

DANIELE DE ALMEIDA PAULA

**EMULSÕES A/O/A CONTENDO CLORETO DE SÓDIO: CORRELAÇÕES
ENTRE CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E INTENSIDADE DA PERCEPÇÃO
DO GOSTO SALGADO**

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.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P324e
2015
Paula, Daniele de Almeida, 1989-
Emulsões A/O/A contendo cloreto de sódio : correlações
entre características físicas e intensidade da percepção do gosto
salgado / Daniele de Almeida Paula. – Viçosa, MG, 2015.
xiii, 73f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Afonso Mota Ramos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 60-73.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Emulsões - Análise.
3. Cloreto de sódio. 4. Sal. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de
Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 664.06

DANIELE DE ALMEIDA PAULA

**EMULSÕES A/O/A CONTENDO CLORETO DE SÓDIO: CORRELAÇÕES
ENTRE CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E INTENSIDADE DA PERCEPÇÃO
DO GOSTO SALGADO**

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: 23 de fevereiro de 2015.

Alvaro Vianna N. de Carvalho Teixeira
(Coorientador)

Eduardo Basílio de Oliveira
(Coorientador)

Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal

Afonso Mota Ramos
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à DEUS por ter me dado essa oportunidade de realizar mais um sonho e ter colocado pessoas tão especiais ao meu lado, sem as quais certamente não teria dado conta! E claro, por sempre estar comigo e me mostrar o caminho certo nas horas incertas, sem ELE nada disso teria sentido.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade da realização do Curso de Mestrado.

Ao meu orientador, professor Afonso Mota Ramos, pelo apoio, confiança e ensinamentos ao longo da condução deste trabalho.

Aos meus coorientadores professores Eduardo e Álvaro que acreditaram em meu potencial e estiveram ao meu lado durante todo este período sempre dispostos a ajudar. Obrigada por ouvirem minhas dúvidas e engrandecer ainda mais este trabalho.

À Márcia, por ter aceitado fazer parte da banca e pelas contribuições realizadas a esse trabalho.

Aos meus pais, Ananias e Maria do Carmo, que sempre me incentivaram a alcançar caminhos cada vez mais distantes. A vocês, pais queridos, que, muitas vezes, renunciaram aos seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus, partilho a alegria deste momento. Obrigada pelo carinho e os ensinamentos para continuar seguindo em frente na constante busca pelo conhecimento.

Ao meu namorado, Judylleno, pelo carinho, paciência, compreensão, apoio e por nunca me deixar desanimar mesmo quando os problemas pareciam ser sem solução. Sempre ao meu lado me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Compartilho a concretização deste sonho com você e que este seja o primeiro dentre tantos outros que ainda estão por vir.

Aos meus amigos do laboratório, Marcela, Aline, Marcos, Marcel, Ariana, Mônica, Bianca, Carol, Camila e Érick, pelos momentos juntos e que tornaram mais leve meu trabalho. Obrigada por dividirem comigo as angústias, alegrias e ouvirem minhas bobagens. Foi bom poder contar com vocês! Obrigada por estarem ao meu lado e acreditarem tanto em mim.

Em especial agradeço à “Poia” (Ariana), que desde a graduação está ao meu lado, sempre me ouvindo, apoiando e dando conselhos. Tenho certeza que grande parte dessa conquista eu devo à você !!!!

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise, em especial ao Gilmar e a Karla, por ter me auxiliado nas análises microscópicas.

À todos do laboratório de Associações Micorrízicas e ao Laboratório de Embalagens, por terem gentilmente me ajudado nas análises.

Enfim, a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal. Sem os quais este trabalho dificilmente poderia ter sido realizado. Meu muito obrigada !!!!!!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo Geral	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Sódio em alimentos industrializados: consequências do consumo excessivo	4
3.1.2. Iniciativas para redução do consumo de sódio	5
3.2. Emulsões	7
3.2.1. Mecanismos de desestabilização	7
3.2.2. Estabilidade	9
3.2.3. Emulsões Múltiplas	10
3.2.4. Surfactante: Polirricinoleato de poliglicerol (PGPR)	11
3.2.5. Métodos de preparação	12
3.2.6. Potenciais aplicações das emulsões múltiplas	13
3.3.2. Distribuição do tamanho das gotículas	20
3.3.3. Microscopia	21
3.3.4. Potencial Zeta	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1. Instalações	23
4.2. Materiais	23
4.3. Delineamento Experimental	23
4.3.1 Preparação das emulsões	24
4.3.2 Preparação das soluções	25
4.4. Análises reológicas	26
4.4.1. Caracterização do comportamento reológico	26
4.5. Análise Visual	27
4.5.1. Confirmação da formação das emulsões múltiplas (A ₁ /O/A ₂) e da emulsão controle (O/A ₂)	27

4.5.2. Avaliação da microestrutura das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$), controle (O/A_2) e primárias (A_1/O).....	28
4.6. Caracterização Física	28
4.6.1. Determinação do diâmetro médio e polidispersidade das gotículas de óleo das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e emulsão controle (O/A_2).....	28
4.6.2 Determinação do potencial zeta das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2).....	28
4.6.3. Determinação da transferência de NaCl entre as fases aquosas (interna e externa) das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$)	29
4.7. Avaliação da intensidade do gosto salgado das emulsão múltiplas ($A_1/O/A_2$) em comparação com a emulsão controle (O/A_2)	29
4.8. Análise estatística.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1. Caracterização do comportamento reológico das soluções interna, externa e oleosa.....	31
5.2. Caracterização das emulsões primárias.....	33
5.2.1. Microestrutura das emulsões primarias (A_1/O).....	33
5.2.2. Comportamento reológico das emulsões primárias (A_1/O)	34
5.3. Análise das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_1$) e emulsão controle (A_1/O)	37
5.3.1 Análise Visual	37
5.3.1.1. Imagens de microscopia confocal de varredura a laser das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e emulsão controle (O/A).....	37
5.3.1.2. Imagens de microscopia óptica das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e emulsão controle (O/A).	38
5.3.2. Caracterização Física	43
5.3.2.1. Determinação do diâmetro médio e polidispersidade das gotículas de óleo dispersas nas emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e controle (O/A_2).....	43
5.3.2.2. Comportamento reológico.....	46
5.3.2.3. Determinação do potencial zeta das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2).....	51
5.3.2.4. Determinação da transferência de NaCl entre as fases aquosas (interna e externa) das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$)	53
5.3.3. Avaliação da intensidade do gosto salgado das emulsão múltiplas ($A_1/O/A_2$) em comparação com a emulsão controle (O/A_2)	56

6. CONCLUSÕES	59
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática dos vários mecanismos de desestabilização de uma emulsão. Fonte: CHUNG; McCLEMENTES, 2013.	8
Figura 2. Diagrama esquemático de emulsões simples- (O/A) e (A/O) e emulsões múltiplas (O/A/A); (A/O/A) e (O/A/O). Fonte: CHUNG; McCLEMENTES, 2013.	10
Figura 3. Fórmula estrutural do emulsificante Polirricinoleato de poliglicerol (PGPR)11	
Figura 4. Classificação de fluidos segundo o comportamento do escoamento (Adaptado de RAMOS, 1997).	18
Figura 5. Curvas de escoamento típicas para fluidos independentes do tempo. Fonte: adaptado de Ramos (1997).....	19
Figura 6. Esquema da dupla camada elétrica que envolve a superfície da partícula.	22
Figura 7 . Fluxograma representando o preparo das emulsões múltiplas (A ₁ /O/A ₂).....	26
Figura 8. Ficha utilizada na avaliação sensorial das amostras de emulsões múltiplas (A ₁ /O/A ₂) e controle (O/A ₂).....	30
Figura 9. Reogramas com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s ⁻¹) para a solução aquosa interna (após a quebra da tixotropia) e externa a 25 °C. Rampa ascendente e descendente. Linhas: Modelo de Ostwald de Waele	31
Figura 10. Reograma com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s ⁻¹) para a solução oleosa com diferentes concentrações do emulsificante PGPR (3, 4 ou 5%, m/m) a 25 °C. Rampa ascendente e descendente. Linhas: Modelo de Newton.....	33
Figura 11. Fotomicrografias obtidas por microscopia de luz das emulsões primárias (A ₁ /O), preparadas utilizando 25% (A) e 40 % (B) de fase dispersa e concentração de 5% de PGPR no tempo de armazenamento 1 d a 25 °C. Barras de escala representam 10 μ m em 100 \times ampliações.....	33
Figura 12. Reogramas com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s ⁻¹). Emulsões água-em-óleo preparadas utilizando diferentes volumes e fase dispersa (20, 33 e 40 %, m/m) e concentrações de PGPR (3, 4 e 5%, m/m) a 25 °C. Linhas: modelo de Newton.	35
Figura 13. Correlação entre a viscosidade e a concentração de fase dispersa das emulsões primárias (A ₁ /O).....	36
Figura 14. Fotomicrografias obtidas por microscopia confocal de varredura a laser (MCVL) da emulsão múltipla (A) e emulsão controle (B), no tempo de armazenamento	

1d. Corante vermelho do Nilo foi utilizado para tingir a fase oleosa. Barras de escala representam 10 μm em 40 \times ampliações.....	38
Figura 15. Imagens de microscopia de luz das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2) no tempo 1 d e 4 d de armazenamento. Barras de escala representam 20 μm em 40 \times ampliações.....	40
Figura 16. Imagens de microscopia de luz das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2) no tempo 1 d e 4 d de armazenamento. Barras de escala representam 20 μm em 40 \times ampliações.....	41
Figura 17. Imagens de microscopia de luz das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2) no tempo 1 d e 4 d de armazenamento. Barras de escala representam 20 μm em 40 \times ampliações.....	42
Figura 18. Distribuição do tamanho das gotículas de óleo das formulações de emulsão múltipla ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2) no tempo de armazenamento 1d e 4d a 25 $^{\circ}\text{C}$	44
Figura 19. Reogramas com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s^{-1}). Para as emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e emulsão controle (A_1/O), no quarto dia de armazenamento a 25 $^{\circ}\text{C}$. Linhas: modelo de Ostwald-de-Waele.	46
Figura 20. Reogramas com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s^{-1}). Para as emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e emulsão controle (A_1/O), no quarto dia de armazenamento. Linhas: modelo de Ostwald-de-Waele.....	49
Figura 21. Potencial zeta das gotículas de óleo das formulações de emulsão múltipla ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2) ao longo do tempo de armazenamento.....	51
Figura 22. Estrutura molecular do emulsificante Tween.	51
Figura 23. Condutividade elétrica das formulações de emulsão múltipla ($A_1/O/A_2$) e da emulsão (O/A_2) controle ao longo do tempo de armazenamento a 25 $^{\circ}\text{C}$	53
Figura 24. Correlação de Pearson entre o valor de condutividade e concentração de fase interna (%), das emulsões avaliadas.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de utilização de $A_1/O/A_2$ emulsões múltiplas para aplicações alimentares.	15
Tabela 2. Equações de modelos matemáticos que auxiliam na caracterização reológica	20
Tabela 3. Níveis codificados e valores reais para as variáveis empregadas do delineamento do experimento.	24
Tabela 4. Representação dos 10 tratamentos realizados.	24
Tabela 5. Classificação das diferentes formulações de emulsões primárias (A_1/O), utilizadas para a elaboração das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$).	34
Tabela 6. Valores médios e desvios-padrão das estimativas dos parâmetros do modelo de Newton utilizados para a caracterização reológica das emulsões primárias (A_1/O) a 25 °C.	36
Tabela 7. Classificação das diferentes formulações de emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$).	38
Tabela 8. Tamanho médio do diâmetro das gotículas de óleo das formulações de emulsão múltipla ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2).	43
Tabela 9. Valores médios e desvios-padrão das estimativas dos parâmetros do modelo de regressão de Newton e Ostwald-de-Waele, utilizados para a caracterização reológica das formulações de emulsões primárias (A_1/O) a 25 °C.	47
Tabela 10. Valores médios e desvios-padrão das estimativas dos parâmetros do modelo de regressão de Newton e Ostwald-de-Waele, utilizados para a caracterização reológica das formulações de emulsões primárias (A_1/O).	49
Tabela 11. Valores médios e desvios-padrão das estimativas dos parâmetros do índice de escoamento (n) e viscosidade aparente (μ_a), nos dias 1 e 4 após o processamento.	50
Tabela 12. Potencial zeta das gotículas de óleo das formulações de emulsão múltipla ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2).	52
Tabela 13. Valores médios da condutividade elétrica das formulações de emulsão múltipla ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2) ao longo do tempo de armazenamento a 25 °C.	54
Tabela 14. Escores sensoriais para a consistência e sabor salgados das emulsões múltiplas quando comparadas com o controle.	56

RESUMO

PAULA, Daniele de Almeida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2015. **Emulsões A/O/A contendo cloreto de sódio: correlações entre características físicas e intensidade da percepção do gosto salgado.** Orientador: Afonso Mota Ramos. Coorientadores: Eduardo Basílio de Oliveira e Alvaro Vianna Novaes de Carvalho Teixeira.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda uma ingestão diária de no máximo 2 g de sódio por pessoa, porém na maioria dos países o consumo é de 4,8 g. Estudos relacionam o consumo excessivo de sódio ao desenvolvimento de doenças crônicas. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi compreender como a formulação das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) afeta sua estabilidade e como influência a percepção do gosto salgado. Foram utilizadas diferentes concentrações de fase interna (10, 15 e 20 % m/m) para a formulação das emulsões múltiplas que também possuíam concentrações distintas de emulsificante polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) (3, 4 e 5 % m/m). Para a emulsão controle não ocorreu a adição de fase interna. Após o preparo as amostras foram armazenadas a 25 °C por 4 dias e submetidas as análises de microscopia confocal (MCVL), microscopia óptica, distribuição e polidispersidade do tamanho das gotículas de óleo, potencial zeta, condutividade elétrica, comportamento reológico e análise sensorial. Verificou-se que as diferentes concentrações de emulsificante PGPR não afetaram os resultados obtidos. Observou-se uma diminuição do diâmetro médio das gotículas (4,5; 3,9 e 3,5 μm) com o aumento da fase interna (10, 15 e 20 % m/m), respectivamente. As curvas de distribuição de tamanho também apresentaram diferenças com bases mais largas para as emulsões múltiplas constituídas com concentrações superiores de fase interna e após 4 dias de estocagem verificou-se um aumento do diâmetro médio das gotículas e conseqüentemente as curvas ficaram com bases mais estreitas. As gotículas de óleo das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e controle (O/A_2) apresentaram carga negativa acima de -48 mV. A emulsão controle, por possuir maior conteúdo de fase contínua (30 % de fase dispersa e 70 % de fase contínua), apresentou valores mais elevados para a condutividade elétrica (13,16 mS/cm), já as emulsões múltiplas devido a presença de volumes crescentes de fase interna aquosa, possuíam volumes inferiores de fase contínua (60, 55 e 50 %), desta maneira os resultados para a condutividade elétrica foram proporcionais à concentração desta fase (10,97; 9,85 e 9,13 mS/cm). Ao longo do período de armazenamento não ocorreram diferenças significativas. Verificou-se um comportamento não-newtoniano e pseudoplástico para as emulsões

analisadas, a formulação controle (C) diferiu dos demais tratamentos e apresentou um menor valor para a viscosidade aparente (0,31 Pa.s). As emulsões com 20 % de fase interna apresentaram um aumento significativo da viscosidade aparente quando comparadas com as formulações controle (C) e compostas por 10 e 15 % de fase interna. Após 4 dias armazenamento, observou-se um aumento significativo da viscosidade para os tratamentos (20 % de fase interna) e a emulsão controle (C). Na análise sensorial, as emulsões múltiplas foram consideradas ligeiramente mais salgadas que o controle existindo uma diferença perceptível no gosto salgado dessas emulsões. Portanto, a presença de diferentes concentrações de fase interna promoveram alterações nas características físicas das emulsões influenciando os resultados da avaliação de percepção do gosto salgado. Logo, diferenças na estrutura das emulsões múltiplas podem ser utilizadas com objetivo de diminuir os teores de sódio sem alterações perceptíveis do gosto salgado.

ABSTRACT

PAULA, Daniele de Almeida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2015. **W/O/W Emulsions containing sodium chloride: correlations in physical characteristics and intensity of the perception of salty taste.** Adviser: Afonso Mota Ramos. Co-advisers: Eduardo Basílio de Oliveira and Alvaro Vianna Novaes de Carvalho Teixeira.

The World Health Organization (WHO) recommends a maximum daily intake of 2g of sodium per person, but in most countries consumption is 4.8g. Studies relate excess sodium intake to the development of chronic diseases. Thus, the aim of this research was to understand how the formulation of the multiple emulsions ($W_1/O/W_2$) affects its stability and how it influences the perception of salty taste. Different concentrations of internal phase were used (10, 15 and 20% w/w) in the formulation of multiple emulsions that also had different concentrations of emulsifier polyglycerol polyricinoleate (PGPR) (3, 4 and 5% w/w). For the control emulsion it was not added the internal phase. After preparation, the samples were stored at 25 °C for 4 days and subjected to confocal microscopy analysis (CLSM), optical microscopy, distribution and polydispersity of the size of oil droplets, zeta potential, electrical conductivity, rheological behavior and sensorial analysis. It was found that different concentrations of PGPR emulsifier did not affect the results obtained. There was a decrease in the average droplet diameter (4.5, 3.9 and 3.5 μm) with the increase of the internal phase (10, 15 and 20% w/w), respectively. The size distribution curves have also shown differences with wider bases for multiple emulsions formed with higher concentrations of internal phase and after 4 days of storage, there was an increase in the average diameter of the droplets and therefore the curves presented narrower bases. Oil droplets of the multiple ($W_1/O/W_2$) and control (O/W_2) emulsions had negative charge above -48 mV. The control emulsion, by having higher content of continuous phase (30% dispersed phase and 70% continuous phase), showed higher values for electrical conductivity (13.16 mS/cm), and the multiple emulsions due to the presence of increasing volumes of aqueous internal phase, had smaller volumes of the continuous phase (60, 55 and 50%). Thus, the results for the electrical conductivity were proportional to the concentration of this phase (10.97; 9.85 and 9.13 mS/cm). During the storage period there were no significant differences. There was a non-Newtonian and pseudoplastic behavior for the analyzed emulsions, the control formulation (C) differed from the other treatments with a lower value for the apparent viscosity (0.31 Pa.s). Emulsions with 20% internal phase presented a significant increase in the apparent

viscosity as compared to the control (C) formulation and the ones composed of 10 to 15% internal phase. After 4 days of storage, there was a significant increase in viscosity for the treatments (20% internal phase) and control emulsion (C). In the sensorial analysis, the multiple emulsions were considered slightly saltier than the control and there was a noticeable difference in the salty taste of these emulsions. Therefore, the presence of different concentrations of internal phase induced variations in the physical characteristics of the emulsions influencing the results of the evaluation of the perception of salty taste. Consequently, changes in its structure can be used in order to reduce the sodium levels without perceptible salty taste modifications.

1. INTRODUÇÃO

O sódio é um elemento químico encontrado no sal de cozinha (cloreto de sódio) e em grande parte dos alimentos. Na maioria dos países ocorre a ingestão média de 4,8 g por pessoa diariamente, em contraste, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda uma ingestão de no máximo 2 g (NILSON; JAIME; RESENDE, 2012). O consumo excessivo deste nutriente é um dos principais fatores de risco para a hipertensão arterial. Globalmente, 7,6 milhões de mortes prematuras, cerca de 54% dos acidentes vasculares cerebrais e 47% da doença isquêmica cardíaca são atribuídas à elevação da pressão arterial (LAWES et al., 2008) e doenças renais (HE e MAcGREGOR, 2009). Dessa maneira, vários países têm adotado iniciativas voltadas à redução do consumo de sódio, com destaque para Grã-Bretanha e Canadá, além de um crescente número debatendo esse assunto com prioridade.

No Brasil, o Ministério da Saúde tem coordenado estratégias com ações articuladas a metas setoriais, como por exemplo o Plano Nacional de Saúde 2012–2015 e o Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não-Transmissíveis no Brasil 2011–2022. Entre as medidas estabelecidas, destacam-se o aumento da oferta de alimentos saudáveis (básicos ou minimamente processados), além da reformulação dos já existentes, a orientação sobre o uso da rotulagem nutricional daqueles industrializados e a sensibilização da população e dos profissionais de saúde envolvidos (NILSON; JAIME e RESENDE, 2012).

Ao reduzir o teor de sódio nos alimentos, as pessoas habituadas a tal dieta logo percebem a diferença, pois os consideram menos saborosos. Sabe-se que as papilas gustativas para o gosto salgado podem levar em torno de 6 meses para se adaptar ao novo paladar (BRASIL, 2006). Além disso, o sódio é tradicionalmente utilizado como um conservante para reduzir o crescimento microbiano, causa da deterioração dos alimentos, além de realçar ou mascarar sabores e atribuir a textura de alguns produtos, cuja simples redução representa dificuldades tecnológicas e um risco de segurança, bem como pode comprometer sua aceitabilidade sensorial.

Uma proposta para a redução de sódio em alimentos fluidos é a utilização de emulsões múltiplas contendo cloreto de sódio (NaCl), constituídas de uma emulsão água em óleo (A_1/O), incorporada como fase dispersa de uma fase aquosa (A_2), obtendo-se uma emulsão múltipla água em óleo em água ($A_1/O/A_2$). Esses sistemas podem influenciar a percepção do gosto (ácido, salgado, doce, amargo e umami) uma vez que

modificam a extensão em que a fase aquosa interage com as superfícies orais (DICKINSON, 2011) e, por possuírem gotículas aquosas dispersas no interior de uma fração oleosa, têm o potencial para atuarem como um veículo de aromas e outros ingredientes ativos, possibilitando controlar a liberação desses ingredientes no interior da boca. Lad, Hewson e Lobo (2012) estudaram o aumento da percepção do gosto salgado a partir da formulação de um alimento fluido (sopa de legumes), utilizando emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$). Os resultados mostraram que a sopa contendo a emulsão múltipla foi percebida como mais salgada quando comparada com a elaborada com emulsão simples (contendo a mesma concentração de cloreto de sódio). Porém, os trabalhos sobre percepção sensorial de emulsões múltiplas ainda são recentes e os dados são escassos.

Portanto, considerando a importância da redução do consumo de sódio pela população e o desafio enfrentado pela indústria alimentícia em produzir alimentos com níveis inferiores deste nutriente mantendo a sua aceitabilidade sensorial. O presente trabalho tem como objetivo compreender como a formulação das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) afeta a estabilidade e como influencia a percepção do gosto salgado, a partir da utilização de diferentes concentrações de fase aquosa interna (10, 15 e 20 %) e emulsificante PGPR (3, 4 e 5 %). Para isso serão realizados ensaios de estabilidade, caracterização física e reológica das emulsões determinando as suas características iniciais e ao longo do período de armazenamento, a emulsão controle será representada por uma formulação do tipo óleo em água (O/A_2). A partir da correlação entre a análise sensorial e as características iniciais das emulsões será possível identificar fatores que podem influenciar a liberação de cloreto de sódio (NaCl) no interior da boca e aumentar a percepção do gosto salgado. Justificando assim o uso de emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) como alternativa para reduzir o teor de sal (sódio) em alimentos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar diferentes formulações de emulsões múltiplas (A/O/A) contendo cloreto de sódio quanto a sua estabilidade e intensidade do gosto salgado percebido por julgadores não treinados.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o comportamento reológico das emulsões, sob temperatura constante, no início e no final do período de armazenamento;
- ✓ Avaliar as grandezas físicas, diâmetro médio, polidispersidade e potencial zeta, as quais estão correlacionadas à estabilidade cinética das emulsões ao longo do período de armazenamento;
- ✓ Analisar se ocorre transferência de NaCl entre as fases aquosas (interna e externa), por meio da condutividade elétrica das emulsões ao longo do período de armazenamento;
- ✓ Verificar por meio de microscopia confocal de varredura a laser e óptica a microestrutura das emulsões ao longo do período de armazenamento;
- ✓ Identificar como diferentes proporções de fase aquosa interna e a distribuição de NaCl entre as fases aquosas (interna e externa) afeta a percepção do gosto salgado, por meio de testes sensoriais das diferentes formulações de emulsões múltiplas;
- ✓ Avaliar a percepção do gosto salgado e verificar a existência da relação deste com a consistência das emulsões por meio de testes sensoriais utilizando um painel não treinado, no primeiro dia de armazenamento;
- ✓ Correlacionar estatisticamente os resultados das análises, quando as correlações forem pertinentes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Sódio em alimentos industrializados: consequências do consumo excessivo

O sódio é um dos elementos inorgânicos mais abundantes no organismo animal, participando da manutenção do equilíbrio ácido-base e da pressão osmótica, bem como da atividade de transmissão de impulsos nervosos, na contração muscular e de certas reações enzimáticas, entre outros (NRC, 1996).

O sal de cozinha (NaCl) é a principal fonte de sódio, composto por 40% desse elemento químico (BAZANELLI; CUPPARI, 2009). Porém, a despeito de a maioria da população considerar sal e sódio sinônimos, é importante notar que apenas o último é nocivo à saúde. Possui como funções conferir sabor aos alimentos, ressaltar o paladar de outros ingredientes, ser bacteriostático e essencial para os atributos de textura de alguns produtos (KREMER; MOJET; SHIMOJO, 2009).

Por esses motivos é utilizado em larga escala pela indústria alimentícia, além de ser um elemento de baixo custo (IOM, 2004), fazendo parte da composição de conservantes (nitrito de sódio e nitrato de sódio), adoçantes (ciclamato de sódio e sacarina sódica), fermentos (bicarbonato de sódio) e realçadores de sabor (glutamato monossódico).

Nos países desenvolvidos o consumo total de sódio é proveniente de três fontes, quais sejam, 75% de alimentos processados, 10% de sódio intrínseco e 15% de sal de adição (CUPPARI, 2005). Os alimentos industrializados são geralmente caracterizados por sua alta densidade energética e elevados teores de açúcares, gorduras, sal e sódio (MONTEIRO et al., 2010). Segundo a ANVISA (2012) os valores mais elevados de sódio nesses alimentos foram verificados nas misturas para o preparo de sopas (3861 mg/100 g), macarrão instantâneo (1881 mg/100 g), massas alimentícias, biscoitos de polvilho e biscoitos salgados.

No Brasil, a ingestão de sódio ocorre principalmente por meio do sal de cozinha (NaCl), representando 71,5% do total do nutriente consumido no país, entre 2008 e 2009. Essa informação advém do Cenário do Consumo de Sódio no Brasil, estudo elaborado pela Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação-ABIA, com base em dados da última Pesquisa de Orçamentos Familiares-POF (2008-2009) e da Pesquisa Anual de Serviços (2009), ambas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. O restante é proveniente, em sua maioria dos alimentos industrializados (13,8%), do pão francês (6,0%), dos alimentos in natura (4,7%) e semi-elaborados (4,1%).

Em 2011, pesquisas apontaram um aumento de 37% no consumo de alimentos industrializados, entre eles pizzas, carnes processadas, salgadinhos, biscoitos recheados e refrigerantes, os quais forneceram uma importante contribuição para o aumento da ingestão de sódio pela população (IBGE, 2011).

Diante disso, os atuais hábitos alimentares têm preocupado as autoridades públicas de saúde, desde que estudos epidemiológicos mostraram a relação entre a alimentação e algumas doenças crônicas, que ocasionaram, no ano de 2008, 63% dos óbitos por causas não transmissíveis (DCNT), em todo o mundo. Essas enfermidades podem ser divididas em quatro grupos – cardiovasculares, câncer, doença respiratória crônica e diabetes. A Organização Mundial da Saúde (OMS/ONU) relatou que cerca de 80% das mortes por DCNT ocorreram em países de baixa ou média renda, ou seja, aqueles considerados menos desenvolvidos (ALWAN, 2010).

Como dito, evidências demonstram a correlação direta entre o aumento do consumo de alimentos processados e a incidência de doenças crônicas (BRASIL, 2004). Essa situação pode ser justificada, sobretudo, pelo crescimento dos centros urbanos e pela inserção das mulheres no mercado de trabalho, que produziram profundas alterações da estrutura social e no estilo de vida da população (GARCIA, 2003).

Sabe-se que a OMS recomenda a ingestão diária máxima de 2 g de sódio, por pessoa, o equivalente a 5 g de cloreto de sódio. Todavia, na maioria dos países o consumo tem sido excessivo, variando de 9 a 12 g por pessoa ao dia (BROWN, 2009).

3.1.2. Iniciativas para redução do consumo de sódio

A elaboração de estratégias destinadas a reduzir o consumo de sódio é política de saúde pública de destaque na agenda dos governos, tendo em vista a relação direta do consumo alimentar com as doenças crônicas. Nesse sentido, iniciativas vêm sendo apoiadas e estimuladas por organismos internacionais, a exemplo da Organização Mundial da Saúde e da Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), com o objetivo de globalizar os impactos dessas políticas (BRASIL, 2014).

Entre as principais estratégias adotadas, pode-se citar a redução voluntária da adição de sódio na alimentação domiciliar e comercial, nos alimentos processados e a realização de campanhas de mídia para a promoção de hábitos alimentares saudáveis (NILSON; JAIME; RESENDE, 2012), possuindo como objetivo diminuir o consumo desse nutriente — dos atuais 12 g de cloreto de sódio para menos de 5 g ao dia por pessoa (2 g de sódio) até 2020 (NILSON; JAIME; RESENDE, 2012).

Em 2011, o Ministério da Saúde assinou o primeiro acordo com a Associação Brasileira de Indústrias de Alimentação (ABIA) para reduzir o teor de sódio em 16 categorias de alimentos processados, como massas instantâneas, pães e bisnagas, nos próximos quatro anos. Já em 2012, o referido termo de compromisso incluiu a redução de sódio em temperos, caldos, cereais matinais e margarinas vegetais. Um quarto acordo foi firmado em 2013, acrescentando os produtos lácteos, embutidos e refeições prontas.

Assim, espera-se a diminuição gradativa dos teores de sódio até 2020 nos alimentos industrializados, pelo cumprimento do acordo a ser fiscalizado pela ANVISA, por meio das informações nutricionais do rótulo e análises laboratoriais dos produtos coletados (ABIMA, 2013).

O modelo de redução dos percentuais de sódio nos alimentos processados proposto para o Brasil apoia-se nas experiências internacionais bem sucedidas neste campo, particularmente na Grã-Bretanha e no Canadá. Referidos países estabeleceram metas voluntárias e cronogramas com o setor produtivo, bem como estratégias de monitoramento para permitir sua avaliação permanente e garantir sua sustentabilidade, viabilidade e impacto (BRASIL, 2014).

Na Grã-Bretanha, por exemplo, o percentual de sódio foi reduzido em patamares de 25 a 45% em produtos alimentícios considerados essenciais, aliada à conscientização dos consumidores em relação à importância da diminuição do consumo de tal nutriente. A estratégia adotada foi trabalhada junto com a indústria de alimentos, além da veiculação de uma publicidade e campanhas de marketing social bem financiadas e a introdução de etiquetas indicando se os alimentos possuíam alta ou baixa quantidade de sódio.

No Canadá, a redução de sódio diminuiu a prevalência de hipertensão em 30%, com economia direta para os sistemas de saúde em cerca de 430 milhões dólares por ano (JOFFRES et. al., 2007). Essas políticas, iniciadas em 2009, foram fortemente influenciadas pela experiência britânica, adotando princípios e critérios semelhantes, com metas visando a redução do consumo per capita diário pela população para 2,3 g até 2016 (BRASIL, 2014).

Observa-se que os programas mais bem sucedidos envolveram várias abordagens, incluindo a sensibilização do consumidor, as atividades de rotulagem e reformulação de produtos (WEBSTER et al., 2011).

3.2. Emulsões

Emulsões são sistemas heterogêneos, termodinamicamente instáveis, definidos como a mistura de dois líquidos imiscíveis, onde um deles está disperso no outro na forma de gotículas (GAD, 2008). As emulsões simples são classificadas de acordo com a natureza de sua fase dispersa.

Assim, se o óleo é a fase dispersa, a emulsão é dita óleo em água (O/A) e se a água é a fase dispersa, a emulsão é dita água em óleo (A/O). Existem sistemas mais complexos, denominados de emulsões múltiplas (ASERIN, 2008; BENICHO; ASERIN; GARTI, 2007; MEZZENGA; FOLMER; HUGHES, 2004; SEIFRIZ, 1923; SU et al., 2006) do tipo água-óleo-água (A/O/A) e óleo-água-óleo (O/A/O) (MUSCHIOLIK, 2007).

A indústria de alimentos é uma das muitas que dependem fortemente do uso de emulsões. Produtos como refrigerantes, leite, creme de leite, molhos para salada, maionese, sopas, iogurtes, molhos, queijo, sorvete, manteiga e margarina são todos exemplos de emulsões (LEAL-CALDERON; THIVILLIERS; SCHMITT, 2007; McCLEMENTS, 2010; MENDEZ-VELASCO; GOFF 2011; MOORE et al. , 2012 e SANGUANSRI et. al. , 2013).

3.2.1. Mecanismos de desestabilização

Primeiramente, para a formação das emulsões é necessário um considerável aporte de energia, geralmente mecânica (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1995; MARTINA, 2005), que no processamento de alimentos é obtida utilizando misturadores de alta velocidade, moinhos de colóides, homogeneizadores de válvula de alta pressão, ultrassom, rotores e sistemas de membranas (CANDÉA, 2013).

Durante o processo de emulsificação, as gotículas presentes (fase dispersa) podem interagir entre elas e/ou com os outros componentes, por exemplo, minerais, proteínas ou polissacarídeos (GUZEY; McCLEMENTS, 2006; TRAN; ROUSSEAU, 2013), através de uma variedade de interações moleculares e coloidais, tais como de van der Waals, eletrostáticas, estérico, ligação de hidrogênio, e/ou de interações hidrofóbicas (McCLEMENTS, 2005).

Essas interações podem levar ao processo de desestabilização da emulsão por diferentes mecanismos, incluindo a floculação, cremação ou sedimentação, maturação de Ostwald e coalescência (TCHOLAKOVA et al. 2006), representados pela Figura 1.

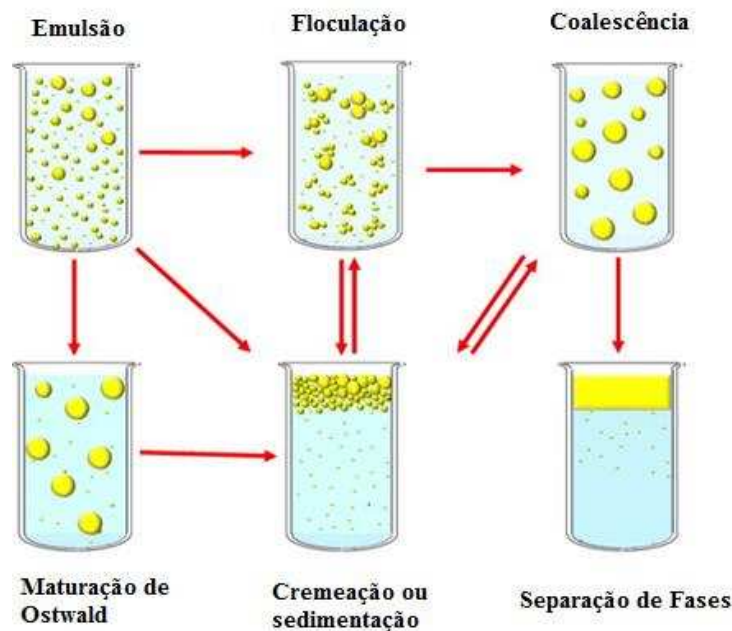


Figura 1. Representação esquemática dos vários mecanismos de desestabilização de uma emulsão. Fonte: CHUNG; McCLEMENTES, 2013.

O processo de floculação pode ser definido como uma aglomeração entre as gotículas da fase dispersa, formando uma rede tridimensional. Entretanto, as gotículas permanecem com sua estrutura interfacial inalterada e uma simples agitação pode reverter o processo (MORAIS, 2006).

A cremação ou sedimentação consiste na migração de gotículas para a parte superior ou inferior da dispersão, dependendo das densidades das duas fases líquidas (CERQUEIRA; MARQUES; RUSSO, 2011).

As situações de desestabilização citadas anteriormente podem ser seguidas pelo fenômeno de coalescência, ou seja, quando duas ou mais gotículas se unem para formar uma gota com maior volume, ocorrendo uma ruptura do filme interfacial (VIANNA-FILHO; PETKOWICZ; SILVEIRA, 2012).

Há outro mecanismo gerador da instabilidade das emulsões denominado de maturação de Ostwald, o qual envolve o encolhimento e desaparecimento de gotículas menores em detrimento do crescimento de gotículas maiores. A força motriz termodinâmica é a diferença de potencial químico entre as moléculas que constituem as gotículas maiores e menores (DICKINSON, 1992), ocorrendo a difusão de massa das gotículas menores para as maiores (da região de maior potencial para o de menor potencial químico).

O método mais simples e economicamente viável para analisar a estabilidade física em emulsões é a observação visual (McCLEMENTS, 2007), a emulsão é vertida em um tubo de ensaio transparente, com a certeza de que está bem dispersa, para então ser deixada em repouso por um determinado período de tempo. Em seguida, verifica-se a altura de separação entre as camadas, ou seja, a localização da interface. Esta avaliação pode ser efetuada à diferentes temperaturas (de 0 a 40 ° C) e durante vários períodos de tempo (desde 24 h até 15 dias) e incluir ciclos de aquecimento e resfriamento.

Outra maneira é por meio da centrifugação com a sedimentação ou formação de creme, processos que podem conduzir à coalescência (TCHOLAKOVA et al. de 2006). Este teste possibilita obter informações rápidas sobre as propriedades de estabilidade de diferentes emulsões, quando comparado com outros métodos (WITTERN et. al., 1985).

3.2.2. Estabilidade

Por ser um processo termodinamicamente desfavorável, as emulsões não se formam espontaneamente (ARAÚJO, 2011). Desta maneira, emulsões cineticamente estáveis são formadas utilizando um terceiro componente ou combinação de diversos agentes ativos de superfície, denominados de emulsificantes (DICKINSON, 2009).

Os emulsificantes são moléculas anfifílicas, ou seja, apresentam um segmento com propriedades hidrofílicas e outro segmento lipofílico, também conhecidos como surfactantes ou tensoativos (ARAÚJO, 2011). O principal papel desempenhado por essas moléculas é de adsorver na superfície (interface entre óleo e água) das gotículas recém formadas, reduzindo a tensão interfacial e a energia necessária para a formação da emulsão (CAPEK, 2004). Além disso, formam um filme ao redor das gotículas da fase dispersa, com propriedades estéricas e/ou eletrostáticas, retardando a ocorrência de fenômenos de instabilidade que poderiam causar a separação das fases do sistema (MORRISON; ROSS, 2002; CAPEK, 2004).

Segundo Dickinson (2010) e Seta et al. (2012) os emulsificantes mais utilizados na indústria de alimentos são proteínas, pequenas moléculas de surfactantes, fosfolípidos e, em certos casos, polissacarídeos (hidrocolóides). As proteínas possuem maior atividade de superfície do que os emulsionantes à base de polissacarídeos ou hidrocolóides, logo, em concentrações muito menores são capazes de estabilizar uma emulsão (DICKINSON, 2011).

Atualmente, uma área ativa e próspera de pesquisa é a estabilização de emulsões por conjugados e complexos de hidrocolóides com proteínas alimentares. Polissacarídeos

solúveis (pectina, alginato, gelana) também têm sido adicionados na fase aquosa externa para atuarem como agentes de estabilização devido as suas propriedades espessante/gelificante (DICKINSON, 2011).

A escolha de um emulsificante específico (ou mistura de emulsificantes), para uma determinada aplicação é fundamental para a criação de emulsões estáveis (HORN; NIELSEN; JACOBSEN, 2012; McCLEMENTS, 2005; SETA et al., 2012).

3.2.3. Emulsões Múltiplas

Emulsões múltiplas foram relatadas pela primeira vez em 1923 (SEIFRIZ, 1923), como sendo sistemas complexos de dispersão, também conhecidos como "emulsões de emulsões" (Figura 2), existindo simultaneamente os dois tipos de emulsões simples (O/A e A/O). As formas mais comuns são água em óleo em água ($A_1/O/A_2$) e óleo em água em óleo ($O_1/A/O_2$) (PAWLIK; NORTON, 2014).

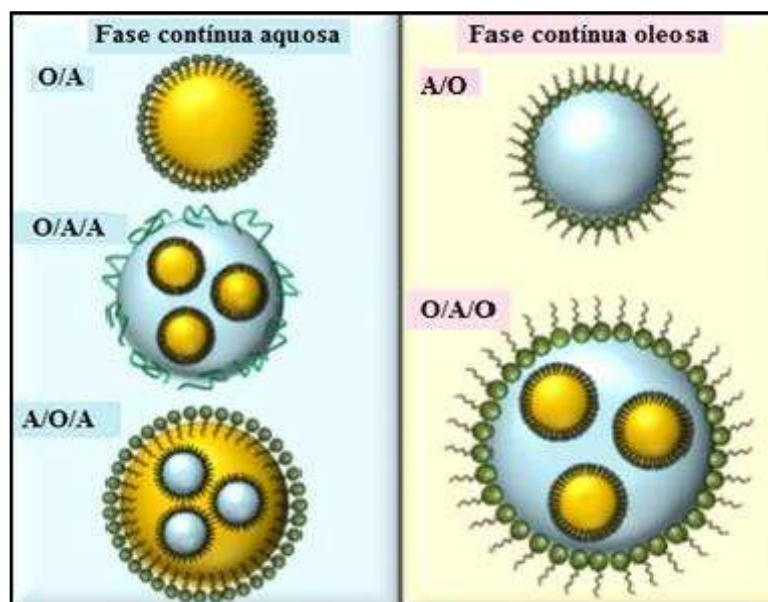


Figura 2. Diagrama esquemático de emulsões simples- (O/A) e (A/O) e emulsões múltiplas (O/A/A); (A/O/A) e (O/A/O). Fonte: CHUNG; McCLEMENTES, 2013.

As emulsões do tipo ($A_1/O/A_2$) possuem pequenas gotículas de água (A_1), dispersas dentro de glóbulos de gordura (O), os quais são dispersos numa fase aquosa contínua (A_2) (BOUYER et.al., 2012).

Por serem constituídas de três fases distintas e duas interfaces óleo-água, em comparação com as duas fases e uma interface água-óleo de uma emulsão simples, é necessária a utilização de dois agentes emulsionantes diferentes (hidrofílicos e lipofílicos), um para estabilizar as gotículas da emulsão interna (o principal) e outro para

estabilizar as gotículas da emulsão exterior (o secundário) (DICKINSON, 2011). Alguns trabalhos também relatam a utilização de gelatina para solidificar a fase aquosa interna (A₁), aumentando a eficiência de encapsulação e a estabilidade das gotículas (FECHNER et al., 2007; IQBAL et al., 2013; O'REGAN E MULVIHILL, 2010; SAPEI et al., 2012; SURH et al., 2007; PEREZ-MORAL; WATT; WILDE, 2014; OPPERMANN et. al., 2015).

3.2.4. Surfactante: Polirricinoleato de poliglicerol (PGPR)

O polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) é um emulsionante sintético, também denominado de ésteres de poliglicerol de ácido ricinoléico e constitui um dos mais hidrofóbicos emulsificantes usados em alimentos.

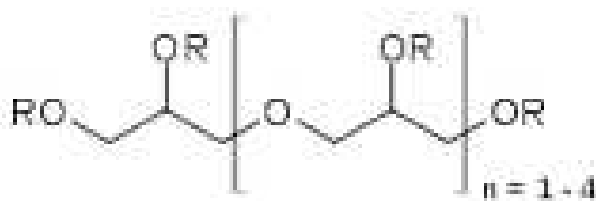


Figura 3. Fórmula estrutural do emulsificante Polirricinoleato de poliglicerol (PGPR)

Reconhecido como seguro (GRAS) pelo FDA (Food and Drug Administration) (McCLEMENTS, 1994; DANISCO, 2012) a sua produção envolve uma reação de três etapas, onde, na primeira, o glicerol é polimerizado a elevadas temperaturas (aproximadamente 250 °C) para formar poliglicerol (éter tri-, tetra-, e pentaglicerol). Na segunda, forma-se ácido ricinoléico policondensado a partir de ácido ricinoléico. Por último, o ácido ricinoléico policondensado é esterificado com poliglicerol a baixas temperaturas (GARTI et. al., 1999; DAVOLI, 2001).

Esse emulsificante (PGPR) é utilizado em chocolates, óleos, gorduras e produtos de panificação. Sendo tão eficaz quanto a lecitina na redução da viscosidade do chocolate melhorando suas propriedades de moldagem, com resultados obtidos a partir de misturas PGPR/lecitina. Na Europa, é utilizado isoladamente como substituto da lecitina (HASENHUETTL, 1997; FAERGEMAND; KROG, 2006; BASTIDA-RODRÍGUEZ, 2013). Outra função seria a capacidade em elevar substancialmente a velocidade de cristalização da manteiga de cacau, em um menor intervalo de tempo necessário à cristalização completa de chocolates (BOWSER, 2006).

A formulação de emulsões água em óleo (A/O) e água em óleo em água (A/O/A) requer a utilização de agentes emulsionantes de baixo balanço hidrofílico-lipofílico (BHL). Dentre os surfactantes o PGPR é amplamente utilizado, com valor de BHL igual à 1,5 (DANISCO, 2012; McCLEMENTS, 1994). Em combinação com NaCl também aumenta a estabilidade contra a coalescência por meio de interações do cloreto de sódio com os ésteres de ácido ricinoleico oligoméricos presentes na interface óleo-água.

3.2.5. Métodos de preparação

Os sistemas de emulsões múltiplas, na maioria dos casos, são preparados em duas etapas. A primeira delas consiste na elaboração de uma emulsão primária A/O ou O/A, utilizando um emulsionante lipofílico. A segunda opera a reemulsificação da emulsão primária, pela adição à outra fase aquosa ou oleosa contendo tensoativos hidrofílicos ou lipofílicos, respectivamente, formando emulsões múltiplas do tipo A/O/A ou O/A/O (DICKINSON, 2011).

O objetivo do primeiro passo é a formação de gotículas (<1 mm) pela utilização de forças de cisalhamento elevadas, por meio da adição de alta energia (de alta pressão, ultra-turrax ou ultra-sons) (MUSCHIOLIK, 2007). A etapa seguinte ocorre sob condições de cisalhamento moderadas evitando a ruptura das gotículas (DICKINSON, 2011). Geralmente, utiliza-se uma elevada velocidade de agitação para a emulsificação primária e uma velocidade mais baixa para a secundária.

Taxas de cisalhamento muito altas ou muito baixas afetam drasticamente a estabilidade do sistema, determinando a otimização do tempo de cisalhamento/agitação (KHAN et al., 2006).

Os métodos convencionais utilizados geram sistemas substancialmente polidispersos e estruturalmente heterogêneos (DICKINSON, 2011). Desta maneira, novos métodos de baixo cisalhamento e baixa energia têm sido propostos e utilizados. Pode-se citar, dentre eles, os microcanais de emulsificação (SUGIURA et al., 2004), os dispositivos microcapilares (OKUSHIMA et. al., 2004) e a emulsificação por membrana. Uma desvantagem da utilização destes métodos é a baixa taxa de produção quando comparadas aos métodos tradicionais de emulsificação (LEAL-CALDERON; TRIVILLIERS; SCHMITT, 2007).

3.2.6. Potenciais aplicações das emulsões múltiplas

A composição das emulsões múltiplas e suas propriedades permitem a aplicação desses sistemas em diversas áreas, por exemplo, em cosméticos, fármacos, agroquímicos, produtos químicos industriais, etc (SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012; KOBAYASHI; NAKAJIMA; MUKATAKA, 2003). Na indústria alimentícia são utilizadas com o objetivo de reduzir o teor de gordura, mascarar sabores, melhorar as propriedades sensoriais de produtos, ou controlar a liberação e proteção de substâncias, incluindo o encapsulamento de vitaminas / minerais (BENICHOU; ASERIN; GARTI, 2007; DICKINSON, 2011, McCLEMENTS, 2009; MUSCHIOLIK et. al., 2007; BONNET et al., 2009; O'REGAN; MULVIHILL, 2010; SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012). Além disso, compostos bioativos podem ser incorporados na fase interna ou intermediária, sendo veículos para ingredientes não-polares e polares. Desta forma, o uso de emulsões para o desenvolvimento de produtos com propriedades funcionais é ideal (MURILLO-MARTÍNEZ et al., 2011).

Alguns trabalhos têm destacado a potencial aplicação de emulsões múltiplas em sistemas alimentares visando a substituição parcial da gordura para melhorar a sua qualidade nutricional e equilibrar a proporção entre gordura saturada e gordura insaturada (LOBATO-CALLEROS et al., 2008). Quando comparadas com as emulsões simples a emulsão múltipla pode ser preparada com o mesmo volume de fase dispersa e distribuição de gotículas porém, com um teor reduzido de gordura (FRANCISCO JIMÉNEZ-COLMENERO, 2013) uma vez que parte do material lipídico é substituído por gotículas de água dispersas no seu interior (A_1) (LOBATO-CALLEROS et al. 2006).

Na produção de queijos com teor de gordura reduzido as emulsões múltiplas tem como objetivo desempenhar a função dos glóbulos de gordura do leite nas características de textura do produto. Lobato-Calleros et al. (2008) avaliaram a redução do teor de gordura (15 a 26 %) em queijos formulados com emulsões múltiplas, encontrando resultados similares de textura e aceitação quando comparados com os produtos tradicionais. Marquez e Wagner (2010) estudaram o encapsulamento de sais de cálcio na fase aquosa interna (A_1) de emulsões múltiplas preparadas com leite de soja e óleo de girassol. O leite de soja possui um teor de cálcio muito menor do que o leite de vaca, no entanto, a fortificação de cálcio é limitado devido a ligação dos íons nas moléculas de proteínas e fosfolípidios levando à formação de agregados e a desestabilização do sistema. Desta forma, os autores concluíram que a encapsulação deste nutriente poderia ser uma opção viável para aumentar a sua concentração em leite de soja sem ocorrer os problemas

de instabilidade citados e estas emulsões podem funcionar como substituto de gordura para o creme de leite batido, proporcionando assim produtos com baixo teor de lipídios e importante contribuição de cálcio.

Além das aplicações em produtos lácteos o uso de emulsões múltiplas também tem sido avaliado a fim de melhorar o teor de gordura (em termos quantitativos e qualitativos) em produtos à base de carne suína. Cofrades et. al. (2013) utilizaram emulsões múltiplas que apresentaram boa estabilidade por um período superior do que é normalmente necessário pela indústria de carne para a sua utilização como um ingrediente na reformulação destes produtos. Tais autores verificaram que a substituição do toucinho de porco afetou as propriedades físico-químicas do produto (água e propriedades de ligação de gordura, textura, cor). Porém, esses são primeiros resultados da utilização destas emulsões como estratégia para o desenvolvimento tecnológico de produtos de carne mais saudáveis.

A maioria dos estudos em relação ao uso de emulsões múltiplas são direcionados à encapsulação de compostos, sendo assim, utilizadas como uma estratégia tecnológica para incorporar compostos ativos nos alimentos e com isso desenvolvendo alimentos mais saudáveis, incluindo alimentos funcionais. No contexto de desenvolvimento desses alimentos as emulsões múltiplas foram estudadas visando atuarem como sistemas de entrega estruturados principalmente para o encapsulamento de componentes funcionais (O'Reagan; Mulvihill de 2010; Li et al., 2012; Carrillo-Navas et al., 2012; Berendsen et. al, 2015; Bou et. al, 2014; Kaimainen et. al, 2014; Adyta et.al, 2015).

As emulsões múltiplas também tem sido utilizadas na redução de sódio em alimentos fluidos. Frsch-Melnik, Norton e Spryropoulos (2010) estudaram a utilização de cristais de gordura (mono e triglicerídeos) para estabilizar emulsões, a fim de controlar a liberação de cloreto de sódio em determinado alimento. Lad, Hewson e Wolf (2012) pesquisaram o aumento da percepção do gosto salgado utilizando emulsões múltiplas como base para a formulação de um alimento fluído (sopa de legumes), observaram que a sopa formulada com emulsões múltiplas foi avaliada como de gosto mais salgado que aquela formulada com emulsão simples.

Tabela 1 - Exemplos de utilização de A₁/O/A₂ emulsões múltiplas para aplicações alimentares.

Objetivo principal	Conteúdo da solução aquosa interior (A₁)	Óleo Lipídio (O)	Emulsificante Lipofílico (% em fase de óleo)	Emulsionante hidrofílico (% em solução aquosa externa, A₂)	Referência
Redução do teor de gordura em queijos	Água destilada	Óleo de Canola	PGPR (8 %)	8% Ésteres de monoglicéridos e diglicéridos de ácido diacetiltartárico	Lobato-Calleros et al., 2008
Formulação de creme de leite com baixo teor de gordura contendo Ca encapsulado	Sais de cálcio (Ca ⁺²)	Óleo de girassol	PGPR (0,5, 1,0 2,0%)	Leite de soja contendo goma de xantano 0,02%	Márquez & Wagner, 2010
Formulação de iogurte com baixo teor de gordura	8% Panodan SDK® + 0,5% de goma de gelano	Óleo de canola	PGPR (8%)	Leite desnatado com pectina de baixo metoxilo (1%) ou carboximetilcelulose (0,5%)	Lobato-Calleros et al., 2009
Encapsulação de vitamina B ₁₂	Gelatina (5%), NaCl (0,06%) e vitamina B ₁₂ (0,03%)	MCT	PGPR (2%)	SC ou SC-maltodextrina conjugado	O'Reagan & Mulvihill de 2010
Encapsulação de extrato de antocianina	Antocianina extracto, pectina e CaCl ₂	Óleo de colza	PGPR (2,5%)	Extrato Bile, isolado protéico de soro ou proteína-polissacarídeo conjugado com peptina	Frank et al., 2012
Encapsulação de ácido ascórbico	Ácido ascórbico (30%), goma de gelano (0,5%), e Panodan SDK® (8%)	Óleo de Chia	6% (1 parte de Panodan SDK® + 4 partes de PGPR)	Gum Mesquite, maltodextrina, e WPC	Carrillo-Navas et al., 2012

Objetivo principal	Conteúdo da solução aquosa interior (A₁)	Óleo Lipídio (O)	Emulsificante Lipofílico (% em fase de óleo)	Emulsionante hidrofílico (% em solução aquosa externa, A₂)	Referência
Melhorar o teor de gordura de sistemas à base de carne	NaCl a 0,6%	Azeite	PGPR (6%)	caseinato de sódio (0,5%) ou concentrado de proteína de soro de leite (6%)	Cofrades et al., 2013
Encapsulamento de um extracto rico em procianidina	10% em peso vitaflavan	Óleo de girassol	PGPR (4%)	1,0% em peso de WPI; 0,5% em peso de WPI - 0,25% em peso de CMC; 0,5% em peso de WPI - 0,50% em peso GA; 0,5% em peso de WPI - 0,05% em peso Chi	Berendsen et. al, 2015
Viabilidade de <i>Lactobacillus plantarum</i> encapsulado durante a fabricação do queijo Oaxaca	<i>Lactobacillus</i> MRS Broth BD	Óleo de Canola	PGPR (8%)	Ésteres de monoglicéridos e diglicéridos de ácido diacetil tartárico	Rodríguez-Huezo et. al., 2014
Encapsulamento de riboflavina	5.84 g/L NaCl 0.03 g/100 mL riboflavina	chia, girassol, azeite, ou toucinho de porco	PGPR (6%)	0,5 g/100 ml de caseinato de sódio	Bou et. al, 2014
Encapsulamento de betalaina	Extrato concentrado de betalaina	Óleo de colza	PGPR (20 mg / g)	Fração de lipídios polares de aveia	Kaimainen et. al, 2014
Co-entrega de curcumina e catequina	catequina (750 ug / mL), gelatina (3%), NaCl (2%) e ácido ascórbico (0,2%)	Azeite	PGPR	Tween 80 (1%), ácido ascórbico (0,2 %) e NaCl (2%)	Adyta et.al, 2015

3.3. Caracterização de emulsões

3.3.1. Reologia

A reologia é a ciência que estuda o modo como os materiais se deformam e escoam sob a influência de forças externas (SCHRAMM, 2006; LABA, 1993).

Segundo a reologia clássica o sólido elástico é um material com forma definida, que submetido a um processo de deformação por uma força externa, dentro de certos limites, irá retornar ao seu estado primitivo, após a remoção dessa força. O líquido viscoso não tem forma definida e irá escoar, irreversivelmente, com a aplicação de uma força externa (STANLEY, 1996). Dessa maneira, as curvas de escoamento correlacionam a taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) com a tensão de cisalhamento (τ) e são utilizadas para descrever o comportamento dos materiais em diferentes condições.

Na reologia dos sólidos, a propriedade de maior interesse é a elasticidade, ao passo que em líquidos, a viscosidade é a mais importante (TONELLI; MURR; PARK, 2004). A viscosidade é definida como a resistência ao escoamento de um fluido quando aplicada uma tensão de cisalhamento a uma determinada temperatura (MERRYWEATHER, 2005; SCHRAMM, 2006), e depende de alguns fatores como a natureza físico-química da substância; a temperatura (a viscosidade, geralmente, diminui com o aumento da temperatura); a pressão (de forma geral o aumento de pressão aumenta a viscosidade); a taxa de deformação (o aumento dessa pode aumentar ou diminuir a viscosidade) e o tempo (dependência da viscosidade de uma substância em relação a um tempo de cisalhamento). Por isso é medida em condições definidas, sobretudo de sensor, temperatura, taxa de deformação e tempo (SCHRAMM, 2006).

O comportamento reológico de uma amostra pode ser dividido em fluidos Newtoniano e não-Newtoniano (pseudoplástico, dilatante, plásticos e viscoelásticos) a temperatura constante, apresentando, ou não, tixotropia ou reopexia (Figura 3).

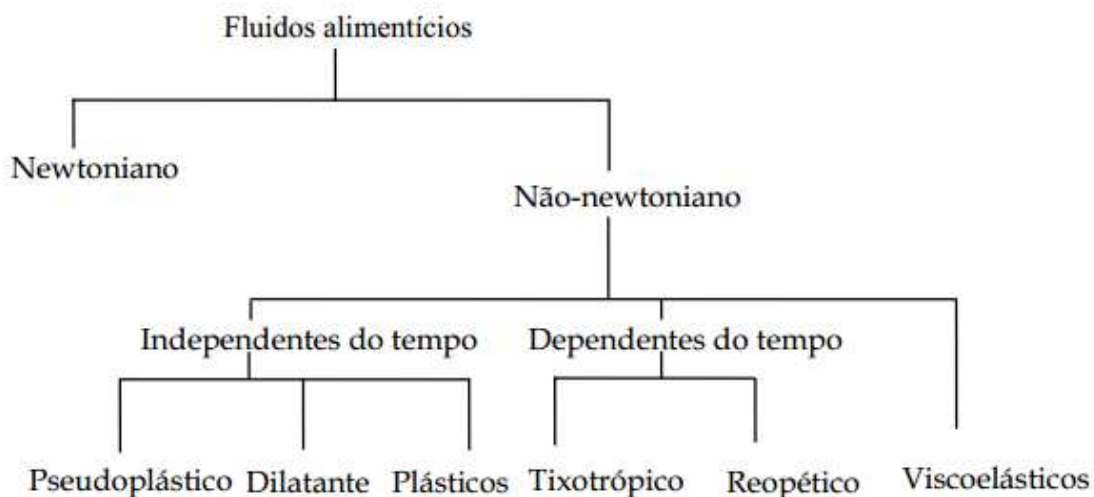


Figura 4. Classificação de fluidos segundo o comportamento do escoamento (Adaptado de RAMOS, 1997).

Para fluidos Newtonianos, a viscosidade mantém-se constante mesmo sob condições variáveis de taxa de deformação, denominando-se viscosidade absoluta. Existe uma relação linear entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação (STEFFE, 1996). Já para os considerados não Newtonianos as curvas de escoamento (tensão de cisalhamento x taxa de deformação) não são lineares, isto é, os valores da viscosidade mudam com a variação nos valores da taxa de deformação de acordo com as características de cada fluido (RAO, 1999). Com isso, a propriedade passa a ser denominada de viscosidade aparente (η_a) (PELEGRINE et. al., 2000).

Os fluidos não-Newtonianos independentes do tempo são classificados em:

- I. Pseudoplásticos: ocorre a diminuição da viscosidade aparente com o aumento da taxa de deformação (CHHABRA; RICHARDSON, 2008).
- II. Dilatantes: a viscosidade aparente aumenta com o aumento da taxa de deformação.
- III. Fluidos que necessitam de necessitam de uma tensão crítica ou tensão inicial (τ_0) para iniciar o escoamento, tendo como exemplos plástico de Bingham, Herschel-bulkley e dilatante com tensão de fluência.

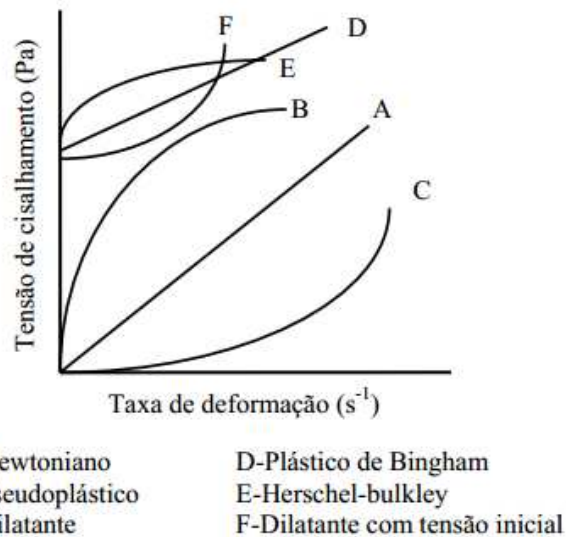


Figura 5. Curvas de escoamento típicas para fluidos independentes do tempo. Fonte: adaptado de Ramos (1997).

Os fluidos viscoelásticos comportam-se como sólidos em condições estáticas ou de repouso e após aplicação de uma força começam a escoar, possuindo propriedades de fluidos viscosos e sólidos elásticos (RAO, 1999).

Outra classificação dos fluidos é em função da dependência com o tempo, os quais podem ser denominados como tixotrópicos ou reopéticos (STEFFE,1996). Quando classificados como dependentes do tempo, a sua viscosidade aparente depende não só da taxa de deformação aplicada, mas também do tempo em que está sendo submetido a essa tensão (CHHABRA; RICHARDSON, 2008). Nos fluidos tixotrópicos, mesmo para taxas de deformação constantes, a viscosidade sofre uma redução em função do tempo. Na reopexia acontece o inverso, a viscosidade aumenta com o tempo a uma taxa de deformação constante (STEFFE,1996).

Diversos modelos matemáticos auxiliam na caracterização reológica, a escolha de qual utilizar depende das informações e da característica do fluido (Tabela 2). Os modelos mais usuais são o de Newton, de Bingham ou plástico ideal, de Ostwald de Waele ou Lei da potência e o de Herschel-Bulkley ou potência modificado (MACHADO, 2002).

Tabela 2. Equações de modelos matemáticos que auxiliam na caracterização reológica

Modelo Matemático	Equação do Modelo
Newtoniano	$\tau = \eta\dot{\gamma}$
Ostwald Waele(Lei da Potência)	$\tau = K\dot{\gamma}^n$ $n < 1$
Dilatante	$\tau = K\dot{\gamma}^n$ $n > 1$
Bingham	$\tau = \tau_0 + \eta\dot{\gamma}$
Plástico (Herschel-Bulkley)	$\tau = \tau_0 + (K_H \dot{\gamma})^{n_H}$
Plástico (Casson)	$\tau = \sqrt[n_p]{\dot{\gamma}^{n_p} + (\dot{\gamma}\eta_p)^{n_p}}$

Fonte: Adaptado de Castro, Covas e Diogo, 2001

Para a análise do comportamento reológico é aconselhável aguardar algumas horas (24 – 48 h) já que uma emulsão recém preparada demora um determinado tempo até atingir a viscosidade que lhe corresponde (JATO, 1997, LACHMAN; LIEDERMAN; KANIG 2001). Os instrumentos mais utilizados para caracterização das propriedades reológicas são dispositivos de cisalhamento (viscosímetros de cisalhamento e reômetros de cisalhamento dinâmico) (STEFFE, 1996; TADROS, 2004).

3.3.2. Distribuição do tamanho das gotículas

Algumas variáveis do processo, como a velocidade de agitação, a ordem de adição das fases e a temperatura, influenciam as características físico-químicas finais da emulsão (LIN; KURIHARA; OHTA, 1975; BROOKS; RICHMOND, 1991; SIMOVIC et al., 1999). Assim, diferentes tamanhos de gotículas podem ser obtidas dependendo do método de emulsificação escolhido (JEONG; OH e KIM, 2001; FERNANDEZ et al., 2004; MORAIS et al., 2006), alterando a estabilidade física desses sistemas (por exemplo, a separação gravitacional, a floculação, a coalescência e a maturação de Ostwald) e nas suas propriedades ópticas (por exemplo, brilho e cor).

As emulsões, em sua maioria, são sistemas polidispersos que podem ser caracterizadas como "monomodal", "bimodal" ou "multimodais", dependendo da existência de um, dois, ou mais picos na distribuição do tamanho de partículas.

A concentração de gotículas dentro de diferentes classes de tamanhos, pode ser medida utilizando diversos instrumentos disponíveis comercialmente (McCLEMENTS, 2005), os quais baseiam-se na detecção da intensidade de um feixe de luz que ao incidir sobre a gotícula, pode ser desviado, absorvido ou transmitido. Para as gotículas maiores que o comprimento de onda da luz emitida, ocorre a reflexão, refração ou difração, já para

as menores observa-se o espalhamento de luz (JONES, 1999). Detectores estrategicamente posicionados medem a intensidade e o ângulo da luz espalhada. Por meio de algoritmos matemáticos o sinal dos detectores é então convertido para a distribuição de tamanho das gotículas (ALLEN, 1997).

Qualquer sistema é capaz de espalhar luz, porém o maior interesse está no estudo de moléculas dispersas ou em suspensão e de sistemas puros. Com o espalhamento de luz observa-se principalmente moléculas pequenas ou agregadas em solução, dispersões de colóides, suspensões e géis (CHU, 1991).

3.3.3. Microscopia

O microscópio é um dos principais instrumentos para análise do tamanho e também para uma completa caracterização da partícula, como sua forma, morfologia (superfície), cor e mineralogia.

Na formação da imagem podem ser usados microscópios ópticos (luz refletida ou transmitida) (PAPINI, 2003) o seu limite de resolução é de 0,1 μm e está relacionado à natureza da luz. São amplamente utilizados para a análise da distribuição de partículas no meio (OLIVEIRA, 2007).

Para o estudo da estrutura de alimentos, como emulsões e produtos lipídicos (GROVES, 2006) é indicado o uso da microscopia confocal de varredura a laser (MCVL). Esta técnica se baseia na incidência de uma luz que provoca fluorescência no material, (FELLERS; DAVIDSON, 2014) e obtenção de imagens tridimensionais com softwares adequados (GROVES, 2006), representando um importante avanço da microscopia óptica. A sua limitação está relacionada com os comprimentos de onda do laser do equipamento, permitindo ou não uma maior visualização da amostra.

3.3.4. Potencial Zeta

O potencial zeta é uma medida da magnitude da repulsão ou da atração eletrostática ou das cargas entre partículas, sendo um dos parâmetros que afetam a estabilidade. Sua medição oferece uma visão detalhada sobre as causas da dispersão, agregação ou floculação, podendo ser aplicada para melhorar a formulação de dispersões, emulsões e suspensões (MALVERN, 2014).

A maioria dos materiais particulados em contato com um líquido adquire uma carga elétrica em sua superfície, tornando-a eletricamente carregada. Essa carga pode aparecer de várias maneiras, pela dissociação de grupos ionizáveis e a adsorção diferencial de íons da solução na superfície da partícula, aumentando a concentração de

contra-íons e formando uma dupla camada elétrica na interface com o líquido. Essa divide-se em duas regiões: na primeira (interna) tem-se íons fortemente ligados à superfície e na outra (exterior) a distribuição é determinada pelo equilíbrio entre forças eletrostáticas e movimento térmico (MAINARDES, 2007).

Desta maneira, o potencial zeta corresponde ao potencial no plano de cisalhamento, que está a uma determinada distância da superfície.

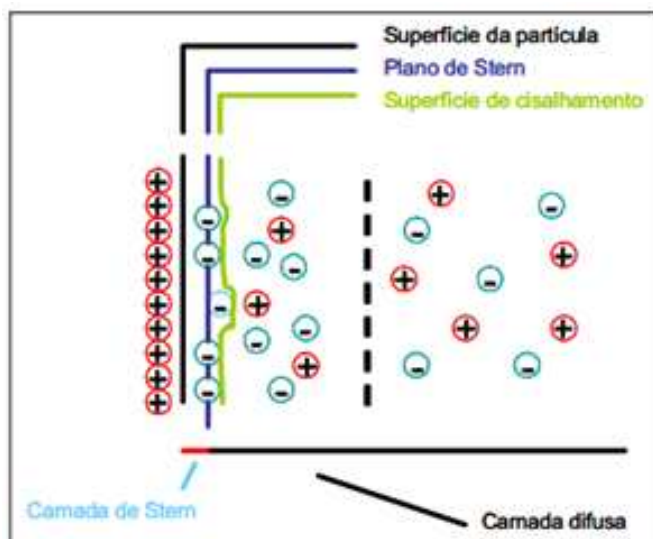


Figura 6. Esquema da dupla camada elétrica que envolve a superfície da partícula.

A técnica mais usual e aceita para a medição é através da mobilidade eletroforética. Primeiramente introduz-se a suspensão coloidal diluída em uma cuba com dois eletrodos e aplica-se um potencial elétrico. As espécies carregadas eletricamente irão mover-se na direção do eletrodo de carga contrária e a velocidade das partículas é dependente da carga superficial e da intensidade do campo elétrico aplicado (MALVERN, 2014).

Se todas as espécies em suspensão apresentarem um valor elevado, em módulo para o potencial zeta, terão tendência para repelirem umas às outras. Porém, se possuírem um valor baixo (em módulo), e na ausência de outros mecanismos (impedimento estérico, elevados valores de viscosidade da fase externa, dentre outros) que possam prevenir a agregação de duas ou mais partículas adjacentes ocorrerá a desestabilização deste sistema. (RÉFEGA, 2010). Logo, o potencial zeta aliado com outros mecanismos de estabilização pode ser utilizado como um indicativo da estabilidade cinética de um sistema coloidal, onde os resultados são expressos em milivolts (mV).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Instalações

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Ciência de Produtos de Frutas e Hortaliças, Microfluídica e Fluídos Complexos, no Núcleo de Microscopia Eletrônica e Microanálise e no Laboratório de Embalagens, todos situados no campus de Viçosa, Minas Gerais, UFV.

4.2. Materiais

Água destilada foi utilizada para a preparação das fases aquosas (interna e externa), a fração oleosa foi composta por óleo de canola comprado em um supermercado local (Sinhá, óleo de canola Tipo 1). O surfactante lipofílico usado era composto por ésteres de poliglicerol de ácido polirricinoleico (PGPR, doado por Dhaytan), Tween 40 (Sigma Aldrich, 90% ácido palmítico CMC 0,027 (20-25°C) HBL 15,6) que foi utilizado como emulsionantes hidrofílico na fase aquosa externa e cloreto de sódio. Os polímeros utilizados goma guar (Acacia senegal, < 1% de cinzas) e gelatina (pele de porco, Tipo A, Bloom -300) utilizados foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O cloreto de sódio NaCl P.A (Pureza > 99%, Cinética). Todos os reagentes químicos foram utilizados sem purificação adicional.

4.3. Delineamento Experimental

Para as formulações e as análises físicas e químicas, foram avaliados os fatores F1 = diferentes concentrações de fase aquosa interna e F2 = diferentes concentrações do emulsificante PGPR. Cada fator foi analisado em três níveis, para F1 os níveis foram 10, 15 ou 20 % m/m e para F2 foram 3, 4 ou 5% m/m_{oleosa}.

O uso de pequenas concentrações do emulsificante PGPR em emulsões aquosas proporciona a sensação saborosa de alimento cremoso, porém acima de 5% a sua presença é detectada devido ao odor, gosto amargo e coloração escura, proporcionando um sabor desagradável ao produto (MUSCHIOLIK et al., 2006), por isso a escolha da concentração máxima de 5%.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial 3², mais o tratamento adicional correspondente à emulsão controle (A₁/O), totalizando assim 10 tratamentos. Foram realizadas 3 repetições, somando 30 unidades experimentais. Para a

análise sensorial empregou-se o delineamento em blocos casualizados (DBC), em que cada provador é considerado um bloco.

Os fatores reais avaliados com os níveis codificados, estão apresentados na Tabela 3 e Tabela 4.

Tabela 3. Níveis codificados e valores reais para as variáveis empregadas do delineamento do experimento.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Fase aquosa interna	10	15	20
Conc. PGPR	3	4	5

Todo o experimento foi realizado em três repetições e as análises efetuadas em triplicata.

4.3.1 Preparação das emulsões

As emulsões múltiplas do tipo $A_1/O/A_2$ foram preparadas de acordo com um procedimento de dois passos. No primeiro tem-se a preparação de uma emulsão primária (A_1/O) e no segundo a incorporação dessa como “fase dispersa” em uma segunda fase aquosa (A_2). A fração total de água utilizada foi 70% m/m, distribuída entre as fase aquosa interna (10, 15 ou 20% m/m) e externa (60, 55 ou 50% m/m). A fração oleosa foi constante para todas as formulações (30% m/m) e as concentrações de PGPR utilizadas foram 3, 4 e 5%, em relação a fração oleosa do sistema.

Tabela 4. Representação dos 10 tratamentos realizados.

Tratamentos	Fase aquosa interna (Nível)	Fase aquosa interna (% m/m)	Conc. PGPR (Nível)	Conc. PGPR (% m/moleosa)
1	-1	10	-1	3
2	0	15	-1	3
3	1	20	-1	3
4	-1	10	0	4
5	0	15	0	4
6	1	20	0	4
7	-1	10	1	5
8	0	15	1	5
9	1	20	1	5
10 (Controle)	-	0	0	-

4.3.2 Preparação das soluções

Para a elaboração da solução aquosa interna (A_1) utilizou-se NaCl (2%, m/m), gelatina (0,75% m/m) e azida de sódio (0,02%, m/m). A gelatina foi hidratada durante 30 minutos, seguido por agitação magnética a 65 °C durante 25 min (SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012).

O uso de gelatina provoca uma melhor estabilidade contra a coalescência da fase aquosa (A_1) (OPPERMANN et. al., 2015). A azida de sódio (NaN_3) atua como agente conservante e foi adicionada na fase interna e externa, a fim de evitar as diferenças de pressão osmótica (HATTREM et. al., 2014).

A fração oleosa foi preparada por dissolução de PGPR (3, 4 ou 5% m/m) em óleo de canola e misturada a 65 °C durante 25 min (SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012) em um agitador magnético modelo 752A/6, Fisatom, São Paulo, Brasil. Já a solução aquosa externa (A_2) por dissolução e agitação de Tween 40 (3% m/m) e goma guar (0,75% m/m) em água destilada contendo NaCl (2% m/m) à 25 °C durante 30 min (SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012) em seguida, a azida de sódio (0,02%) foi adicionada. A goma guar foi utilizada com o objetivo de aumentar a viscosidade da fase aquosa contínua e com isso melhorar a estabilidade das emulsões.

As emulsões primárias foram preparadas a partir da adição de diferentes concentrações de solução aquosa interna (100, 150 e 200 g) em 300 gramas de fração oleosa sob agitação vigorosa utilizando um Ultra-Turrax (Homogenizador T18 Basic Ultra Turrax - IKA), operando a 20000 rpm durante 4 min (SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012). As emulsões resultantes possuíam as seguintes proporções em massa 25/75; 33/67 e 40/60 de fase aquosa e oleosa, respectivamente. Em seguida foram arrefecidas a 4 °C durante uma hora para assegurar uma completa gelificação da gelatina presente na fase aquosa dispersa (A_1) (SCHUSTER et. al., 2012). Antes do segundo passo de homogeneização, aumentou-se a temperatura lentamente até 26 °C, para melhorar a eficácia de emulsificação (SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012).

Para a formulação da emulsão múltipla (10:30:60 m/m), 400 gramas da emulsão primária (25/75), foi adicionada vagorosamente a 600 g da fase aquosa externa (A_2) seguido pela mistura com Ultra-Turrax a 18000 rpm durante 4 min e subsequente têmpera com arrefecimento num banho de água a 4 °C (SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012). Da mesma maneira, outras duas formulações com as seguintes concentrações 15/30/55 e 20/30/50 foram preparadas a partir das emulsões primárias (33/67 e 40/60), respectivamente (Figura 7).

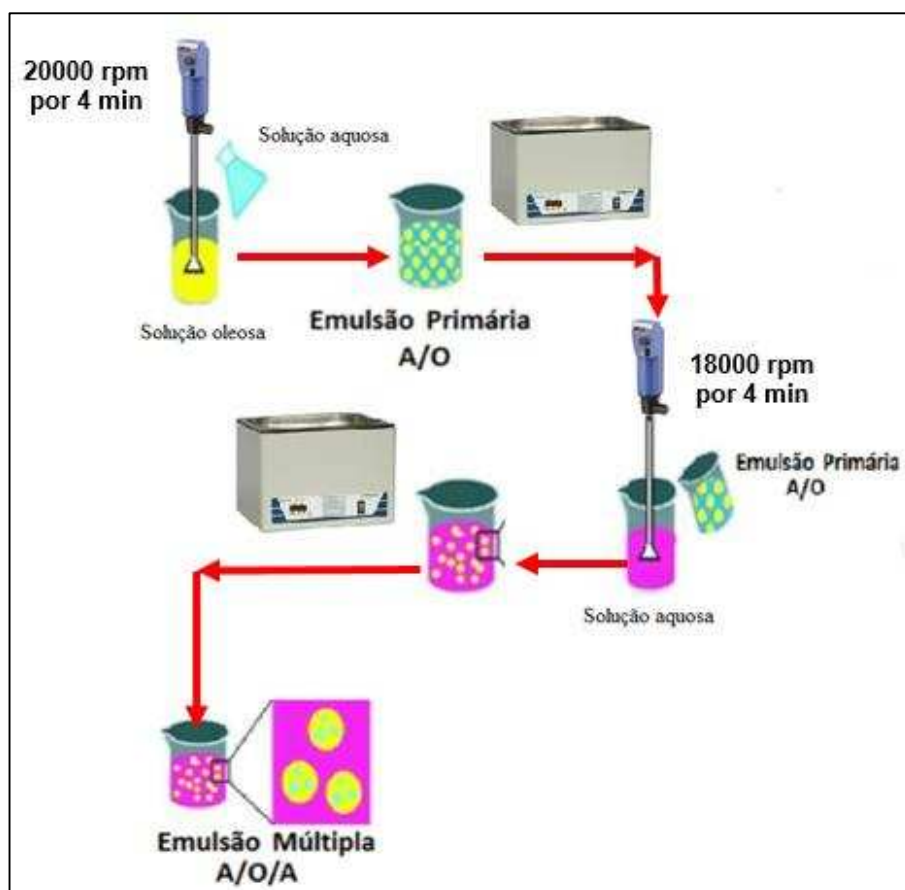


Figura 7 – Fluxograma representando o preparo das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$)

Para emulsão controle (O/A_2) de 300 g de óleo de canola foram dispersos em 700 g de fase aquosa externa A_2 utilizando um Ultra-Turrax (Homogenizador T18 Basic Ultra Turrax - IKA) operando a 20000 rpm durante 4 min (SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012).

4.4. Análises reológicas

4.4.1. Caracterização do comportamento reológico

A determinação das características reológicas das soluções utilizadas para o preparo das emulsões e as formulações das emulsões (múltiplas ($A_1/O/A_2$), controle (O/A_2) e primárias (A_1/O)) foi realizada em reômetro rotativo marca Brookfield, modelo R/S plus SST 2000, programável, com interface acoplada para microcomputador, conectada ao programa RHEOCALC V 1.1.

Seguindo a metodologia adaptada de O'Regan e Mulvihill (2010) utilizou-se o sensor CC45 (cilindros concêntricos) com taxa de deformação variando de 0 a 300 s^{-1} , durante 2 min em rampa de subida e 2 min em rampa de descida, com medições realizadas

a cada 4 s. As análises foram realizadas no tempo de armazenamento 1 d e 4 d à 25 °C, a temperatura foi mantida por meio de um banho termostático.

Dois modelos reológicos clássicos, Newton, eq. 1 e Ostwald-de-Waele ou lei de potência, eq 2 foram ajustados para as curva experimentais obtidas, $\tau = f(\dot{\gamma})$.

$$\tau = \eta\dot{\gamma} \quad (1)$$

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (2)$$

Em que:

τ : Tensão de Cisalhamento (Pa);

η : Viscosidade absoluta (Pa.s);

$\dot{\gamma}$: Taxa de deformação (s^{-1});

K : Índice de Consistência (Pa.sⁿ);

n : Índice de comportamento ao escoamento (adimensional).

Para o cálculo da viscosidade aparente sob a aplicação de uma taxa de deformação constante, optou-se por utilizar a taxa de deformação de 100 s^{-1} a 25 °C com o objetivo de correlacionar possíveis alterações com a consistência avaliada pela equipe sensorial.

4.5. Análise Visual

4.5.1. Confirmação da formação das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e da emulsão controle (O/A₂)

Avaliou-se a microestrutura das emulsões em um microscópio confocal de varredura a laser (marca ZEISS, modelo LSM 510 META), segundo a metodologia de Schuster et. al. (2012). As amostras foram analisadas no tempo de armazenamento 1 d a fim de verificar a formação da estrutura característica de emulsões múltiplas. Para isso, foram diluídas 10 vezes, colocadas em lâminas de microscópio e cuidadosamente cobertas com uma lamínula de vidro, onde ocorreu a adição do corante vermelho do Nilo (10 μ L/ g de emulsão) para destacar a fase oleosa. A solução de corante utilizada (0,01% m/v do corante em polietileno-glicol) foi preparada de acordo com a metodologia de Akhtar et. al. (2014). Para excitar as moléculas deste corante utilizou-se um laser Argon / Krypton I (561 nm) (máxima absorção /emissão: 572/615 nm), a fluorescência emitida foi limitada por um filtro de eliminação de banda na faixa de 574-613 nm e o pinhole foi ajustado em 148 μ m.

4.5.2. Avaliação da microestrutura das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂), controle (O/A₂) e primárias (A₁/O)

Para a visualização da microestrutura das emulsões (múltiplas (A₁/O/A₂), controle (O/A₂) e primárias (A₁/O)) utilizou-se o microscópio (OLYMPUS BX-60) com um aumento de 40x e 100x. As amostras diluídas 10 vezes foram colocadas em lâminas de microscópio e cuidadosamente cobertas com uma lamínula de vidro e avaliadas no tempo 1 d e 4 d de armazenamento.

4.6. Caracterização Física

4.6.1. Determinação do diâmetro médio e polidispersidade das gotículas de óleo das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e emulsão controle (O/A₂)

Primeiramente, a microscopia de luz foi utilizada para visualizar as gotículas de óleo dispersas, em seguida com o software de imagem (ImageJ) obteve-se os dados da distribuição de tamanho. As amostras foram analisadas após armazenamento à 25 °C nos tempos 1 d e 4 d. Para uma medida precisa procedeu-se a caracterização de pelo menos duas alíquotas de cada amostra por uma contagem de aproximadamente 2000 a 2500 gotículas, em cada caso, utilizando o software (ImageJ). O índice de polidispersidade (PDI) das gotículas também foi calculado, uma vez que proporciona uma indicação da amplitude da distribuição do tamanho das gotículas (ou seja, um pequeno valor de PDI indica uma distribuição estreita).

4.6.2 Determinação do potencial zeta das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e da emulsão controle (O/A₂)

As amostras foram diluídas até obter uma fração de fase oleosa de 0,001% (WANG et al., 2011) e utilizou-se o equipamento Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd. Malvern, Worcestershire, RU) com um laser de HeNe (633 nm) e ângulo de detecção de 173° que baseia-se na medição da direção e da velocidade das gotas que se deslocam num campo elétrico aplicado, a partir do espalhamento de luz eletroforético. As medições foram realizadas a 25 °C ao longo do tempo de armazenamento 1, 2 3 e 4 d e os resultados expressos em mV utilizando a equação de Smoluchowski.

4.6.3. Determinação da transferência de NaCl entre as fases aquosas (interna e externa) das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂)

A condutividade elétrica das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) foi medida como forma de indicar a transferência de NaCl entre as fases aquosas (interna e externa). Para a emulsão controle (O/A₂) foram feitas leituras com o objetivo de verificar mudanças em seu comportamento. As amostras foram analisadas após armazenamento à 25 °C nos tempos 1, 2 3 e 4 d. O eletrodo do condutivímetro (modelo mCA 150, Tecnoyon) foi mergulhado em uma alíquota (15 ml) de cada formulação num tubo falcon de 50 mL. Os resultados foram expressos em mS/cm.

4.7. Avaliação da intensidade do gosto salgado das emulsão múltiplas (A₁/O/A₂) em comparação com a emulsão controle (O/A₂)

Para a análise sensorial foram avaliadas as emulsões múltiplas com 10, 15 ou 20% de fase interna, porém somente as que possuíam 3% do emulsificante PGPR. As outras amostras foram descartadas já que não foram observadas diferenças quando concentrações mais elevadas (4 e 5% m/m) de PGPR eram utilizadas nas emulsões com o mesmo conteúdo de fase interna e também por essas concentrações ocasionarem um gosto residual amargo nas amostras.

A avaliação da intensidade de percepção do gosto salgado e a consistência das amostras foi realizada no tempo 1 d, por 50 julgadores não treinados em cabines individuais e sob luz branca. A fim de verificar se haveria diferença na percepção do gosto salgado utilizou-se o teste de comparação múltipla tendo a emulsão controle (O/A₂), como amostra padrão (P) e esta amostra também foi apresentado junto com as emulsões múltiplas codificadas, desta forma foram avaliadas quatro formulações em relação ao padrão (P). As extremidades da escala utilizada variaram desde extremamente inferiores ao padrão (1) e extremamente superiores que o padrão (9) (Figura 8).

As amostras foram apresentadas em porções de 10 g acompanhadas de biscoito sem sal em copos de 30 mL de plástico, codificadas com números aleatórios de três dígitos e apresentados de maneira casualizada aos julgadores. A cada avaliação estes foram instruídos a ingerir um pedaço de maçã e em seguida enxaguar a boca com água para limpar o paladar e retirar resíduos de fase oleosa.

Nome: _____ Idade: _____ Data: _____

Você está recebendo uma amostra padrão (P) e 4 amostras codificadas. Prove as amostras da direita para a esquerda e compare com a amostra padrão (P) em relação ao GOSTO SALGADO e CONSISTÊNCIA. A cada avaliação coma um pedaço de maçã e enxague a boca com água e espere 30 segundos. Em seguida, identifique a intensidade do SABOR SALGADO e CONSISTÊNCIA pela escala abaixo.

CÓDIGO DA AMOSTRA _____

<input type="checkbox"/> Extremamente mais salgado que o controle	<input type="checkbox"/> Extremamente mais consistente que o controle
<input type="checkbox"/> Muito mais salgado que o controle	<input type="checkbox"/> Muito mais consistente que o controle
<input type="checkbox"/> Moderadamente mais salgado que o controle	<input type="checkbox"/> Moderadamente mais consistente que o controle
<input type="checkbox"/> Ligeiramente mais salgado que o controle	<input type="checkbox"/> Ligeiramente mais consistente que o controle
<input type="checkbox"/> Salgado igual ao controle	<input type="checkbox"/> Consistente igual ao controle
<input type="checkbox"/> Ligeiramente menos salgado que o controle	<input type="checkbox"/> Ligeiramente menos consistente que o controle
<input type="checkbox"/> Moderadamente menos salgado que o controle	<input type="checkbox"/> Moderadamente menos consistente que o controle
<input type="checkbox"/> Muito menos salgado que o controle	<input type="checkbox"/> Muito menos consistente que o controle
<input type="checkbox"/> Extremamente menos salgado que o controle	<input type="checkbox"/> Extremamente menos consistente que o controle

Figura 8. Ficha utilizada na avaliação sensorial das amostras de emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e controle (O/A₂).

4.8. Análise estatística

Para a avaliar o comportamento das emulsões ao longo dos dias de armazenamento, os dados foram submetidos à análise de regressão para a seleção do modelo de melhor ajuste que foi escolhido baseado na análise da falta de ajuste, significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste “t” adotando-se 5 % de probabilidade, do coeficiente de determinação (R^2) e do fenômeno em estudo.

A comparação entre as diferentes emulsões para o mesmo dia de avaliação foi realizada por análise de variância (ANOVA) utilizando teste F e teste de Tukey para comparação de médias ao nível de 5 % de probabilidade. As correlações pertinentes foram realizadas utilizando o coeficiente de correlação de Pearson. Para todas as análises estatísticas utilizou-se o programa SAS Institute® (Statistical Analysis System), versão 9.2, licenciado para Universidade Federal de Viçosa.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do comportamento reológico das soluções interna, externa e oleosa

Verificou-se a presença de tixotropia para a solução interna, ou seja, a diminuição da viscosidade mesmo sob valores de taxa de deformação constante ($300 \text{ s}^{-1}/ 5 \text{ min}$). O valor do índice de comportamento ao escoamento (n) foi de 0,59 desta forma, possui um comportamento não Newtoniano e pseudoplástico (Figura 9), uma vez que a viscosidade aparente diminui com o aumento da taxa de deformação aplicada (SCHRAMM, 2006). Devido à presença de gelatina em sua constituição possui a capacidade de formar géis que contêm ligações cruzadas ou “zonas de junção” formadas pelo retorno parcial à configuração “ordenada” de tripla hélice, semelhantes às sequências do colágeno original (RENARD; VAN DE VELDE; VISSCHERS, 2006). Desta forma, a tixotropia encontrada foi ocasionada pela quebra do gel (HOLDSWORTH, 1993).

A solução externa também possui um comportamento de fluido não newtoniano e pseudoplástico, índice de comportamento (n) igual a 0,40 (Figura 10), porém não apresentando tixotropia. Devido a sua estrutura molecular pouco ramificada, a guar tem a propriedade de formar soluções bastante viscosas, uma vez que a proporção de galactopiranosose da molécula ligada à cadeia principal dificulta a aproximação das moléculas de polissacarídeos, evitando que se agreguem e tornando as soluções bastante estáveis (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

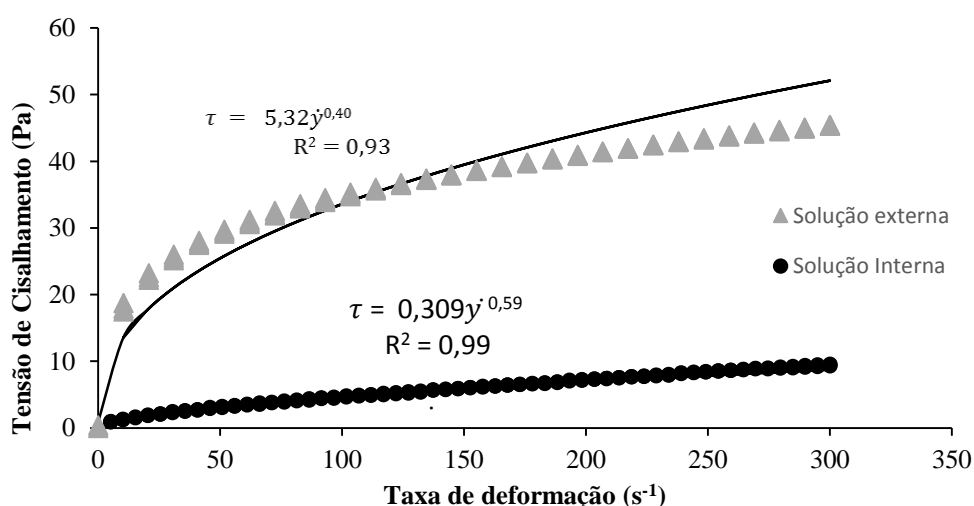


Figura 9. Reogramas com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s^{-1}) para a solução aquosa interna (após a quebra da tixotropia) e externa a 25 °C. Rampa ascendente e descendente. Linhas: Modelo de Ostwald de Waele

De acordo com Ribeiro et al. (2004), a goma guar é normalmente utilizada em concentrações menores que 1 %, m/m, devido a sua capacidade de fornecer dispersões de alta viscosidade. Davidson et al. (1995), ao investigarem a influência da goma guar em misturas de sorvetes, encontraram comportamento pseudoplástico e concluíram que em maiores concentrações, o sorvete se afasta do comportamento Newtoniano (SANTIAGO; MONTEALVO; FERIA, 2001).

Quando comparadas as soluções observa-se que a fração externa possui um comportamento mais pseudoplástico com um índice de escoamento (0,40) mais afastado de 1 e também um aumento da viscosidade em relação a solução interna. Para a formação de emulsões múltiplas este aumento da viscosidade da fase contínua (externa) é desejável uma vez que proporciona uma diminuição dos processos de instabilidade normalmente verificados durante o armazenamento, por exemplo, a cremação e coalescência de gotas (DICKINSON, 2009). Essa diminuição é explicada devido à diminuição do movimento browniano e o efeito da agitação térmica das gotículas de óleo da fase dispersa, reduzindo a frequência e a intensidade do número de colisões efetivas entre as mesmas (NETZ; ORTEGA, 2002). Berendsen, et. al. (2015) utilizaram um conjugado de proteína do soro de leite e carboximetil celulose como agente emulsificante hidrofílico de emulsões múltiplas ocorrendo um aumento significativo na viscosidade da fase aquosa externa, tais autores consideraram este um fator importante para reduzir os fenômenos de cremação. Em seu trabalho Li e Zhang (2015) aumentaram a viscosidade da fase aquosa externa a partir da utilização de goma xantana para evitar que a coalescência das gotículas de óleo.

Pelo reograma (Figura 10) representando as frações oleosas com diferentes concentrações de PGPR, percebe-se um comportamento Newtoniano. As viscosidades obtidas foram 0,065; 0,070 e 0,073 Pa.s, para as formulações com 3; 4 e 5% de PGPR, respectivamente.

Os óleos vegetais frescos são líquidos newtonianos com alta viscosidade, devido à sua estrutura de cadeia longa (MULLER, 1973). Caracterizados por sua composição complexa de triglicerídeos com comprimentos de cadeia distintos, a maioria podem formar emulsões múltiplas estáveis em associação com grandes emulsionantes moleculares lipofílicos e hidrofílicos (SU et al., 2006; SU; FLANAGAN; SINGH, 2008) e servir como uma membrana (LUTZ, et. al., 2009) afetando a velocidade de difusão da espécie hidrofílica retida no interior da fase aquosa interna para a exterior (BONNET et al., 2009; GARTI, 1997; WEISS; MUSCHIOLIK de 2007).

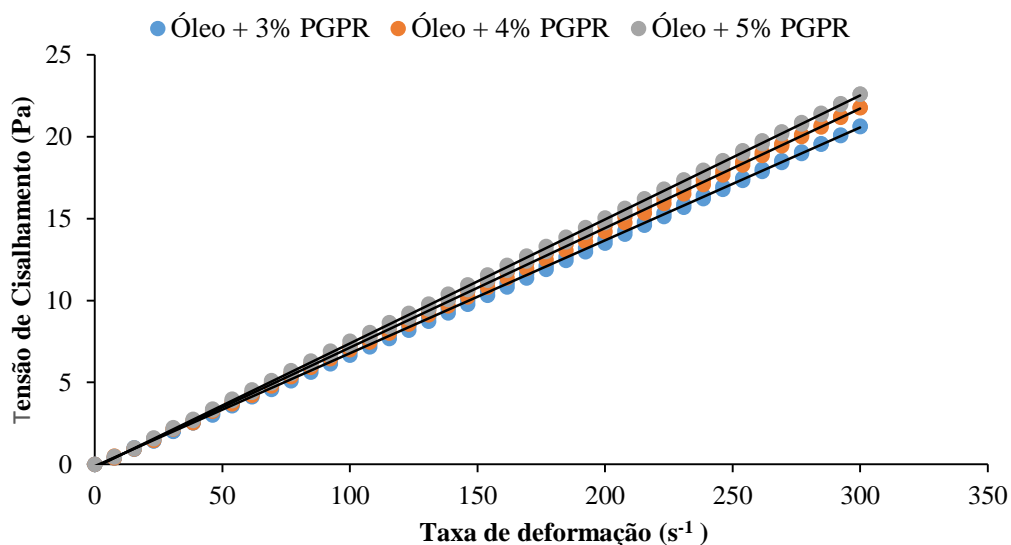


Figura 10. Reograma com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s^{-1}) para a solução oleosa com diferentes concentrações do emulsificante PGPR (3, 4 ou 5%, m/m) a 25 °C. Rampa ascendente e descendente. Linhas: Modelo de Newton.

5.2. Caracterização das emulsões primárias

5.2.1. Microestrutura das emulsões primárias (A₁/O)

Na Figura 11 estão representadas as emulsão primárias (A₁/O) com 25 % e 40 % de fase dispersa, respectivamente, possuindo 5% do emulsificante PGPR. Apenas a formulação (5%, PGPR) é mostrada, uma vez que resultados semelhantes foram encontrados para as outras concentrações (3 % e 4 %, m/m) e fase dispersa (33%).

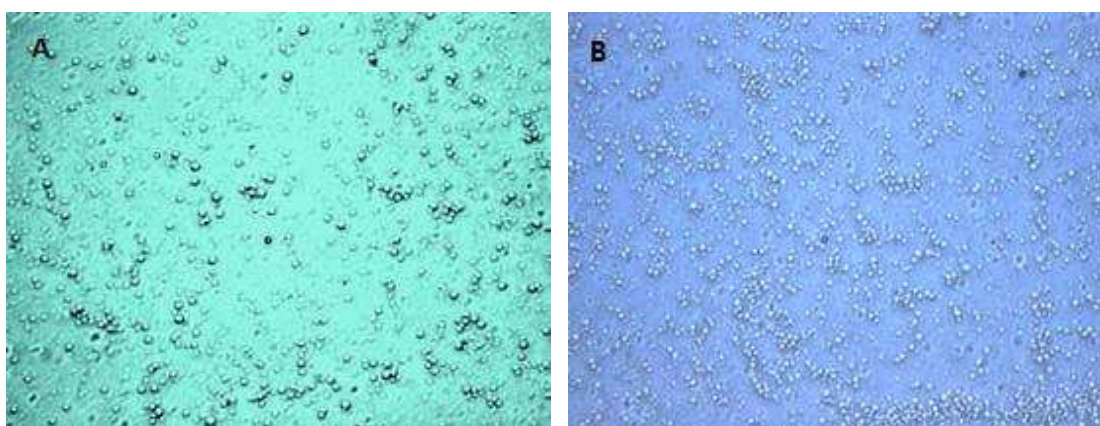


Figura 11. Fotomicrografias obtidas por microscopia de luz das emulsões primárias (A₁/O), preparadas utilizando 25% (A) e 40 % (B) de fase dispersa e concentração de 5% de PGPR no tempo de armazenamento 1 d a 25 °C. Barras de escala representam 10 μ m em 100 \times ampliações.

Um menor tamanho de gotículas foi observado para as emulsões com volumes superiores de fase dispersa (40 e 33%), resultados semelhantes foram obtidos para maiores concentrações de PGPR e mantendo fixo os volumes de fase dispersa. Matos et. al. (2013) também concluíram que o tamanho das gotículas era dependente da proporção de fase dispersa e dos teores de PGPR, presentes nas formulações de emulsões do tipo água em óleo. Segundo Schramm (2005) a presença de um agente tensoativo determina o tamanho final das gotículas e reduz a quantidade de energia necessária para a sua formação.

Taylor (2011) obteve sistemas mais estáveis com PGPR quando comparado com os constituídos por diferentes tipos de Span. Para a produção de emulsões múltiplas a estabilidade da emulsão primária (A/O) deve ser assegurada, essa por sua vez depende do tamanho das gotículas e proporção de fase dispersa (MATOS et. al., 2013), logo, a escolha adequada dos emulsificantes utilizados é fundamental para a produção de sistemas estáveis.

5.2.2. Comportamento reológico das emulsões primárias (A₁/O)

Os reogramas foram registrados para cada emulsão primária, tendo a formação de 3 grupos. A nomenclatura atribuída para cada um encontra-se na Tabela 5.

Tabela 5. Classificação das diferentes formulações de emulsões primárias (A₁/O), utilizadas para a elaboração das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂).

Grupo	Fase dispersa (%)	PGPR (%)	Nomenclatura
1	25	3	G1.25.3
	25	4	G1.25.4
	25	5	G1.25.5
2	33	3	G2.33.3
	33	4	G2.33.4
	33	5	G2.33.5
3	40	3	G3.40.3
	40	4	G3.40.4
	40	5	G3.40.5

A Figura 12 representa a relação entre a tensão de cisalhamento (τ) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) para todas concentrações de fase dispersa e do emulsificante PGPR. Observa-se que as amostras apresentaram uma relação linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação portanto podem ser classificadas como

Newtonianas, possuindo viscosidade absoluta constante e independentemente da variação da taxa de deformação (SCHRAMM, 2006).

De acordo com Domian et. al. (2015) emulsões com um baixo teor de fase dispersa (< 50%) (Pal, 1996) são geralmente fluidos newtonianos porém, para concentrações mais elevadas este comportamento não é encontrado. Segundo Holdsworth (1971) para emulsões com elevados teores de fase dispersa com o aumento do gradiente de velocidade as cadeias moleculares tendem a se alinhar paralelamente às linhas de corrente do fluxo, diminuindo a resistência ao escoamento. Desta forma, quando os valores de tensão de cisalhamento aumentam ocorre uma ordenação da estrutura o que reduz a viscosidade aparente.

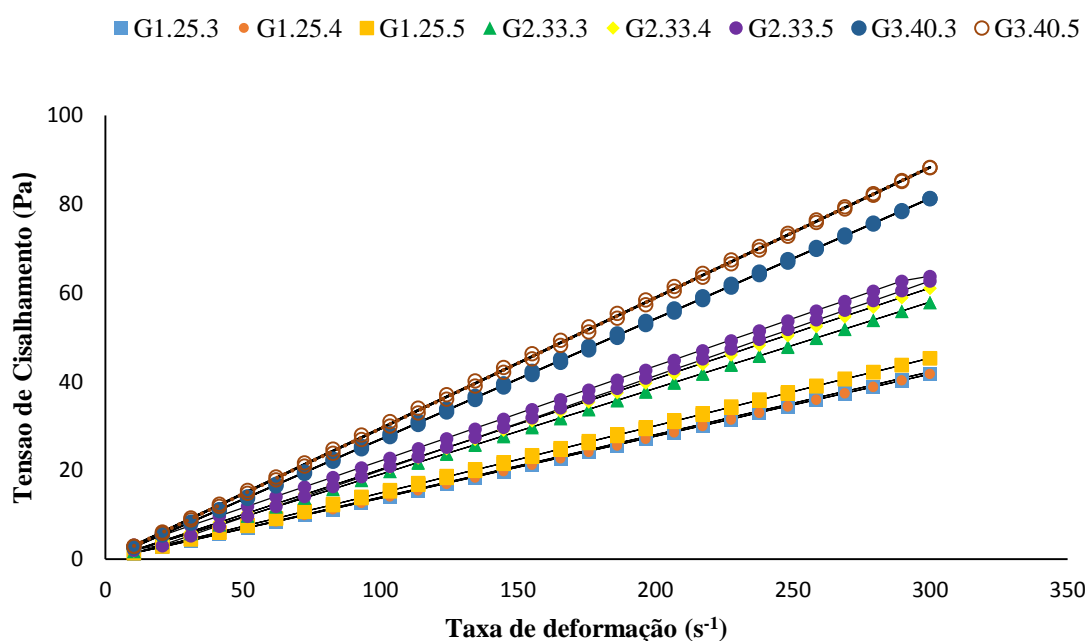


Figura 12. Reogramas com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s⁻¹). Emulsões água-em-óleo preparadas utilizando diferentes volumes e fase dispersa (20, 33 e 40 %, m/m) e concentrações de PGPR (3, 4 e 5%, m/m) a 25 °C. Linhas: modelo de Newton.

Pela Figura 13 observa-se que foi encontrada uma forte correlação linear e positiva, coeficiente de Pearson de 0,966, entre a viscosidade e a concentração de fase dispersa das emulsões primárias analisadas.

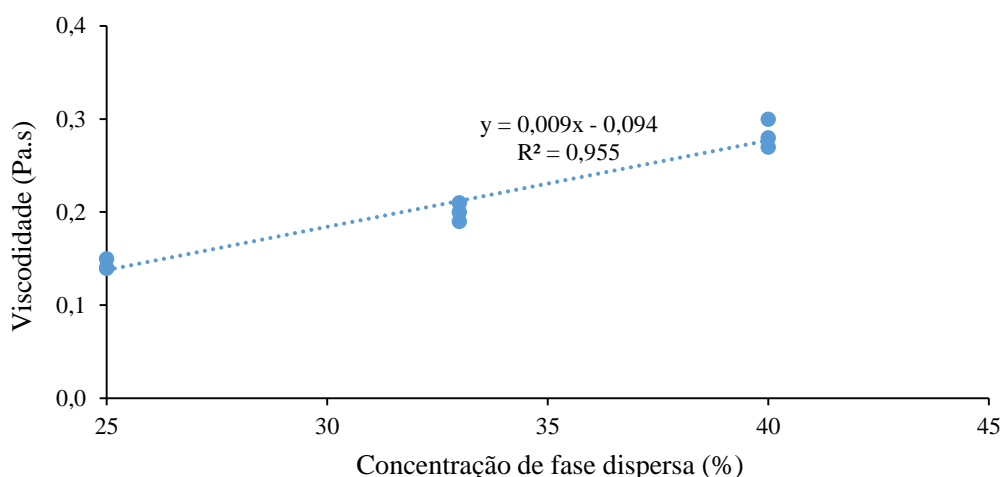


Figura 13. Correlação entre a viscosidade e a concentração de fase dispersa das emulsões primárias (A₁/O/).

Os parâmetros resultantes do ajuste do modelo de Newton estão apresentados na Tabela 6, os valores do coeficiente R² foram superiores a 0,97 indicando bons ajustes aos dados experimentais. Observa-se um aumento significativo dos valores de viscosidade para as emulsões com maiores volumes de fase dispersa. Porém a utilização de diferentes concentrações de PGPR, dentro de cada grupo, não alterou significativamente ($p > 0,05$) os valores da viscosidade. Somente a emulsão G3.40.5 variou estatisticamente em relação a formulação G3.40.3 e G3.40.4.

Tabela 6. Valores médios e desvios-padrão das estimativas dos parâmetros do modelo de Newton utilizados para a caracterização reológica das emulsões primárias (A₁/O) a 25 °C.

Modelo	Amostra	Viscosidade Absoluta	
		η (Pa.s)	R ²
Newton	G1.25.3	0,14 ± 0,01 e	0,99
	G1.25.4	0,14 ± 0,02 e	0,99
	G1.25.5	0,15 ± 0,01 e	0,98
	G2.33.3	0,19 ± 0,01 d	0,99
	G2.33.4	0,20 ± 0,01 cd	0,98
	G2.33.5	0,21 ± 0,02 c	0,99
	G3.40.3	0,27 ± 0,02 b	0,99
	G3.40.4	0,28 ± 0,01 ab	0,98
	G3.40.5	0,30 ± 0,02 a	0,99

* Médias acompanhadas com letras minúsculas iguais não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

O aumento da proporção de fase dispersa das emulsões afeta fortemente sua reologia já que o grande aumento de número de gotas e a diminuição uniforme no tamanho das mesmas aumentam a viscosidade da emulsão formada. Desta forma, as emulsões que apresentaram em sua constituição maiores concentrações de fase dispersa e gotículas de óleo com diâmetros menores, os valores superiores observados para a viscosidade se devem, provavelmente, a esses fatores

Com o objetivo de verificar os efeitos da fase dispersa (água) e diferentes concentrações de surfactante no comportamento reológico das emulsões (A/O). Pal (1997) também verificou valores superiores de viscosidade utilizando volumes crescentes de fase dispersa. Segundo o autor este aumento é devido a diminuição do diâmetro das gotículas, tendo assim um maior número dessas por unidade de volume e menor distância de separação entre elas. Desta forma, observou um aumento das interações gotícula-gotícula e da agregação (floculação) tornando a emulsão mais resistente ao escoamento. SCHUCH; GARY LEAL; SCHUCHMANN, 2013) ao estudarem o processo de dissolução e liberação de gotículas de água internas em emulsões múltiplas (A/O/A) verificou o aumento da viscosidade das emulsões primárias (A/O) para diferentes teores de fase dispersa, verificando uma correlação direta entre o conteúdo de fase dispersa Φ e a viscosidade η

5.3. Análise das emulsões múltiplas (A₁/O/A₁) e emulsão controle (A₁/O)

5.3.1 Análise Visual

5.3.1.1. Imagens de microscopia confocal de varredura a laser das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e emulsão controle (O/A₂)

As imagens obtidas por microscopia confocal de varredura a laser (MCVL), estão representadas pela Figura 14. A fase oleosa foi tingida com corante vermelho do Nilo que emite fluorescência vermelha.

Para a confirmação da formação de emulsões múltiplas, foi feita a análise somente da formulação contendo 20% fase interna, 30% de fase oleosa e 50 % de fase aquosa externa, utilizando 5% do emulsificante PGPR. Na Figura 14A percebe-se que todas as gotículas possuem a estrutura característica de uma emulsão múltipla que consiste em pequenas gotas de água distribuídas uniformemente no interior de uma fração oleosa. Na Figura 14B observa-se a ausência dessa estrutura possuindo a morfologia de uma emulsão simples.

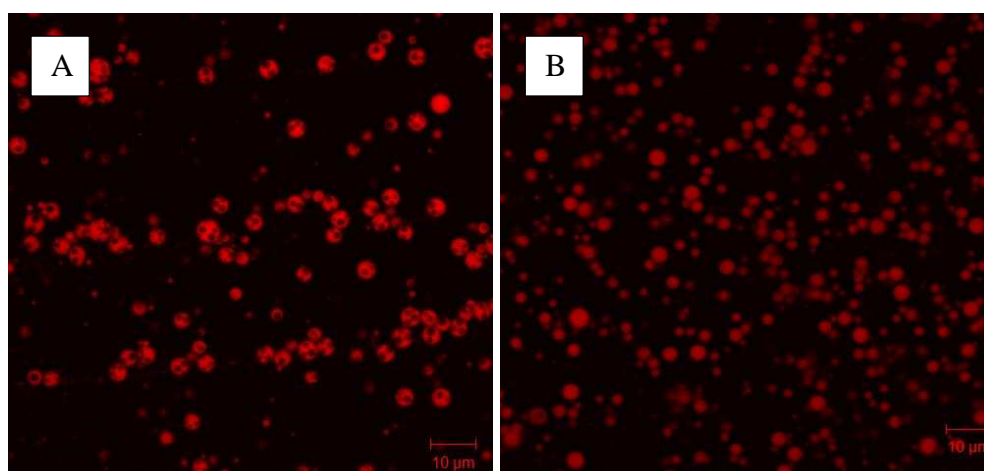


Figura 14. Fotomicrografias obtidas por microscopia confocal de varredura a laser (MCVL) da emulsão múltipla (A) e emulsão controle (B), no tempo de armazenamento 1 d. Corante vermelho do Nilo foi utilizado para tingir a fase oleosa. Barras de escala representam 10 µm em 40 × ampliações.

5.3.1.2. Imagens de microscopia óptica das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e emulsão controle (O/A).

As emulsões múltiplas analisadas possuíam as seguintes formulações (10:30:60; 15/30/55 e 20/30/50 m/m), com diferentes concentrações do emulsificante PGPR (3, 4 e 5%, m/m_{oleosa}). Desta forma, foram divididas em três grupos; Grupo 1 (com 10% de fase interna); Grupo 2 (com 15% de fase interna) e Grupo 3 (com 20% de fase interna) (Tabela 7).

Tabela 7. Classificação das diferentes formulações de emulsões múltiplas (A₁/O/A₂).

Grupo	Fase dispersa (%)	PGPR (%)	Nomenclatura
1	10	3	G1.10.3
	10	4	G1.10.4
	10	5	G1.10.5
2	15	3	G2.15.3
	15	4	G2.15.4
	15	5	G2.15.5
3	20	3	G3.20.3
	20	4	G3.20.4
	20	5	G3.20.5

A partir das fotomicrografias das emulsões múltiplas (Figuras 15, 16 e 17) pode-se observar um elevado índice de polidispersidade das gotículas de óleo dispersas. As

gotículas internas de água foram densamente agrupadas e distribuídas uniformemente no interior da fase oleosa, devido ao inchaço na presença de gelatina e sal. Após 4 dias de armazenamento é possível observar o aumento do tamanho das gotículas de óleo para todas as formulações e pelas imagens apresentadas verifica-se uma aproximação destas, evidenciando um processo de coalescência e floculação, respectivamente.

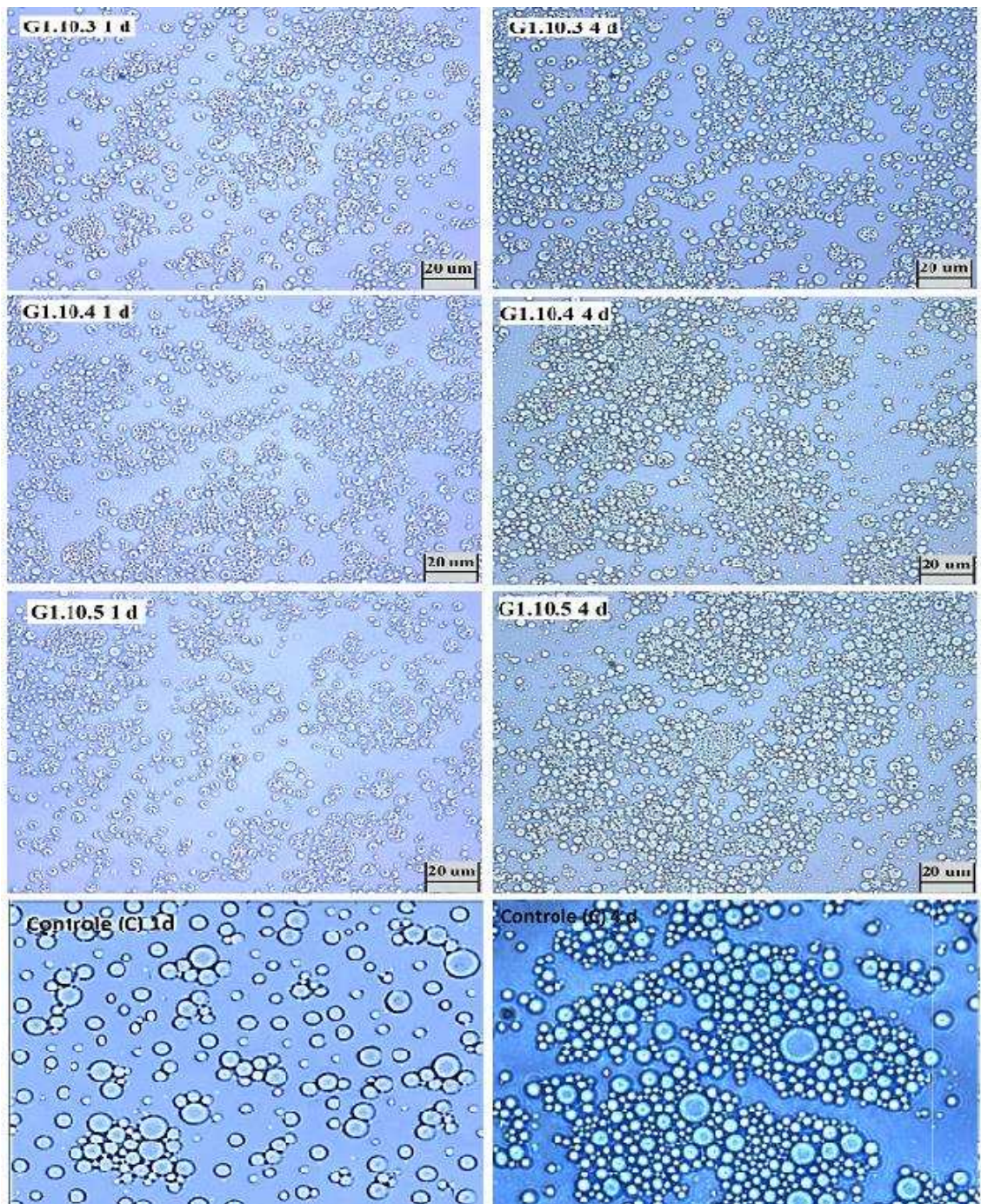


Figura 15. Imagens de microscopia de luz das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2) no tempo 1 d e 4 d de armazenamento. Barras de escala representam 20 μm em $40\times$ ampliações.

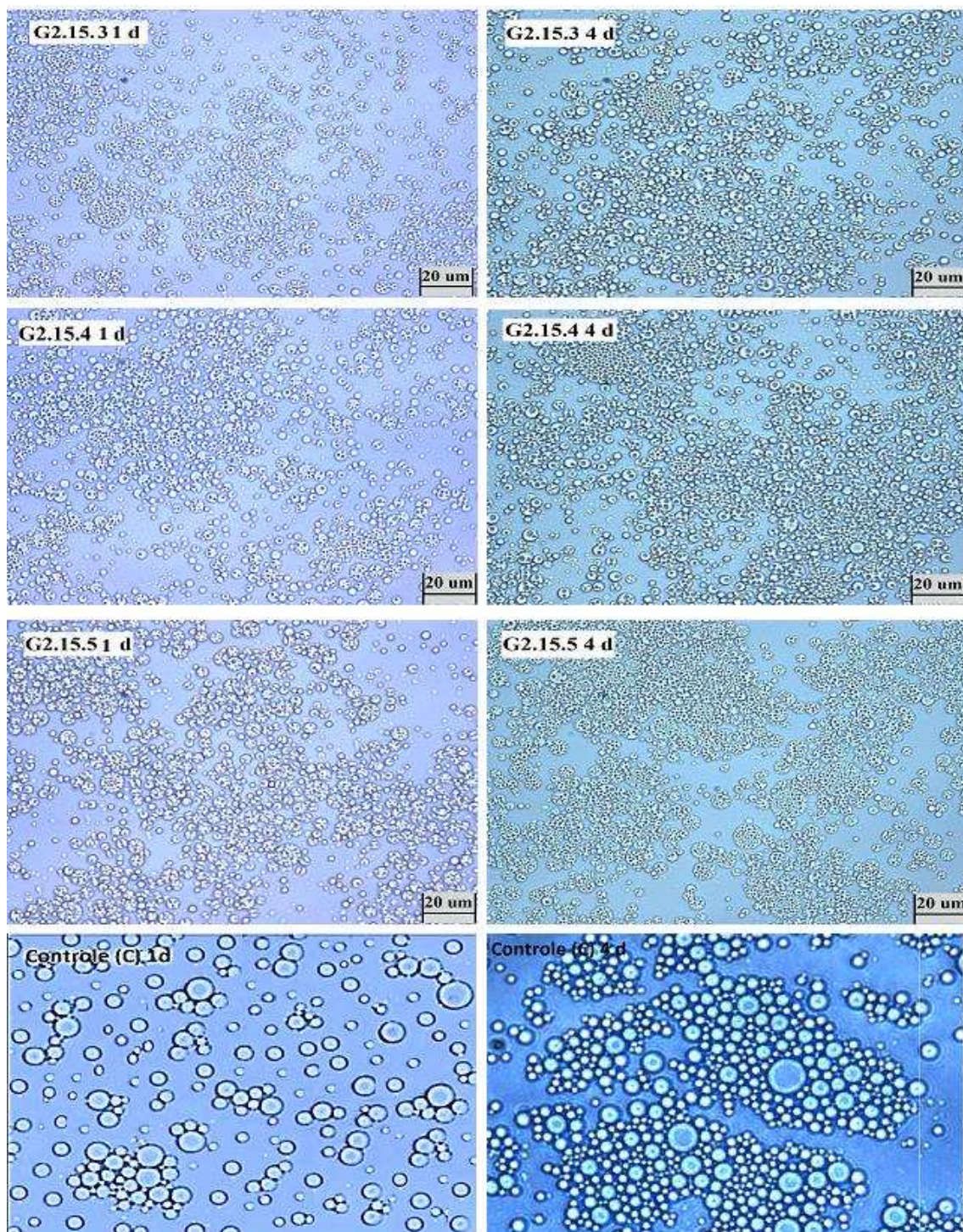


Figura 16. Imagens de microscopia de luz das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e da emulsão controle (O/A₂) no tempo 1 d e 4 d de armazenamento. Barras de escala representam 20 µm em 40 × ampliações.

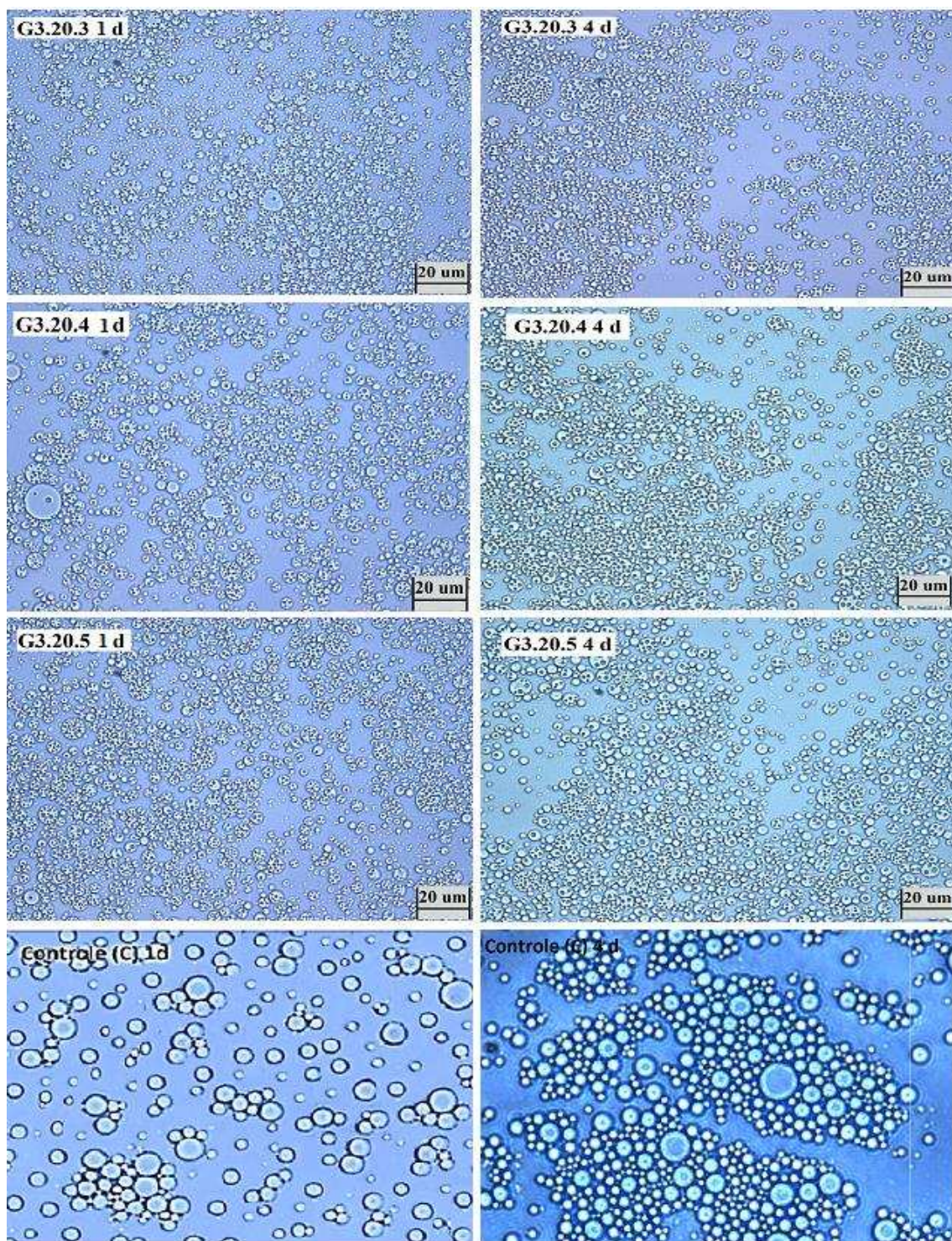


Figura 17. Imagens de microscopia de luz das emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2) no tempo 1 d e 4 d de armazenamento. Barras de escala representam 20 μm em 40 \times ampliações.

5.3.2. Caracterização Física

5.3.2.1. Determinação do diâmetro médio e polidispersidade das gotículas de óleo dispersas nas emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e controle (O/A₂)

Independentemente da concentração de fase interna as emulsões múltiplas exibiram distribuições unimodais, embora com diferenças na largura das curvas (Figura 18). Resultados similares também foram relatados em trabalhos utilizando PGPR e caseinato de sódio, respectivamente, como emulsionantes lipofílicos e hidrofílicos (COFRADES et al., 2013; FRASCH-MELNIK et al., 2010; BOU; COFRADES; JIMÉNEZ-COLMENERO, 2014). ADITYA et. al. (2015) ao elaborar emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) com formulação similar a utilizada neste trabalho obtiveram gotículas com diâmetro médio (d₄₃) de aproximadamente 3,88 µm.

Para o tempo de armazenamento 1 d as emulsões contendo o mesmo volume de fase interna apresentaram diâmetros médio e distribuições de tamanho semelhantes (Tabela 8 e Figura 18), portanto o uso de diferentes concentrações de PGPR não influenciou os resultados obtidos. Porém, quando comparados os diferentes tratamentos (variação do conteúdo de fase interna) estes apresentaram diferenças significativas entre si. O tratamento controle (C) não diferiu das amostras contendo 20% de fase interna, porém apresentou diferenças significativas quando comparados as demais emulsões.

Tabela 8. Tamanho médio do diâmetro das gotículas de óleo das formulações de emulsão múltipla (A₁/O/A₂) e da emulsão controle (O/A₂).

Amostra	Tempo (dias)			
	1		4	
	Diâmetro médio		Diâmetro médio	
	µm	PDI	µm	PDI
G1.10.3	4,5 ± 0,32 Aa	2,1 ± 0,31	4,6 ± 0,30 Aba	2,0 ± 0,35
G1.10.4	4,5 ± 0,34 Aa	1,7 ± 0,29	4,5 ± 0,29 Aba	1,5 ± 0,38
G1.10.5	4,4 ± 0,45 Aa	1,6 ± 0,32	4,6 ± 0,31 Aa	1,4 ± 0,36
G2.15.3	3,9 ± 0,29 Ab	2,1 ± 0,15	4,4 ± 0,27 Bbc	1,9 ± 0,27
G2.15.4	3,8 ± 0,29 Ab	2,0 ± 0,18	4,3 ± 0,26 Bdc	1,8 ± 0,32
G2.15.5	3,9 ± 0,30 Ab	2,1 ± 0,20	4,3 ± 0,27 Bbc	2,0 ± 0,25
G3.20.3	3,5 ± 0,29 Ac	2,2 ± 0,25	4,2 ± 0,28 Bdc	1,9 ± 0,24
G3.20.4	3,5 ± 0,29 Ac	2,7 ± 0,27	4,1 ± 0,30 Bd	1,9 ± 0,30
G3.20.5	3,6 ± 0,30 Ac	2,2 ± 0,19	4,2 ± 0,29 Bdc	1,8 ± 0,26
C	3,8 ± 0,35 Ab	2,0 ± 0,40	4,2 ± 0,38 Bb	2,0 ± 0,42

*Letras maiúsculas comparam ao longo do tempo e letras minúsculas comparam os tratamentos.

*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

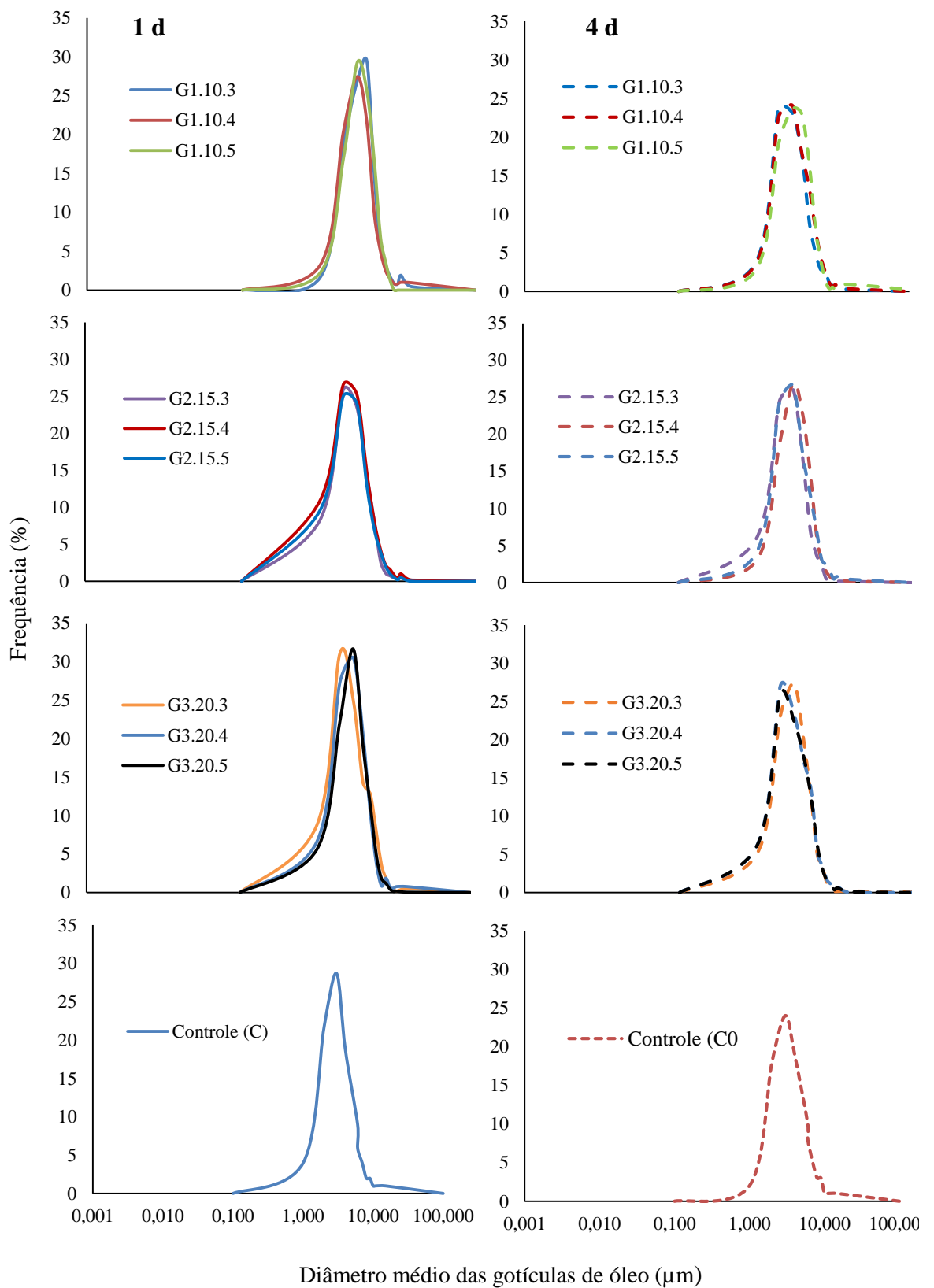


Figura 18. Distribuição do tamanho das gotículas de óleo das formulações de emulsão múltipla ($A_1/O/A_2$) e da emulsão controle (O/A_2) no tempo de armazenamento 1d e 4d a 25 °C.

As emulsões múltiplas avaliadas neste trabalho possuíam a fração oleosa fixa (30%) para todos os tratamentos e diferentes volumes de fase interna (10, 15 e 20%), logo, foram constituídas por diferentes proporções de fase dispersa (40, 45 e 50%).

No tempo de armazenamento 1 d é possível verificar que os tratamentos com concentrações elevadas de fase dispersa (emulsão primária) possuíam gotículas de óleo com menores diâmetros e curvas de distribuição mais largas (Tabela 8 e Figura 18). Segundo Cho e Kamal (2002), durante o processo de emulsificação a taxa de deformação e tensão de cisalhamento aumentam com a elevação das concentrações de fase dispersa, resultando em uma diminuição do tamanho das gotículas.

Após 4 dias de armazenamento foram observadas mudanças nas curvas de distribuição do tamanho (tornaram-se mais estreitas) e um aumento significativo do diâmetro médio das gotículas de óleo das emulsões múltiplas com concentrações de 15 e 20% de fase interna. Essas emulsões quando comparadas com os outros tratamentos possuíam um maior conteúdo de energia livre de gibbs, devido a presença de e maiores volumes de fase interna e gotículas com menores diâmetros (aumento da área interfacial total do sistema) (SAPEI; NAQVI; ROUSSEAU, 2012).

Desta forma, os processos que levam à mudanças no tamanho da distribuição das gotículas e/ou a estrutura da emulsão, ocorreram de maneira mais acentuada e acelerada nessas formulações, com o objetivo de diminuir a área interfacial e a energia livre de Gibbs. Dentre ele pode-se citar a coalescência e a maturação de Ostwald os quais ocasionam o aumento das gotículas contribuindo assim para as mudanças observadas na Figura 18. As emulsões múltiplas em geral apresentaram uma boa estabilidade macroscópica, apesar do aumento do diâmetro médio das gotículas e das mudanças nas curvas de distribuição do tamanho, não sendo observada a separação de fases ao longo do tempo.

5.3.2.2. Comportamento reológico

A partir da análise da Figura 19 que representa a relação entre a tensão de cisalhamento (τ) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) para todas concentrações de fase dispersa e do emulsificante PGPR utilizados na elaboração das emulsões múltiplas é possível observar uma diminuição da viscosidade aparente com o aumento da taxa de deformação, apresentando uma relação não linear, logo, estas emulsões possuem comportamento de fluidos pseudoplástico.

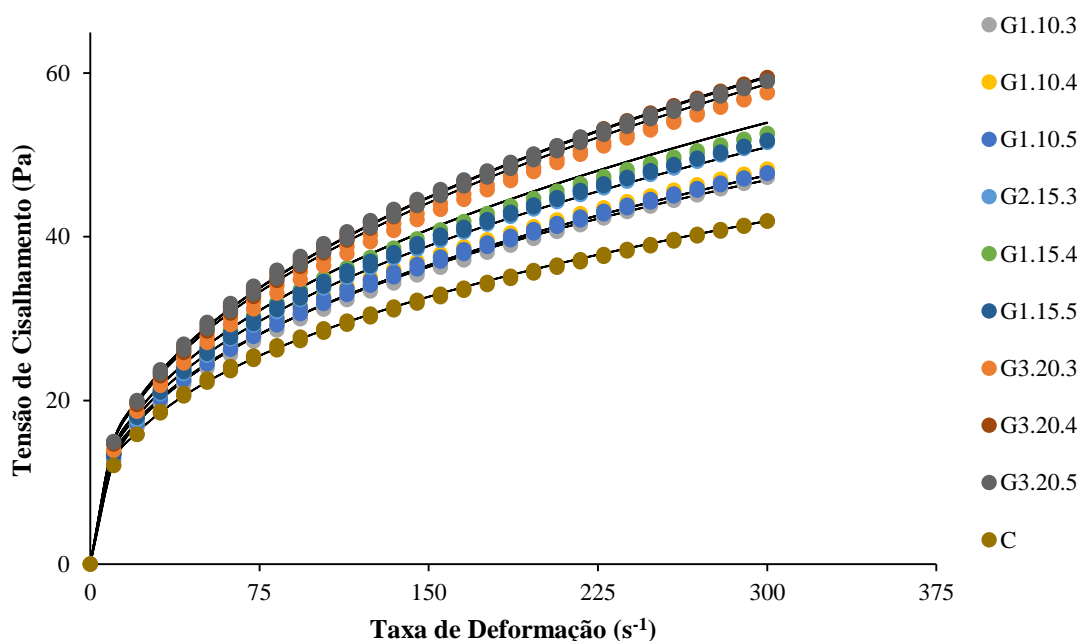


Figura 19. Reogramas com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s^{-1}). Para as emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e emulsão controle (A_1/O), no quarto dia de armazenamento a 25 °C. Linhas: modelo de Ostwald-de-Waele.

As emulsões constituídas por elevadas concentrações de fase dispersa são conhecidas por apresentarem um comportamento não-newtoniano e pseudoplástico (SCHUCH; GARY LEAL; SCHUCHMANN, 2014; MAYSON, 1999), devido ao rearranjo de gotículas no fluido, a fim de minimizar o atrito (MAYSON, 1999). Li e zhang (2015) ao estudarem a influência de sulfato de magnésio, goma xantana e diferentes proporções de óleo na reologia das emulsões múltiplas, também encontraram um comportamento pseudoplástico para os sistemas avaliados.

Os parâmetros do modelo de Ostwald Waele ajustados para os dados experimentais estão apresentados na Tabela 9. Os valores do coeficiente R^2 foram superiores a 0,97, indicando bons ajustes aos dados experimentais. Ao analisar o comportamento do índice de escoamento (n) percebe-se que este variou de 0,38 a 0,42

(modelo de melhor ajuste), valores inferiores a 1, portanto as emulsões analisadas podem ser classificadas como não-newtonianas.

Tabela 9. Valores médios e desvios-padrão das estimativas dos parâmetros do modelo de regressão de Newton e Ostwald-de-Waele, utilizados para a caracterização reológica das formulações de emulsões primárias (A₁/O) a 25 °C.

Modelo	Tratamento				
		K (Pa.s ⁿ)	n	R ²	μ _a (Pa.s)
Ostwald de Waele (Lei de Potência)	G1.10.3	5,44 ± 0,16 a	0,38 ± 0,001	0,98	0,32 ± 0,001 ab
	G1.10.4	5,44 ± 0,07 ab	0,37 ± 0,001	0,99	0,32 ± 0,002 ab
	G1.10.5	5,69 ± 0,05 bc	0,37 ± 0,001	0,98	0,32 ± 0,01 ab
	G1.15.3	5,51 ± 0,04 bdc	0,39 ± 0,001	0,99	0,33 ± 0,001 ab
	G1.15.4	5,51 ± 0,08 abc	0,40 ± 0,002	0,98	0,34 ± 0,001 b
	G1.15.5	5,51 ± 0,06 bdc	0,40 ± 0,002	0,98	0,33 ± 0,002 ab
	G1.20.3	5,74 ± 0,05 c	0,41 ± 0,001	0,98	0,40 ± 0,002 c
	G1.20.4	5,66 ± 0,02 abc	0,41 ± 0,001	0,99	0,39 ± 0,01 c
	G1.20.5	5,75 ± 0,01 c	0,42 ± 0,001	0,98	0,39 ± 0,01 c
	C	5,38 ± 0,08 d	0,36 ± 0,002	0,98	0,31 ± 0,003 d

* Médias acompanhadas com letras minúsculas iguais não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

A formulação controle (C) diferiu dos demais tratamentos e apresentou um menor valor para a viscosidade aparente (0,31 Pa.s), a ausência das gotículas aquosas no interior da fração oleosa pode ter proporcionado essa diminuição observada. Os resultados encontrados estão de acordo com Pal e Paul (2011) o qual afirmam que a viscosidade de emulsões múltiplas é mais elevada do que a viscosidade de emulsões simples com teores de gordura similares.

Os tratamentos com 20% de fase interna (G3.20.3; G3.20.4 e G3.20.5), apresentaram um aumento significativo da viscosidade aparente quando comparados com as formulação controle (C) e compostas por 10 e 15%, fase interna (G1.10.3; G1.10.4; G1.10.5 e G2.15.3; G2.15.4 G2.15.5), as quais não diferiram entre si (p>0,05).

Os resultado obtidos podem ser explicados devido ao aumento da concentração de fase aquosa interna e conseqüentemente de fase dispersa (Fase aquosa interna + Fase oleosa) nessas formulações (G3.20.3; G3.20.4 e G3.20.5) e também por essas amostras apresentarem gotículas de óleo com tamanhos inferiores. De acordo com Li e Zhang (2015) a fase dispersa de uma emulsão múltipla em si é uma emulsão constituída por gotículas de agua dispersas na fase oleosa (A/O). Segundo Pal e Paul (1992) a viscosidade das emulsões é influenciada pela fração volumétrica da fase dispersa, tamanho médio e distribuição do tamanho das gotículas, dentre outros fatores. Porém a fração volumétrica

da fase dispersa é o fator que mais se destaca, em concentrações superiores de tal fase tem-se um aumento do número de gotículas e da área interfacial, conseqüentemente ocorre uma maior resistência ao fluxo de escoamento e dissipação de energia, aumentando a viscosidade do sistema.

Diferentes trabalhos que estudaram a estabilidade de emulsões múltiplas também relataram este fato, sugerindo que essa alteração da viscosidade está relacionada com proporção de fase aquosa externa (NAKHARE; VYAS, 1996; FERRARI, 2002) ou ainda, que o aumento do volume da fase externa da emulsão múltipla diminui a viscosidade aparente (VASILJEVIC et al., 2005).

Segundo Bonnet et. al. (2009) a viscosidade de uma emulsão múltipla depende da natureza e do comportamento dos biopolímeros na solução da fase contínua, do arranjo destes na superfície, e a proporção de água na fase aquosa externa. Em seus estudos sobre a estabilidade destas emulsões por meio do controle do tamanho das gotículas e da taxa de liberação de magnésio (presente na fase aquosa interna) verificaram uma diminuição da viscosidade dos sistemas a partir do aumento da proporção de fase externa devido à difusão de magnésio para esta fase. Quando a concentração de fase aquosa externa for elevada, as gotículas da emulsão são afastadas uma das outras, com isso, a viscosidade das emulsões múltiplas é relativamente baixa. Quando a proporção de água na fase aquosa exterior diminui, a distância entre as gotículas se tornou menor e o valor de viscosidade aumentou (LUTZ et. al., 2009).

Em relação ao tamanho e distribuição do tamanho das gotículas, ao diminuir o tamanho estas tendem a serem mais rígidas ocasionando o aumento da viscosidade (PAL, 1997; ZUGE et. al., 2013). Jiao; Diane (2003) e Campbell et. al. (2012) verificaram que a redução do tamanho das gotículas de óleo foi acompanhada por um aumento acentuado na viscosidade global da emulsão. Porém, o tamanho das gotículas só tem uma influência considerável sobre a viscosidade de sistemas quando a fração de volume da fase dispersa é relativamente elevada, $\phi > 0,45$ (McCLEMENTS, 2005), valor obtido para o tratamento com 20% de fase interna (50% de fase dispersa = 20% fase interna e 30% de fase oleosa).

A partir do reograma (Figura 20) observa-se que a viscosidade aparente diminui com o aumento da taxa de deformação, apresentando uma relação não linear, mesmo com o tempo de armazenamento estas continuaram tendo um comportamento pseudoplástico.

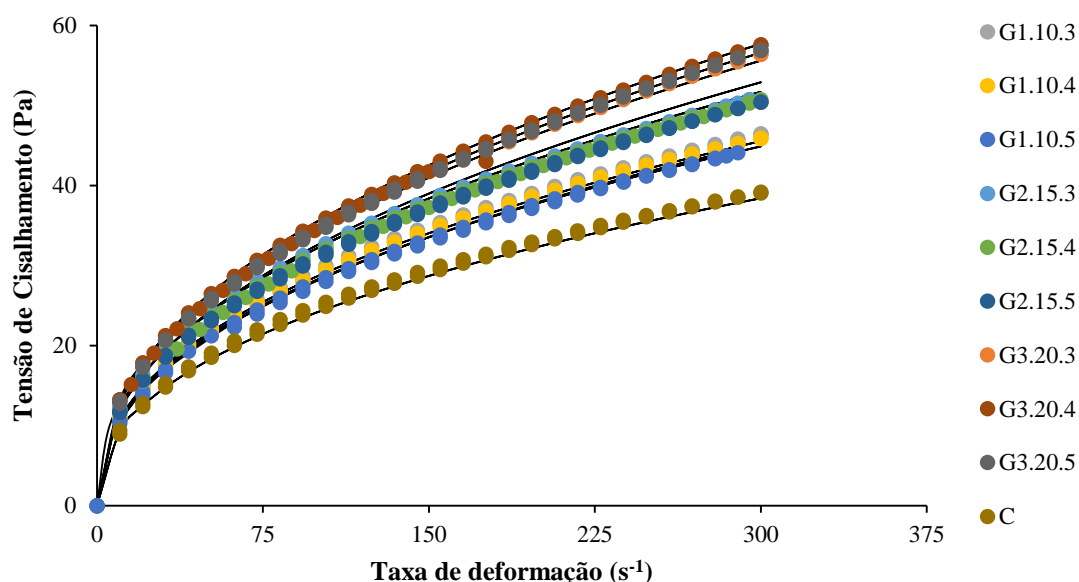


Figura 20. Reogramas com valores médios de tensão de cisalhamento (τ , Pa) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$, s^{-1}). Para as emulsões múltiplas ($A_1/O/A_2$) e emulsão controle (A_1/O), no quarto dia de armazenamento. Linhas: modelo de Ostwald-de-Waele.

Pela tabela 10, verifica-se que após 4 dias de armazenamento o modelo com melhor ajuste continuou sendo o de Ostwald de Waele. O índice de escoamento (n) variou de 0,42 a 0,45 (modelo de melhor ajuste), valores inferiores a 1, portanto as emulsões analisadas podem ser classificadas como não-newtonianas, não ocorrendo variação significativa dentro dos tratamentos para tal parâmetro.

Tabela 10. Valores médios e desvios-padrão das estimativas dos parâmetros do modelo de regressão de Newton e Ostwald-de-Waele, utilizados para a caracterização reológica das formulações de emulsões primárias (A_1/O).

Modelo	Tratamento	Ostwald de Waele (Lei de Potência)			
		K (Pa.s ⁿ)	n	R ²	μ_a (Pa.s)
Ostwald de Waele (Lei de Potência)	G1.10.3	4,15 ± 0,30 ab	0,42 ± 0,001	0,98	0,29 ± 0,01 ab
	G1.10.4	4,14 ± 0,04 ab	0,42 ± 0,002	0,99	0,29 ± 0,00 ab
	G1.10.5	3,89 ± 0,21 ab	0,43 ± 0,01	0,98	0,28 ± 0,01 ab
	G1.15.3	4,45 ± 0,07 b	0,43 ± 0,002	0,98	0,32 ± 0,00 bc
	G1.15.4	4,06 ± 0,28 ab	0,44 ± 0,001	0,97	0,31 ± 0,00 bc
	G1.15.5	4,13 ± 0,37 ab	0,44 ± 0,003	0,99	0,31 ± 0,01 bc
	G1.20.3	4,64 ± 0,37 b	0,44 ± 0,02	0,99	0,35 ± 0,00 c
	G1.20.4	4,51 ± 0,42 b	0,45 ± 0,003	0,98	0,34 ± 0,02 c
	G1.20.5	4,38 ± 0,17 b	0,44 ± 0,002	0,98	0,33 ± 0,01 c
	C	3,35 ± 0,06 a	0,42 ± 0,002	0,99	0,23 ± 0,00 a

* Médias acompanhadas com letras minúsculas iguais não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em relação a viscosidade aparente a uma taxa de deformação de 100 s^{-1} , os tratamentos com 20% de fase interna (G3.20.3; G3.20.4 e G3.20.5) não diferiram dos constituídos por 15%, fase interna (G2.15.3; G2.15.4 G2.15.5), os quais não apresentaram diferenças significativas com as formulações (G1.10.3; G1.10.4; G1.10.5). Por fim, a emulsão controle (C) apresentou valores significativamente inferiores quando comparada com as amostras com maiores concentrações de fase interna 15 e 20%.

Durante o armazenamento das emulsões a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ por 4 dias, ocorreu um aumento significativo do índice de comportamento ao escoamento (n), para as formulações com 10, 15% fase interna e a emulsão controle (C), tornando o perfil de viscosidade mais próximo do comportamento newtoniano em relação ao primeiro dia. Além disso, para as os tratamentos (20%, fase interna) e a emulsão controle (C) observou-se um aumento significativo da viscosidade aparente, devido ao aumento do tamanho das gotículas (Tabela 11) de óleo proporcionado pelos processos de instabilidade de coalescência e maturação de Ostwald (conforme o item 5.3.3).

Tabela 11. Valores médios e desvios-padrão das estimativas dos parâmetros do índice de escoamento (n) e viscosidade aparente (μ_a), nos dias 1 e 4 após o processamento.

Tratamento	Tempo (dias)	
	1	4
	Viscosidade aparente (Pa.s, 100 s^{-1})	
G1.10.3	$0,32 \pm 0,002$ abA	$0,29 \pm 0,010$ abA
G1.10.4	$0,32 \pm 0,001$ abA	$0,29 \pm 0,003$ abA
G1.10.5	$0,32 \pm 0,010$ abA	$0,28 \pm 0,010$ abA
G1.15.3	$0,33 \pm 0,002$ abA	$0,32 \pm 0,002$ bcA
G1.15.4	$0,34 \pm 0,001$ bA	$0,31 \pm 0,040$ bcA
G1.15.5	$0,33 \pm 0,001$ abA	$0,31 \pm 0,010$ bcA
G1.20.3	$0,40 \pm 0,002$ cA	$0,35 \pm 0,003$ cB
G1.20.4	$0,39 \pm 0,011$ cA	$0,34 \pm 0,003$ cB
G1.20.5	$0,39 \pm 0,011$ cA	$0,33 \pm 0,012$ cB
C	$0,31 \pm 0,001$ dA	$0,23 \pm 0,002$ aB

*Médias acompanhadas de letras maiúsculas iguais na linha e minúsculas na coluna não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

*Letras maiúsculas comparam ao longo do tempo e letras minúsculas comparam os tratamentos.

5.3.2.3. Determinação do potencial zeta das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e da emulsão controle (O/A₂)

Ao longo do período de armazenamento não ocorreram diferenças significativas ($p > 0,05$) nos resultados obtidos de condutividade elétrica para cada tratamento (Figura 21).

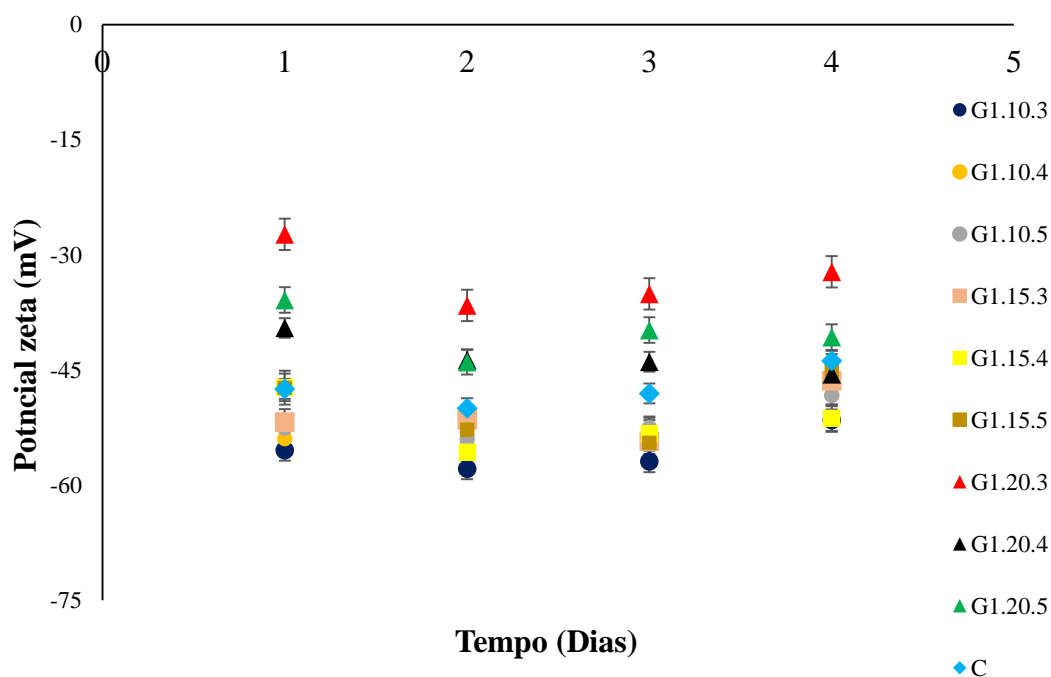


Figura 21. Potencial zeta das gotículas de óleo das formulações de emulsão múltipla (A₁/O/A₂) e da emulsão controle (O/A₂) ao longo do tempo de armazenamento.

Neste trabalho foi utilizado o emulsificante Tween 40 que é caracterizado por possuir baixa massa molar, ser não-iônico e revestir rapidamente as gotículas durante o processo de emulsificação. Sua estrutura é composta por um região hidrofóbica derivada de um ácido graxo e outra hidrofílica caracterizada por grupos oxietilênicos, éster e álcool (Figura 22).

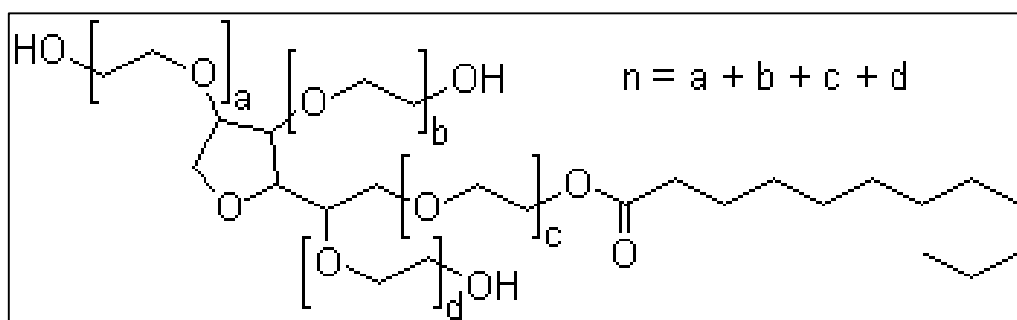


Figura 22. Estrutura molecular do emulsificante Tween.

Pelos resultados apresentados na figura 22 e tabela 12 verifica-se que as gotículas de óleo das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) e controle (O/A₂) apresentaram carga negativa mesmo utilizando um surfactante aniônico. O potencial zeta (independentemente da concentração de fase interna dos tratamentos) foi acima de -46 mV valor suficiente para produzir emulsões estáveis cineticamente quando o único mecanismo responsável por essa estabilização é a repulsão eletrostática entre as gotículas de óleo.

Tabela 12. Potencial zeta das gotículas de óleo das formulações de emulsão múltipla (A₁/O/A₂) e da emulsão controle (O/A₂)

Tratamentos	Potencial zeta (mV)
G1.10.3	-55,4 ± 2,09
G1.10.4	-52,4 ± 2,22
G1.10.5	-51,8 ± 1,17
G2.15.3	-50,9 ± 2,09
G2.15.4	-51,9 ± 1,32
G3.15.5	-49,9 ± 2,89
G3.20.3	-32,8 ± 1,42
G3.20.4	-43,1 ± 2,58
G3.20.5	-40,1 ± 2,40
C	-47,2 ± 2,08

*Médias seguidas da mesma letra não diferem dentro da mesma coluna ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Klinkesorn e Namatsila (2009) e Nu et. al. (2005) ao estudarem emulsões simples (O/A) detectaram carga elétrica negativa (-13 mV) na interface óleo-água na presença de surfactantes não iônicos cujas moléculas não são ionizáveis. Porém, Aditya et. al. (2015) ao avaliarem emulsões múltiplas com formulações semelhantes ao deste estudo verificaram valores de potencial zeta próximos de -20 mV. Segundo os estudos realizados por Ho e Ahmad (1999) esta carga negativa pode ser atribuída devido à adsorção preferencial de íons OH⁻ da molécula de água pelas gotículas de óleo, mesmo as emulsões sendo estabilizadas por agentes tensioativos não iônicos. Outros autores também afirmam que a carga elétrica nas gotículas de óleo pode ter surgido a partir da presença de impurezas aniônicas presentes no óleo (por exemplo, ácidos graxos livres) ou fosfolípidios.

No entanto, os valores de potencial zeta obtidos neste trabalho não estão em concordância com as pesquisas citadas e a origem desta carga elétrica encontrada ainda

não é bem compreendida. Desta forma, mais análises e o estudo de outros mecanismos que podem influenciar os valores de potencial zeta devem ser avaliados.

5.3.2.4. Determinação da transferência de NaCl entre as fases aquosas (interna e externa) das emulsões múltiplas (A₁/O/A₂)

Ao longo do período de armazenamento não ocorreram diferenças significativas ($p > 0,05$) nos resultados obtidos de condutividade elétrica para cada tratamento (Figura 23).

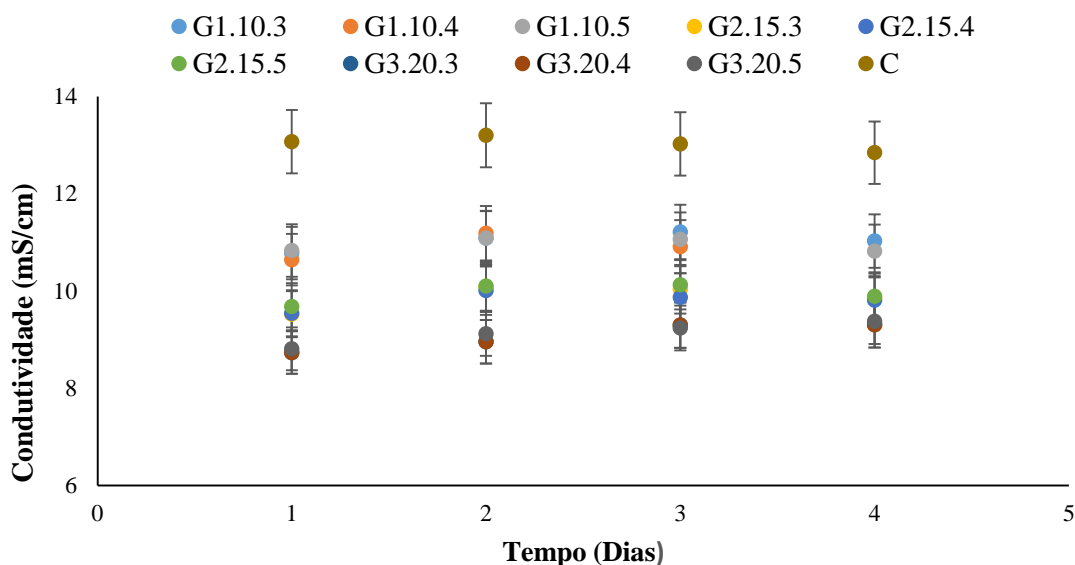


Figura 23. Condutividade elétrica das formulações de emulsão múltipla (A₁/O/A₂) e da emulsão (O/A₂) controle ao longo do tempo de armazenamento a 25 °C.

À medida que as emulsões se tornam instáveis, suas características físico-químicas mudam. Valores de pH, viscosidade, densidade, condutividade elétrica, umidade, tamanho da partícula, entre outros (ANVISA, 2004), são utilizados para verificar tal situação. Para as emulsões múltiplas os processos de instabilidade que atuam na variação da condutividade elétrica ao longo do tempo, são os fenômenos de coalescência interna acompanhada do processo de difusão da água para a fração externa e a migração da água externa para o interior da fase oleosa. No primeiro caso, ocorre o aumento do diâmetro das gotículas aquosas internas (DICKINSON, 2011) e em seguida, tem-se a liberação do conteúdo aprisionado (HERZI et. al., 2014) aumentando assim o volume de fase contínua. Já no segundo verifica-se uma diminuição desta fase devido a migração de água para o interior da fração oleosa.

Para que ocorra a migração de água em emulsões múltiplas deve existir um gradiente de pressão osmótica entre as duas fases aquosas (interna e externa) representando a

principal força motriz para a transferência de massa entre elas. Nos sistemas avaliados foram utilizadas concentrações iguais de NaCl (2%) nas fases aquosas, desta forma, isso pode ter ocasionado a ausência de diferença de pressão osmótica e conseqüentemente do transporte de água entre as frações A₁ e A₂. Logo, a condutividade elétrica dos sistemas não sofreu alterações significativas ao longo do tempo de armazenamento (Figura 18).

Uma pequena concentração de soluto presente apenas em A₁ ou A₂ desempenha um papel crítico no equilíbrio osmótico entre as fases aquosas (interna e externa). Desta forma, a estabilidade das gotículas internas e da emulsão múltipla no geral dependem das concentrações de solutos presentes em ambas as fases aquosas (MUSCHIOLIK et. al., 2007). No trabalho desenvolvido por Aditya et. al. (2015) com o objetivo de encapsular catequina e curcumina, simultaneamente, em emulsões múltiplas (A₁/O/A₂) os autores utilizaram as mesmas concentrações de ácido ascórbico (0,2%) e NaCl (2%) nas fases aquosas (interna e externa) diminuindo assim os efeitos ocasionados devido à diferença de pressão osmótica.

Em relação ao valores médios de condutividade elétrica (Tabela 13) valores inferiores foram obtidos para as emulsões com 15 e 20% de fase interna (G.2.15.3; G3.15.4 e G3.15.5) e (G3.15.3; G3.15.4 e G3.15.5). As emulsões (G1.10.3; G1.10.4 e G1.10.5), com 10% de fase interna, não apresentaram diferenças significativas entre elas, porém diferiram em relação as emulsões (G.2.15.3; G3.15.4 e G3.15.5) e (G3.20.3; G3.20.4 e G3.20.5), por fim, estas não diferiram entre si (p>0,05). O tratamento controle (C) variou significativamente (p<0,05) em relação aos demais.

Tabela 13. Valores médios da condutividade elétrica das formulações de emulsão múltipla (A₁/O/A₂) e da emulsão controle (O/A₂) ao longo do tempo de armazenamento a 25 °C.

Tratamentos	Condutividade elétrica (mS/cm)
G1.10.3	11,02 ± 0,33 a
G1.10.4	10,92 ± 0,34 a
G1.10.5	10,96 ± 0,34 a
G2.15.3	9,86 ± 0,26 b
G2.15.4	9,80 ± 0,33 b
G3.15.5	9,94 ± 0,45 b
G3.20.3	9,14 ± 0,15 b
G3.20.4	9,08 ± 0,28 b
G3.20.5	9,16 ± 0,18 b
C	13,04 ± 0,36 c

*Médias seguidas da mesma letra não diferem dentro da mesma coluna ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Desta forma, observa-se uma diminuição significativa ($p < 0,05$) da condutividade elétrica com o aumento da proporção de fase interna. O comportamento encontrado está de acordo com Al-malah et. al. (2000) e Guojun et. al. (2014) que ao longo do processo de emulsificação verificaram valores inferiores com o aumento da fase dispersa, logo, diminuição de fase contínua. De acordo com Gundersen, Saether e Sjöblom (2001), a condutividade de emulsões é sensível a pequenas alterações nesta fase do sistema.

Pelo coeficiente de Pearson (-0,967) observa-se uma forte correlação linear e negativa, entre a concentração de fase interna e o valor da condutividade elétrica dos diferentes tratamentos (Figura 24).

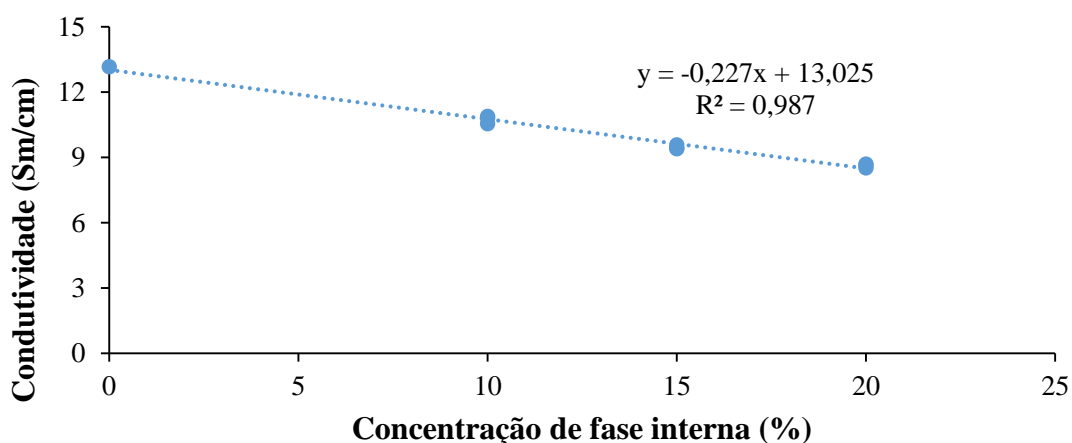


Figura 24. Correlação de Pearson entre o valor de condutividade e concentração de fase interna (%), das emulsões avaliadas.

As gotículas internas estão recobertas por uma camada oleosa (não condutora) fazendo com que os íons, localizados nesta região, não alterem a condutividade elétrica das emulsões. Desta forma, somente os íons presentes na fase externa influenciam os valores de tal parâmetro. Logo, quanto maior a proporção de fase interna menor é a concentração de fase externa e menos íons livres estão presentes no sistema como um todo, ocorrendo a diminuição observada nos resultados para a condutividade elétrica.

A emulsão controle (A_1/O), por possuir em sua composição maior conteúdo de fase contínua (30%, fase dispersa e 70%, fase contínua), apresentou valores mais elevados para a condutividade elétrica (13, 16 mS/cm), já as emulsões múltiplas devido a presença de volumes crescentes de fase interna aquosa, conseqüentemente possuíam volumes inferiores de fase contínua (60, 55 e 50%, m/m), desta maneira os resultados obtidos para a condutividade elétrica foram proporcionais à concentração desta fase (10,97; 9,85 e 9,13 mS/cm).

5.3.3. Avaliação da intensidade do gosto salgado das emulsão múltiplas (A₁/O/A₂) em comparação com a emulsão controle (O/A₂)

Todas as emulsões possuíam o mesmo teor de sódio, porém percebe-se a tendência das emulsões múltiplas de serem consideradas ligeiramente mais salgadas que o controle. Obtendo notas acima de 5 que variaram entre "salgada igual ao controle" e "ligeiramente mais salgada que o controle", na escala de magnitude utilizando o teste de comparação múltipla.

Assim, pode assumir-se que existia uma diferença perceptível no gosto salgado dessas emulsões (Tabela 14). A amostra com 20% de fase interna (55%, fração externa), além de ser avaliada como ligeiramente mais salgada que a formulação controle, apresentou diferença significativa em relação ao tratamento com 10% de fase interna (60%, fração externa.).

Tabela 14. Escores sensoriais para a consistência e sabor salgados das emulsões múltiplas quando comparadas com o controle.

Tratamentos	ESCORES	
	Consistência	Sabor Salgado
G1.10.3	5,91 a	5,27 a
G2.15.3	5,62 a	5,48 ab
G3.20.3	5,93 a	6,22 b

*Letras maiúsculas iguais na linha e letras minúsculas iguais na coluna não se diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Estudos relatam que as emulsões múltiplas podem ser utilizadas para influenciar a percepção do gosto (por exemplo, ácido, salgado, o gosto amargo), uma vez que modificam a extensão em que a fase aquosa interage com as superfícies orais (DICKINSON, 2011). Com isso, é possível que o menor volume de fase externa ao se misturar com a saliva durante a mastigação, acelere o transporte de sódio para as papilas gustativas.

Malone et. al., 2003 analisou diferentes formulações de emulsões contendo proporções distintas de fase interna e externa, ambas constituídas com as mesma concentração de ácido cítrico. Os resultados da avaliação sensorial mostram que à medida que a fase interna aumenta, diminui a acidez percebida mostrando a dependência da percepção do gosto com o volume da fase aquosa externa.

Para as emulsões múltiplas analisadas neste experimento percebe-se que o contrário foi obtido, ou seja, quanto maior a fase interna do sistema maior é a percepção

do gosto salgado. Desta forma, a intensidade do gosto seria uma função complexa da concentração de sal nas fase aquosas (interna e externa), volume dessas fases e por fim das características iniciais das emulsões, tais como, o tipo de óleo, a concentração, tamanho das gotículas, viscosidade e estabilidade (CUNHA et al., 2013, VINGERHOEDS et al., 2008 E VITOVA et al., 2012).

Além disso, o comportamento da emulsão na boca durante a mastigação também desempenha um papel importante na sua percepção sensorial devido a alterações na sua composição e estrutura trazidas pela mastigação, diluição com saliva, e revestimento de superfície (CAKIR et al., 2012, RANC et al., 2006; TOGASHI; MORITA; NAKAZAWA, 2000). Estudos recentes revelaram que por meio dessas condições, ocorrem processos de agregação reversível ou irreversível devido a coalescência no interior da boca (SILLETTI; VINGERHOEDS; NORDE; VAN AKEN, 2007). Ocasionalmente mudando na liberação de compostos e afetando a percepção do gosto (BENJAMINS et. al., 2009).

A coalescência depende das características da emulsão (de tamanho de gotas, camada interfacial, carga elétrica e do tipo de emulsionante) e do cisalhamento aplicado. Sabendo que os tratamentos com maiores quantidades de fase interna podem ser mais instáveis, como dito anteriormente, isso pode ter influenciado o aumento da percepção do gosto salgado nestas formulações. Propiciando a liberação de NaCl da fase interna para o exterior da emulsão (MALONE et., al., 2003) contrariando a hipótese de que o NaCl presente nesta fase não contribui para a percepção do gosto salgado.

Dresselhuis et. al. (2008) em seus estudos mostraram que emulsões simples com um grau de coalescência superior no interior da boca revelaram maiores escores de atributos sensoriais (intensidade do sabor de óleo e baunilha).

As emulsões avaliadas apresentaram notas acima de 5 que variaram entre “consistente igual ao controle” e “ligeiramente mais consistente que o controle”, devido a presença das gotículas internas de água dispersas na fração oleosa (Tabela 13). Esse resultado confirma as observações realizadas durante as análises reológicas, onde a emulsão controle (C) diferiu dos demais tratamentos e apresentou um menor valor para a viscosidade aparente (0,31 Pa.s).

Quando comparadas as diferentes formulações de emulsões múltiplas não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre elas. No item 5.3.2.2 percebe-se que as diferenças de viscosidade entre as emulsões múltiplas foram pequenas mesmo sendo significativas, por isso na análise sensorial os julgadores não conseguiram identificar esse

aumento da viscosidade encontrado nas amostras com maiores proporções de fase interna ($p>0,05$).

Porém, quando avaliadas em relação ao valor de potencial zeta das gotículas de óleo, a formulação com 20% de fase interna apresentou valores inferiores em magnitude. Quanto mais negativa a carga da superfície maior é a repulsão entre as gotículas podendo assim diminuir a ocorrência dos processos de desestabilização. Portanto, essa formulação (20%, fase interna) pode ser mais susceptível aos processos de coalescência e agregação no interior da boca.

Desta forma, os resultados mostram que é possível manipular a intensidade da percepção do gosto salgado, a partir das diferenças estruturais das emulsões múltiplas.

6. CONCLUSÕES

Não foram verificadas diferenças entre as emulsões múltiplas contendo a mesma concentração de fase interna quando utilizou-se diferentes concentrações de emulsificante PGPR. Em função disso, recomenda-se o uso de 3% do emulsificante PGPR para a formação destas emulsões, minimizando os custos com reagentes e o uso excessivo de emulsificante.

Para as emulsões múltiplas contendo diferentes concentrações de fase interna e com valores fixos de emulsificante PGPR, foram verificadas diferenças em relação as características físicas (diâmetro médio das gotículas, PDI, potencial zeta e condutividade elétrica) e o comportamento reológico das mesmas. Com isso, é possível concluir que as condições de preparo e composição são fatores importantes e devem ser levados em consideração de acordo com os objetivos de aplicação e características requeridas das emulsões múltiplas.

Foram encontradas diferenças perceptíveis em relação ao gosto salgado das emulsões múltiplas sendo consideradas mais salgadas que a emulsão controle. As diferentes concentrações de fase interna em conjunto com a distribuição de tamanho das gotículas de óleo influenciaram os resultados obtidos.

A partir da associação dos resultados da análise sensorial com as características físicas das emulsões analisadas sugere-se a utilização da formulação com 20% de fase interna em sua constituição para uma possível aplicação no desenvolvimento de produtos com teores de sódio reduzidos sem que ocorram alterações na percepção do gosto salgado.

Esta pesquisa abordou a correlação entre as características físicas das emulsões múltiplas e a percepção sensorial, uma vez que a microestrutura destes sistemas poderiam fornecer o mecanismo para entender a causa inicial da alteração do gosto salgado. Os trabalhos similares encontrados na literatura não fazem uma abordagem desta relação, tendo como foco principal apenas a função complexa da concentração de sódio e o volume de fase aquosa presente nos sistemas avaliados.

Aconselha-se um estudo mais aprofundado sobre a análise sensorial das emulsões múltiplas, a fim de ampliar os conhecimentos em relação as características das emulsões já existentes que podem afetar a percepção do gosto salgados e também a obtenção de novos fatores (condições de preparação, composição) que podem influenciar em tal parâmetro. Uma vez que, existem contradições nos estudos já existentes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIMA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE MASSAS ALIMENTÍCIAS E PÃO E BOLO INDUSTRIALIZADOS. Disponível em: http://www.abima.com.br/noticias_setor_detalhe.php?cod=959#first. Acesso em 23 de julho de 2014.

ADITYA, N. P.; ADITYA S.; YANG, H.; KIM, H. W.; PARQUE, O. P.; KO, S. Co-delivery of hydrophobic curcumin and hydrophilic catechin by a water-in-oil-in-water double emulsion. **Food Chemistry**. v. 173, p. 7–1, 2015.

AGÊNCIA BRASIL. Ministério da Saúde firma mais um acordo para redução de sal nos alimentos. Disponível em: <http://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/noticia/2013-11-05/ministerio-da-saude-firma-mais-um-acordo-para-reducao-de-sal-nos-alimentos>. Acesso em 28 de março de 2014.

ANVISA (2012). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa vai monitorar alimentos quem devem reduzir presença de sal. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/menu+-+noticias+anos/2013+noticias/anvisa+vai+monitorar+alimentos+quem+devem+reduzir+presenca+de+sal>. Acesso em 28 de março de 2014.

ALLEN, T. **Particle Size Measurement**, 5 * edition, v.l, London: Chapman and Hall, 1997.

AL-MALAH, K.I.; AZZAM, M.O.J.; OMARI, R.M. Emulsifying properties of BSA in different vegetable oil emulsions using conductivity technique. **Food Hydrocolloids**. v. 14, p. 485–490, 2000.

ALWAN, A.; MACLEAN, D.R; RILEY, L. M, D'ESPAIGNET E.T; MATHERS, C.D.; STEVENS, G.A.; BETTCHER, D. Monitoring and surveillance of chronic non-communicable diseases: progress and capacity in high-burden countries. **Lancet**. v. 376, p.1861-1868, 2010.

AKHTAR, M.; MURRAY, B. S.; AFEISUME, E. I.; KHEW, S. H. Encapsulation of flavonoid in multiple emulsion using spinning disc reactor technology. **Food Hydrocolloids**. v.34, p. 62-67. 2014.

ARAÚJO, M. A. **Químicas de Alimentos: Teoria e Prática**. Editora: UFV, 5° ed. Viçosa – MG, p.601, 2011.

ASERIN, A. **Multiple Emulsions**, Technology and Applications John Wiley & Sons, Inc. 2008

BASTIDA-RODRÍGUEZ, J. The food additive polyglycerol polyricinoleate (E-476): structure, applications, and production methods. *ISRN Chemical Engineering*, v. 2013, p.1-21, 2013. Disponível em: <http://www.hindawi.com/isrn/chemeng/2013/124767/>>. Acesso em 20 abril 2014.

BAZANELLI, A. P.; CUPPARI, L. **Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes -Sódio**. Série de Publicação ILSI Brasil. v. 4, p. 16, 2009.

BERENDSEN, R.; GÜELL, C.; FERRANDO, M. Spray dried double emulsions containing procyanidin-rich extracts produced by premix membrane emulsification: Effect of interfacial composition. **Food Chemistry**. v. 178, p. 251–258, 2015.

BENICHO, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. W/O/W double emulsions stabilized with WPI-polysaccharide complexes. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 294, p. 20-32, 2007.

BENJAMINS, J.; VINGERHOEDS, M. H.; ZOET, F. D.; DE HOOG, E. H. A.; VAN AKENA, G. A. Partial coalescence as a tool to control sensory perception of emulsions. **Food Hydrocolloids**. v. 23, p. 102–115, 2009.

BOBBIO, F.O; BOBBIO, P.A. **Introdução a química de alimentos**. 2º ed. São Paulo: Editora, Livraria Varela, 1992.

BONNET, M.; CANSELL, A.; BERKAOUI, M.H.; ROPERS, M.; ANTON, F.; LEAL-CALDERON. Release rate profiles of magnesium from multiple W/O/W emulsions. **Food Hydrocolloids**. v. 23, p. 92–101, 2009.

BOU, R.; COFRADES, S.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Physicochemical properties and riboflavin encapsulation in double emulsions with different lipid sources. **LWT - Food Science and Technology**. v.59, p. 621–628, 2014.

BOYER, E.; MEKHLOUF, G.; ROSILIO, V.; GROSSIORD, J.; AGNELY F. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? **International Journal of Pharmaceutics**. v. 436, p. 359–378, 2012.

BOWSER, A. Crystallization of cocoa butter. *Manufacturing Confectionary*, v.86, n.9, p-115-118, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº; 596, de 8 de abril de 2004. Instituir Grupo Técnico Assessor com a finalidade de proceder análise da Estratégia Global sobre Alimentação, Atividade Física e Saúde, da Organização Mundial da Saúde e, em caráter consultivo, fornecer subsídios e recomendar ao Ministério da Saúde posição a ser adotada frente ao tema. **Diário Oficial da União**, Brasília, nº; 69, p.25, 12 abr. 2004. Seção 2

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Guia Alimentar para população brasileira: Promovendo a Alimentação Saudável** /Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.

BRASIL. Ministério da saúde. **Plano de redução do sódio em alimentos processados**. Disponível em: <http://www.abia.org.br/anexos/CriteriosparamonitoramentoeavaliacaodoPlano27jan.pdf>. Acesso em 14 de maio de 2014.

BROOKS, B. W.; RICHMOND, H. Dynamics of liquid-liquid inversion using non-ionic surfactants. **Colloids and Surfaces**, Amsterdam, v. 58, p. 131-148, 1991.

BROWN, I.J.; TZOULAKI, I.; CANDEIAS, V.; ELLIOTT, P. Salt intakes around the world: implications for public health. **Int J Epidemiol**. v. 38, p.791–813, 2009.

CANDÉA, T.V. Study of membrane emulsification process as a pre-step for the microencapsulation of lipid compounds by spray drying. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2013.

CAKIR, E.; VINYARD, C. J.; JESSICK, G.; DAUBERT, C. R.; DRAKE, M.; FOEGEDING, E. A. Interrelations among physical characteristics sensory perception and oral processing of protein-based soft-solid structures. **Food Hydrocolloids**. v.29, p. 234–245, 2012.

CAMPBELL, S. C.; LARSON, T.; SMEETS, N. M. B. EL-JABY, U.; MCKENNA, T. F. L. Miniemulsification by catastrophic phase inversion. **Chemical Engineering Journal**. v. 183, p. 534–541, 2012.

CAPEK, I. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 107, p. 125-155, 2004.

CAPUANO, E. et. al. Comparison of a sodium-based and a chloride-based approach for the determination of sodium chloride content of processed foods in the Netherlands. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 31, p. 129 – 136, 2013.

CARRILLO-NAVAS, H.; CRUZ-OLIVARES, J.; VARELA-GUERRERO, V.; ALAMILLA-BELTRÁN, L.; VERNON-CARTE, E. J.; PÉREZ-ALONSO, C. Rheological properties of a double emulsion nutraceutical system incorporating chia essential oil and ascorbic acid stabilized by carbohydrate polymer-protein blends **Carbohydrate Polymers**. v. 87, p. 1231–1235, 2012.

CASTRO, A. G. DE; COVAS, J. A.; DIOGO, A. C. **Reologia e suas aplicações industriais**. Lisboa: Instituto Piaget, p. 464, 2001.

CERQUEIRA, A. A.; MARQUES, M. R. C.; RUSSO, C. Avaliação do processo eletrolítico em corrente alternada no tratamento de água de produção. **Química Nova**. vol. 34, São Paulo, 2011.

CHHABRA, R. P.; RICHARDSON, J. F. **Non-Newtonian flow and applied rheology: engineering applications**. 2º ed. Oxford: Butterworth-Heinemann. p. 518, 2008.

CHUNG, C.; OLSON, K.; DEGNER, B.; McCLEMENTS, D.J. Textural properties of model food sauces: Correlation between simulated mastication and sensory evaluation methods. **Food Research International**. v. 51, p. 310–320, 2013.

CHUNG, C.; MCCLEMENTS, D. J. Structure–function relationships in food emulsions: Improving food quality and sensory perception. **Food Structure**. v.1, p.1–21, 2013.

CHU, B. **Laser light scattering – Basic principles and practice**. 2. ed. San Diego: Academic Press Inc., 1991.

COFRADES, S.; ANTONIOU, I; SOLAB, M.T; HERRERO, M.A; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. **Food Chemistry**. v. 141, p 338–346, 2013.

CUNHA, C. R., GRIMALDI, R., ALCANTARA, M. R., & VIOTTO, W. H. Effect of the type of fat on rheology, functional properties and sensory acceptance of spreadable cheese analogue. **International Journal of Dairy Technology**. v. 66, p.54–62, 2013.

CUPPARI, L. **Guia de nutrição: nutrição no adulto**. 2ª ed. cap. 6. Barueri, SP: Manole; p. 89-115, 2005.

DANISCO. Disponível em: <<http://www.danisco.com/>>. Acesso em: 20 abr. 2014.

DAVOLI, F. Z. Emulsionantes. Curso de treinamento en margarinas – Danisco Cultor Brasil, 2001, Cotia-SP. **Anais...** Cotia-SP: Danisco, 2001.

DICKINSON, E. Double emulsions stabilized by food biopolymers. **Food Biophysics**, v.6, p. 1–11, 2011.

DICKINSON, E. Food emulsions and foams: Stabilization by particles. **Current Opinion in Colloid e Interface Science**, v.15, p. 40-49, 2010.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v.23 p. 1473–1482, 2009.

DICKINSON, E. **An introduction to food colloids**. Oxford University Press, Oxford, 1992.

DOMIAN, E.; BRYNDA-KOPYTOWSKA, A.; OLEKSZA, K. Rheological properties and physical stability of o/w emulsions stabilized by OSA starch with trehalose. **Food Hydrocolloids**. v. 44, p 49-58, 2015.

DRESSELHUIS, D. M.; DE HOOG, E. H. A.; STUART, M. A. C.; VINGERHOEDS, M. H.; VAN AKEN, G. A. The occurrence of in-mouth coalescence of emulsion droplets in relation to perception of fat. **Food Hydrocolloids**. v. 22, p.1170–1183, 2008.

FAERGEMAND, M.; KROG, N. Interactions of emulsifiers with other components in foods. In: GAONKAR, A.G.; MCPHERSON, A. **Ingredients interactions – effects on food quality**. 2º ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group. Cap.12, p.390-421, 2006.

FELLERS, T. J.; DAVIDSON, M.W. **Theory of Confocal Microscopy Introduction to Confocal Microscopy** Disponível em: <http://www.olympusconfocal.com/theory/confocalintro.html>. (Acesso em 03 de maio de 2014).

FERNANDEZ, P.; ANDRÉ, V.; RIEGER, J.; KÜHMLE, A. Nano-emulsions formation by emulsion phase inversion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 251, p. 53-58, 2004.

FERRARI, M. Desenvolvimento e avaliação da eficácia fotoprotetora de emulsões múltiplas contendo metoxicinamato de etilexila e óleo de andiroba (*Carapa guyanensis*).

2002. 142f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- FRANK, K.; WALZ, E.; GRÄF, V.; GREINER, R.; KÖHLER, K.; SCHUCHMANN, H.P. Stability of anthocyanin-rich W/O/W emulsions designed for intestinal release in gastrointestinal environment. **Journal of Food Science**. v. 77, p. 50–57, 2012.
- FRASCH-MELNIK, S.; NORTON, I.T.; SPRYROPOULOS, F. “Fat crystal-stabilised w/o emulsions for controlled salt release”. **Journal of Engineering**. v. 98, p. 437-442, 2010
- GAD, S.C. Preclinical development handbook: ADME and biopharmaceutical properties. Hoboken, NJ: John Wiley and sons, 1296 p, 2008.
- GARCIA, R. W. D. Reflexos da globalização na cultura alimentar: considerações sobre as mudanças na alimentação urbana. **Revista de Nutrição**. v.16, n.4, p.483-492, 2003.
- GARTI, N.; ASERIN, A.; TIUNOVA, I.; BINYAMIN, H. Double emulsions of water-in-oil-in-water stabilized by α -form fat microcrystals. Part 1: Selection of emulsifiers and fat microcrystalline particles. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 75, p. 1825 – 1831, 1999.
- GARTI, N. Double emulsions: scope, limitations and new achievements. **Colloids and Surfaces A, Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 123 e124, p. 233- 246, 1997.
- GUOJUN, L.V.; WANG, F.; CAI, W.; LI, H.; ZHAN, X. Influences of addition of hydrophilic surfactants on the W/O emulsions stabilized by lipophilic surfactants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v.457, p. 441–448, 2014.
- GROVES, K. Microscopy: A Toll to Study Ingredient Interactions in Foods. In: GAONKAR, A. G.; MCPHERSON, A. (Eds.). **Ingredient Interactions - Effects on Food Quality**. 2°. ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. p. 21-48.
- GUNDERSEN, S. S.; SÆTHER O.; SJÖBLOM, J. Salt effects on lignosulfonate and Kraft lignin stabilized O/W-emulsions studied by means of electrical conductivity and video-enhanced microscopy. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 186, p. 141–153, 2001.
- GUZEY, D.; McCLEMENTS, D.J. Formation stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 128, p. 227–248, 2006.
- HATTREM, M. N.; DILLE, M. J.; SETERNES, T.; DRAGET, K. I. Macro- vs. micromolecular stabilization of W/O/W-emulsions. **Food Hydrocolloids**. v. 37, p. 77-85, 2014.
- HASENHUETTL, G.L. Overview of food emulsifiers. In: HASENHUETTL, G.L.; HARTEL, R.W. **Food emulsifiers and their applications**. New York: Chapman & Hall. Cap.1, p.1-26, 1997.

HERZI, S.; ESSAFIA, W.; BELLAGHAB, S.; LEAL-CALDERON, F. Influence of the inner droplet fraction on the release rate profiles from multiple W/O/W emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 441, p.489–495, 2014.

HO, C. C.; AHMAD, K. Electrokinetic behavior of palm oil emulsions in dilute electrolyte solutions. **Journal Colloid Interface Science**. v. 33, p. 25–33, 199.

HORN, A.F.; NIELSEN, N.S.; JACOBSEN, C. Iron-mediated lipid oxidation in 70% fish oil-in-water emulsions: Effect of emulsifier type and pH. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 1097–1108, 2012.

HOLDSWORTH, S. D. Rheological models used for the prediction of the flow properties of food products: a literature review. **Transactions of the Institution of Chemical Engineers**, London, v. 71, part C, p. 139-179, 1993.

HOLDSWORTH, S. D. Aplicability of rheological models to the interpretation of flow and processing behavior of fluid food products. **Journal Texture Studies**. v. 2, p. 393-418, 1971.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2011). **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_analise_consumo/pofanalise_2008_2009.pdf>. Acesso em: 16 de maio de 2014.

IOM. Institute of Medicine. **Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate**. Washington, D.C.: The National Academies Press, 2004.

IQBAL, S.; BALOCH, M.K.; HAMEED, G.; MCCLEMENTS, D.J. Controlling W/O/W multiple emulsion microstructure by osmotic swelling and internal protein gelation. **Food Research International**, v. 54, p. 1613–1620, 2013.

JATO, J. **Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas**, Madrid, Editorial Sintesis, 1997.

JEONG, M. W.; OH, S. G.; KIM, Y. C. Effects of amine and amine oxide compounds on the zeta potential of emulsion droplets stabilized by phosphatidylcholine. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 181, p. 247-253, 2001.

JIAO, J.; DIANE, J. Rheology and Stability of Water-in-Oil-in-Water Multiple Emulsions Containing Span 83 and Tween 80. **AAPS PharmSci**. v. 5, 2003.

JONES, A.R. Light scattering for particle characterization. **Progress in Energy and Combustion Science**. v. 25, p. 1–53, 1999.

JOFFRES, M.R.; CAMPBELL, N.R.; MANNS, B.; TU, K. Estimate of the benefits of a population-based reduction in dietary sodium additives on hypertension and its related health care costs in Canada. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 23, p. 437–443, 2007.

- KHAN, A. Y.; TALEGAONKAR, S.; IGBAL, Z.; AHMED, F. J. KHAR, R. K. Multiple emulsions: na overview. **Curr Drug. Deliv.** v. 3, p. 429 -443, 2006.
- KLINKESORN, U.; NAMATSILA, Y. Influence of chitosan and NaCl on physicochemical properties of low-acid tuna oil-in-water emulsions stabilized by non-ionic surfactant. **Food Hydrocolloids.** v.23, p. 1374–1380, 2009.
- KRALOVA, I; SJÖBLOM, J. Surfactants Used in Food Industry: A Review. **Journal of Dispersion Science and Technology.** v. 30, p.1363 – 1383, 2009.
- KREMER, S.; MOJET, J.; SHIMOJO, R. Salt Reduction in Foods Using Naturally Brewed Soy Sauce. **J Food Sci.** 74, 255–262, 2009.
- KOBAYASHI, I.; NAKAJIMA, M.; MUKATAKA, S. Preparation characteristics of oil-in-water emulsions using differently charged surfactants in straight-through microchannel emulsification. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.** v. 229, p. 33–41, 2003.
- LABA, D. Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries. Marcel Dekker, Inc.: New Jersey, 1993.
- LAD, M.; HEWSON, L.; WOLF, B. Enhancing saltiness in emulsion based foods. **Flavour.** p.1-13, 2012.
- LACHMAN, L.; LIEDERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **The theory and practice of industrial pharmacy**, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.
- LEAL-CALDERON, F.; THIVILLIERS, F.; SCHMITT, V. Structured emulsions. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 12 p. 206–212, 2007.
- LI, F.; ZHANG, W. Stability and rheology of W/S/W multiple emulsions with polydimethylsiloxane. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.** v.470, p. 290–296, 2015.
- LI, B.; JIANG, C.; LIU, F.; CHAI, Z.; Li, Y. Synergistic effects of whey protein–polysaccharide complexes on the controlled release of lipid-soluble and water-soluble vitamins in $W_1/O/W_2$ double emulsion systems. **International Journal of Food Science and Technology**,v. 47, p. 248–254, 2012.
- LIN, T. J.; KURIHARA, H.; OHTA, H. Effects of phase inversion and surfactant location on the formation of O/W emulsions. **Journal of Society of Cosmetics Chemists**, New York, v. 26, p.121-139; 1975.
- LOBATO-CALLEROS, C.; RECILLAS-MOTA, M.T.; ESPINOSA-SOLARES, T.; ÁLVAREZ-RAMÍREZ, J.; VERNON-CARTER, E.J. Microstructural and rheological properties of low-fat stirred yoghurts made with skim milk and multiple emulsions **Journal of Texture Studies.** v. 40, p. 657–675, 2009.
- LOBATO-CALLEROS, C.; SOSA-PÉREZ, A.; RODRI´GUEZ-TAFOYA, J.; SANDOVAL-CASTILLA, O.; PÉREZ-ALONSO, C.; VERNON-CARTER, E. J. Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from

W1/O/W2 emulsions and skim milk. **LWT - Food Science and Technology**. v. 41, p. 1847 – 1856, 2008.

LOBATO-CALLEROS, C., RODRÍGUEZ, E., SANDOVAL-CASTILLA, O., VERNON-CARTER, E.J. and ALVAREZ-RAMIREZ, J. Reducedfat white fresh cheese-like products obtained from W1/O/W2 double emulsions: Viscoelastic and high-resolution image analyses. **Food Res. Int.** v. 39, p. 678–685, 2006.

LUTZ, R. ASERIN, A.; WICKER, L.; GARTI, N. Release of electrolytes from W/O/W double emulsions stabilized by a soluble complex of modified pectin and whey protein isolate. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 74, p.178-185, 2009.

LUTZ, R.; ASERIN, A.; WICKER, L.; GARTI, N. Double emulsions stabilized by a charged complex of modified pectin and whey protein isolate. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 72, p. 121–127, 2009.

MACHADO, J. C. V. **Reologia e Escoamento de Fluidos - Ênfase na Indústria do Petróleo**, ed. Interciência, 2002.

MAINARDES, R. M. **Desenvolvimento de nanopartículas de pla e Pla-peg para administração intranasal de Zidovudina**. 2007. 175f. Tese (doutorado) – universidade estadual paulista "Julio de Mesquita Filho" Faculdade de ciências farmacêuticas, Campus de Araraquara, ARARAQUARA - SP, 2007.

MALONE, M.E.; APPELQVIST, I.A.M.; NORTON, I.T. Oral behaviour of food hydrocolloids and emulsions. Part 2. Taste and aroma release. **Food Hydrocolloids**. v.17, p. 775–784, 2003.

MARQUEZ, A.; WAGNER, J. Rheology of double (W/O/W) emulsions prepared with soybean milk and fortified with calcium. **Journal of Texture Studies**. v. 41, p. 651- 671, 2010.

MARTINA, M.C. **Introducción a la dermofarmácia y a la cosmetologia**, Zaragoza, Editorial Acribia, S.A, 2005.

MATOS, M.; TIMGREN, A.; SJOO, M.; DEJMEK, P.; RAYNER, M. Preparation and encapsulation properties of double Pickering emulsions stabilized by quinoa starch granules. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 423, p. 147–153, 2013.

MAYSON, T.G. Novos conceitos fundamentais em emulsão de reologia. **Current Opinion in Colloid Interface de Ciência**, v. 4, p. 231-238, 1999.

McCLEMENTS, D.J. Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic components. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, p. 241–269, 2010.

McCLEMENTS, D.J. et. al. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceutical and functional foods. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v. 49, p. 577–606, 2009.

McCLEMENTS, D. Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p.611–649, 2007.

McCLEMENTS, D.J. **Food emulsions: Principles, practices, and techniques**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2005.

McCLEMENTS, D.J. **Food emulsions: principles, practice and techniques**.2.ed. CRC Press, 1994.

MENDEZ-VELASCO, C.; GOFF, H.D. Enhancement of fat colloidal interactions for the preparation of ice cream high in unsaturated fat. **International Dairy Journal**, v. 21, p. 540–547, 2011.

MERRYWEATHER, L. M. et al. **Dictionary of Food Science and Technology**. Oxford: Blackwell Publishing, 2005.

MEZZENGA, R.; FOLMER, B.M.; HUGHES, E. Design of Double Emulsions by Osmotic Pressure Tailoring. **Langmuir**, v. 20, p. 3574-3582, 2004.

MONTEIRO, C. A.; LEVY, R. B.; CLARO, R. M., CASTRO, I. R.; CANNONA, G. Increasing consumption of ultra-processed foods and likely impact on human health: evidence from Brazil. **Public Health Nutrition**, v.14, n.1, p. 05-13, 2010.

MORAIS, J. M.; SANTOS, O. D.H.; DELICATO, T.; GONÇALVES, R. A.; ROCHA-FILHO, P. A. Physicochemical characterization of canola oil/water nano-emulsions obtained by determination of required HLB number and emulsion phase inversion methods. **Journal of Dispersion Science and Technology**, Philadelphia, v. 27, n. 1, p. 109-115, 2006.

MOORE, R.L.; DUNCAN, S.E.; RASOR, A.S.; EIGEL, W.N.; O'KEEFE, S.F. Oxidative stability of an extended shelf-life dairy-based beverage system designed to contribute to hearth health. **Journal of Dairy Science**. v. 95, p. 6242–6251, 2012.

MORRISON, I. D.; ROSS, S. Emulsions. **Colloidal dispersions – Suspensions, Emulsions and Foams**. New York: John Wiley & Sons Ltd. (Ed.). p. 420-455, 2002.

MULLER, H. G. **An Introduction to Food Rheology**; Heinemann: London, 1973; pp 53–55.

MURILLO-MARTÍNEZ, M.M.; PEDROZA-ISLAS, R.; LOBATOCALLEROS, C.; MARTÍNEZ-FEREZ, A.; VERNON-CARTER, E. J. Designing W1/O/W2 double emulsions stabilized by protein– polysaccharide complexes for producing edible films: Rheological, mechanical and water vapour properties. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 577 – 585, 2011.

MUSCHIOLIK, G.; SCHERZE, I.; PREISSLER, P.; WEISS, J., KNOTH, A; FECHNER, A. **Multiple Emulsions and Stability**. Disponível em: <http://iufost.edpsciences.org/articles/iufost/pdf/2006/01/iufost06000043.pdf>. Acesso em 15 de maio de 2014.

- MUSCHIOLIK, G. Multiple emulsions for food use. **Current Opinion Colloid & Interface Science**, v. 12, p. 213–220, 2007.
- MUSCHIOLIK, G.; SCHERZE, I.; PREISSLER, P.; WEISS, J.; KNOTH, A.; FECHNER, A. Multiple emulsions- Preparation and stability. IUFoST World Congress, 13th **World Congress of Food Science & Technology**. 2006.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 7 ed., 242 p., 1996.
- NAKHARE, S.; VYAS, P. Multiple emulsion based systems for prolonged delivery of rifampicin: in vitro and in vivo characterization. **Pharmazie**. v. 52, p. 224-226, 1997.
- NETZ, P. A.; ORTEGA, G. G. **Fundamentos de Físico-Química: uma abordagem conceitual para as Ciências Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- NILSON, E. A. F.; JAIME, P.C.; RESENDE, D.O. Iniciativas desenvolvidas no Brasil para a redução do teor de sódio em alimentos processados. **Revista Panam Salud Publica**. v. 34, p. 287–92, 2012.
- OKUSHIMA, S.; NISISAKO, T., TORII, T.; HIGUCHI T. Controlled production of monodisperse double emulsions by two-step droplet breakup in microfluidic devices. **Langmuir**. v. 20, p. 9905-9908, 2004.
- OLIVEIRA, M. J. Microscopia Óptica. In: CANEVAROLO-JR, S. V. (Ed.). **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. São Paulo, SP: Artliber Editora LTDA. p. 147-164, 2007.
- OPPERMANN, A.K.L.; RENSSENA, M.; SCHUCHC, A.; STIEGERB, M.; SCHOLTENA, E. Effect of gelation of inner dispersed phase on stability of (w1/o/w2) multiple emulsions. **Food Hydrocolloids**. v. 48, p. 17–26, 2015.
- O'REGAN, J.; MULVIHILL, D. M.; Sodium caseinate-maltodextrin conjugate stabilized double emulsions: encapsulation and stability. **Food Research International**. v. 43, p. 224–231, 2010.
- T. PAL, S. PAUL, B. Polymethylmethacrylate coated alginate matrix microcapsules for controlled release of diclofenac sodium. **Pharmacol. Pharm.** v. 2, p. 56–66, 2011.
- PAL, R. Rheology of high internal phase ratio emulsions. **Food Hydrocolloids**. v. 20, p. 997–1005, 2006.
- PAL, R. HWANG, C. Y. J. Loss Coefficients for Flow of Surfactant-Stabilized Emulsions Through Pipe Components. **Chemical Engineering Research and Design**. v. 77, p. 685–691, 1999.
- PAL, R. Viscosity and storage/loss moduli for mixtures of fine and coarse emulsions. **Chemical Engineering Journal**, v. 67, p. 37–44, 1997.
- PAL R. Viscoelastic properties of polymer-thickened oil-in-water emulsions. **Chem Eng Sci**. v. 51, p. 3299–3305, 1996.

Pal, R. Rheological behaviour of concentrated surfactant solutions and emulsions. **Colloids and Surfaces**. v. 64, p. 207–215, 1992.

PAPINI, C.J. **Estudo comparativo de métodos de determinação do tamanho de partícula**. São Paulo. Dissertação de Mestrado - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo. 130p , 2003.

PAWLIK, A. K.; NORTON, I. T. Bridging benchtop research and industrial processed foods: Structuring of model food emulsions. **Food Structure**. v. 1, 2014, p. 24–38, 2014.

PELEGRINI, D. H. ; VIDAL, J. R. M. B. GASPARETTO, C. A. Estudo da viscosidade aparente das polpas de manga (Keit) e abacaxi (Pérola). **Ciência e tecnologia de Alimentos**. v. 20, 2000.

PEREZ-MORAL, N.; WATT, S.; WILDE, P. Comparative study of the stability of multiple emulsions containing a gelled or aqueous internal phase. **Food Hydrocolloids**. v.42, p. 215–222, 2014.

PRISTA, L.N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R.M.R. **Tecnologia Farmacêutica**, 5° ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995.

RANC, H.; ELKHYAT, A.; SERVAIS, C.; MAC-MARY, S.; LAUNAY, B.; HUMBERT, P. Friction coefficient and wettability of oral mucosal tissue: Changes induced by a salivary layer. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 276, p. 155–161, 2006.

RAO, M. Anandha; **Rheology of Fluid and Semisolids Foods-Principles and Applications**, Maryland, USA, Aspen Publication, 1999.

RAMOS, A. M. Caracterización **Reológica y Transmisión de Calor em Derivados de Frutas en el Interior de Tanques Agitados**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Escola Técnica Superior D'Enginyeria Agrària de Lleida, Universitat de Lleida, Lleida, 76 p., 1997.

RÉFEGA, R. J. M. **Nanopartículas para Aplicação Biomédica**. Dissertação de Mestrado - Instituto Superior Técnico – Universidade Técnica de Lisboa. p. 71, 2010.

RENARD, D.; VAN DE VELDE, F.; VISSCHERS, R. W. The gap between food gel structure, texture and perception. **Food Hydrocolloids**. v. 20, p. 423–431, 2006.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**, São Paulo: Edgard Blücher. Instituto Mauá de Tecnologia, p. 184, 2004

SALDARRIAGA, M.R.V. **Atenuação de vibrações em máquinas rotativas flexíveis usando materiais viscoelásticos nos suportes**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Uberlândia – Faculdade de Engenharia Mecânica. p. 120, 2007.

SANGUANSRI L.; SHEN, Z.P.; WEERAKKODY R.; BARNES, M.; LOCKETT, T.; AUGUSTIN, M.A. Omega-3 fatty acids in ileal effluent after consuming different foods

containing microencapsulated fish oil powder – An ileostomy study. **Food & Function**, v. 4, p. 74–82, 2013.

SANTIAGO, M. D. C. N.; MONTEALVO, M. G. D. C. M.; FERIA, J. S. **Introducción a la Reología**. México: Instituto Politécnico Nacional, 104 p., 2001.

SAPEI, L.; NAQVI, M.A.; ROUSSEAU, D. Stability and release properties of double emulsions for food applications. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 316–323, 2012.

SCHRAMM, G. *Reologia e Reometria. Fundamentos Teóricos e Práticos*. São Paulo: Artiliber, 2006.

SCHRAMM, L. L. **Emulsions, Foams, and Suspensions**. Wiley, p. 448, 2005.

SCHUCH, A.; GARY LEAL L.; SCHUCHMANN, H.P. Production of W/O/W double emulsions. Part I: Visual observation of deformation and breakup of double emulsion drops and coalescence of the inner droplets. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 461, p. 336–343, 2014.

SCHUSTER, S.; BERNEWITZA, R.; GUTHAUSENB, G.; ZAPPC, J.; GREINERD, A.M.; KÖHLERA, K.; SCHUCHMANNA, H.P. Analysis of W1/O/W2 double emulsions with CLSM: Statistical image processing for droplet size distribution. **Chemical Engineering Science**. v. 81, p. 84–90, 2012.

SETA, L.; BALDINO, N.; GABRIELE, D.; LUPI, F.R.; DE CINDIO, B. The effect of surfactant type on the rheology of ovalbumin layers at the air/water and oil/water interfaces. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 247–257, 2012.

SEIFRIZ, W. Studies in emulsions. **American Journal of Physiology**, v. 66, p. 738-749, 1923.

SILLETTI, E.; VINGERHOEDSA, M. H.; NORDE, W.; VAN AKEN, G. A. The role of electrostatics in saliva-induced emulsion flocculation. **Food Hydrocolloids**, v. 21. p. 596–606, 2007.

SIMOVIC, S.; TAMBURIC, S.; MILIC-ASKRABIC, J.; RAJIC D. An investigation into interactions between polyacrylic polymers and a non-ionic surfactant: an emulsion preformulation study. **International Journal of Pharmaceutics**, New York, v. 184, p. 207-217, 1999.

STANLEY, N. F. Agars. In: Stephen, A. M. (Ed) **Food Polysaccharides and their applications**. New York: Marcel Dekker. p. 187-204, 1995.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**, 2^a Ed. Freeman Press, East Lansing, Michigan State, USA. 418p. 1996.

SUGIURA, S.; NAKAJIMA, M.; YAMAMOTO, K.; IWAMOTO, S.; ODA, T.; SATAKE, M. Preparation characteristics of water-in-oil-in-water multiple emulsions using microchannel emulsification. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 270, p. 221–228, 2004.

SU, J.; FLANAGAN, J.; SINGH, H. Improving encapsulation efficiency and stability of water-in-oil-in-water emulsions using a modified gum arabic (Acacia (sen) SUPER GUM™). **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 112–120, 2008.

SU, J.; FLANAGAN, J.; HEMAR, Y.; SINGH, H. Synergistic effects of polyglycerol ester of polyricinoleic acid and sodium caseinate on the stabilisation of water-oil-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 20, 261-268, 2006.

SURH, J.; VLADISAVLJEVIĆ, G.T.; MUN, S.; MCCLEMENTS, D.J. Preparation and characterization of water/oil and water/oil/water emulsions containing biopolymer-gelled water droplets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, p. 175–184, 2007.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 108-109, p. 227-258, 2004.

TAYLOR, M. S. **Stabilisation of water-in-oil emulsions to improve the emollient properties of Lipstick**. A dissertation submitted in partial fulfilment of the requirement for the degree of MRes Chemical Engineering Science at the University of Birmingham. School of Chemical Engineering The University of Birmingham. p. 233, 2011.

TCHOLAKOVA, S.; DENKOV, N.D.; IVANOV, I.B.; CAMPBELL, B. Coalescence stability of emulsions containing globular milk proteins. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 123–126, p. 259–293, 2006.

TOGASHI, M.; MORITA, A.; NAKAZAWA, F. Rhythmic and irregular movement of the first molar while eating food with different textures. **Journal of Texture Studies**, v.31, p. 257–271, 2000.

TONELI, J. T. C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, Especial, v.7, n.2, p.181-204, 2005.

TRAN, T.; ROUSSEAU, D. Stabilization of acidic soy protein-based dispersions and emulsions by soy soluble polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 382–392, 2013.

VIANNA-FILHO, R. P.; PETKOWICZ, C. L. O.; SILVEIRA, J. L. M. Rheological characterization of O/W emulsions incorporated with neutral and charged polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, p. 266-272, 2013.

VINGERHOEDS, M. H.; DE WIJK, R. A.; ZOET, F. D.; NIXDORF, R. R.; VAN AKEN, G. A. How emulsion composition and structure affect sensory perception of low-viscosity model emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p.631–646, 2008.

VASILJEVIC, D; VULETA, G; PRIMORAC, M. The characterization of the semi-solid W/O/W emulsions with low concentrations of the primary polymeric emulsifier. **Int. J. Cosmet. Sci.** v. 27, p. 81-87, 2005.

VITOVA, E., LOUPANCOVA, B., SKLENAROVA, K., DIVISOVA, R., & BUNKA, F. Identification of volatile aroma compounds in processed cheese analogues based on different types of fat. **Chemical Papers**, v. 66, p. 907–913, 2012.

ZUGE, L. C. B.; HAMINIUIK, C.W.I.; MACIEL, G. M.; SILVEIRA, J. L. M.; SCHEER, A. P. Catastrophic inversion and rheological behavior in soy lecithin and Tween 80 based food emulsions. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 72-77, 2013.

WANG, B.; WANG, L.; LI, D.; ADHIKARIC B.; SHID, J. Effect of gum Arabic on stability of oil-in-water emulsion stabilized by flaxseed and soybean protein. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 343– 351, 2011.

WEBSTER, J. L.; DUNFORD, E. K.; HAWKES, C.; NEAL, B. C. Salt reduction initiatives around the world. **Journal of Hypertension**, v. 29, n. 6, p. 1043-1050, 2011.

WEISS, J.; MUSCHIOLIK, G. Factors affecting the droplet size of water-in-oil emulsions (W/O) and the oil globule size in water-in-oil-in-water emulsions (W/O/W). **Journal of Dispersion Science and Technology**, v.28, p.703 – 716, 2007.

WITTERN K. P.; ANSMANN A.; HÜTTINGER R.; BILLEK D.; CHARLET E.; HOENEN L.; KUCZERA K.; MOTITSCHKE L.; QUACK J.; SEIB K.; UMBACH I.; WOLFF G. Stability testing of cosmetic emulsions: experience of a circular test. **Cosmet Toiletries**, v. 100, p. 33-9, 1985.

YANO, J. The roles of emulsifiers in fat crystallization. In: GARTI, N.; SATO, K. Crystallization processes in fats and lipid systems. New York – Basel: Marcel Dekker Inc, 2001. p. 211-250.