,3 μm). O tempo de armazenamento reduziu a estabilidade cinética das emulsões (A/O) que apresentaram maior tamanho das gotículas, favorecendo fenômenos de desestabilizações coloidais, como floculação, que foram observadas nas imagens microscópicas. Entretanto, para as análises macroscópicas de cremeação das emulsões, a estabilidade cinética não foi influenciada pela concentração de AA e pelo tempo de armazenamento ($p > 0,05$), não sendo observado separação de fases. As emulsões foram caracterizadas como fluidos newtonianos e a viscosidade variou de 0,22 a 1,60 mPa. As emulsões armazenadas a 4 °C apresentaram maior viscosidade do que àquelas a 25 °C ($p < 0,05$). Para as amostras à temperatura de 25 °C, houve o efeito do tempo de armazenamento na reologia. Independente da temperatura estudada, as emulsões contendo até 20 % AA, analisadas no mesmo tempo, não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si em relação a CA. As amostras contendo 30 % de AA apresentaram significativamente maior atividade antioxidante ($p < 0,05$), com valores médios entre 216,32 $\mu\text{MOL Trolox/g}$ e 221,45 $\mu\text{MOL Trolox/g}$ no tempo 0, e 138,84 e 184,57 $\mu\text{MOL Trolox/g}$ amostra após 7 dias de armazenamento, a 25 °C e 4 °C, respectivamente. Já a retenção

do AA foi significativamente maior para as amostras armazenadas a 4 °C. A partir das análises no FTIR, foi possível observar que não houve degradação do AA no processo de emulsificação. Portanto, emulsões contendo alta concentração de ácido ascórbico (até 30 % m/v disperso na fase aquosa) e óleo de baru possuem potencial para aplicação na indústria de alimentos, atendendo a demanda dos consumidores por produtos mais saudáveis.

Palavras-chave: Estabilidade cinética. Capacidade antioxidante. Curva de escoamento.

ABSTRACT

SILVA, Bárbara Moreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2022. **Emulsions water in baru oil (*Dipteryx alata* Vogel) vitamin C carriers**. Advisor: Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal. Co-advisor: Luis Antonio Minim.

Vitamin C is highly soluble in water and is easily oxidized in the solubilized form. In this way, water-in-oil emulsions can be used to promote their protection. Among vegetable oils, alternative sources such as baru have gained attention due to their composition, mainly due to the presence of bioactive compounds. In this context, the present study aimed to evaluate the kinetic and thermal stability, as well as the antioxidant capacity (CA), ascorbic acid retention and chemical composition of water-in-oil emulsions (W/O) in the proportion 35:65, containing in aqueous phase 1% (m/m) gelatin, 1% sodium sulfate (m/m) with different concentrations of ascorbic acid (AA- 0, 10, 20 and 30% m/m). The continuous phase contained baru oil and 3.5% surfactant (PGPR). Samples were prepared in a high-speed homogenizer at 7500 rpm for 7 min and then stored at 25 °C and 4 °C for 7 days. The mean size of the dispersed droplets were analyzed using microscopic images and determined using the Carl Zeiss Vision AxioVision Viewer 4.8 software. The chemical composition was determined by the FTIR technique. The mean droplet size was influenced by storage time ($p < 0.05$), ranging from (3.0 μm - 4.3 μm). The storage time reduced the kinetic stability of the emulsions (W/O) that presented larger droplets, favoring colloidal destabilization phenomena, such as flocculation, which were observed in the microscopic images. However, for the macroscopic analysis of the creamation of the emulsions, the kinetic stability was not influenced by the AA concentration and the storage time ($p > 0.05$), and no phase separation was observed. The emulsions were characterized as Newtonian fluids and the viscosity ranged from 0.22 to 1.60 mPa. Emulsions stored at 4 °C showed higher viscosity than those at 25 °C ($p < 0.05$). For samples at 25 °C, there was an effect of storage time on rheology. Regardless of the temperature studied, the emulsions containing up to 20% AA, analyzed at the same time, did not show significant differences ($p > 0.05$) between them in relation to CA. Samples containing 30% AA showed significantly higher antioxidant activity ($p < 0.05$), with mean values between 216.32 $\mu\text{MOL Trolox/g}$ and 221.45 $\mu\text{MOL Trolox/g}$ at time 0, and 138.84 and 184.57 $\mu\text{MOL Trolox/g}$ sample after 7 days of storage at 25 °C and 4 °C, respectively. AA retention was significantly higher for samples stored at 4 °C. From the FTIR analysis, it was possible to observe that there was no degradation of AA in the emulsification process. Therefore, emulsions containing a high

concentration of ascorbic acid (up to 30% w/v dispersed in the aqueous phase) and baru oil have potential for application in the food industry, meeting consumer demand for healthier products.

Keywords: Kinetic stability. Antioxidant capacity. Flow curve.

SUMÁRIO

ARTIGO. EMULSÕES DE ÁGUA EM ÓLEO DE BARU (<i>Dipteryx alata</i> Vogel) (A/O) COMO CARREADORAS DE VITAMINA C	11
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
2.1 Material.....	14
2.2 Preparo das emulsões	14
2.3 Caracterização das emulsões	14
2.3.1 Propriedades reológicas das emulsões.....	14
2.3.2 Microscopia e tamanho médio das gotículas.....	15
2.3.3 Estabilidade cinética das emulsões a cremeação.....	15
2.3.4 Capacidade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH)	16
2.3.5 Cinética de retenção do ácido ascórbico (AA).....	16
2.3.6 Análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	17
2.4 Análises Estatísticas	17
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1 Caracterização reológica das emulsões	17
3.2 Análises microscópicas	19
3.3 Análise do tamanho médio das gotículas	20
3.4 Análise de cremeação	22
3.5 Atividade antioxidante pelo método do sequestro de radicais livres (DPPH)	23
3.6 Cinética de retenção do ácido ascórbico (AA).....	25
3.7 Análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	26
4. CONCLUSÃO.....	28
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

ARTIGO. EMULSÕES DE ÁGUA EM ÓLEO DE BARU (*Dipteryx alata* Vogel) (A/O) COMO CARREADORAS DE VITAMINA C

RESUMO

O ácido ascórbico (AA) é altamente solúvel em água e é facilmente oxidado na forma solubilizada. Desta forma, a emulsificação pode ser utilizada para promover a sua proteção. Dentre os óleos vegetais, o de baru tem ganhado atenção devido à sua composição, principalmente pelo teor de compostos bioativos. Nesta pesquisa objetivou-se avaliar a estabilidade cinética, bem como a capacidade antioxidante (CA), retenção do AA e composição química das emulsões água em óleo (A/O), contendo na fase aquosa gelatina e diferentes concentrações de AA (0 - 30 % m/m) e na fase contínua óleo de baru e PGPR. As amostras foram preparadas em um homogeneizador de alta velocidade e armazenadas à 25 °C e à 4 °C, durante 7 dias. No geral, as emulsões armazenadas à 4 °C apresentaram maior estabilidade cinética, com menor tamanho médio das gotículas, elevada viscosidade, maior CA e retenção do AA. Ademais, a emulsão contendo maior concentração de AA apresentou maior viscosidade e CA. Assim, as emulsões carreadoras de vitamina C possuem potencial para aplicação nas indústrias de alimentos, atendendo à demanda dos consumidores por produtos mais saudáveis.

Palavras-chave: Estabilidade cinética; viscosidade; capacidade antioxidante.

ABSTRACT

Ascorbic acid (AA) is highly soluble in water and is easily oxidized in the solubilized form. In this way, emulsification can be used to promote its protection. Among vegetable oils, baru oil has gained attention due to its composition, mainly due to the content of bioactive compounds. The objective of this research was to evaluate the kinetic stability, as well as the antioxidant capacity (CA), ascorbic acid retention and chemical composition of water-in-oil (W/O) emulsions, containing gelatin in the aqueous phase and different concentrations of AA (0 - 30% w/w) and in the continuous phase baru oil and PGPR. Samples were prepared in a high-

speed homogenizer and stored at 25 °C and 4 °C for 7 days. In general, the emulsions stored at 4 °C showed greater kinetic and thermal stability, with smaller average droplet size, high viscosity, higher CA and AA retention. Furthermore, the emulsion containing the highest concentration of AA had higher viscosity and CA. Thus, vitamin C carrier emulsions have potential for application in the food industry, meeting consumer demand for healthier products.

Keywords: Kinetic stability; viscosity; antioxidant capacity.

1. INTRODUÇÃO

O ácido ascórbico (AA), também conhecido como Vitamina C, é uma vitamina essencial, com elevado potencial antioxidante, e vem sendo amplamente aplicado pelas indústrias farmacêutica, de alimentos, bebidas, cosméticos e rações. A Vitamina C pode prevenir o escorbuto em humanos e desempenha um papel importante na desintoxicação e remoção de radicais livres (WANG *et al.*, 2018). No entanto, o processamento de alimentos enriquecidos com AA tende a ser muito complexo, uma vez que, este composto é muito instável em soluções aquosas e a inúmeros fatores físico-químicos como temperatura, luz, pH, oxigênio, dentre outros (DE MATOS-JR *et al.*, 2017). Essa instabilidade limita sua aplicação, o que pode ser melhorado por meio das técnicas de encapsulamento e emulsificação.

As emulsões são sistemas coloidais termodinamicamente instáveis, compostos por líquidos que são imiscíveis, geralmente óleo e água. Esses sistemas apresentam uma ou mais fases dispersas formadas por pequenas gotículas esféricas com diâmetro que podem variar de 0,1 µm a 100 µm, e uma fase contínua (PEREIRA; GARCIA-ROJAS, 2015). As emulsões vêm sendo utilizadas para encapsulamento, liberação controlada, e entrega de compostos bioativos (TAN; MCCLEMENTS, 2021).

Os sistemas coloidais contendo a fase aquosa em maior proporção, como por exemplo óleo-em-água (O/A) e óleo-água-óleo (A/O/A), são menos eficientes na proteção da vitamina C. Uma vez que, essa vitamina é altamente solúvel em compostos polares o que facilita o processo de oxidação da mesma. Assim, os métodos de emulsificação do tipo água em óleo (A/O) e água-óleo-água (A/O/A) estão sendo estudados e aplicados, pois a interface dessas emulsões, atuam como uma barreira para o oxigênio para evitar que o AA encapsulado sofra

degradação induzida pela oxidação (FARAHMAND *et al.*, 2006; KHALID *et al.*, 2013; KHALID *et al.*, 2014). No entanto, os trabalhos existentes na literatura utilizam óleos de fontes convencionais, como o óleo de soja e não contemplam as análises de composição da estrutura química do sistema e capacidade antioxidante, as quais são importantes para caracterização da estabilidade química e física das emulsões. Além disso, emulsões contendo óleos de fontes não convencionais, com alto valor nutricional e potenciais benefícios à saúde, contribuem para o desenvolvimento de produtos com qualidade, saudáveis e sustentáveis.

O óleo extraído da semente de baru, espécie vegetal do cerrado brasileiro, tem ganhado destaque na indústria alimentícia e farmacêutica, sendo exportado para diversos países como Alemanha e EUA por apresentar alto teor de compostos bioativos, elevado grau de insaturação (81,2 %), conteúdo de α -tocoferol (5,0 mg/100 g) e composição em ácidos graxos semelhantes à do óleo de amendoim, destacando-se os ácidos oleicos (50,4 %) e linoleico (28,0 %) (ALMEIDA *et al.*, 2016). A composição do óleo de baru confere ao mesmo propriedades antioxidantes, importantes para a prevenção e controle de doenças crônicas não transmissíveis, como o câncer, diabetes, entre outras (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Além da importância nutricional, o óleo de baru possui alegações tecnológicas importantes para elaboração de emulsões por apresentar naturalmente moléculas tensoativas que atuam na interface água-óleo, contribuindo para retardar os fenômenos de desestabilização coloidal (PAULO, 2020). Entretanto, apesar do óleo de baru possuir alegação dos efeitos benéficos à saúde e do seu potencial tecnológico, o mesmo ainda é pouco explorado pelas indústrias. Estudos que possibilitem a ampliação do uso do óleo de baru nos produtos alimentícios se fazem necessários e estão alinhados às demandas dos consumidores por alimentos com potencial funcional.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver emulsões do tipo água-óleo de baru (A/O) como carreadoras de ácido ascórbico e analisar sua estabilidade cinética, bem como a capacidade antioxidante, a eficiência do encapsulamento de AA e a composição química do sistema pelo método FTIR.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

A fração oleosa foi composta por óleo de baru bruto adquirido da Mundo dos Óleos (Brasília DF, Brasil) e o emulsificante PGPR (Polirricinoleato de poliglicerol) adquirido da Granolab (Araucária PR, Brasil). O óleo de baru foi usado sem purificação adicional, a fim de estudar a estabilidade cinética das emulsões sob condições em que geralmente é comercializado.

A fração aquosa foi composta por ácido ascórbico (99,9 % de pureza), sulfato de sódio adquirido da Synth (São Paulo, Brasil), pó de gelatina (Dr.Oetker) adquirido comercialmente e água deionizada (Bedford, EUA). Todos os demais produtos químicos utilizados eram de grau analítico (Sigma, EUA).

2.2 Preparo das emulsões

Inicialmente foram preparadas a solução oleosa contendo óleo de baru e 3,5 % m/m do emulsificante polirricinoleato de poliglicerol (PGPR). A solução oleosa preparada foi aquecida à 40 °C e posteriormente submetida à agitação magnética durante 30 min à temperatura ambiente (25 °C). As soluções aquosas foram preparadas contendo gelatina (1 % m/m), sulfato de sódio (1 % m/m) e azida de sódio (0,02 % m/m). As concentrações de AA adicionadas à fase aquosa foram de 0, 10, 20 e 30 % m/m. Após esses procedimentos, a solução aquosa foi adicionada gota a gota à solução oleosa ainda sob agitação magnética. O volume da fração aquosa em todas as emulsões foi de 35% (m/m). Posteriormente, as soluções formadas foram submetidas à homogeneização de alta velocidade (Omni Macro ES Digital Programmable Homogenizer, Kennesaw, EUA) a 7500 rpm durante 7 min, originando as emulsões água em óleo (A/O). Após, as emulsões foram armazenadas em BOD em recipientes de vidro à temperatura de 25 °C e 4 °C durante 7 dias. O experimento foi realizado em três repetições.

2.3 Caracterização das emulsões

As emulsões foram avaliadas após 1 h de armazenamento à temperatura de 25 °C e 4 °C e após o período de armazenamento de 7 dias.

2.3.1 Propriedades reológicas das emulsões

As propriedades reológicas das emulsões foram determinadas utilizando um reômetro rotativo Brookfield, modelo R/S plus SST 2000 (Brookfield Engineering Laboratories, EUA).

Os ensaios foram realizados utilizando a geometria de cilindros concêntricos 45 (CC45) em aço inoxidável para as amostras armazenadas a 25 °C e cilindros concêntricos 15 (CC15) para as amostras a 4 °C. O uso de geometrias diferentes se deu pelas especificações técnicas quanto a faixa de viscosidade. Antes do início das análises, as amostras permaneceram em repouso por 5 min para garantir o equilíbrio da temperatura e o rearranjo estrutural. Uma nova amostra foi utilizada a cada ensaio devido à possibilidade de ruptura ou coalescência das gotas. Para determinação do comportamento ao escoamento, medidas de tensão de cisalhamento e de viscosidade aparente foram obtidas aplicando-se uma rampa contínua de taxa de deformação variando de 0,01 a 200 s⁻¹ durante 120 s. Os modelos de Newton e Lei da Potência foram ajustados aos dados experimentais, de modo a definir o perfil de escoamento das emulsões.

2.3.2 Microscopia e tamanho médio das gotículas

Observações microscópicas obtidas por microscópio óptico modelo AxioCam ERc5s (Carl Zeiss, Alemanha) foram realizadas para as emulsões A/O. A partir dessas micrografias, o tamanho das gotículas foi medido e expresso como diâmetro médio de gota (d_{av}). Os diâmetros de 250 gotas foram medidos com um software de processamento de imagem (Carl Zeiss, Alemanha), com projeções de escalas micrométricas.

2.3.3 Estabilidade cinética das emulsões a cremação

A estabilidade à cremação das emulsões com diferentes concentrações de AA na fase aquosa (0, 10, 20 e 30 % m/m) foram avaliadas logo após o preparo das emulsões (tempo zero) e ao final do período de armazenamento de 7 dias. Alíquotas de 5 mL de emulsão foram transferidas para frascos de vidro, imediatamente após o processo de homogeneização, e em seguida selados e armazenados em câmaras BOD, a 25 °C e 4 °C. O processo de cremação foi determinado pela avaliação da alteração na espessura das fases de creme e de soro (camada inferior transparente ou turva) após o armazenamento. A extensão da cremação foi caracterizada pelo índice de separação de fases (ISF), determinado de acordo com a Equação 1.

$$ISF (\%) = 100 \cdot H_s/H_i \quad (1)$$

Em que H_s e H_i correspondem a altura de soro formado na fase inferior do tubo e a altura inicial da emulsão, respectivamente. A aparência das amostras após o armazenamento foi registrada por foto utilizando câmera digital.

2.3.4 Capacidade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH)

A avaliação da capacidade antioxidante do óleo de baru e das emulsões A/O com e sem adição do AA foram realizadas utilizando o radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) de acordo com o método descrito por Rufino et al. (2007), com modificações. Para o ensaio, foi preparado no dia da análise uma solução de DPPH $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$ dissolvido em metanol P.A. Para construção da curva padrão do método foi utilizado o trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico). Dessa forma, foram pesados cerca de 0,25 g de cada amostra em um balão de 25 mL, o qual foi completado com metanol acidificado (1 % HCl). Após essa etapa, as amostras foram submetidas à agitação orbital por 2h em uma incubadora shaker de bancada (Novatecnica, Itália) e posteriormente centrifugadas à 3000 rpm por 15 min utilizando a centrífuga Excelsa II. Em seguida, foram pipetadas 150 μL do sobrenadante e adicionou-se 2,85 mL da solução DPPH. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro UV-VIS FEMTO modelo 700S, após 30 min de reação no escuro, no comprimento de onda de 515 nm. Os resultados finais foram expressos em capacidade antioxidante equivalente ao trolox (μM de trolox/L de amostra).

2.3.5 Cinética de retenção do ácido ascórbico (AA)

O conteúdo de vitamina C foi avaliado por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em um sistema HPLC SHIMADZU Proeminence LC - 20A, com uma bomba quaternária LC - 20AT, injetor Manual com loop de 20 μL , degaseificador, um integrador CBM- 20A e um detector SPD- 20AV DAD, coluna ODS-2 HYPERSIL (250 mm 4.6 mm, 5 μm) e forno CTO-20A a 40°C. A fase móvel foi preparada com brometo de cetil-trimetilamônia (5 nmol.L^{-1}) e fosfato monobásico de potássio (50 nmol.L^{-1}) na proporção de 1:1, seguindo a metodologia proposta por BENLLOCH et al. (1993). Os experimentos foram realizados em triplicata. A taxa de retenção (r) do AA foi definida pela razão da concentração de ácido ascórbico final (CAA) e inicial (CAA0), de acordo com a Equação 2.

$$r = \frac{CAA}{CAA0} \times 100 \quad (2)$$

2.3.6 Análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros FTIR das emulsões A/O contendo diferentes concentrações de AA foram determinados usando um espectrofotômetro infravermelho de transformada de Fourier (660-IR, Varian, EUA) equipado com acessório de refletância atenuada (GladiATR, PIKE Technologies, EUA) na região de 400–4000 cm^{-1} com 16 varreduras e 4 cm^{-1} de resolução espectral.

2.4 Análises Estatísticas

O experimento foi realizado segundo Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), em esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas dois fatores: concentração de AA e temperatura de armazenamento (4x2), e na subparcela o tempo de armazenamento (0 e 7 dias).

A adequação dos ajustes dos modelos reológicos aos dados experimentais foi avaliada pela significância estatística dos coeficientes do modelo ($p < 0,05$) e coeficiente de determinação (R^2).

Os resultados obtidos das análises de atividade antioxidante pelo método DPPH, viscosidade, tamanho das gotículas, índice de cremeação e cinética de retenção do AA das emulsões foram analisados por meio de ANOVA considerando cada fator em estudo e a interação entre os mesmos, em cada tempo de armazenamento (0 e 7). Para comparação entre médias foi utilizado o teste de Tuckey ($\alpha = 0,05$ %). As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software R core Team (versão 4.0.2).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização reológica das emulsões

A viscosidade (η) é uma propriedade reológica útil para o estudo da estabilidade cinética das emulsões, por exercer influência na mobilidade das gotas (USHIKUBO e CUNHA, 2014). Quanto maior a viscosidade, menor a mobilidade das gotículas e, portanto, menor a probabilidade de agregação, ruptura do filme interfacial e coalescência (MÁRQUEZ

et al., 2010; SOUSA; PEREIRA; MATOS, 2022; SU *et al.*, 2006). Os valores de η para as emulsões estão apresentados na Tabela 1. O modelo de Newton foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais para as emulsões armazenadas à 25 °C ($R^2 > 0,99$) e à 4 °C ($R^2 > 0,96$). Assim, para uma mesma temperatura, a viscosidade (η) das emulsões não sofreu alteração com o aumento da taxa de deformação.

As emulsões apresentaram valores de viscosidade dinâmica variando de 0,12 a 1,60 mPa. No geral, observou-se que a temperatura de armazenamento afetou significativamente a viscosidade das emulsões ($p < 0,05$); e para as emulsões armazenadas à temperatura de 25 °C houve também o efeito do tempo de armazenamento.

As emulsões a 4 °C apresentaram maior viscosidade em relação às que foram armazenadas a 25 °C ($p < 0,05$). Este comportamento pode estar relacionado com a elevada proporção do óleo de baru (65% m/m) nas emulsões. Em baixas temperaturas, há uma diminuição na distância entre as moléculas, fazendo com que às forças de atração intermoleculares presentes nos mesmos fiquem mais fortes, aumentando a resistência ao escoamento (SANTOS *et al.*, 2005). Além disso, outro fator que pode ter desencadeado o aumento da viscosidade na temperatura de 4°C é a presença da gelatina nas emulsões. Esse aditivo é capaz de formar gel com a solução aquosa em baixas temperaturas aumentando significativamente a viscosidade aparente das emulsões água em óleo. JI *et al.* (2021) utilizaram gelatina no preparo de emulsão primária A/O para aumentar a viscosidade da fase aquosa interna e melhorar as propriedades interfaciais. Esses autores constataram que a viscosidade da emulsão primária A/O com gelatina na fase interna era significativamente superior à emulsão sem gelatina.

Para as emulsões armazenadas a 25 °C, foi observado um aumento da viscosidade em função do tempo de armazenamento (Tabela 1). Ushikubo e Cunha (2014) relataram um comportamento semelhante em emulsões líquidas do tipo A/O, contendo diferentes tipos de óleo (soja e hexadecano) e três emulsificantes (PGPR, Span 80 e lecitina) em duas relações água:óleo. Os autores atribuíram esse comportamento à formação de uma rede de gel, que foi intensificada ao longo do tempo.

Tabela 1. Viscosidade absoluta (mPa s) das emulsões A/O contendo óleo de baru carreadoras de ácido ascórbico (AA) em diferentes concentrações, temperatura e tempo de armazenamento.

Concentração (%)	Temperatura (°C)	Tempo (Dias)	η (mPa s)
0	4	0	1,23 ± 0,00 ^d
0	4	7	1,27 ± 0,00 ^d
0	25	0	0,12 ± 0,02 ^f
0	25	7	0,33 ± 0,02 ^e
10	4	0	1,28 ± 0,00 ^d
10	4	7	1,33 ± 0,02 ^d
10	25	0	0,12 ± 0,06 ^f
10	25	7	0,25 ± 0,03 ^e
20	4	0	1,30 ± 0,00 ^d
20	4	7	1,33 ± 0,00 ^d
20	25	0	0,13 ± 0,01 ^f
20	25	7	0,27 ± 0,01 ^e
30	4	0	1,59 ± 0,03 ^a
30	4	7	1,60 ± 0,01 ^a
30	25	0	0,59 ± 0,01 ^c
30	25	7	0,70 ± 0,00 ^b

Médias de tratamentos seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5 de probabilidade.

A concentração de AA influenciou na viscosidade das emulsões ($p < 0,05$). As emulsões contendo 30 % de AA apresentaram viscosidade significativamente superior às demais. Khalid *et al.* (2014) também relataram que o aumento da concentração de 10 - 30 % (p/v) de AA nas emulsões de A/O de soja proporcionou um aumento da viscosidade do sistema.

3.2 Análises microscópicas

As micrografias das emulsões mostradas na Figura 1 revelaram a presença de gotículas floculadas em todos os tratamentos. A presença de agregação de gotículas indica que em determinado momento, forças atrativas entre gotículas superaram as forças repulsivas, levando à floculação das gotículas (MCCLEMENTS e JAFARI, 2018). Em emulsões A/O é importante esclarecer que a inexistência de altas cargas elétricas na superfície das gotículas de água, devido ao meio apolar circundante, favorece a agregação de gotículas (KOROLEVA *et al.*, 2015).

Ademais, a ocorrência da floculação das gotículas de forma não extensa (Figura 1) e a pequena alteração no tamanho das gotículas das emulsões avaliadas podem ser atribuídas ao surfactante escolhido oferecer impedimento estérico entre as gotículas de água. Ushikubo e

Cunha (2014) reportaram que as emulsões A/O produzidas com PGPR e óleo de soja foram as mais estáveis, resultando em baixos índices de separação ao longo do tempo de observação. Provavelmente, as espessas camadas interfaciais promovidas pelo surfactante em torno das gotículas de água, criaram uma barreira física que parece ter sido suficiente para evitar a floculação e coalescência extensa das gotículas dispersas, evitando assim a separação de fases no período de armazenamento avaliado (DRIDI *et al.*, 2016). Em emulsões do tipo A/O, fenômenos de floculação e coalescência que levam ao aumento do tamanho das gotículas são comuns de ocorrer durante o período de armazenamento, e foram relatados a partir do sétimo dia de armazenamento, por Darjani *et al.* (2020) nas emulsões de A/O contendo óleo de soja.

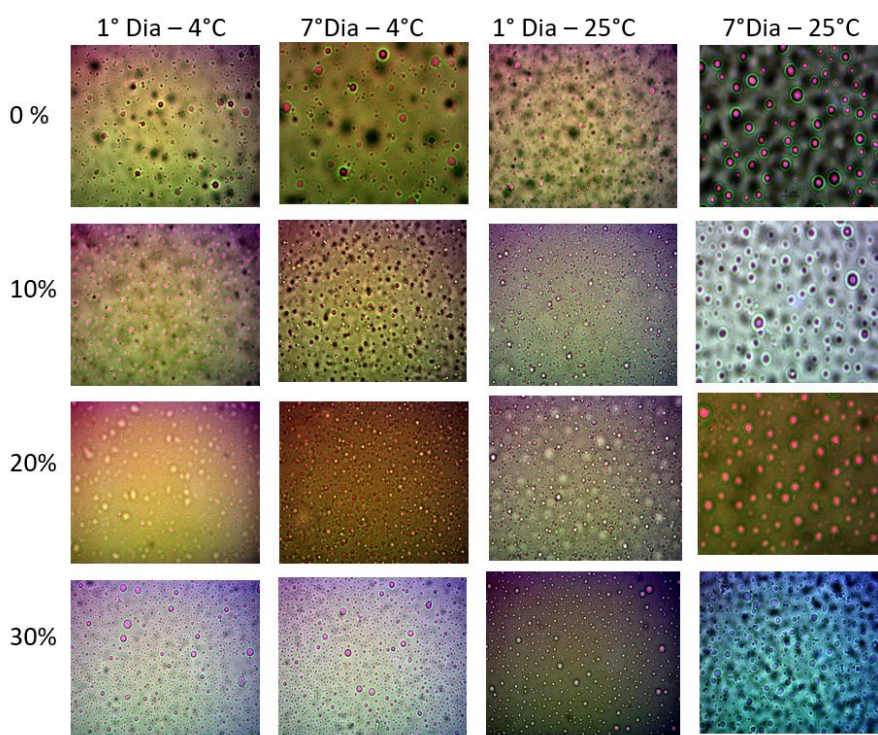


Figura 1. Micrografias das emulsões, preparadas com óleo de baru, carreadoras de ácido ascórbico em diferentes concentrações em relação à fase aquosa (0 – 30% m/m), nos tempos 1 e 7 dias, durante armazenamento a 4 °C e 25 °C.

3.3 Análise do tamanho médio das gotículas

O tamanho médio das gotículas das emulsões água em óleo de baru e incorporadas com diferentes concentrações de AA estão apresentadas na Tabela 2. O tamanho médio de gotículas variou entre 3,0 a 3,4 μm após a formação das emulsões e, entre 3,2 a 4,3 μm após 7 dias de

armazenamento. A concentração de AA na fase aquosa (0 - 30 % m/m) não alterou significativamente ($p > 0,05$) o tamanho médio das gotículas de água.

Para as amostras armazenadas à 25 °C, o período de armazenamento afetou significativamente o tamanho médio das gotículas ($p < 0,05$). O tamanho médio das gotículas aumentou após 7 dias de armazenamento à 25 °C. Efeito não observado para as amostras armazenadas à 4°C. É provável que a maior viscosidade observada nas emulsões mantidas à 4 °C tenha contribuído para a redução da agregação das gotículas. De acordo com Ji *et al.* (2021), a maior viscosidade das emulsões oferece menor mobilidade das gotículas de solução aquosa e reduz o número de colisões entre as gotículas. De modo contrário, a menor viscosidade em razão do aumento da temperatura, favorece o movimento browniano das gotículas. A alta mobilidade das gotículas de água tende a favorecer a desestabilização de emulsões A/O por sedimentação, floculação e coalescência (USHIKUBO, 2014; MCCLEMENTS, 2015).

De modo geral, as emulsões apresentaram pouca alteração de tamanho das gotículas, provavelmente devido à adição de emulsificante PGPR e a gelatina. O PGPR é conhecido por excelentes propriedades na estabilização de sistemas do tipo A/O devido a capacidade de sua longa cadeia hidrofílica se ligar à água (MARQUEZ *et al.*, 2010). Além disso, o PGPR proporciona a formação de espessas camadas interfaciais em torno das gotículas de água, criando uma barreira física contra a floculação e não coalescência das gotículas (DRIDI *et al.*, 2016). Ademais, a rede de gel formada na emulsão devido a presença da gelatina, pode ter restringido a fase aquosa interna em um espaço confinado por gelificação, evitando dessa forma as colisões e coalescência de gotículas, obtendo assim um menor tamanho (JI *et al.*, 2021).

Além disso, pequenas gotículas tornam o sistema cineticamente mais estável, devido ao menor número de colisões entre gotícula-gotícula que conseqüentemente, reduz o processo de coalescência entre gotas, responsável pela alteração do tamanho das gotículas (MCCLEMENTS, 2016).

Tabela 2. Diâmetro médio (d_{av} , nm) das gotículas da solução aquosa das emulsões contendo óleo de baru com diferentes concentrações de ácido ascórbico (AA), nos tempos 0 e 7 dias após o armazenamento a 4 °C e 25 °C.

Concentração (%)	Temperatura (°C)	Tempo (Dias)	Tamanho médio (μm)
0	4	0	$3,0 \pm 0,00^b$

0	4	7	3,5 ± 0,00 ^b
0	25	0	3,1 ± 0,00 ^b
0	25	7	4,0 ± 0,00 ^a
10	4	0	3,1 ± 0,00 ^b
10	4	7	3,2 ± 0,00 ^b
10	25	0	3,4 ± 0,01 ^b
10	25	7	4,3 ± 0,00 ^a
20	4	0	3,1 ± 0,00 ^b
20	4	7	3,2 ± 0,00 ^b
20	25	0	3,0 ± 0,00 ^b
20	25	7	4,2 ± 0,00 ^a
30	4	0	3,2 ± 0,01 ^b
30	4	7	3,3 ± 0,00 ^b
30	25	0	3,1 ± 0,00 ^b
30	25	7	4,0 ± 0,00 ^a

Médias de tratamentos seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5 % de probabilidade.

3.4 Análise de cremeação

Existem alguns fatores de desestabilização coloidal, podendo ser classificados em instabilidades químicas e físicas. Dentre os mecanismos físicos mais recorrentes em emulsões do tipo água em óleo, pode-se citar a separação gravitacional por sedimentação, devido a maior densidade das gotículas de água em relação a fase oleosa (contínua) (HONG *et al.*, 2021). No entanto, a partir da análise visual das emulsões com diferentes concentrações de AA e armazenadas à 4 °C e 25 °C (Figura 2), pode-se constatar estabilidade cinética ao longo de 7 dias, com um índice de separação de fases tendendo a 0 %. Este resultado indica que o sistema permaneceu homogêneo no período avaliado. Apesar do aumento do tamanho das gotículas mensurados a partir das micrografias das emulsões (A/O) e da presença de agregação de gotículas observadas por microscopia óptica, visualmente não foi notado nenhuma separação de fases durante o período de armazenamento avaliado.

Estudos preliminares sem a adição do emulsificante PGPR e de gelatina, resultaram em nas emulsões A/O desestabilizadas pelo mecanismo de sedimentação, com separação de fases num período de aproximadamente 24 horas (dados não mostrados). Portanto, o PGPR e a gelatina proporcionam maior estabilidade cinética ao sistema, reduzindo as taxas de colisão entre as gotículas de água, coalescência das gotas e, conseqüente separação de fases das emulsões no período de 7 dias de armazenamento.

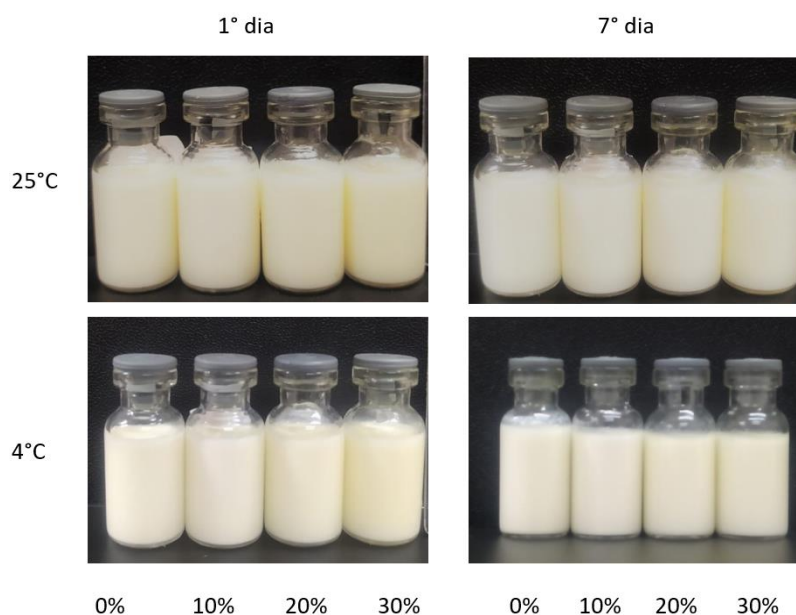


Figura 2. Fotografias das emulsões com óleo de baru carreadoras de ácido ascórbico (AA) em diferentes concentrações, nos tempos 0 e 7 dias após o armazenamento a 4 °C e 25 °C.

3.5 Atividade antioxidante pelo método do sequestro de radicais livres (DPPH)

A capacidade antioxidante das emulsões contendo AA avaliada pelo método DPPH está apresentada na Tabela 3. O AA é uma vitamina hidrossolúvel, a qual consegue atuar como um antioxidante natural, eliminando radicais livres e conseqüentemente auxiliando na inibição da oxidação lipídica (NIJUS *et al.*, 2020). No entanto, o mesmo é muito sensível a inúmeros fatores físico-químicos, os quais tendem a impactar negativamente a estabilidade química das emulsões, podendo reduzir a atividade antioxidante do sistema. Esses fatores incluem luz, pH elevado, altas temperaturas e oxigênio dissolvido (KHEYNOOR, 2018; ZHANG *et al.*, 2020).

Independente da temperatura estudada, emulsões analisadas no mesmo tempo (0 ou 7 dias) contendo até 20 % de AA não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si em relação a atividade antioxidante. No entanto, as amostras contendo 30 % de AA apresentaram significativamente maior atividade antioxidante ($p < 0,05$), com valores médios variando entre 216,32 e 221,45 $\mu\text{mol Trolox/g}$ amostra no tempo 0, e entre 138,84 e 184,57 $\mu\text{mol Trolox/g}$ amostra após 7 dias, a 25 °C e 4 °C respectivamente. Tendo em vista que a reação de oxidação ocorre na região interfacial, uma maior concentração de AA no interior da gota deve resultar na presença de mais moléculas de AA na interface, favorecendo a reação

antioxidante. Provavelmente 30 % de AA na fase aquosa foi a concentração necessária para que as moléculas atingissem a interface e reduzissem significativamente os radicais livres, favorecendo a atividade antioxidante do sistema. Segundo Mosta *et al.* (2008), a concentração de 900 ppm de AA na emulsão de água em azeite, foi a concentração mínima necessária para reduzir significativamente (aproximadamente 20 %) os valores de peróxidos formados pela oxidação em comparação com a amostra controle (sem a adição de AA).

Além disso, para todas as emulsões, após 7 dias de armazenamento, houve uma redução significativa ($p < 0,05$) da capacidade antioxidante, sendo essa diminuição mais acentuada na temperatura de 25 °C. O armazenamento em temperaturas mais baixas tende a diminuir a taxa de degradação do ácido ascórbico (KHEYNOOR, 2018; SAPEI, 2014; ZHANG, 2020), portanto, as emulsões armazenadas a 4 °C apresentaram maior capacidade antioxidante. Além do efeito da temperatura, a maior viscosidade das emulsões A/O à 4 °C (ver seção 3.1) pode favorecer a estabilidade desse composto químico, uma vez que reduz a absorção do oxigênio no sistema, o que torna o processo de degradação do AA mais lento ao longo do tempo (SHERAZ *et al.*, 2014). Assim, quanto menor a taxa de degradação do AA, maior a atividade antioxidante das emulsões.

Tabela 3. Análise da capacidade antioxidante pelo método de DPPH das emulsões contendo óleo de baru carreadoras de ácido ascórbico (AA) em diferentes concentrações, nos tempos 0 e 7 dias após o armazenamento a 4 °C e 25 °C.

Concentração (%)	Temperatura (°C)	Tempo (Dias)	DPPH*
0	4	0	124,60 ± 9,37 ^c
0	4	7	111,27 ± 11,28 ^d
0	25	0	121,65 ± 10,02 ^c
0	25	7	65,78 ± 9,82 ^e
10	4	0	125,13 ± 8,70 ^c
10	4	7	110,46 ± 8,02 ^d
10	25	0	125,36 ± 7,06 ^c
10	25	7	70,39 ± 7,93 ^e
20	4	0	127,13 ± 12,80 ^c
20	4	7	115,71 ± 11,15 ^d
20	25	0	120,49 ± 12,01 ^c
20	25	7	75,43 ± 8,11 ^e
30	4	0	221,45 ± 13,14 ^a
30	4	7	184,57 ± 13,11 ^b
30	25	0	216,32 ± 14,33 ^a

30	25	7	188,84 ± 14,01 ^b
Medias de tratamentos seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.			

*Atividade antioxidante equivalente a μMOL Trolox/g amostra.

As emulsões sem adição de AA também apresentaram atividade antioxidante não diferindo daquelas com até 20 % de AA ($p < 0,05$). Provavelmente, essa atividade antioxidante se refere à composição do óleo de baru. Esse óleo possui elevado teor de compostos bioativos com potencial antioxidante, entre mono e sesquiterpenos, fitoesteróis (limoneno, β -elemeno, γ -elemeno, α -cariofileno, β -cariofileno, campesterol, estigmasterol, β -sitosterol e cicloartenol) e tocoferóis (MARQUES *et al.*, 2015). Entretanto, assim como o AA, os polifenóis são compostos muito sensíveis e podem ser rapidamente degradados em função do tempo (RABELO *et al.*, 2018). Essa degradação também pode contribuir na redução da capacidade antioxidante do sistema.

3.6 Cinética de retenção do ácido ascórbico (AA)

A análise de retenção do AA foi utilizada para avaliar a estabilidade química e a eficiência do encapsulamento desse composto no sistema coloidal. Os resultados da retenção de AA nas emulsões armazenadas a 4 e 25 °C ao final do sétimo dia estão apresentados na Tabela 4. As emulsões apresentaram elevadas taxas de retenção, as quais variaram de 88,05 % a 99,36 %, demonstrando que o processo de emulsificação foi eficiente na proteção de AA.

A temperatura de armazenamento das emulsões exerceu influência positiva significativa ($p < 0,05$) sobre a retenção do AA. As emulsões armazenadas a 4 °C foram mais eficientes em reter o AA, independente da concentração, ou seja, a baixa temperatura favorece a menor taxa de degradação de AA. Esse resultado corrobora com estudo de Zhang *et al.* (2020) que desenvolveram emulsões duplas do tipo A/O/A carreadores de AA encapsuladas em esferas de hidrogel de alginato de cálcio, e obtiveram maiores taxas de retenção nas amostras armazenadas à 4 °C. Além disso, segundo Ji *et al.* (2021), a rede de gel desencadeada pela adição da gelatina nas emulsões A/O armazenadas em baixas temperaturas, contribui para uma maior retenção de compostos encapsulados.

Tabela 4. Retenção do ácido ascórbico (AA) das emulsões contendo óleo de baru carreadoras de ácido ascórbico (AA) em diferentes concentrações, nos tempos 0 e 7 dias após o

armazenamento a 4 °C e 25 °C.

Concentração (%)	Temperatura (°C)	Retenção AA (%)
10	4	98,97± 0,20 ^a
10	25	88,97± 0,33 ^b
20	4	98,05 ± 0,15 ^a
20	25	88,05 ± 0,12 ^b
30	4	99,36 ± 0,22 ^a
30	25	89,36 ± 0,07 ^b

Médias de tratamentos seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

3.7 Análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise de espectroscopia foi realizada para detectar mudanças químicas dos constituintes da emulsão após o processo de emulsificação. Os espectros de FTIR das emulsões e seus principais constituintes como o AA, óleo de baru e gelatina estão apresentados na Figura 3 (A e B). O óleo de baru e as emulsões A/O mostraram espectros bastante semelhantes (Figura 3A), associado à alta concentração do óleo (65%) nas emulsões, exibindo picos característicos em aproximadamente 3006, 2853, 2922 cm^{-1} (C-H), 1744 cm^{-1} (C=O), 1462 cm^{-1} (CH_2), 1160 (C-O) e 721 (C-H). Esses resultados são similares aos encontrados para o óleo de baru puro, nas pesquisas realizadas por Almeida *et al.* (2016) e Nascimento *et al.* (2021).

Componentes químicos presentes na estrutura do AA são semelhantes aos da gelatina (Figura 3B), devido aos grupamentos amino presentes em ambos os componentes. A existência de uma banda larga em 3100-3400 cm^{-1} devido às vibrações de estiramento dos grupos OH da composição da gelatina (PIELESZ *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2013), e em 3411 e 3525 cm^{-1} referente ao AA, indicam a presença dos dois constituintes nas emulsões (DESAI & PARK, 2005; CRUZ, 2019). Espectros comuns do AA mostram ainda a presença de picos entre 1021-1321, 1673 e 1750 cm^{-1} que podem ser atribuídos às vibrações de alongamento e flexão dos grupos C=O e OH (MATOS JR. 2017; CRUZ, 2019).

As principais bandas amidas da gelatina foram observadas em todos os espectros das emulsões, porém com algumas alterações no número de ondas e altura de picos, devido provavelmente a interação com as moléculas de hidrogênio presentes na água. Os picos que aparecem entre 1650-1335 cm^{-1} são característicos de grupos Amida I e Amida II os quais refletem as vibrações C=O e C-N, respectivamente (ZHANG *et al.*, 2013; HASHIM *et al.*,

2010), e as vibrações na região de 1240 cm^{-1} correspondente ao grupo Amida III. Todas essas características sugerem que a gelatina, AA e óleo de baru não foram degradados durante o processo de emulsificação.

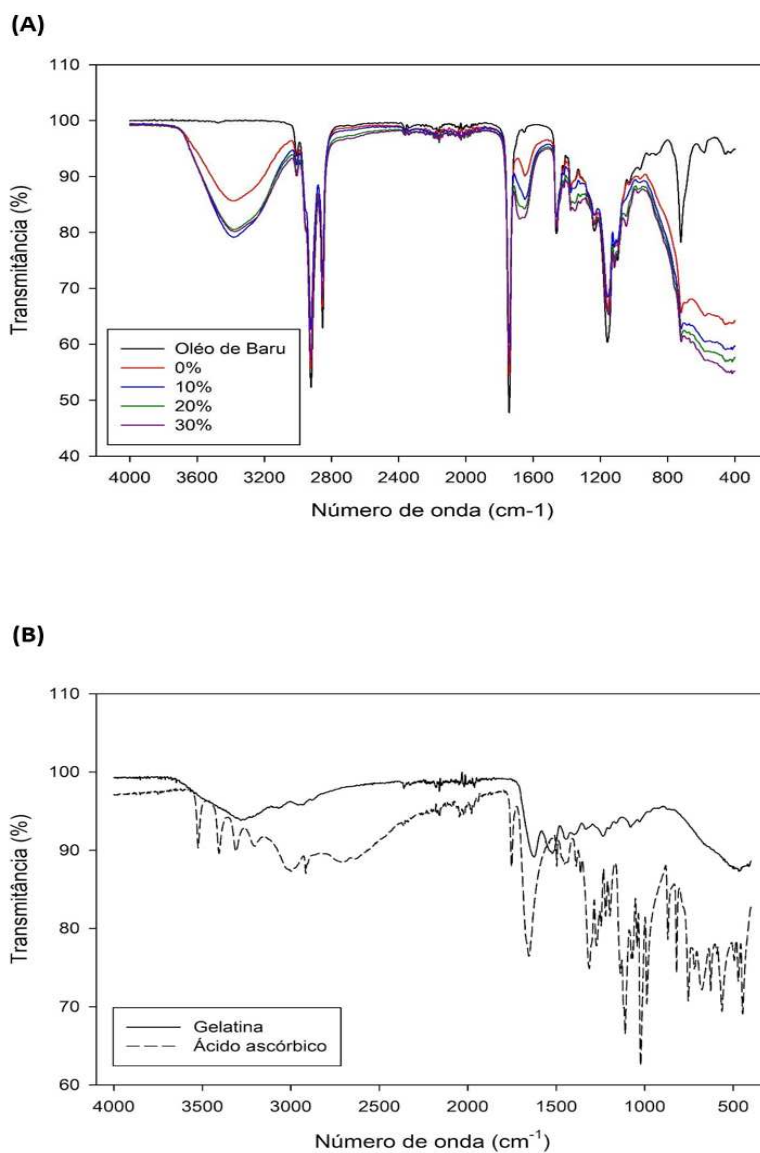


Figura 3. Espectros FTIR do óleo de baru e das diferentes formulações de emulsões contendo de 0-30 % de ácido ascórbico (A) e dos constituintes principais gelatina e ácido ascórbico (B).

4. CONCLUSÃO

Emulsões A/O de baru contendo diferentes concentrações de ácido ascórbico foram cineticamente estáveis à 4 e 25 °C, durante 7 dias de armazenamento. A adição de 30% de AA na fase aquosa das emulsões proporcionou maior viscosidade e capacidade antioxidante ao sistema emulsionado. Ademais, as emulsões sem adição de AA apresentaram atividade antioxidante semelhante a aquelas com até 20% de AA, que pode ser atribuída a composição do óleo de baru. Os resultados desta pesquisa sugerem que o sistema desenvolvido pode ser uma boa alternativa para a indústria, principalmente devido ao apelo saudável e à tendência mundial de utilização de fontes alternativas de óleo vegetal para o desenvolvimento sustentável.

As emulsões armazenadas sob refrigeração (4 °C) obtiveram melhores resultados quanto à estabilidade física e química do sistema em comparação àquelas a temperatura ambiente (25 °C). Maior estabilidade cinética, menor tamanho médio das gotículas, elevada viscosidade, maior CA e retenção do AA foram obtidas para as emulsões armazenadas à 4 °C.

Apesar do aumento microscópico do tamanho das gotícula após 7 dias de armazenamento à 25 °C, macroscopicamente as emulsões contendo óleo de baru e AA se mantiveram cineticamente estáveis, o que é desejável para suas aplicações na indústria de alimentos, cosméticos e farmacêutica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. L.; GOULART, G. A. S.; NETO, S. C.; CHIERICE, G. O.; SIQUEIRA, A. B. Preparação e caracterização de poliuretanos contendo diferentes quantidades de óleo de baru. **Polímeros (online)**, 2016. v.26, n.2, p.176-184. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0104-1428.2151>>

BENLLOCH, R., FARRÉ, R.; FRIGOLA, A. A quantitative estimation of ascorbic and isoascorbic acid by high performance liquid chromatography application to citric juices. **Journal of Liquid Chromatography**, 1993. v. 16, n. 4, p. 3113-3122. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10826079308019637>>

BRAND-WILLIAMS M, CUVELIER M. E, BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Brand-Williams, W., Cuvelier, ME, & Berset, C. (1995). Uso de um método de radicais livres para avaliar a atividade antioxidante. **LWT - Food Science and**

Technology, 1995. v. 28, p. 25-30. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)>

CRUZ, M. C. R. Assessment of physicochemical characteristics, thermal stability and release profile of ascorbic acid microcapsules obtained by complex coacervation. **Food Hydrocolloids**, 2019. v. 87, p. 71-82. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.043>>

DE MATOS-JR, F. E., COMUNIAN, T. A., THOMAZINI, M., & FAVARO-TRINDADE, C. S. Effect of feed preparation on the properties and stability of ascorbic acid microparticles produced by spray chilling. **LWT - Food Science and Technology**, 2017. v. 75, p. 251–260. Disponível em: <[doi:10.1016/j.lwt.2016.09.006](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.006)>

DESAI, K. H.G.; PARK, H. J. Encapsulação de vitamina C em microesferas de quitosana reticuladas com tripolifosfato por spray dryer. **Journal of Microencapsulation**, 2005. v. 22, p. 179–192,. Disponível em: <[doi:10.1080/02652040400026533](https://doi.org/10.1080/02652040400026533)>

DRIDI, W. *et al.* Influence of formulation on the oxidative stability of water-in-oil emulsions. **Food Chemistry**, 2016. v. 202, p. 205–211. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.01.145>>.

FARAHMAND, S.; TAJERZADEH, H.; FARBOUD, ES. Formulação e Avaliação de uma Emulsão Múltipla de Vitamina C. **Desenvolvimento Farmacêutico e Tecnologia**, 2006. V.11, n.2, p. 255-261. Disponível em: <[doi:10.1080/10837450500464172](https://doi.org/10.1080/10837450500464172)>

GHASEMI, H.; DARJANI, S.; MAZLOOMI, H. *et al.* Preparation of stable multiple emulsions using food-grade emulsifiers: evaluating the effects of emulsifier concentration, W/O phase ratio, and emulsification process. **SN Appl. Sci**, 2020. v.2, n.12, p. 1-9. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s42452-020-03879-5>>

HASHIM, D. M., MAN, Y. B. C., NORAKASHA, R., SHUHAIMI, M., SALMAH, Y., & SYAHARIZA, Z. A.. Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. **Food Chemistry**, 2010. v. 118. n. 3, p. 856–860. Disponível em: <[doi:10.1016/j.foodchem.2009.05.049](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.049)>

HONG X, ZHAO Q, LIU Y, LI J. Recent advances on food-grade water-in-oil emulsions: Instability mechanism, fabrication, characterization, application, and research trends. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1964063>>

JIR, A , CUI H, DUHORANIMANA E, HAYAT K, YU J, HUSSAIN S,TAHIR M. U, AIN C , ZHANG X , HO C. Co-encapsulation of L-ascorbic acid and quercetin by gelatin/sodium carboxymethyl cellulose coacervates using different interlayer oils. **Food Research International**. 2021. v. 1, n.11. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110411>>.

KHALID N, KOBAYASHI I, NEVES M. A, UEMURA K. NAKAJIMA M, NABETANI H. Monodisperse W/O/W emulsions encapsulating l-ascorbic acid: Insights on their formulation using microchannel emulsification and stability studies, **Colloids Surf. A: Physicochem. Eng.**

Aspects,2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.04.019>>

KHALID, N., KOBAYASHI, I., NEVES, M. A., UEMURA, K., & NAKAJIMA, M. Preparation and characterization of water-in-oil emulsions loaded with high concentration of l-ascorbic acid. **LWT - Food Science and Technology**, 2013. v. 51. N. 2, p. 448–454. Disponível em: <doi:10.1016/j.lwt.2012.11.020>

KHEYNOOR, N. *et al.* Encapsulation of vitamin C in a rebaudioside-sweetened model beverage using water in oil in water double emulsions. **LWT - Food Science and Technology**, 2018. v. 96, p. 419-425. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.066>>

KILPATRICK, P.K.; SPIECKER, P.M. Asphaltene emulsions. In: SJÖBLOM, J. (ed) **Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology**, chapter 30, New York, Marcel Dekker, Inc., 2001

KOROLEVA M, TOKAREV A, YURTOV E. Simulation of flocculation in W/O emulsions and experimental study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**,2015. P. 237- 243. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.05.005>>

MARQUES, F. G. *et al.* Identification of terpenes and phytosterols in *Dipteryx alata* (baru) oil seeds obtained through pressing. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 2015. v. 25, n. 5, p. 522– 525. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.019>>

MÁRQUEZ, A. L. *et al.* Effect of calcium salts and surfactant concentration on the stability of water-in-oil (w/o) emulsions prepared with polyglycerol polyricinoleate. **Journal of Colloid and Interface Science**, 2010. v. 341, n. 1, p. 101–108. Disponível em : <<https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2009.09.020>>.

MATOS-JÚNIOR, F. E. *et al.* Effect of feed preparation on the properties and stability of ascorbic acid microparticles produced by spray chilling. **LWT – Food Science and Technology**, 2017. v. 75, p. 251-260. Disponível em: <10.1016/j.lwt.2016.09.006>

MCCLEMENTS, D. J. **Food emulsions: Principles, practices and techniques**. 3 rded. [S. l.: s. n.], 2016. *E-book*.

MOSCA, M., CEGLIE, A., & AMBROSONE, L. Biocompatible Water-in-Oil Emulsion as a Model to Study Ascorbic Acid Effect on Lipid Oxidation. **The Journal of Physical Chemistry B**, 2008. v. 112, n. 15, p. 4635–4641. Disponível em: <doi:10.1021/jp710120z>

MOUSIA, Z., FARHAT, I. A., PEARSON, M., CHESTERS, M. A., & MITCHELL, J. R. (2001). Estudo por microespectroscopia FTIR de flutuações de composição em blendas extrusadas de amilopectina-gelatina. **Biopolímeros**, 62(4), 208-218. doi:10.1002/bip.1015

NASCIMENTO, *et al.* Vegetable oils: Are they true? A point of view from ATR-FTIR, 1H NMR, and regiospecific analysis by ¹³C NMR. **Food Research International**, 2021. v. 144, n. 110362. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110362>>

NJUS, D., KELLEY, P. M., TU, Y.-J., & SCHLEGEL, H. B. Ascorbic Acid: The Chemistry

Underlying Its Antioxidant Properties. **Free Radical Biology and Medicine**, 2020. Disponível em: <doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020>.

PAULO, L. A. O. **Propriedades Técnico-funcionais de óleo de baru (*Dipteryx alata vog.*): um promissor ingrediente para a indústria de alimentos**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2020.

PEREIRA, L. J. B.; GARCIA-ROJAS, E. E. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em micro encapsulamento de componentes bioativos. **Ciência Rural**, 2015. v. 45, n. 1, p. 155-162. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140315>

PIELESZ, A., BINIAŚ, D., BOBIŃSKI, R., SARNA, E., PALUCH, J., & WAKSMAŃSKA, W. The role of topically applied l -ascorbic acid in ex-vivo examination of burn-injured human skin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 2017. v. 185, p. 279–285. Disponível em: <doi:10.1016/j.saa.2017.05.055>

POLITOVA, N. I. *et al.* Coalescence stability of water-in-oil drops: Effects of drop size and surfactant concentration. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 2017. v. 531, p. 32–39. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2017.07.085>.

RABELO, C. A. S., TAARJI, N., KHALID, N., KOBAYASHI, I., NAKAJIMA, M., & NEVES, M. A. Formulation and characterization of water-in-oil nanoemulsions loaded with açai berry anthocyanins: Insights of degradation kinetics and stability evaluation of anthocyanins and nanoemulsions. **Food Research International**, 2018. V. 106, p. 542–548. Disponível em: <doi:10.1016/j.foodres.2018.01.01710.1016/j.foodres.2018.01.017>

ROUSSEAU, D. Fat crystals and emulsion stability - a review. **Food Research International**, 2000. v. 33, n. 1, p. 3-14. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00017-X>

RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ - JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa**. 2007.

SANTOS, J.C.O.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G. Effect of heating and cooling on rheological parameters of edible vegetable oils. **Journal of food engineering**, 2005. v. 67, n. 4, p. 401-405, 2005. Disponível em: <doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.05.007>

SAPEI, L.; HWA, L. Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices. **Procedia Chemistry**, 2014. v. 9, p. 68-68. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.proche.2014.05.008>

SCHUSTER, S. *et al.* Analysis of W1/O/W2 double emulsions with CLSM: Statistical image processing for droplet size distribution. **Chemical Engineering Science**, [s. l.], 2012. v. 81, p. 84–90, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CES.2012.06.059>

SHERAZ, M. A., KHAN, M. F., AHMED, S., KAZI, S. H., KHATTAK, S. R., & AHMAD, I. Factors affecting formulation characteristics and stability of ascorbic acid in water-in-oil

creams. **International Journal of Cosmetic Science**, 2014. V.36, n.5, p. 494–504. Disponível em: < doi:10.1111/ics.12152 >

SOUSA, A. M.; PEREIRA, M. J.; MATOS, H. A. Oil-in-water and water-in-oil emulsions formation and demulsification. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, 2022. v. 210, p. 110041- 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.PETROL.2021.110041>

SU, J. *et al.* Synergistic effects of polyglycerol ester of polyricinoleic acid and sodium caseinate on the stabilisation of water–oil–water emulsions. **Food Hydrocolloids**, 2006. v. 20, n. 2–3, p. 261–268. Disponível em: < https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2004.03.010>.

TAN, C., & MCCLEMENTS, DJ. Aplicação da Tecnologia Avançada de Emulsão na Indústria de Alimentos: **Uma Revisão e Avaliação Crítica**. **Foods**, 2021. V. 10, n. 4, p. 812. Disponível em: < doi:10.3390/foods10040812>

TESSARO, L.; MARTELLI-TOSI, M.; SOBRAL, P. J. do A. Development of W/O emulsion for encapsulation of “Pitanga” (*Eugenia uniflora* L.) leaf hydroethanolic extract: droplet size, physical stability and rheology. **Food Sci. Technol**, 2022. v. 42, e65320. Disponível em: < https://doi.org/10.1590/fst.65320>

USHIKUBO, F. Y., CUNHA, R. L. Stability Mechanisms of Liquid Water-in-oil Emulsions. **Food Hydrocolloids**, 2014. v. 34, p. 145-53. Disponível em: < https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.016>

WANG, P. *et al.* Stable water-in-oil emulsions formulated with polyglycerol polyricinoleate and glucono- δ -lactone-induced casein gels. **Food Hydrocolloids**, 2016. v. 57, p. 217–220, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.01.013>.

WANG, P., ZENG, W., XU, S., DU, G., ZHOU, J., & CHEN, J. Current challenges facing one-step production of l -ascorbic acid. **Biotechnology Advances**. V. 26, n. 21, p.6446. Disponível em: < doi:10.1016/j.biotechadv.2018.07>

ZHANG, M.; SUN, R.; XIA, Q. An ascorbic acid delivery system based on (W1/O/W2) double emulsions encapsulated by Ca-alginate hydrogel beads. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 2020. v. 60, p. 101929. Disponível em: < https://doi.org/10.1016/J.JDDST.2020.101929>

ZHANG, N., LIU, X., YU, L., SHANKS, R., PETINAKS, E., & LIU, H. Phase composition and interface of starch–gelatin blends studied by synchrotron FTIR micro-spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, 2013. V.95, n.2, p. 649–653. Disponível em: < doi:10.1016/j.carbpol.2013.03.045>

ZHU, Y.; GAO, H.; LIU, W.; ZOU, L.; MCCLEMENTS, DJ. A review of the rheological properties of dilute and concentrated food emulsions. **J Texture Stud**. 2019. V. 51, n. Maio de 2019, p. 45-55. Disponível em: < https://doi.org/10.1111/jtxs.12444>.