UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

NAYLA PÁDUA DEL BIANCO GONTIJO SOUKI

# Desenvolvimento e caracterização de géis polissacarídicos carregados com emulsões e enriquecidos com nutrientes para suplementação de alimentação de leitões

PIRASSUNUNGA

2017

NAYLA PÁDUA DEL BIANCO GONTIJO SOUKI

# Desenvolvimento e caracterização de géis polissacarídicos carregados com emulsões e enriquecidos com nutrientes para suplementação de alimentação de leitões

"Versão Corrigida"

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientadora: Profª Drª Samantha Cristina de Pinho

PIRASSUNUNGA

2017

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S719d

Souki, Nayla Pádua Del Bianco Gontijo
Desenvolvimento e caracterização de géis polissacarídicos carregados com emulsões e enriquecidos com nutrientes para suplementação da alimentação... / Nayla Pádua Del Bianco Gontijo Souki ; orientadora Samantha Cristina de Pinho. -- Pirassununga, 2017.
93 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Fumarato ferroso. 2. Gel carregado de emulsão. 3. Prebióticos. 4. Anemia ferropriva. I. Pinho, Samantha Cristina de , orient. II. Título.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - o autor

*Aos meus pais, Magid e Ângela, e à minha irmã*

*Lillian, meus amores e inspiração, presentes de Deus.*

## AGRADECIMENTOS

À professora Samantha Cristina de Pinho, pela confiança depositada em meu trabalho; pela dedicação e comprometimento com a orientação; por exercer com tanto carinho a profissão e pelos conselhos.

À Agroceres Multimix pela parceria e pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Ao CNPq pela concessão de bolsas do projeto de Pesquisa – Programa RHAE pesquisador na empresa.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo pelo ambiente acolhedor e por todo o conhecimento adquirido ao longo dos anos.

Aos professores Paulo Sobral e Izabel Moraes pelas contribuições para o aperfeiçoamento do trabalho na Qualificação de Mestrado.

Às minhas companheiras de projeto Camila Cazado, Isabela Fukuda, Laura Borgatti e Kátia Borrajo, por terem aceitado o desafio e por todo o aprendizado adquirido e compartilhado ao longo do trabalho.

Às companheiras de república Isabela, Beatriz e Camila pelos excelentes momentos de convivência;

Ao Arthur por todo apoio, companheirismo e paciência.

Aos colegas do Laboratório de Coloides e Funcionalidade de Macromoléculas: Ivana, Marluci, Cynthia, Marília, Thaís, Taíse, Guilherme, Matheus, Juliana, Marina, Letícia pela boa convivência, por todos os bons momentos, experiências e conhecimentos compartilhados.

À Colorcon pela doação de HPMC (hidroxipropilmetilcelulose).

Aos técnicos de laboratório Guilherme de Sousa Silva, Camila Velludo Molina e Marcelo Thomazini por se colocarem sempre à disposição.

Aos meus amigos e família, que, ao meu lado, tornam a vida mais leve e colorida.

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

A Deus por me permitir vivenciar esta experiência e muitas outras.

Muito obrigada.

# RESUMO

SOUKI, N. P. D. B. G. **Desenvolvimento e caracterização de géis polissacarídios carregados com emulsões e enriquecidos com nutrientes para suplementação de alimentação de leitões**. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

O presente trabalho de Mestrado teve como objetivo produzir géis carregados de emulsão contendo nutrientes incorporados, visando a complementação da alimentação de leitões neonatos. Para alcançar tal objetivo, foram produzidas emulsões utilizando-se diferentes lipídios e tensoativos para definição preliminar sobre quais destes ingredientes seriam mais eficientes na formação de emulsões estáveis. As emulsões produzidas foram avaliadas em relação à distribuição de tamanho de gota e aspecto visual dentro de 24 h após a produção. A partir de tais resultados, algumas amostras foram escolhidas e foi estudado o aumento da concentração de lipídios, bem como a razão óleo:tensoativo e intensidade de agitação. Para cada emulsão estudada, esta era incorporada ao gel polissacarídico, e então realizava-se um estudo da estabilidade térmica a 40 e 50 °C. Após a definição da melhor concentração de lipídios, ocorreu o estudo da incorporação de nutrientes em diversas concentrações na emulsão. Novamente, as emulsões foram avaliadas por meio da distribuição de tamanho de gota, bem como pelo aspecto visual. Foi avaliada a estabilidade da emulsão ao longo de 28 dias, que indicou um sistema estável para o período indicado. Os géis carregados foram analisados quanto à quantidade de energia e à atividade de água, apresentando um baixo valor energético e atividade de água alta. Foram também caracterizados por análises reológicas, que indicaram que a presença da emulsão fortaleceu a estrutura do gel, indicando adesão das gotas à matriz biopolimérica. O gel carregado de emulsão apresentou estabilidade microbiológica, não tendo havido crescimento de fungos filamentosos e não-filamentosos, bem como a manutenção do pH. No entanto, houve alteração da cor ao longo da estocagem. Assim, foi possível produzir um gel carregado de emulsão contendo nutrientes, possibilitando a formação de um sistema estável.



Palavras-chave: Fumarato ferroso. Gel carregado de emulsão. Prebióticos. Anemia ferropriva.

## ABSTRACT

SOUKI, N. P. D. B. G. **Development and characterization of emulsion-filled polysaccharide gels enriched with nutrients for feeding supplementation of piglets.** 2016. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

The aim this work was to produce emulsion filled gels with the incorporation of nutrients for the complementation of nutrition of neonates piglets. For this, the emulsions were produced from a variety of lipids and surfactants to define, preliminarily, which of these ingredients would be efficient to form stable emulsions. The emulsions produced were evaluated by droplet size distribution and visual appearance within 24 hours after production. From these results, some samples were selected and the increase of lipid concentration was studied as well as the ratio oil:surfactant and the stirring intensity. For each emulsion studied, this was incorporated into the polysaccharide gel and then the thermal stability study at 40 and 50 °C was made. After setting the optimal concentration of lipids and a stirring intensity, there was the study of nutrientse incorporation at different concentrations in the emulsion. Again, the emulsions were evaluated by droplet size distribution, as well as by visual appearance. The emulsion stability was evaluated over 28 days, which indicated a stable system for this time. The emulsion filled gels were characterized for the amount of energy and water activity and presented as results low amount of energy and high water activity. In the rheological characterization, the results showed that the presence of emulsion strengthened the gel structure, indicating adhesion of the droplets to the biopolymer matrix. The emulsion filled gel showed microbiological stability has not been growing of filamentous and non-filamentous fungi, as well as pH stability. However, there was a change in color over the storage. Thus, it was possible to produce an emulsion-filled gel with nutrients, on which occurred the formation of a stable system.



Keywords: Ferrous fumarate. Emulsion-filled gel. Prebiotics. Iron deficiency.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Estrutura química da unidade monomérica da goma guar. ..... 18
**Figura 2** - Estrutura molecular de uma unidade monomérica de goma locusta, contendo uma razão manose:galactose de 4:1. ..... 18
**Figura 3** - Estrutura molecular da unidade monomérica da goma xantana. ..... 19
**Figura 4** - Estrutura química da unidade monomérica da celulose ..... 21
**Figura 5** - Estrutura química da unidade monomérica da hidroxipropilmetilcelulose (HPMC). 22
**Figura 6** - Sistema óleo/água antes e após o processo de emulsificação. ..... 24
**Figura 7** - Representação esquemática dos homogenizadores de alta-energia sendo eles: a) Microfluidizador, b) Homogenizador de probe ultrasônico, c) Homogenizador de alta pressão e d) Homogenizador de jato ultrasônico. ..... 26
**Figura 8** - Diferença entre os fenômenos de: a) coalescência e b) coalescência parcial. ..... 28
**Figura 9** - Fenômenos que causam a instabilidade física de emulsões, ilustrados por a) Cremeação, b) Inversão de fases e c) Maturação de Ostwald. ..... 29
**Figura 10** - Representação esquemática dos dois sistemas coloidais géis-emulsões: a) Gel carregado de emulsão (Tipo sólido carregado de partículas) e b) emulsão gelificada (Gel particulado contendo partículas agregadas). ..... 30
**Figura 11** - Estrutura química do monômero da inulina. ..... 35
**Figura 12** - Fórmula estrutural da lactose..... 37
**Figura 13** - Estrutura química genérica dos tocoferóis. ..... 39
**Figura 14** - Fluxograma de ações realizadas para determinação de formulações. ..... 45
**Figura 15** - Curvas de distribuição de diâmetro hidrodinâmico de gotícula das emulsões, no dia zero, produzidas de acordo com as formulações descritas na Tabela 5. ..... 55
Figura 16 - Aspecto visual das emulsões a) 1, 3, 4, 5 e 6; b) 2, c) 7, d) 8, e) 9, f) 10 e g) 11, no dia zero, produzidas de acordo com as formulações descritas na Tabela 5. ..... 56
**Figura 17** - Influência do aumento da concentração de lipídios de 4% para 6 e 8% no diâmetro hidrodinâmico de gota para as emulsões a) 1(óleo de babaçu e ácido palmítico, tween 20), b) 5 (óleo de babaçu e ácido palmítico, tween 80), c) 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20) e d) 10 (óleo de babaçu e ácido caprilico, tween 20). Razão óleo:tensoativo de 1:1 para todas as amostras..... 57
**Figura 18** - Bisnaga para acondicionamento e comercialização dos géis carregados de emulsão contendo nutrientes para leitões. ..... 58
**Figura 19** - Géis polissacarídicos contendo 9% de fumarato ferroso e variadas concentrações de polissacarídeos de acordo com a Tabela 8. ..... 58
**Figura 20** - Aspecto visual das amostras de géis após estresse térmico a 40 e 50 ◦C das amostras contendo emulsões com 8% de lipídios a) 1 (óleo de babaçu e ácido palmítico, tween 20), 5 (óleo de babaçu e ácido palmítico, tween 80), 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20) e 10 (óleo de babaçu e ácido caprilico, tween 20); b) amostra 5: exemplo de visualização da migração do fumarato ferroso para a superfície. ..... 59
**Figura 21** - Influência da redução da intensidade de agitação no a) diâmetro médio hidrodinâmico das gotículas e distribuição do diâmetro hidrodinâmico das gotículas nas amostras b) 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20) e c) 10 (óleo de babaçu e ácido caprílico, tween 20), contendo ambas 8% de lipídio. ..... 60
**Figura 22** – Influência de diferentes valores de ROT no diâmetro médio hidrodinâmicos das amostras 9 e 10 com: a) 10% de lipídios; b) 15% de lipídios e, c) 20% de lipídios. ..... 61
**Figura 23** - Influência de diferentes valores de ROT na distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos das amostras 9 e 10 com: a) 10% de lipídios; b) 15% de lipídios e, c) 20% de lipídios. ..... 62

**Figura 24** - Géis carregados de emulsão, após estresse térmico a 40 e 50 ◦C, contendo: a) 10% de lipídios, b)15% de lipídios e c) 20% de lipídios na emulsão. As setas vermelhas indicam separação de fases. ..... 63
**Figura 25** - Influência da adição de tocoferol na distribuição do tamanho de gota para amostra 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tensoativo tween 20). ..... 64
**Figura 26** - Influência de diferentes concentrações de inulina na distribuição de tamanho de gota para a amostra 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tensoativo tween 20). ..... 64
**Figura 27** - Influência de diferentes concentrações de lactose na distribuição de tamanho de gota para emulsão 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20) com 10% (m/m) de lipídios, proporção óleo/tensoativo (1:0,5), 0,5% de tocoferol e 2% (m/m) de inulina. ..... 65
**Figura 28** - Curvas de distribuição de tamanho de gotas da emulsão com 10% (m/m) de lipídios, 5% (m/m) tween 20, 0,5% (m/m) de alfa-tocoferol, 2% (m/m) de inulina e 4% (m/m) de lactose, durante 28 dias de armazenagem a temperatura ambiente. ..... 65
**Figura 29** - Géis carregados de emulsão (5% ácido láurico e 5%ácido caprílico, 5% tween 20) com 0,5% de alfa-tocoferol, 2% de inulina e 4% de lactose após o estresse térmico a 40 e 50 ◦C. ..... 66
**Figura 30** - Microscopia de fluorescência da emulsão (ácido láurico e caprílico, tween 20) (aumento: 20x). ..... 67
**Figura 31** - Microscopia confocal de fluorescência de a) e b) gel polissacarídico contendo fumarato ferroso, c) e d) gel carregado de emulsão com inulina, lactose, α-tocoferol e fumarato ferroso, e) e f) gel carregado de emulsão com inulina, lactose e α-tocoferol. Aumento de 10x para as amostras da coluna esquerda e 40x para as amostras da coluna direita. ..... 69
**Figura 32** - Varredura de deformação de géis polissacarídicos (2% goma guar, 1% goma xantana, 1% HPMC, 0,6% goma locusta e 9,09% fumarato ferroso) e géis carregados de emulsão (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20, 0,5% alfa-tocoferol, 2% inulina, 4% lactose e 9,09% fumarato ferroso) nas temperaturas de a) 25 °C e b) 60 °C. ..... 70
**Figura 33** - Varredura de frequência de géis polissacarídicos (2% goma guar, 1% goma xantana, 1% HPMC, 0,6% goma locusta e 9,09% fumarato ferroso) e géis carregados de emulsão (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20, 0,5% alfa-tocoferol, 2% inulina, 4% lactose e 9,09% fumarato ferroso). ..... 71
**Figura 34** - Varredura de temperatura para géis polissacarídicos (2% goma guar, 1% goma xantana, 1% HPMC, 0,6% goma locusta e 9,09% fumarato ferroso) e géis carregados de emulsão (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20, 0,5% alfa-tocoferol, 2% inulina, 4% lactose e 9,09% fumarato ferroso). ..... 73
**Figura 35** - Valores de pH ao longo de 98 dias de estocagem. ..... 75
**Figura 36** - Parâmetros colorimétricos obtidos do gel carregado de emulsão (ácido láurico, ácido caprílico e tween 20) contendo inulina, lactose, α-tocoferol e fumarato ferroso ao longo de 63 dias de esticagem em (a) croma, (b) Diferença Total de Cor (TCD). ..... 77
**Figura 37** - Cores obtidas segundo um conversor de cores para o sistema CIE-L*ab para as amostras no dia 0 e após 63 dias de estocagem a 25 °C. ..... 78

# LISTA DE TABELAS

**Tabela 1 -** Graus de substituição para os grupos metoxi e hidroxipropil ..... 23
**Tabela 2 -** Comparação entre as características das emulsões produzidas pelos diversos tipos de homogeneizadores. ..... 25
**Tabela 3 -** Peso molecular e ponto de fusão dos ácidos graxos de cadeia média. ..... 33
**Tabela 4 -** Substituições do grupo metila na molécula de tocoferol e atividade antioxidante para cada tipo de tocoferol. ..... 39
**Tabela 5 -** Formulações utilizadas na produção das emulsões. ..... 46
**Tabela 6 -** Concentrações de lipídios e razões óleo:tensoativo (ROT) testadas. ..... 48
**Tabela 7 -** Concentrações utilizadas de inulina, lactose e alfa-tocoferol (valores corrigidos para a concentração no produto final - gel carregado de emulsão). ..... 49
**Tabela 8 -** Formulações testadas na produção de géis de polissacarídeos contendo fumarato ferroso. ..... 50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/O – água em óleo

AGCM – Ácidos graxos de cadeia média

EIP – *emulsion inversion point* (ponto de inversão da emulsão)

GG – Goma guar

GL – Goma locusta

GX – Goma xantana

HPMC – Hidroxipropilmetilcelulose

O/A – óleo em água

PIT – *phase inversion temperature* (temperatura de inversão de fases)

ROT – Razão óleo:tensoativo

RVL – Região de viscoelasticidade linear

**SUMÁRIO**


**1 INTRODUÇÃO ..... 15**

**2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ..... 17**

**2.1 Géis polissacarídicos: gomas xantana, guar e locusta e seus efeitos sinérgicos ..... 17**

**2.2 Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) ..... 21**

**2.3 Emulsões: estrutura, métodos de produção e estabilidade ..... 23**

**2.5 Géis carregados de emulsão ..... 29**

**2.4 Nutrientes para alimentação de leitões ..... 33**

**2.4.1 Ácidos graxos de cadeia média ..... 33**

**2.4.2 Inulina ..... 34**

**2.4.3 Lactose ..... 37**

**2.4.4 Alfa-tocoferol ..... 38**

**2.4.5 Suplementos de ferro: importância e influência de sua administração via oral e intravenosa no bem-estar de leitões ..... 40**

**3 OBJETIVOS ..... 43**

**4 MATERIAIS E MÉTODOS ..... 44**

**4.2.1 Testes preliminares para produção das emulsões ..... 46**

**4.2.3 Adição de nutrientes na formulação (inulina, lactose e alfa-tocoferol) ..... 48**

**4.2.4 Análises de microscopia ótica de fluorescência das emulsões ..... 49**

**4.2.5 Testes preliminares para produção dos géis de polissacarídeos ..... 49**

**4.2.6 Quantificação da energia bruta dos géis carregados de emulsão por bomba calorimétrica ..... 51**

**4.2.7 Atividade de água ..... 51**

**4.2.8 Microscopia confocal a laser ..... 51**

**4.2.9 Análises reológicas ..... 52**

**4.2.9.1 Determinação da região de viscoelasticidade linear (RVL) ..... 52**

**4.2.9.2 Ensaios de varredura de frequência ..... 52**

**4.2.9.3 Ensaios de varredura de temperatura ..... 53**

**4.2.10 Estudo de estabilidade dos géis carregados de emulsão durante a estocagem ..... 53**

**4.2.10.1 Avaliação dos valores de pH ..... 53**

**4.2.10.2 Determinação de parâmetros colorimétricos ..... 53**

**4.2.10.3 Avaliação da estabilidade microbiológica dos géis ..... 54**

4.3 **Análise estatística dos dados ..... 54**

**5 RESULTADOS E DISCUSSÕES ..... 55**

**5.1 Testes preliminares para produção das dispersões e géis carregados ..... 55**

**5.1.1 Avaliação da redução da intensidade de agitação no processo de produção das dispersões ..... 59**

**5.1.2 Avaliação da variação da razão óleo:tensoativo (ROT) nas dispersões e aumento da concentração de lipídios ..... 60**

**5.1.3 Adição de alfa-tocoferol, inulina e lactose às emulsões ..... 63**

**5.1.4 Microscopia de fluorescência das emulsões ..... 66**

**5.1.5 Quantificação da energia dos géis carregados de emulsão por calorimetria ..... 67**

**5.1.6 Atividade de água ..... 67**

**5.1.7 Microscopia confocal a laser ..... 67**

**5.2 Comportamento reológico dos géis ..... 70**

**5.2.1 Ensaios oscilatórios ..... 70**

**5.3 Estudo de estabilidade dos géis carregados de emulsão durante a estocagem ..... 74**

**5.3.1 Avaliação dos valores de pH ..... 74**

**5.3.2 Avaliação da estabilidade microbiológica dos géis ..... 75**

**5.3.3 Determinação de parâmetros colorimétricos ..... 76**

**6 CONCLUSÕES ..... 79**

**REFERÊNCIAS ..... 80**

# 1 INTRODUÇÃO

Um dos problemas existentes na produção intensiva de suínos é a anemia ferropriva em leitões neonatos, que ocorre em leitões sob confinamento devido à falta de acesso do animal a terra, que representa, na natureza, uma importante fonte de ferro para os animais. A alternativa utilizada atualmente para suprir a falta de tal nutriente é a administração por via intramuscular ou subcutânea de ferro dextrana, que ocorre na região do pescoço do animal e que costuma provocar efeitos negativos tais como sensibilidade e dor no local de aplicação, fator que pode gerar inflamação, resultando em dificuldade ou impossibilidade de mamada, além de haver a possibilidade de má aplicação causando anemia, febre e calafrios, artrites causadas por contaminação por *Streptococcus suis e Escherichia coli* devido à contaminação de seringas, agulhas, pele dos animais e mãos dos aplicadores, estresse devido ao manejo e apanha para aplicação, entre outros fatores.

A adição de prebióticos e ácidos graxos de cadeia média na dieta do animal traz diversos benefícios à microbiota gastrointestinal do animal, o que reflete na sua saúde. Dentre os prebióticos mais utilizados na indústria, encontra-se a inulina, que é um carboidrato fermentável, de fator bifidogênico, que estimula o crescimento de bifidobactérias que possuem a capacidade de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos. Por sua vez, os ácidos graxos de cadeia média, além de também possuir atividade antimicrobiana, possuem rápida digestão e absorção. Estes componentes, quando adicionados à dieta dos suínos neonatos, afetam o seu ganho de peso e a conversão alimentar do animal devido aos seus benefícios, melhorando índices de desempenho zootécnicos, e diminuindo, eventualmente, os custos de produção. Além disso, a utilização de tais componentes na dieta dos leitões recém-nascidos é uma alternativa ao uso de antibióticos promotores do crescimento, fato que atualmente é altamente desejável e valorizado na indústria de produção animal.

Os géis carregados de emulsão são materiais coloidais complexos, compostos por uma matriz de gel que possui gotículas de óleo incorporadas em sua estrutura. O tipo de incorporação das gotículas da emulsão na estrutura gelificada é influenciada pela afinidade da matriz com o agente emulsificante presente na interface das gotículas da emulsão e irá influenciar nas propriedades reológicas do material.

Dentro do contexto descrito, o objetivo principal da presente Dissertação de Mestrado foi desenvolver um gel polissacarídico carregado de emulsão, enriquecido com diversos nutrientes a ser administrado por via oral, contribuindo para o desenvolvimento saudável de leitões nenonatos. Para tal, se fez necessário, primeiramente, o estudo dos parâmetros de produção das emulsões, tais como intensidade de agitação, concentrações e influência de

componentes no meio. Em relação ao gel carregado, foi realizada a avaliação da influência das condições de estocagem e submissão do produto a condições extremas de temperatura sobre sua estabilidade. Realizou-se também sua caracterização reológica, microbiológica e estudo da estabilidade físico-química durante o armazenamento.

A presente Dissertação de Mestrado foi desenvolvida no Laboratório de Coloides e Funcionalidade de Macromoléculas do Departamento de Engenharia de Alimentos (ZEA) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP).

# 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

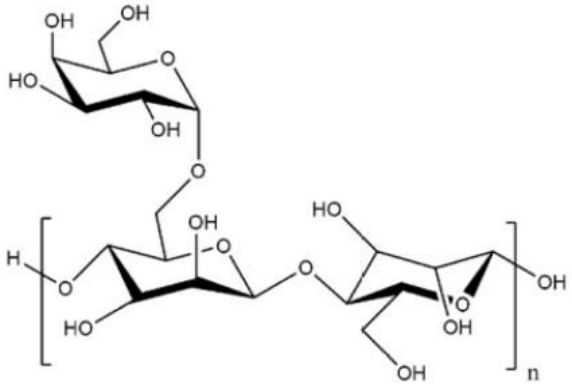
## 2.1 Géis polissacarídicos: gomas xantana, guar e locusta e seus efeitos sinérgicos

Géis são estruturas definidas como um sólido viscoelástico (HORNER, 1999). São vistos como uma fase intermediária entre o estado líquido e o estado sólido e são considerados como um sistema diluído. Sua formação ocorre por ligações cruzadas através de ligações covalentes ou não covalentes em dispersões de biopolímeros, tais como polissacarídeos e proteínas, e então, por meio destas ligações, ocorre a formação de uma estrutura tridimensional representada por uma rede capaz de aprisionar a água e outras substâncias de baixa massa molecular (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A formação de géis polissacarídicos difere da formação de géis proteicos em relação às ligações entre as cadeias poliméricas. A principal diferença entre os géis formados por proteínas e polissacarídeos está na forma das moléculas uma vez que a maioria dos carboidratos formam hastes flexíveis enquanto as proteínas globulares formam partículas enoveladas. Além disso, a concentração de polissacarídeos necessária para a formação de géis é bastante inferior em relação à concentração de proteína necessária. A formação de géis polissacarídicos é influenciada pelo tipo de polissacarídeo utilizado na formação do gel devido às diferentes características encontradas em cada um deles. Por exemplo, polissacarídeos influenciados por cargas, como alginatos e pectinas de baixa metoxilação, sofrem gelificação na presença de cátions, como o cálcio, enquanto outros, como o ágar e goma gelana, sofrem influência da temperatura, quando suas soluções, após o aquecimento, são resfriadas em temperaturas inferiores a 40 °C formando géis termorreversíveis (TOMBS, 1997). Algumas gomas não formam gel quando sozinhas em meio aquoso, porém, a combinação de alguns tipos destas produz um efeito sinérgico entre elas levando, então, à gelificação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Este fenômeno pode ser entendido nas descrições a seguir.

A goma guar é um polissacarídeo natural, não-iônico, solúvel em água e obtido de sementes de *Cyamopsis tetragonolobus*. Consiste de cadeias lineares de (1→4)-β-D-manopiranosil unidas com unidades simples de α-D-galactopiranosil por ligações (1→6), conforme ilustrado na Figura 1. Devido ao fato de não ser tóxica, é possível utilizá-la em uma ampla variedade de fármacos, cosméticos e alimentos. É utilizada na indústria como agente espessante, modificador de viscosidade, emulsificante, estabilizante, bem como fibra natural (SRIVASTAVA; KAPOOR, 2005; MIRSHA; SEN, 2011). A goma guar é a goma que possui a maior capacidade de aumentar a viscosidade de um determinado sistema dentre as gomas naturais comercializadas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

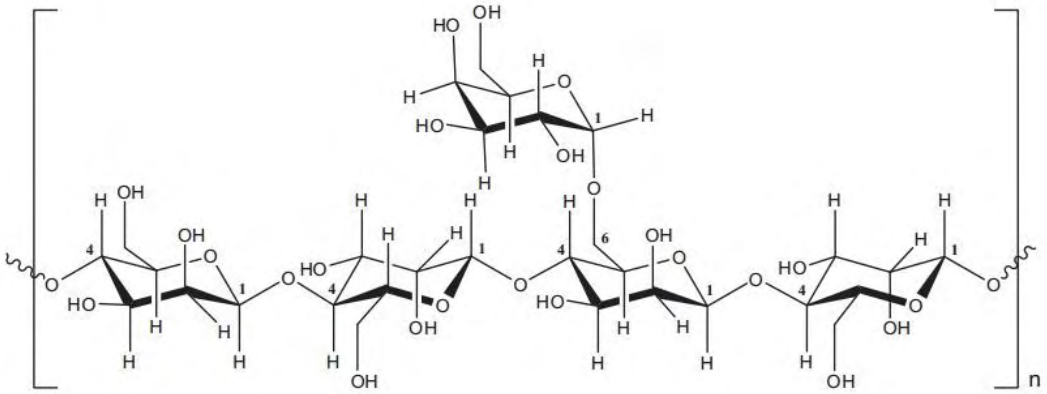
**Figura 1 -** Estrutura química da unidade monomérica da goma guar.



**Fonte:** MIRSHA, S.; SEN, G. Microwave initiated synthesis of polymethylmethacrylate grafted guar (GG-g-PMMA), characterizations and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 48, p. 688-694, 2011.

Por sua vez, a goma locusta, também conhecida como alfarroba, é um polissacarídeo não-iônico extraído das sementes da *Ceratonia siliqua*. É constituída de uma cadeia linear de (1→4)-β-D-manose, na qual a cada 4 unidades de manose ocorre a substituição com uma unidade de (1→6)-α-D-galactose. As unidades de manose estão dispersas aleatoriamente ao longo da cadeia do biopolímero, sendo que unidades múltiplas enfileiradas podem permitir a auto-associação, enquanto as unidades de galactose evitam interações entre cadeias polissacarídicas (KENNEDY; KENT; BROWN, 2015). A Figura 2 ilustra a estrutura molecular de uma unidade de goma locusta.

**Figura 2 -** Estrutura molecular de uma unidade monomérica de goma locusta, contendo uma razão manose:galactose de 4:1.



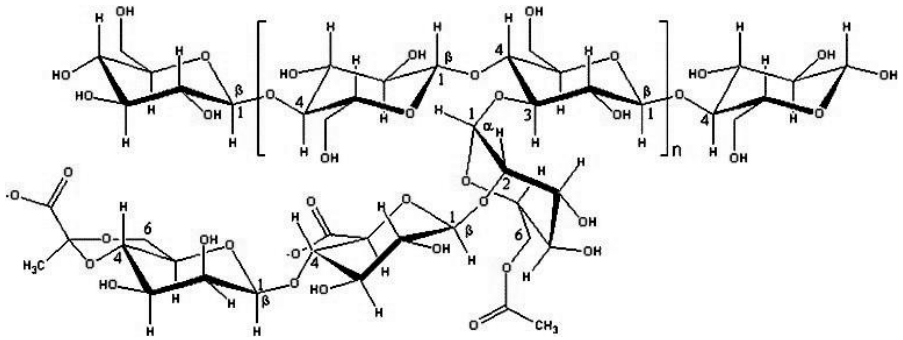
**Fonte:** LI, R.; FEKE, D. L. Rheological and kinetic study of the ultrasonic degradation of locust bean gum in aqueous saline and salt-free solutions. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 27, p. 334-338, 2015.

As gomas guar e locusta são exemplos de galactomananas, sendo que ambas são comumente utilizadas nas indústrias de alimentos como agentes espessantes. As características dos diversos

tipos de galactomananas são influenciadas pela concentração de galactose que varia de galactomanana para outra. Por exemplo, a goma guar apresenta cerca de 33% de galactose, ou seja, razão manose:galactose de 2:1, e é solúvel em água a temperatura ambiente. Já a goma locusta possui um conteúdo de galactose de 20%, ou seja, razão manose:galactose de 4:1, e é ligeiramente solúvel em água fria, mas em temperaturas elevadas dissolve-se completamente (GARCÍA-OCHOA; CASSAS, 1992). Na ausência de galactose nas cadeias laterais, o manano é completamente insolúvel em água (MAO; ZENG; CHEN, 2012). Entretanto, as propriedades tais como a capacidade de gelificar e de funcionar como agente espessante destas gomas podem ser melhoradas pela interação com outros monômeros e polímeros, principalmente devido à sua capacidade em formar interações sinérgicas devido ao grande número de grupos –OH presentes. A goma guar não possui propriedade gelificante quando sozinha em meio aquoso, mas produz soluções viscosas (SRIVASTAVA; KAPOOR, 2005) quando utilizada em baixas concentrações em meio aquoso (HAYATI; CHING; ROZAINI, 2016). A goma locusta raramente é utilizada sozinha, sendo utilizada em combinação com outras gomas, como por exemplo, gomas guar, carragena e xantana, uma vez que ocorre o fenômeno sinérgico para formação de gel entre estas gomas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Por sua vez, a goma xantana é um heteropolissacarídeo aniônico produzido por fermentação pela bactéria *Xanthomonas compestris*. É composta de uma cadeia (1→4)-β-D-glicose e sua cadeia lateral é um trissacarídeo que é composta de duas manoses e um ácido glucurônico (Figura 3). Tais cadeias laterais ligam-se à cadeia principal helicoidal e estabilizam a estrutura helicoidal, o que torna a molécula uma haste rígida com uma extraordinária estabilidade ao calor, a meios ácidos e alcalinos (HIGIRO et al., 2007).

**Figura 3 -** Estrutura molecular da unidade monomérica da goma xantana.



**Fonte:** SECOUARD, S.; GRISEL, M.; MALHIAC, C. Flavour release study as a way to explain xanthan–galactomannan interactions. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 21, p. 1237-1244, 2007.

A goma xantana é muito utilizada na indústria alimentícia devido às suas diversas características interessantes, tais como: solubilidade em água quente e em água fria; apresenta

alta viscosidade em baixas concentrações; não altera a viscosidade das soluções na faixa de temperatura de 0 a 100 °C; apresenta solubilidade e estabilidade em meio ácido; possui compatibilidade com sais; estabiliza suspensões e emulsões além de ser estabilizante de produtos submetidos ao congelamento e descongelamento (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). É comumente utilizada em conjunto com galactomananas devido ao sinergismo existente entre elas uma vez que este efeito provoca um aumento na viscosidade como um resultado de ligações intermoleculares ou interações cooperativas entre as moléculas de xantano e manano presentes nas cadeias de goma xantana e das galactomananas, respectivamente (KHOURYIEH et al., 2015). Este efeito sinergístico resulta em um aumento da viscosidade do meio quando a goma xantana é combinada com goma guar e resulta na formação de um gel termorreversível quando combinada com goma locusta (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Tal efeito sinérgico foi reportado pela primeira vez por Rocks (1971). No citado estudo, a mistura dos polissacarídeos formou um gel de gomas termorreversível quando foi realizada a mistura de gomas xantana e locusta. A mistura de gomas xantana e guar não provocou a formação de gel, mas resultou em um aumento da viscosidade do sistema.

Fernandes (1995) também estudou o efeito sinergístico entre as gomas guar/xantana e goma locusta/goma xantana. O autor realizou análises reológicas de varredura de temperatura, com obtenção dos valores do módulo de estocagem, e cinética de gelificação das misturas de gomas, com concentração total em gomas de 1% variando as razões das gomas. Observou-se que houve um aumento da viscosidade sem formação de gel para a mistura de gomas xantana e guar. Porém, também foi observado que houve gelificação quando gomas xantana e locusta foram misturadas e o gel apresentou maior módulo de estocagem (G’) na razão de 1:1. A interação entre as gomas foi maior quanto maior a temperatura de mistura, tendo sido avaliadas as temperaturas de 10, 40, 60 e 80 °C.

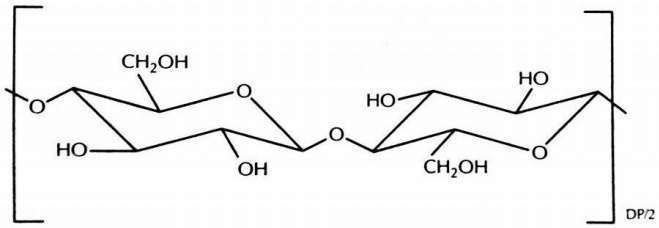
O mesmo efeito sinergístico entre as gomas guar e xantana anteriormente citado foi observado por KhouryIeh et al. (2006), que estudaram a interação sinérgica entre a goma xantana e a goma guar em duas temperaturas: 25 e 80 °C. Os autores observaram que houve um aumento da viscosidade e que a viscosidade foi maior quando foi realizado tratamento a 80 °C nas misturas de gomas guar e xantana. Além disso, os valores encontrados para viscosidade e elasticidade das misturas foram superiores aos valores encontrados para as soluções isoladas de cada uma das gomas em ambas as temperaturas, 25 e 80 °C. Tais resultados indicaram que houve interações entre as gomas devido a ligações intermoleculares entre a cadeia principal de

galactomanana e os segmentos desordenados de xantana. A interação sinérgica é fortemente dependente da quantidade de galactose e de sua distribuição ao envolver as regiões das cadeias de galactomananas (McCLEARY, 1979; KHOURYIEH et al., 2006). O processo de modificação enzimática da goma guar pode melhorar a sua interação com a goma xantana, e é realizado pela remoção de resíduos de galactose das cadeias laterais por meio da ação de uma enzima denominada α-galactosidase. Os módulos dinâmicos de gel, ou seja, módulo de estocagem (G') e módulo de perda (G"), aumentam com o aumento da razão manano:galactose. Este processo de modificação enzimática aumenta a capacidade gelificante conjunta das gomas guar e xantana, que quando comparado ao gel de goma xantana e goma locusta apresentam comportamentos similares no processo de gelificação e nos módulos dinâmicos de gel (MAO; ZENG; CHEN, 2012).

## 2.2 Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)

A celulose é um homopolímero linear, de alta massa molecular, constituída de unidades repetidas de β-D-glicopiranosil que se unem por ligações glicosídicas (1→4) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Possui como característica a insolubilidade e a incapacidade para se fundir (CHANDRA; RUSRGI, 1998). Esta incapacidade deve-se à presença de três grupos hidroxila por unidade monomérica (Figura 4) que formam ligações secundárias entre as cadeias (CANEVAROLO JR, 2002). Devido à sua natureza plana e linear suas moléculas podem associar-se através de ligações de hidrogênio levando à formação de maços fibrosos e policristalinos. Assim, a presença de ligações de hidrogênio torna a celulose insolúvel em água, pois, para que ocorra a dissolução faz-se necessário o rompimento da maioria destas ligações. Porém, é possível converter a celulose em gomas hidrossolúveis através de derivatização (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010), sendo convertida em algum de seus derivados para tornar-se processável (CHANDRA; RUSRGI, 1998).

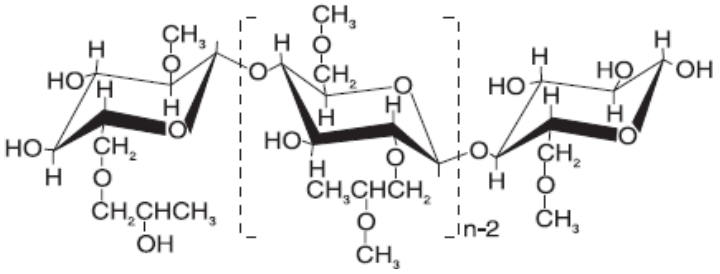
**Figura 4 -** Estrutura química da unidade monomérica da celulose




**Fonte:** DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

A hidroxipropilmetilcelulose (Figura 5) é um exemplo dos derivados de celulose, classificada, mais especificamente, como éter de celulose (PIMENTA, 2010). Possui alta massa molecular e sua formação ocorre pela reação de celuloses alcalinas com óxido de propileno e cloreto de metila (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010), assim, ocorre substituição parcial dos hidrogênios dos grupos hidroxila da celulose por grupos alquil ou grupos alquil substituídos para modificar as características da celulose nativa (PEKEL et al., 2004), tornando-a solúvel em água fria, uma vez que a inserção dos grupos éter metílicos e hidroxipropílicos ao longo das cadeias não permitem que ocorram as associações intermoleculares típicas das moléculas de celulose (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

**Figura 5 -** Estrutura química da unidade monomérica da hidroxipropilmetilcelulose (HPMC).




**Fonte:** SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C B. **Organic chemistry**. 7. ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2000.

A HPMC é um polímero hidrófilo comumente utilizado na indústria farmacêutica em sistemas de liberação controlada de fármacos, bem como na produção de filmes, agindo como agente espessante, ligante, lubrificante e emulsificante. Apresenta como característica natureza não iônica, intumescência e capacidade de gelificação (PIMENTA, 2010). Não possui toxicidade e irritabilidade, mas pode levar a efeitos laxativos (SANTOS, 1986) quando ingeridos em altas quantidades. Entretanto, as quantidades comumente utilizadas em fármacos e a ingestão diária não levam a provocar tais efeitos (PIMENTA, 2010).

O tipo de HPMC produzido varia de acordo com os graus de substituição dos grupos metoxi e hidroxipropil que irão influenciar no perfil de liberação pretendido de um fármaco, por exemplo, sendo influenciado também pela solubilidade da substância ativa a ser liberada. Os vários tipos de HPMC comercializados apresentam características físico-químicas diferentes e são afetadas pelas concentrações de grupos metoxi e hidroxipropil (Tabela 1) e pelo grau de polimerização (PIMENTA, 2010). Os grupos hidroxipropil contribuem para a hidratação do polímero devido a sua característica hidrofílica, enquanto os grupos metoxi apresentam característica hidrofóbica. Assim, os polímeros que possuem graus de substituição K irão formar a camada gelificante mais rapidamente que aqueles que possuem graus de substituição

F, uma vez que estes apresentam menor taxa de hidratação (MITCHELL et al., 1990). Porém, existe uma menor mobilidade da substância ativa na matriz formada pelo grau de substituição K, o que leva a uma liberação mais lenta devido a uma maior resistência à difusão da água, e, consequentemente, da substância ativa no sistema matricial (RAJABI-SIAHBOOMI, 1996).

**Tabela 1 -** Graus de substituição para os grupos metoxi e hidroxipropil

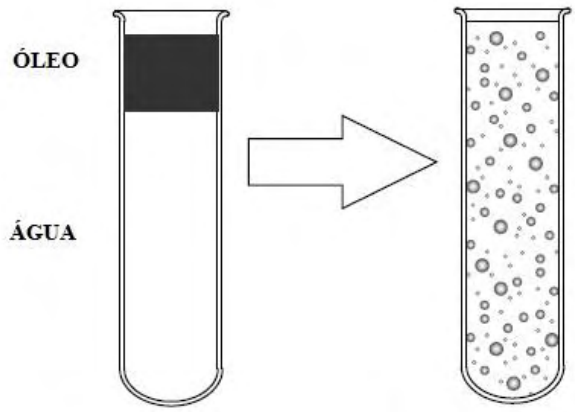
| Tipo | Grupos metoxi (%) | Grupos hidroxipropil (%) |
|---|---|---|
| A | 27 a 31 | --- |
| E | 28 a 30 | 7 a 12 |
| F | 27 a 30 | 4 a 7 |
| K | 19 a 24 | 7 a 12 |

**Fonte:** DOW CHEMICAL COMPANY. **Using METHOCEL cellulose for controlled release of drugs in hydrophilic matrix systems**. 2000.

## 2.3 Emulsões: estrutura, métodos de produção e estabilidade

Uma emulsão é definida como a mistura de dois líquidos imiscíveis, em que um líquido (fase dispersa) é disperso em outro líquido denominado de fase contínua, conforme esquematizado na Figura 6 (McCLEMENTS, 2005). A fronteira entre estas duas fases é denominada interface e a tensão interfacial entre as fases é reduzida pela ação de um agente tensoativo. As emulsões podem ser classificadas de acordo com a distribuição das fases água e óleo, sendo que um sistema que consiste em gotas de óleo dispersas em um meio aquoso é denominado emulsão óleo em água ou emulsão O/A, enquanto um sistema que possui gotas de água dispersas em uma fase óleo é denominado emulsão água em óleo ou emulsão A/O (McCLEMENTS, 2005; MASON et al., 2006). Além das emulsões convencionais acima citadas, é possível formar emulsões múltiplas como, por exemplo, emulsão óleo em água em óleo, também denominada emulsão O/A/O e emulsão água em óleo em água, também denominada emulsão A/O/A (GARTI; BENICHOU, 2004). A formação de uma emulsão pode envolver apenas um passo ou vários processos consecutivos, dependendo da natureza do material e dos métodos utilizados para a emulsificação (McCLEMENTS, 2005).

**Figura 6 -** Sistema óleo/água antes e após o processo de emulsificação.




**Fonte:** McCLEMENTS, D. J. **Food emulsions:** principles, pratices and techniques. 2. ed. Florida: CRC Press, 2005.

O tamanho das gotículas formadas é de essencial importância em uma emulsão, uma vez que o diâmetro médio de gota influencia na estabilidade física e microbiológica, nas características reológicas e óticas, na biodisponibilidade, no sabor e em muitas outras propriedades (SCHUBERT; ENGEL, 2004). As emulsões podem ser classificadas de acordo com o tamanho das gotículas, sendo classificadas como emulsões (convencionais) e nanoemulsões. A principal diferença entre estes dois sistemas é o tamanho das gotículas da fase dispersa, que para emulsões convencionais o diâmetro médio fica entre 100 nm e 100 μm, enquanto para as nanoemulsões eles estão na faixa de 30 a 100 nm (MASON et al., 2006; McCLEMENTS; LI, 2010). A distribuição do tamanho das gotículas é determinada pela quantidade de tensoativo utilizado e pela quantidade de energia gasta na produção da emulsão (KUNDU; MISRHA, 2013). A seleção correta do agente emulsificante permite um melhor controle das propriedades interfaciais tais como carga, espessura, reologia e resposta a estresses ambientais como pH, força iônica, temperatura e atividade enzimática (McCLEMENTS; LI, 2010). O agente emulsificante adsorve na superfície das gotículas durante a homogeneização formando uma membrana que impede que elas se aproximem o suficiente para coalescer, além de reduzir a tensão interfacial entre as fases água e óleo, reduzindo a energia livre requerida para deformar e perturbar as gotículas (McCLEMENTS, 2005; MASON et al., 2006).

As emulsões convencionais tendem a ser turvas ou opacas uma vez que as dimensões das gotas de lipídios estão na mesma ordem que o comprimento de onda da luz de forma que a dispersão de luz é relativamente forte (McCLEMENTS; LI, 2010; HERRERA, 2012). A viscosidade das emulsões pode aumentar se ocorrer floculação das gotas ou ainda caso seja adicionado um agente espessante ao meio, na fase aquosa. Sua viscosidade aumenta com o aumento da concentração de gotículas (McCLEMENTS, 2005).

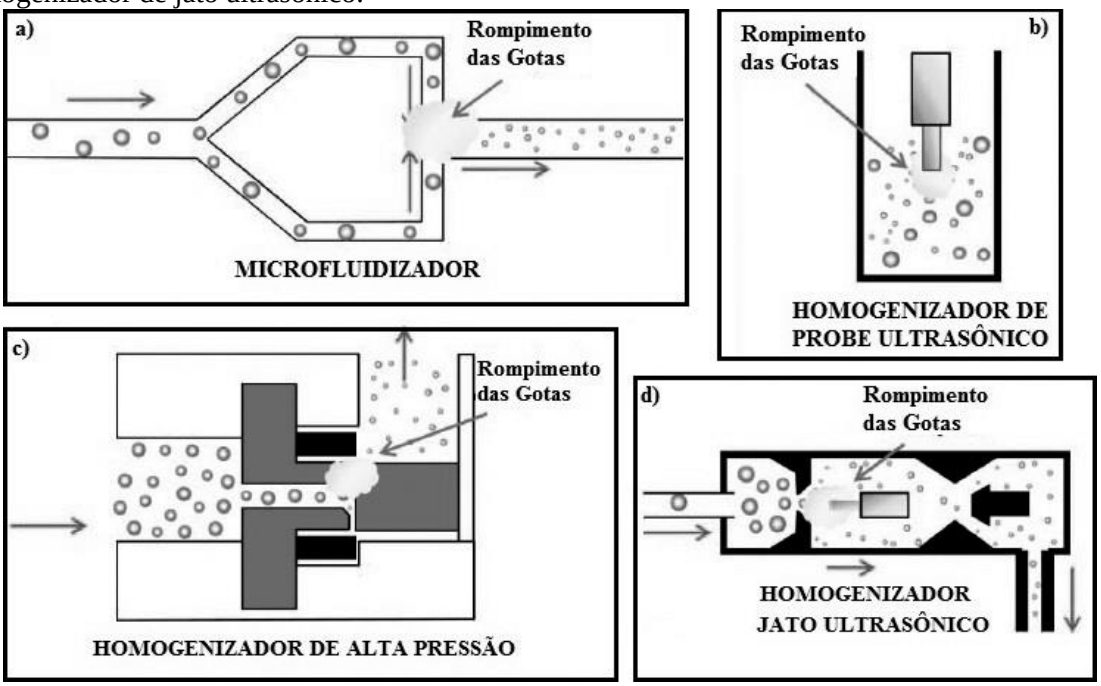
Emulsões e nanoemulsões podem ser formadas através de dois tipos de métodos, sendo estes classificados em métodos de alta energia e de baixa energia. Nos métodos de alta energia, são utilizadas forças mecânicas, como forças de cisalhamento e alta pressão, que tornam as fases homogêneas, podendo, além de realizar a homogeneização das emulsões em relação aos tamanhos de gota, reduzir tal tamanho pela quebra das fases macroscópicas em gotas pequenas (SOLÈ et al., 2006). Neste método, são utilizados diversos tipos de homogeneizadores para formar emulsões, cada qual com suas vantagens e desvantagens. As características das emulsões formadas através dos diversos tipos de homogeneizadores podem ser observadas na Tabela 2. A natureza do homogeneizador a ser escolhido depende de diversas propriedades tais como a natureza do material a ser homogeneizado, o volume a ser produzido, a distribuição do tamanho de gotículas desejada, as propriedades físico-químicas desejadas do produto final. São exemplos de homogeneizadores para a produção de emulsões os homogeneizadores de alto cisalhamento, moinhos coloidais, válvula homogeneizadora de alta pressão, homogeneizadores ultrasônicos, microfluidização (Figura 7) e homogeneizadores por membrana e microcanais (McCLEMENTS, 2005).

**Tabela 2 -** Comparação entre as características das emulsões produzidas pelos diversos tipos de homogeneizadores.

| Tipo de homogeneizador | Tamanho mínimo de gota (μm) | Viscosidade da amostra |
|---|---|---|
| Alto cisalhamento | 2 | Baixa a média |
| Moinho coloidal | 1 | Média a alta |
| Alta pressão | 0,1 | Baixa a média |
| Probe ultrasônico | 0,1 | Baixa a média |
| Microfluidização | < 0,1 | Baixa a média |
| Processamento por membrana | 0,3 | Baixa a média |

**Fonte:** Adaptado de: McCLEMENTS, D. J. **Food emulsions:** principles, pratices and techniques. 2. ed. Florida: CRC Press, 2005.

**Figura 7 -** Representação esquemática dos homogenizadores de alta-energia sendo eles: a) Microfluidizador, b) Homogenizador de probe ultrasônico, c) Homogenizador de alta pressão e d) Homogenizador de jato ultrasônico.




**Fonte:** Adaptado de: McCLEMENTS, D. J.; RAO, J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amherst, v. 51, p. 285–330, 2011.

O rompimento das gotículas na formação de emulsões pelos métodos de alta energia é determinado por um balanço entre as forças interfaciais, que tendem a manter as gotículas unidas, e as forças destrutivas, que são geradas pelos diversos processos de emulsificação que tendem a causar o rompimento da interface. As gotículas tendem a ser esféricas uma vez que esta forma minimiza a área de contato termodinamicamente desfavorável entre o óleo e a fase aquosa. Alterações nesta forma ou a redução do tamanho das gotas em gotas menores aumentam esta área de contato e, para isto, o sistema requer um fornecimento de energia livre. A força interfacial responsável por manter a forma esférica das gotículas é caracterizada pela *pressão de Laplace* ($\Delta P_L$) (Equação 1). Esta pressão age ao longo da interface em direção ao centro da gota de modo que a pressão de dentro da gota seja superior à pressão do meio externo. Assim, para que ocorra a quebra das gotas em gotículas menores faz-se necessário aplicar uma força externa significativamente maior que a força interfacial (McCLEMENTS, 2005).

$$\Delta \boldsymbol{P_L} = \frac{4\gamma}{d} \qquad \text{(Equação 1)}$$

onde $\gamma$ = tensão interfacial entre óleo e água; d = diâmetro da gota.

Por sua vez, os métodos de baixa energia baseiam-se na formação espontânea das emulsões sob composições específicas do sistema ou condições ambientais como resultado de mudanças nas propriedades interfaciais. Nos métodos de baixa energia utilizam-se transições de fases que ocorrem durante o processo de emulsificação como resultado de uma modificação na curvatura do emulsificante. Esta modificação pode ocorrer através de duas vias distintas: (i) a composição é mantida constante enquanto a temperatura é modificada, no método denominado como *PIT (Phase Inversion Temperature); (ii)* a temperatura é mantida constante e a composição é modificada, denominado método *EIP (Emulsion Inversion Point)* (SOLÈ et al., 2006; ANTON; BENOIT; SAULNIER, 2008; ANTON; VANDAMME, 2009).

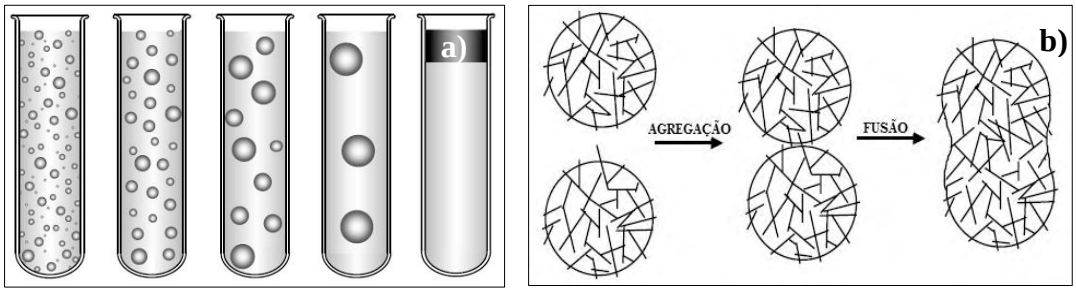
As emulsões podem se tornar instáveis devido a diversos processos físico-químicos e/ou químicos. A instabilidade físico-química resulta da alteração na distribuição espacial ou na organização estrutural dos componentes da emulsão, enquanto a instabilidade química resulta na alteração nos tipos de moléculas presentes. São exemplos de fenômenos que causam a instabilidade físico-química a coalescência, floculação, coalescência parcial, inversão de fase, maturação de Ostwald e cremeação, enquanto oxidação e hidrólise são exemplos de instabilidade química (DICKINSON; STAINSBY, 1982; DICKINSON, 1992; WALSTRA, 1996).

Em relação aos tipos de fenômenos que podem causar a instabilidade físico-química das emulsões, está a coalescência, que ocorre quando duas ou mais gotículas fundem-se para formar uma gotícula maior (Figura 8a). Este é o principal mecanismo em que uma emulsão utiliza para atingir o seu estado mais estável termodinamicamente, uma vez que reduz a área de contato entre as duas fases (McCLEMENTS, 2005; FREDERICK; WALSTRA; DEWETTINK, 2010). Como emulsões são sistemas altamente dinâmicos, as gotículas deslocam-se continuamente e colidem frequentemente umas às outras devido ao movimento Browniano, à gravidade ou à agitação mecânica, por exemplo. Caso as gotas formadas não possuam uma membrana interfacial protetora suficientemente forte, as gotas tendem a coalescer umas com as outras durante a colisão. Assim, torna-se necessário a presença de uma quantidade suficiente de emulsificante para cobrir a superfície das gotículas antes que ocorra a colisão entre elas, evitando a coalescência (WALSTRA, 1993).

Já a coalescência parcial (Figura 8b) ocorre quando duas gotículas de óleo parcialmente cristalinas entram em contato e formam um agregado de forma irregular. O agregado retém a forma das gotículas a partir do qual foi formado devido à força mecânica presente dentro das redes de gordura cristalizada impedindo que ocorra completa fusão das gotículas

(McCLEMENTS, 2005; BENJAMINS et al., 2009; FREDERICK; WALSTRA; DEWETTINK, 2010).

**Figura 8 -** Diferença entre os fenômenos de: a) coalescência e b) coalescência parcial.

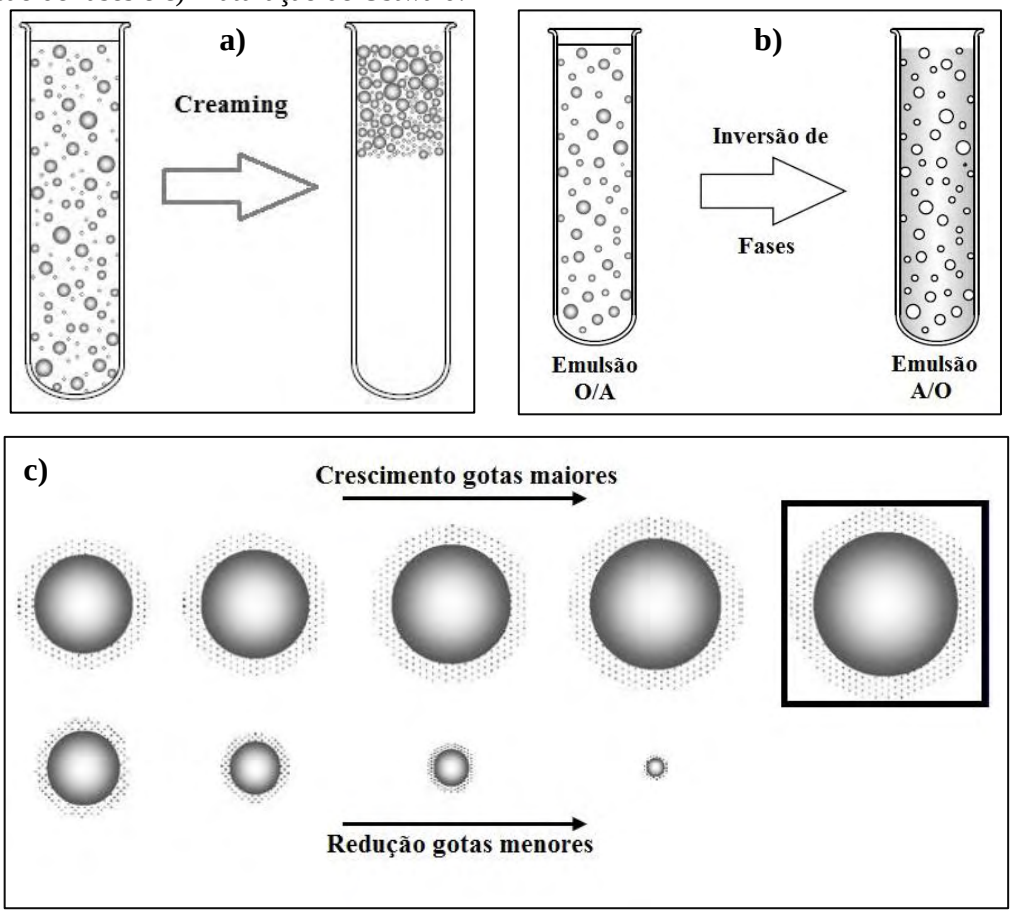



**Fonte:** McCLEMENTS, D. J. **Food emulsions:** principles, pratices and techniques. 2. ed. Florida: CRC Press, 2005.

Por sua vez, no fenômeno de floculação, duas ou mais gotículas associam-se umas às outras, porém mantêm suas integridades individuais. Este fenômeno pode causar um aumento na taxa de separação gravitacional em emulsões diluídas. Na separação gravitacional, também denominada cremeação (Figura 9a), a separação de fases ocorre devido às diferenças de densidade entre as gotículas presentes na fase dispersa e a fase contínua, sendo a densidade das gotículas inferior à densidade do meio o que as move para a superfície. Porém, quando ocorre separação gravitacional por sedimentação, as gotículas que representam a fase dispersa possuem maior densidade que a fase contínua e elas se movem para a parte inferior do sistema devido à diferença de densidade entre os meios (McCLEMENTS, 2005; FREDERICK; WALSTRA; DEWETTINK, 2010).

Por sua vez, o fenômeno de inversão de fases (Figura 9b) é um processo em que o sistema modifica sua estrutura de uma emulsão O/A para uma emulsão A/O, ou vice-versa. Este processo pode ser desejável na produção de produtos como manteigas e margarinas, porém pode ser indesejável em outros produtos por causar efeitos como modificações na textura, sabor e na aparência dos produtos (McCLEMENTS, 2005). Um outro processo físico que pode ocorrer é a maturação de Ostwald (Figura 9c), processo pelo qual as gotículas grandes crescem às custas das gotículas menores devido às diferenças na pressão de Laplace (SCHUBERT; ENGEL, 2004; FREDERICK; WALSTRA; DEWETTINK, 2010).

**Figura 9 -** Fenômenos que causam a instabilidade física de emulsões, ilustrados por a) Cremeação, b) Inversão de fases e c) Maturação de Ostwald.




**Fonte:** McCLEMENTS, D. J. **Food emulsions:** principles, pratices and techniques. 2. ed. Florida: CRC Press, 2005.

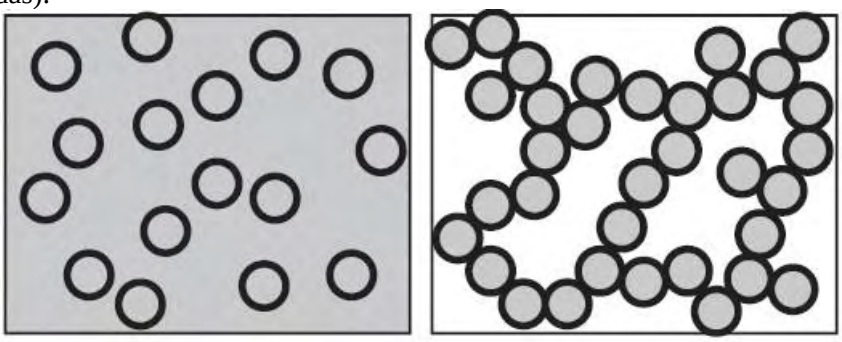
Em relação à instabilidade química em emulsões, a oxidação lipídica é a que ocorre com maior frequência e pode levar ao desenvolvimento de aromas indesejáveis, como o de rancidez e produtos de reação potencialmente tóxicos, podendo levar inclusive à instabilidade físico-química das emulsões (McCLEMENTS; DECKER, 2000). Muitos produtos de reação que são gerados na oxidação lipídica são capazes de reagir com a membrana interfacial que envolve as gotículas, o que pode levar à coalescência das gotas. A oxidação pode ser controlada, por exemplo, pela adição de antioxidantes ou pelo controle das condições de estocagem (SCHUBERT; ENGEL, 2004; McCLEMENTS, 2005).

### 2.5 Géis carregados de emulsão

Géis carregados de emulsão são materiais coloidais complexos que podem ser formados a partir de um gel, em que em sua formação ocorre a substituição da água, parcialmente ou totalmente, por emulsões que promovem o preenchimento da estrutura do gel. Estes materiais são caracterizados reologicamente como sólidos visco-elásticos. Existem dois tipos de arranjos

que envolvem a combinação de géis e emulsões em estruturas conjuntas. O primeiro arranjo é formado pelo gel carregado de emulsão (Figura 10a) e o segundo é representado pela emulsão gelificada (Figura 10b). O primeiro caso é formado por uma matriz de gel, seja proteica ou biopolimérica, no qual as gotículas de emulsão estão incorporadas na rede formada pelo gel. É classificado como tipo sólido e suas propriedades reológicas são determinadas principalmente pelas propriedades da rede de gel formada por uma matriz contínua. Já o segundo caso, representado pela emulsão gelificada é um tipo de gel particulado e suas propriedades reológicas são determinadas principalmente pelas propriedades da rede de gel contendo gotículas de emulsão agregadas (DICKINSON, 2012).

**Figura 10 -** Representação esquemática dos dois sistemas coloidais géis-emulsões: a) Gel carregado de emulsão (Tipo sólido carregado de partículas) e b) emulsão gelificada (Gel particulado contendo partículas agregadas).



**(a)** **(b)**

**Fonte:** DICKINSON, E. Emulsion gels: the structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 28, p. 224-241, 2012.

Diversos tipos de alimentos podem ser classificados como géis carregados de emulsão, tais como iogurtes, queijos frescos, embutidos, pudins de gelatina e de amido, e sobremesas lácteas. Em tais sistemas a interação entre as gotículas de óleo e a matriz do gel depende das propriedades de superfície das gotículas, que são determinadas pela natureza do agente emulsificante utilizado no processo de produção (SALA et al., 2009a). Quando são formadas ligações entre o agente emulsificante e a matriz do gel as gotículas de óleo ligam-se à matriz, o que pode induzir a um aumento ou a uma diminuição do módulo elástico dos géis carregados, dependendo da razão entre o módulo das gotículas de óleo e da matriz de gel, que são relacionadas de acordo com a tensão superficial e o diâmetro das gotas. Caso não sejam formadas ligações entre o agente emulsificante e a matriz, as gotas de óleo não se ligam à matriz e há redução do módulo elástico dos géis (VAN VLIET, 1988), sendo nesse caso as gotículas denominadas partículas inativas. Quando ocorre a ligação das gotículas com a matriz, estas são denominadas partículas ativas (DICKINSON; CHEN, 1999).

A gordura em alimentos transmite uma ótima percepção sensorial cremosa, o que a torna desejável em diversos produtos, porém, sua adição provoca aumento do valor calórico dos alimentos, além de poder trazer prejuízos à saúde. Diante disto, se torna interessante a redução da concentração de gordura em alimentos, mas mantendo-se uma percepção sensorial cremosa, fato que representa um grande desafio na indústria (ABHYANKAR; MULVIHILL; AUTY, 2014). Os géis carregados de emulsão têm sido uma alternativa para a substituição da gordura em alimentos, conservando características tais como a percepção do sabor e textura na boca, incluindo a cremosidade, a espalhabilidade e adesividade. Para isso, se torna importante o estudo deste material que sofre influência do tamanho e da concentração das gotículas de óleo dispersas na emulsão, bem como das características da matriz utilizada na produção dos géis, e da interação entre as duas fases, fatores que afetam as características sensoriais dos géis carregados de emulsão (MOSCA et al., 2012). Para tal, são realizados estudos sobre as propriedades estruturais, reológicas e sensoriais como função de diversas variáveis, tais como concentração de óleo, tipo e concentração do agente gelificante, homogeneidade da distribuição das gotículas da emulsão bem como o diâmetro destas gotículas (PARADISO et al., 2015).

Abhyankar, Mulvihill e Auty (2011) estudaram as propriedades reológicas de grande deformação, mais especificamente o módulo de Young, combinadas com microscopia para estudar as propriedades estruturais de quebra de géis de proteína do soro do leite carregados de emulsão que foi produzida com óleo de girassol. Ao gel foram adicionadas diferentes concentrações de caseinato de sódio e cloreto de sódio e à emulsão foram utilizados como agentes emulsificantes a proteína do soro do leite ou caseinato de sódio, além de algumas amostras terem sido adicionadas de cloreto de sódio. Observou-se que as propriedades reológicas de grande deformação (módulo de Young) dos géis carregados de emulsão sofreram influência da presença de cloreto de sódio, da concentração de óleo, do tipo de agente emulsificante utilizado e da quantidade de gotículas de óleo agregadas no gel. Foi observada interação dos agentes emulsificantes com a matriz do gel devido à interação proteína-proteína e maior interação foi observada quando a emulsificação se deu pela proteína do soro de leite, o que promoveu maior reforço na estrutura do gel carregado com esta emulsão, enquanto a emulsão estabilizada por caseinato de sódio apresentou interações mais fracas devido à relação de força iônica dos géis. Outra observação foi devido ao tamanho das gotículas da fração de óleo, que influenciou nas propriedades estruturais. Segundo Sala et al. (2009b), o módulo de elasticidade da gotícula está inversamente relacionado ao seu diâmetro, assim gotículas menores terão módulo de elasticidade maior que gotículas maiores. Assim, para determinada

matriz de gel, o material utilizado para carregar o gel contendo gotículas menores com maior módulo de elasticidade podem fortalecer a estrutura do gel carregado melhor que gotículas maiores que possuem menor módulo de elasticidade. Este fenômeno torna possível a utilização de uma maior fração da fase óleo nos géis carregados de emulsão quando na existência de gotículas menores.

Lorenzo, Zaritky e Califano (2013) estudaram o comportamento dos módulos de armazenamento (G') e de perda (G") de géis carregados de emulsão utilizando goma gelana de alto acil para a formação do gel e óleo de girassol para a produção da emulsão. As concentrações estudadas para a goma gelana foram de 0,1; 0,3 e 0,5 g/100 g e as concentrações estudadas de óleo de girassol na emulsão foram de 10, 20 e 30 g/100 g. As análises reológicas dinâmicas de varredura de frequência dos géis carregados de emulsão apresentaram G' superior ao G" para todas as concentrações estudadas, exibindo comportamento de sólido. Além disso, os autores observaram que houve um aumento desses módulos quando foi realizado o aumento da concentração de gelana. O mesmo fenômeno ocorreu quando houve aumento da concentração das gotículas de emulsão, apresentando maiores módulos (G' e G") a uma concentração de óleo de 30 g/100 g e de 0,5 g/100 g de goma gelana de alto acil, no intervalo de frequência estudado (0,01 a 100 rad/s), o que indicou que ocorreu um reforço na estrutura do gel devido às gotículas da emulsão. O mesmo reforço promovido pelas gotículas foi observado também nos testes de *creep* pelas medidas de *compliance* (J). Ao adicionar as gotículas de óleo houve um reforço na estrutura dos géis, porém, o aumento na concentração das gotículas de óleo (entre 10 e 30 g/100 g) não provocou diferenças significativas nos resultados.

Paradiso et al. (2015) produziram géis carregados de emulsão utilizando inulina como agente gelificante e óleo de oliva extra virgem e caracterizaram as amostras pela avaliação das propriedades físicas, químicas, sensoriais e microbiológicas. As concentrações de óleo de oliva variaram em alta, média e baixa concentração, em que a uma maior concentração de óleo a razão inulina:água era menor. Foram utilizados dois métodos de produção, sendo eles o método de cisalhamento mecânico e homogeneização por ultrasom. Foi observado que as amostras contendo maior razão inulina:água apresentaram melhora nas propriedades de textura com aumento da consistência e que o método de homogeneização por ultrassom apresentou maior consistência em relação ao método por cisalhamento do ponto de vista da análise sensorial, em que os provadores perceberam diferenças estruturais e de textura em relação aos dois tipos de processamento, além deste método ter apresentado melhor estabilidade microbiológica.

## 2.4 Nutrientes para alimentação de leitões

### 2.4.1 Ácidos graxos de cadeia média

Ácidos graxos de cadeia média (AGCM) são ácidos graxos saturados que contém de seis a doze carbonos. Este grupo consiste de ácido capróico (C6:0, ácido hexanóico), ácido caprílico (C8:0, ácido octanóico), ácido cáprico (C10:0, ácido decanóico) e ácido láurico (C12:0, ácido dodecanóico). Possuem baixa solubilidade em água e ocorrem naturalmente como triglicerídeos de cadeia média em gordura do leite e vários alimentos, especialmente em óleo de coco e de palma. O conteúdo de ácidos graxos no óleo de coco, por exemplo, pode variar de 3,4-15% de ácido caprílico, 3,2-15% de ácido cáprico e 41-56% de ácido láurico (ZENTEK et al., 2011). As propriedades químicas de cada um dos AGCM podem ser observadas na Tabela 3.

**Tabela 3 -** Massa molecular e ponto de fusão dos ácidos graxos de cadeia média.

| Ácido graxo | Peso Molecular (Da) | Ponto de Fusão (°C) |
|---|---|---|
| Ácido Capróico (C6:0) | 116,2 | -3,4 |
| **Ácido Caprílico (C8:0)** | **144,2** | **16,7** |
| Ácido Cáprico (C10:0) | 172,3 | 31,9 |
| **Ácido Láurico (C12:0)** | **200,3** | **44,0** |

**Fonte:** ZENTEK, J. et al. Nutritional and physiological role of medium-chain triglycerides and medium-chain fatty acids in piglets. **Animal Health Research Reviews**, Cambridge, v. 12, p. 83- 93, 2011.

Em leitões em fase de pós-desmame podem ser estudados os efeitos nutricionais e fisiológicos dos ácidos graxos e triglicerídeos de cadeia média. Nesta fase ocorrem mudanças críticas que podem resultar em um reduzido consumo de rações, o que pode levar à deficiência de energia, além de alterações na morfologia intestinal, redução das funções absortivas e composição da microbiota intestinal alterada. Esta alteração ocorre devido à redução das imunoglobulinas do colostro materno com o passar dos dias de amamentação que junto ao sistema imunológico do leitão pouco desenvolvido pode causar perturbações no trato gastrintestinal, levando a diarreias. Neste contexto, a incorporação de ácidos graxos e triglicerídeos de cadeia média na alimentação dos leitões surge para reduzir as complicações associadas à fase pós-desmame nos animais (ZENTEK et al., 2011).

Tanto os ácidos graxos como os triglicerídeos de cadeia média possuem efeitos metabólicos e nutricionais específicos, o que inclui rápida digestão, absorção passiva e oxidação obrigatória, fatores que fazem deles nutrientes de interesse particular para a nutrição de animais

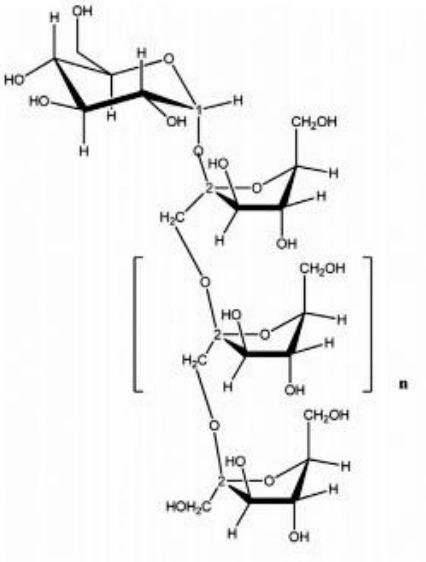
jovens (ODLE, 1997). Os AGCM são uma fonte rápida de energia uma vez que sua absorção ocorre diretamente na corrente sanguínea e a velocidade de absorção destes no intestino é similar à da glicose (FERREIRA; BARBOSA; CEDDIA, 2003). Além disso, possuem ação antimicrobiana comprovada, assim como os demais ácidos orgânicos, que atuam na redução do pH e inibem o crescimento bacteriano (VAN DAM, 2006), principalmente de *Salmonella ssp*. e coliformes, afetando a composição da microbiota intestinal. Tal fato afeta o ganho de peso e a conversão alimentar do animal otimizando custos de produção e desempenhos zootécnicos (GRECCO, 2014).

Além disso, diante do contexto do aumento de proibições do uso de antibióticos promotores do crescimento e de profiláticos contra doenças entéricas em suínos, em especial nos EUA, vem crescendo o interesse pela substituição destes pela inserção de diversos ácidos orgânicos e ácidos graxos de cadeia média na dieta destes animais (VAN DAM, 2006).

### 2.4.2 Inulina

O grupo das frutanas divide-se em levanas, compostos ramificados e inulina. A inulina pertencente a este grupo é um polímero linear com ligações glicosídicas β(2→1). É um carboidrato largamente encontrado na natureza, servindo como carboidrato de reserva em muitas plantas. Várias destas plantas fazem parte da alimentação humana, sendo a cebola a mais consumida entre elas. A concentração da inulina em cada planta depende de diversos fatores tais como a variedade, as condições de estocagem e o tempo decorrido da colheita até o seu consumo. Em fontes de inulina tais como alho, cebola e aspargo, as concentrações de inulina variam de 0,3 a no máximo 10% da massa fresca dos vegetais. Já para vegetais como alcachofra de Jerusalém e chicória, essa concentração pode atingir 20% da massa fresca destes vegetais, fator que os torna importantes fontes de inulina e oligofrutoses (HAULY; MOSCATTO, 2002). As frutanas são classificadas de acordo com suas ligações glicosídicas, por exemplo, a inulina possui unidades de β-D-frutofuranosil ligadas em (2→1) (Figura 11) (CALEFFI et al., 2015).

**Figura 11 -** Estrutura química do monômero da inulina.



**Fonte:** CALEFFI et al. Isolation and prebiotic activity of inulin-type fructan extracted from Pfaffia glomerata (Spreng) Pedersen roots. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 80, p. 392-399, 2015.

A inulina apresenta-se como um pó branco, amorfo, higroscópico, com odor e sabor neutros. Possui uma solubilidade em água de 6% a 10 °C e de 35% a 95 °C e capacidade de formar gel quando em concentrações acima de 30%, em um tempo de 30 a 60 minutos no resfriamento, ou quando em concentrações superiores a 40%, e nesses casos a formação de gel ocorre praticamente de forma instantânea. O gel de inulina é cremoso e semelhante à textura de gordura (HAULY; MOSCATTO, 2002). Devido a esta textura, é utilizado como substituto da gordura em produtos de baixa caloria além de possuir outras propriedades, como a de espessante e possuir atividade prebiótica, de interesse particular na indústria de alimentos (CALEFFI et al., 2015).

Prebióticos são ingredientes não-digeríveis seletivamente fermentados no cólon pela microbiota intestinal, que permitem mudanças específicas na composição e/ou na atividade da microbiota gastrintestinal conferindo benefícios devido ao crescimento destas bactérias benéficas que leva ao bem-estar e saúde do hospedeiro. Para ser considerado prebiótico, um composto necessita cumprir três requisitos: (i) resistência à acidez gástrica, à hidrólise pelas enzimas de mamíferos e absorção gastrointestinal; (ii) ser fermentado pela microbiota intestinal; e (iii) estimular o crescimento seletivo e/ou atividade das bactérias do intestino associadas à saúde e ao bem-estar (GIBSON et al., 2004; MORRIS; MORRIS, 2012).

Nos suínos, em leitões após o desmame, é comum a ocorrência de diarreia seguida pela redução do crescimento do animal, aumentando a mortalidade dos leitões. Com isso, o uso de antibióticos na dieta justifica-se pela promoção do crescimento dos animais, porém esta prática

vem sendo banida em razão da resistência bacteriana a antibióticos e da segurança alimentar, o que tem causado restrições ao uso destes antibióticos (POZZA et al., 2010). O uso de prebióticos, probióticos ou a combinação simbiótica de ambos é uma alternativa para substituir estes antibióticos promotores de crescimento sem que ocorra prejuízos ao animal (RODRIGUES et al., 2013).

A utilização de carboidratos fermentáveis na produção de alimentos para suínos, e consequentemente a inserção destes componentes na dieta melhora a estabilidade e a diversidade da microflora no cólon (POZZA et al., 2010). Em humanos e em animais monogástricos, as frutanas não podem ser digeridas por enzimas digestivas no trato intestinal proximal. Ao invés disso, estes compostos são fermentados no intestino grosso ou no cólon por bifidobactérias benéficas e por bactérias produtoras de ácido láctico aumentando, assim, suas populações (GIBSON et al., 1995; TIENGTAM et al., 2015).

A inulina é considerada um prebiótico com fator bifidogênico uma vez que estimula o crescimento de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Bacteroides* em detrimento, por exemplo, de *E. coli* e clostrídeos, que são microrganismos patogênicos (HAVENAAR et al., 1999) além de aumentar a absorção de nutrientes e minerais, estimular o sistema imune gerando bons resultados produtivos e zootécnicos. As bifidobactérias são capazes de inibir microrganismos patogênicos através de sistemas de fermentação. Estes microrganismos benéficos competem e inibem o crescimento de *E. coli* por meio da produção do lactato que altera o pH intestinal. Algumas delas são capazes inclusive de exercer mais de um mecanismo de inibição, como a excreção de substâncias antimicrobianas que podem inibir o crescimento de *Salmonella, Campylobacter, Shigella e Listeria* (POSSAMAI, 2010).

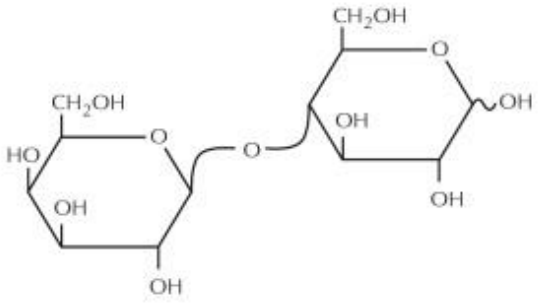
Além disso, outro efeito da inulina sobre a microbiota intestinal é a redução da excreção de nitrogênio na urina e o aumento da excreção fecal de nitrogênio (LYNCH et al., 2007). Segundo Rodrigues et al. (2009), tal fenômeno está relacionado a uma redução da digestibilidade do nitrogênio e o aumento de excreção de nitrogênio nas fezes está ligado de forma inversa com a digestibilidade e de forma proporcional com uma maior atividade microbiana no intestino o que leva ao aumento da excreção do nitrogênio incorporado pelas bactérias. Quando da avaliação das fezes, não há presença de inulina nestas uma vez que o metabolismo desta por fermentação, que ocorre no cólon através das bactérias anaeróbias, é praticamente completo e esta é fermentada em ácidos graxos de cadeia curta, ácido láctico e gases, dentre estes hidrogênio, metano e dióxido de carbono (RIZKALLA et al., 2000).

Em estudo sobre leitões na fase de creche, crescimento e terminação, Junqueira et al. (2009) testaram antibióticos, prebióticos, probióticos e simbióticos e observaram que o maior desempenho do animal em relação ao ganho de peso se deu por aqueles tratados por compostos simbióticos, e que os tratados com prebióticos ou probióticos também apresentaram melhor desempenho em relação aos que não receberam tratamento ou que foram tratados por antibióticos. Tais resultados indicam uma possibilidade de substituição dos antibióticos promotores de crescimento por tratamentos com simbióticos, prebióticos ou probióticos.

### 2.4.3 Lactose

A lactose é um carboidrato e contribui para o desenvolvimento de mamíferos. É classificada, mais especificamente, como um dissacarídeo, sendo encontrada no leite de forma livre, principalmente. A lactose (Figura 12) é formada por D-glicose e D-galactose e é necessário que ocorra sua hidrólise formando os monossacarídeos para que estes sejam absorvidos no intestino delgado e, assim, seja utilizada como fonte de energia pelo organismo. Além disso, é um carboidrato importante, pois estimula a absorção e a retenção de cálcio no intestino. Sua hidrólise ocorre somente no intestino delgado onde se encontra a enzima responsável pela sua quebra, denominada lactase (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

**Figura 12 -** Fórmula estrutural da lactose.




**Fonte:** DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

Na criação de leitões, a lactose é considerada uma importante fonte de energia para os animais após o nascimento destes uma vez que apresentam baixas reservas de gordura e pouca capacidade para reter calor (BERTOL; SANTOS FILHO; LUDKE, 2000). Após a quebra da lactose, a maior parte da galactose absorvida na digestão é utilizada para reposição do glicogênio hepático enquanto a maior parte da glicose absorvida na digestão passa pelo fígado sem que ocorra absorção, ficando disponível como fonte de energia para tecidos, por exemplo,

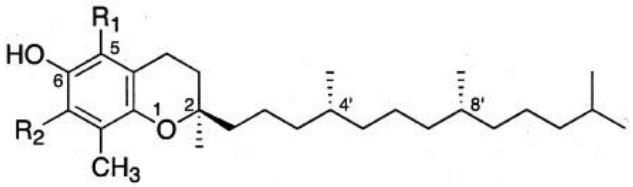
o cérebro, e para corrigir possíveis casos de hipoglicemia que venham a ocorrer no organismo do animal (BIRD; HARTMANN, 1994).

A lactose vem sendo utilizada na composição de rações para leitões que passaram recentemente pela desmama. Nesta fase os leitões deixam de receber dieta líquida e começam a receber ração sólida. Esta alteração na dieta influencia nas alterações das vilosidades do trato intestinal do animal e isto provoca uma queda no desempenho devido à redução do consumo (MOLINO; BALBINO, 2010). Assim, a lactose utilizada em rações acaba agindo na manutenção da integridade da mucosa do intestino delgado (PIERCE et al., 2005), agindo inclusive como prebiótico além de possuir efeitos anti patogênicos (BOEHM; STAHL, 2007). A lactose é facilmente fermentada em ácido lático pelo leitão recém-desmamado devido à presença de lactobacilos. Esta produção de ácido lático pode retardar a multiplicação de patógenos no trato intestinal, provocando uma melhora da saúde gastrointestinal (PIERCE et al., 2007).

### 2.4.4 Alfa-tocoferol

O termo vitamina E é utilizado para denominar uma família que consiste em oito estruturas químicas semelhantes. Os quatro tipos de tocoferol consistem de um anel de cromanol que possui diferentes padrões de substituições de grupos metila nas posições 5, 7 e 8, representando α, β, δ e γ, além de possuir uma cadeia lateral com 16 carbonos saturados como pode ser visto na Figura 13 e as substituições bem como suas atividades antioxidantes relacionadas na Tabela 4. Os tocoferóis apresentam três centros quirais nos carbonos 2, 4’ e 8’ e os isômeros que ocorrem naturalmente possuem configuração R nas três posições. Todas estas moléculas de tocoferol apresentam atividade antioxidante embora o alfa-tocoferol seja a forma mais ativa química e biologicamente. As demais formas de vitamina E que ocorrem naturalmente (β-, δ- e γ- tocoferol) não contribuem para atender os requisitos como vitamina E no organismo, pois, embora sejam absorvidas, estas formas não podem ser convertidas em alfa-tocoferol pelos seres humanos e elas não são reconhecidas pela proteína responsável pelo transporte de alfa-tocoferol no fígado (SCHNEIDER, 2005; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

**Figura 13 -** Estrutura química genérica dos tocoferóis.




**Fonte:** SCHNEIDER, C. Chemistry and biology of vitamin E. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 29, p. 7-30, 2005.

**Tabela 4 -** Substituições do grupo metila na molécula de tocoferol e atividade antioxidante para cada tipo de tocoferol.

| Tocoferol | R1 | R2 | Atividade antioxidante (%) |
|---|---|---|---|
| α- | $CH_3$ | $CH_3$ | 100 |
| β- | $CH_3$ | H | 78 |
| δ- | H | $CH_3$ | 68 |
| γ- | H | H | 28 |

**Fonte:** SCHNEIDER, C. Chemistry and biology of vitamin E. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 29, p. 7-30, 2005.

Na produção animal, a oxidação lipídica é um dos fatores determinantes no armazenamento de carnes e derivados. No processo de transformação do músculo em carne, um fator importante é a capacidade antioxidante das células que evitam que ocorra a oxidação e consequentemente a perda da qualidade da carne devido à perda da capacidade de retenção de água e modificações na textura e no sabor do produto. Com isso a indústria vem utilizando aditivos para evitar essa perda de qualidade. Porém, cada dia mais existe a tendência da substituição dos aditivos por compostos naturais. Neste contexto, ocorre o estudo da adição da vitamina E na dieta dos animais em substituição aos aditivos, tendo tal nutriente função antioxidante na carne (SOUZA et al., 2007).

A vitamina E, quando incorporada na dieta animal, se deposita nas membranas celulares, mostrando maior eficiência na prevenção de oxidação de lipídios em relação a qualquer outro tipo de antioxidante (MORRISSEY et al., 1998), melhorando a estabilidade da carne e sua vida de prateleira devido aos seus efeitos na oxidação lipídica (REY et al., 2004). Além disso, o referido antioxidante pode reduzir a perda por gotejamento e melhorar a cor de cortes de carnes suínas, além de proteger ácidos graxos mono e poli-insaturados e o colesterol contra processos oxidativos. Dietas contendo vitamina E em suínos mostraram melhora no ganho de peso, na conversão alimentar, redução da espessura do toucinho e aumento da quantidade de carne magra (SOUZA et al., 2007). Um fator que favorece a ação da vitamina E é a sua combinação com

ácido ascórbico na dieta dos suínos, melhorando todos os processos citados acima (MORRISSEY et al., 1998).

A necessidade de vitamina E no suíno em fase final de crescimento é de 11 mg/Kg de ração, mas o efeito antioxidante é observado quando suplementada a vitamina em níveis superiores, de 100 a 200 mg/Kg de ração, fator que aumenta a vida de prateleira da carne (SILVA et al., 2013).

### 2.4.5 Suplementos de ferro: importância e influência de sua administração via oral e intravenosa no bem-estar de leitões

O ferro é um elemento essencial ao crescimento celular, transporte de oxigênio e na ocorrência do metabolismo oxidativo. Ingestão insuficiente, absorção inadequada ou a perda excessiva de ferro são as principais causas de anemia ferropriva, que ocorre pela deficiência em ferro (SILVA, 1994). Os sais ferrosos são eficientes no processo de correção de hemoglobina e normalização de estoque de ferro no organismo, além de possuir rápida absorção. A quantidade de ferro elementar nos sais ferrosos varia de um para outro, por exemplo, o sulfato ferroso possui 20%, o fumarato ferroso, 33% e o gluconato ferroso, 12% de ferro elementar (CANÇADO; LOBO; FRIEDRICH, 2010).

Em leitões criados sob confinamento ocorrem quadros de anemia ferropriva devido à falta de acesso dos animais recém-nascidos a terra, uma importante fonte de ferro. Os fatores principais que causam a deficiência em ferro nos leitões são a baixa transferência de ferro da mãe por meio da placenta e do leite e a baixa reserva de ferro após o nascimento influenciando no desempenho do animal (COALHO et al., 2010). Ao nascer, a principal reserva de ferro do leitão é hepática e esta reserva é utilizadas pelo organismo do animal para o atendimento da alta necessidade nutricional para biossintetizar a hemoglobina, porém esta reserva se esgota rapidamente, em torno de cinco dias (BERTECHINI, 2006), causando anemia ferropriva, o que deixa os animais apáticos, com a cabeça e as pálpebras caídas, as orelhas e a cauda moles e pode levar à morte (VIOLA, 2003).

A necessidade diária de ferro para leitões é estimada em torno de 5 – 10 mg/dia nas primeiras semanas de vida do animal. O leite materno fornece apenas 1 mg de ferro, o que representa apenas 10 – 20% da necessidade diária, sendo que o restante deve ser mobilizado dos depósitos de ferro do organismo. Assim, os leitões que possuem o leite materno como única fonte de ferro ficam susceptíveis à anemia (ALMEIDA et al., 2007). Os suínos precisam absorver aproximadamente 40 mg de ferro por Kg de peso ganho para manter o nível normal de

hemoglobina, equivalente a 100 g/L (EGELI; FRAMSTAD, 1999). Sabe-se que o suíno possui um crescimento extremamente rápido em relação a outras espécies, tendo seu peso quadruplicado em um espaço de três semanas (ALMEIDA et al., 2007).

A absorção e biodisponibilidade do ferro são afetadas por diversos fatores: idade, animais mais novos assimilam o ferro melhor que animais mais velhos; a forma ou o estado em que o ferro se encontra, sendo a forma ferrosa melhor absorvida que a forma férrica; a dosagem e a presença de outros nutrientes dos componentes da dieta alimentar (ANDERSON; EASTER, 1999). O ferro é absorvido pelas células da mucosa epitelial duodenal. A forma ferrosa é a mais solúvel e a mais indicada para ser utilizada como suplemento deste mineral. Sua maior absorção ocorre quando existe maior demanda do microelemento, assim, como os leitões recém-nascidos possuem maior carência de ferro, sua taxa de absorção é maior nesta fase diminuindo nas fases posteriores. Leitões neonatos assimilam cerca de 99% do ferro da dieta enquanto adultos assimilam cerca de apenas 12% (BERTECHINI, 2006).

A importância da suplementação para suínos aumentou devido a diversos fatores tais como: o melhoramento genético, resultando em animais com maior velocidade de ganho de peso; leitegadas numerosas e alta precocidade; a retirada ou redução do uso de farinhas de origem animal nas rações devido a problemas com doenças; a utilização de rações com ingredientes vegetais que são pobres em minerais. Existem várias alternativas para evitar a deficiência em ferro. Uma dessas alternativas é o uso de ferro injetável em leitões neonatos (COALHO et al., 2010). Segundo Bertechini (2006), a administração de doses de 100 mg de ferro por injeção intramuscular no 3° e 11° dia de vida do leitão é uma das alternativas de suplementação de ferro. Esta é considerada a maneira mais segura de garantir o suprimento de ferro, sendo possível aplicar uma dose de 200 mg de uma vez só, porém esta técnica implica em maior injúria no tecido, que pode ser percebida após o abate e maior estresse aos animais uma vez que a prática provoca intensa dor no local de aplicação. Assim, se torna importante o desenvolvimento de novas técnicas de suplementação de ferro que garantam além de boa absorção do mineral, o bem-estar do animal.

Assim, diante de todo o contexto acima citado, torna-se importante o estudo da produção de géis carregados de emulsão, contendo ácidos graxos de cadeia média benéficos à microbiota intestinal dos leitões, bem como da adição de diversos nutrientes, tais como inulina como componente prebiótico que possui influência benéfica na microbiota intestinal dos animais e do alfa-tocoferol que possui ação antioxidante influenciando na qualidade da carne, além de todos esses nutrientes melhorarem os desempenhos zootécnicos. Assim, diante da formulação de um

produto contendo todos estes benefícios, se faz necessário o estudo e realização de testes preliminares para decidir quais seriam os principais componentes lipídicos, além de estudos para determinação de seus parâmetros de produção, concentração dos componentes que o irão formar bem como sua caracterização reológica e microbiológica e seu comportamento ao longo do armazenamento e distribuição.

# 3 OBJETIVOS

O objetivo principal da presente Dissertação de Mestrado foi o desenvolvimento e a caracterização de géis polissacarídicos carregados de emulsão, enriquecidos com diversos nutrientes, tais como ácidos graxos de cadeia média (ácido láurico e ácido caprílico), fumarato ferroso, lactose, inulina e alfa-tocoferol, benéficos à saúde e ao desenvolvimento de leitões neonatos.

Assim, para que o objetivo geral citado fosse alcançado, o presente projeto teve os seguintes objetivos específicos:

(i) Definição da intensidade de agitação, um parâmetro de produção das emulsões;

(ii) Definição dos componentes tais como lipídios e tensoativos a serem utilizados na produção das emulsões;

(iii) Concentração e influência de componentes nas emulsões, tais como nutrientes como lactose, inulina e alfa-tocoferol;

(iv) Condições de estocagem e submissão dos géis carregados de emulsão a condições extremas de temperatura;

(v) Caracterização reológica dos géis carregados de emulsão;

(vi) Estabilidade físico-química e microbiológica dos géis carregados de emulsão.

# 4 MATERIAIS E MÉTODOS

## 4.1 MATERIAIS

Para produção das emulsões, foram utilizados óleo de babaçu (Jacy Fragrâncias, Santa Bárbara d´Oeste, SP, Brasil), ácido palmítico (Dinâmica, Diadema, SP, Brasil), ácido caprílico (Synth, Diadema, SP, Brasil), ácido láurico (Indústria Química Anastácio, Leopoldina, SP, Brasil) e oleína vegetal (Almad, Diadema, SP, Brasil). Os tensoativos utilizados foram polisorbato 20 (Tween 20, Synth, Diadema, SP, Brasil), polisorbato 60 (Tween 60, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), polisorbato 80 (Tween 80, Synth, Diadema, SP, Brasil). Goma xantana (Danisco, Cotia, SP, Brasil) foi utilizada como agente espessante e benzoato de sódio (Synth, Diadema, SP, Brasil) como agente antimicrobiano e antifúngico. Os nutrientes utilizados foram alfa-tocoferol (Sigma-Aldrich,St Louis, MO, EUA), inulina (Frutafit®, IQ, Sensus, Roosendaal, Holanda), lactose (Lynn Proteins, Inc., Granton, WI, EUA) e edulcorante (AG Sweet, Agroceres, Rio Claro, SP, Brasil).

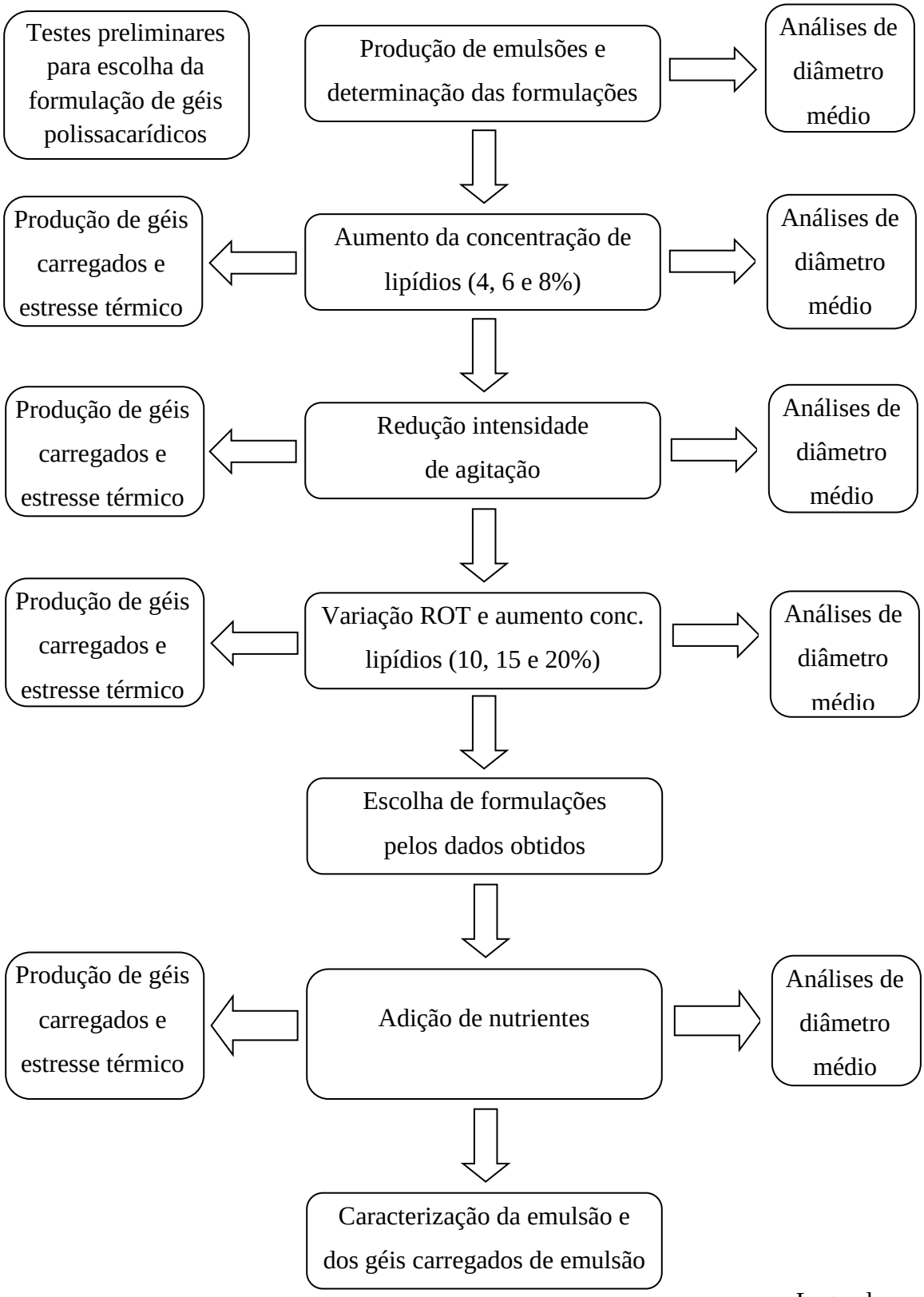
Para a produção de géis polissacarídicos foi utilizada goma xantana (Danisco, Cotia, SP, Brasil), goma guar (Êxodo Científica, Hortolândia, SP, Brasil), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) (Colorcon do Brasil Ltda, Cotia, SP, Brasil), goma locusta (Viscogum™ LBG, Cargill, São Paulo, SP Brasil) e fumarato ferroso (Reagen, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

Durante todo o trabalho foi utilizada água deionizada ultrapurificada, obtida de sistema de purificação Direct Q3 (Millipore, Billerica, MA, EUA).

## 4.2 MÉTODOS

O fluxograma das ações realizadas para a escolha da melhor formulação de gel carregado, desde os testes preliminares até a formulação escolhida pode ser observado na Figura 14.

**Figura 14 -** Fluxograma de ações realizadas para determinação de formulações.




Legenda:
ROT = Razão Óleo-Tensoativo

**Fonte:** Própria autoria.

### 4.2.1 Testes preliminares para produção das emulsões

Primeiramente, foram realizados testes preliminares para produção de emulsões contendo diferentes formulações e produzidas por diferentes intensidades de agitação, conforme mostrado na Tabela 5:

**Tabela 5 -** Formulações utilizadas na produção das emulsões.

**continua*

| Formulação de micropartículas lipídicas | Fase lipídica % (m/m) | Tensoativo (s) % (m/m) | Goma xantana % (m/m) | Intensidade de agitação (rpm) |
|---|---|---|---|---|
| (1) | 2% óleo de babaçu 2% ácido palmítico | 4% Tween 20 | 0,20 | 18000 |
| (2) | 2% oleína vegetal 2% ácido palmítico | 2,6% Tween 60 1,4% Span 80 | 0,05 | 18000 |
| (3) | 2% óleo de babaçu 2% ácido palmítico | 4% Tween 80 | 0,05 | 15000 |
| (4) | 2% oleína vegetal 2% ácido palmítico | 2,6% Tween 80 1,4% Span 80 | 0,05 | 15000 |
| (5) | 2% óleo de babaçu 2% ácido palmítico | 4% Tween 80 | 0,10 | 18000 |
| (6) | 2% oleína vegetal 2% ácido palmítico | 2,6% Tween 80 1,4% Span 80 | 0,10 | 18000 |

**Tabela 5 -** Formulações utilizadas na produção das emulsões.

**conclusão*

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| (7) | 2% óleo de babaçu 2% ácido palmítico | 4% Tween 80 | 0,20 | 18000 |
| (8) | 2% oleína vegetal 2% ácido palmítico | 2,6% Tween 80 1,4% Span 80 | 0,20 | 18000 |
| (9) | 2% ácido láurico 2% ácido caprílico | 4% Tween 20 | 0,20 | 18000 |
| (10) | 2% óleo de babaçu 2% ácido caprílico | 4% Tween 20 | 0,20 | 18000 |
| (11) | 2% óleo de babaçu 2% ácido láurico | 4% Tween 20 | 0,20 | 18000 |

**Fonte:** Própria autoria.

Para a produção das emulsões, a metodologia utilizada foi adaptada de Silva et al. (2014). A fase oleosa foi composta pelos diferentes lipídios e a fase aquosa por água e tensoativo(s), com exceção do Span 80 que foi adicionado à fase oleosa. À fase aquosa adicionou-se também 0,02% de benzoato de sódio, um agente antimicrobiano. Ambas as fases foram colocadas em banho-maria (banho MA-127, Marconi, Piracicaba, SP), a 73 ◦C. Ao estabilizar a temperatura das fases, a fase aquosa foi adicionada à fase oleosa e então a mistura foi submetida à ultra-agitação (Ultraturrax T25, IKA, Staufen, Alemanha) durante 5 minutos. A emulsão foi então resfriada em banho-maria na temperatura de 7 ◦C, sob agitação mecânica de aproximadamente 240 rpm, quando foi adicionada a goma xantana nas concentrações definidas para cada formulação. A agitação da emulsão cessou ao atingir 20 ◦C, e então as amostras foram acondicionadas a temperatura ambiente.

Após a escolha das emulsões mais estáveis, as formulações foram testadas em concentrações maiores de lipídios, sendo este aumento para 6 e 8% de lipídios na proporção óleo/tensoativo de 1:1. Além disso, a concentração de goma xantana a ser utilizada foi aumentada para 0,3% (m/m), concentração que promoveu maior estabilidade ao sistema. A seguir, com a escolha das emulsões mais estáveis contendo 8% de lipídios, foi testada a redução da intensidade de agitação, uma vez que é um parâmetro importante em termos do escalonamento do processo. Na etapa subsequente, as emulsões foram produzidas em intensidades de agitação de 18000 e 15000 rpm.

As emulsões produzidas foram analisadas visualmente e foram determinados o diâmetro médio e a distribuição de tamanho das gotículas por difração a laser. Para esta análise, uma gota de emulsão foi dispersa em água deionizada e o tamanho foi medido no equipamento (SALD-201V, Shimadzu, Kyoto, Japão). As análises foram realizadas em triplicata.

### 4.2.2 Redução da concentração de tensoativo e aumento da concentração de lipídios

A redução da concentração de tensoativos, que anteriormente era utilizada na ROT (razão óleo:tensoativo) 1:1 foi também avaliada. A influência da concentração de tensoativo nos valores de ROT de 1:0,5; 1:0,75 e 1:1 nas amostras 9 e 10, contendo 10, 15 e 20% de óleo, como mostra a Tabela 6, foi verificada em termos de diâmetro médio hidrodinâmico e distribuição do tamanho das gostículas como descrito no item 5.2.1.

**Tabela 6 -** Concentrações de lipídios e razões óleo:tensoativo (ROT) testadas.

| Formulação de micropartículas lipídicas | Fase lipídica | Concentração lipídios % (m/m) | ROT |
|---|---|---|---|
| (9) | ácido láurico<br>ácido caprílico | 10, 15 e 20 | (1:0,5); (1:0,75); (1:1) |
| (10) | óleo de babaçu<br>ácido caprílico | 10, 15 e 20 | (1:0,5); (1:0,75); (1:1) |

**Fonte:** Própria autoria.

### 4.2.3 Adição de nutrientes na formulação (inulina, lactose e alfa-tocoferol)

Após a definição da melhor concentração lipídica nas emulsões, bem como o melhor valor de ROT foi necessário adicionar os demais nutrientes da formulação, a saber: inulina,

lactose e alfa-tocoferol. A adição do alfa-tocoferol foi estudada em concentração de 0,5% (m/m), a adição da inulina foi estudada em concentrações de 1, 2 e 3% (m/m) e a adição de lactose foi estudada em concentrações de 1, 2, 3 e 4% (m/m) no produto. Tais concentrações foram consideradas em relação à formulação final dos géis carregados de emulsão. Para a inulina, o cálculo foi realizado considerando-se a pureza do produto (aproximadamente 80% (m/m)), sendo também constituída de frutose e glicose. Assim, as concentrações de nutrientes adicionadas à emulsão para que apresentassem as concentrações acima citadas no produto final foram corrigidas e estão mostradas na Tabela 7.

**Tabela 7 -** Concentrações utilizadas de inulina, lactose e alfa-tocoferol (valores corrigidos para a concentração no produto final - gel carregado de emulsão).

| | Concentração de nutrientes (% - m/m) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Nutriente | 0,5 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Inulina | - | 1,43 | 2,86 | 4,29 | - |
| Lactose | - | 1,15 | 2,3 | 3,45 | 4,6 |
| Tocoferol | 0,57 | - | - | - | - |

**Fonte:** Própria autoria.

### 4.2.4 Caracterização da emulsão por microscopia ótica de fluorescência

Para a análise de microscopia de fluorescência da emulsão, a metodologia foi adaptada de Abhyankar et al. (2014), na qual a fase oleosa foi corada com corante vermelho do Nilo. A solução de corante foi preparada em solvente etanol na concentração de 1 mg de corante por 1 mL de etanol. A solução de corante foi adicionada à fase lipídica antes da ultra-agitação em uma concentração de 10 µL de solução vermelho do Nilo em etanol para cada grama de lipídio. Assim, para a análise de microscopia ótica de fluorescência foi adicionado 100 µL de solução vermelho do Nilo para 10 g de lipídio. A análise foi realizada em microscópio Zeiss Axioplan 2 (Carl Zeiss Microscopy, LLC One Zeiss Drive Thornwood, NY, EUA) em magnitude de 40x com fonte de luz fluorescente HBO 100, no Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT/ZMV) na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP).

### 4.2.5 Testes preliminares para produção dos géis de polissacarídeos

Para a produção dos géis polissacarídicos foram estudadas diferentes concentrações de goma guar (GG) e goma xantana (GX) e concentrações fixas de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e goma locusta (GL) de 1 e 0,6%, respectivamente. A quantidade de ferro foi fixada

em 9,09% de fumarato ferroso (porcentagem necessária para a obtenção de um produto final contendo 3% em ferro, uma vez que o fumarato ferroso possui em sua fórmula uma concentração de 33% de ferro). As concentrações de goma guar, goma xantana, HPMC e goma locusta variaram de acordo com a Tabela 8.

**Tabela 8 -** Formulações testadas na produção de géis de polissacarídeos contendo fumarato ferroso.

| Gel | Goma guar (% m/m) | Goma xantana (% m/m) | HPMC (% m/m) | Goma locusta (% m/m) |
|---|---|---|---|---|
| A | 1 | 1 | 1 | 0,6 |
| B | 1,2 | 0,8 | 1 | 0,6 |
| C | 1,4 | 0,6 | 1 | 0,6 |
| D | 2 | 1 | 1 | 0,6 |
| E | 2,2 | 0,8 | 1 | 0,6 |
| F | 2,4 | 0,6 | 1 | 0,6 |

**Fonte:** Própria autoria.

Para a produção dos géis, a água deionizada e o fumarato ferroso foram levados a banho-maria (MA-127, Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) até que a temperatura atingisse 60 ◦C. A seguir, as gomas foram adicionadas lentamente à solução de fumarato ferroso sob agitação mecânica de 250 rpm, durante 3 minutos, em agitador mecânico (RW 20 Digital, IKA, Campinas, SP, Brasil), com impelidor tipo âncora de 5 cm de diâmetro.

Após a definição da melhor formulação de gel a ser utilizado (escolha realizada através do aspecto visual, ou seja, foram escolhidos para a incorporação da emulsão) foi realizada a produção dos géis carregados de emulsão, em que a fase aquosa do gel foi completamente substituída por emulsão.

#### 4.2.5.1 Testes de estabilidade térmica dos géis

A estabilidade térmica dos géis carregados foi analisada em temperatura ambiente, bem como em temperaturas de até 50 °C (temperatura que pode ser atingida em um caminhão no transporte do produto).

As amostras foram submetidas ao estresse térmico em banho-maria a 40 e 50 °C (MA-127, Marconi, Piracicaba, SP, Brasil). Inicialmente as amostras foram submetidas à temperatura durante uma hora, logo após, mantidas em temperatura ambiente e observadas. Então, as amostras foram submetidas à mesma temperatura durante duas horas e após, mantidas em temperatura ambiente durante uma hora e observadas; a seguir, finalmente, foram submetidas

ao estresse térmico na mesma temperatura durante mais 3 horas, retiradas, e então deixadas por uma hora em temperatura ambiente, e a seguir observadas.

### 4.2.6 Quantificação da energia bruta dos géis carregados de emulsão por bomba calorimétrica

A análise de quantificação de energia foi realizada para se determinar o valor energético do gel carregado. Assim, o gel carregado de emulsão foi analisado após ser produzido com a formulação da Amostra 9, ou seja, 10% de lipídeos (ácido láurico, ácido caprílico e tween 20), 0,5% de tocoferol, 2% de inulina e 4% de lactose. A amostra foi escolhida devido aos resultados obtidos durante os ensaios de estabilidade da emulsão e estabilidade térmica, bem como ao perfil de ácidos graxos saturados.

As amostras foram inicialmente congeladas durante 24 horas e a seguir liofilizadas (Terroni LC 1500, São Carlos, SP, Brasil) durante 48 horas para facilitar a manipulação das amostras durante a análise.

A determinação da energia bruta foi realizada em bomba calorimétrica conforme descrito por Silva (1981). As análises foram realizadas em triplicata.

### 4.2.7 Atividade de água

A atividade de água das amostras foi medida em equipamento AquaLab CX-2, Decagon (Pullman, WA, EUA), em triplicata.

### 4.2.8 Microscopia confocal a laser

As análises de microscopia confocal a laser foram realizadas segundo a metodologia de Abhyankar et al. (2014). Os polissacarídeos foram corados com o corante isotiocianato de fluoresceína (FTIC), em que a solução foi preparada na concentração de 1 mg/mL de DMSO, e os polissacarídeos corados seguindo a proporção de 0,1 mL da solução de FTIC em DMSO para cada 2 mL de amostra de gel; a fase lipídica foi corada com o corante vermelho do Nilo, na concentração de 1 mg/mL de etanol, e os lipídios foram corados no momento da produção da emulsão na proporção de 10 μL de solução de vermelho do Nilo para cada grama de lipídio. A análise foi realizada em microscópio invertido LSM780-NLO Zeiss (Carl Zeiss Microscopy, LLC One Zeiss Drive Thornwood, NY, EUA), no Instituto Nacional de Fotônica Aplicada à Biologia Celular (INFABIC) na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Os comprimentos de onda utilizados foram os seguintes: para o FTIC, excitação a 488 nm, e

emissão na faixa de 493-543 nm; e, para o vermelho do Nilo, excitação a 543 nm e emissão na faixa de 551-655.

### 4.2.9 Análises reológicas

As análises reológicas foram realizadas em cisalhamento oscilatório nas amostras de géis polissacarídicos não-carregados contendo fumarato ferroso e nos géis polissacarídicos carregados contendo fumarato ferroso, emulsões, alfa-tocoferol, inulina e lactose. As análises foram realizadas em reômetro rotacional (AR 2000, TA Instruments, New Castle, DE, EUA), com geometria de placas paralelas de 40 mm e gap de 100 µm. Inicialmente, foi determinado o intervalo de viscoelasticidade linear (RVL) e as amostras foram caracterizadas por ensaios de varredura de frequência e de temperatura.

#### 4.2.9.1 Determinação da região de viscoelasticidade linear (RVL)

A determinação da região de viscoelasticidade linear (RVL) foi realizada nas temperaturas de 25 e 60 °C. Para esta determinação, após a adição da amostra de gel, foi fixado um tempo de 10 minutos antes que a análise fosse iniciada para que ocorresse a relaxação das tensões. A deformação variou de 0,1 a 100 %, a frequência foi fixada em 1 Hz e os valores dos módulos dinâmicos (G': módulo de elasticidade e, G": módulo de perda) foram registrados. Na região de viscoelasticidade linear (RVL), os valores de G' e G" são independentes da deformação. A partir desta região, G' e G" passam a apresentar dependência com a deformação, e passam a variar deixando de ser constantes. Assim, a RVL permite medir o máximo valor de deformação em que não ocorre a quebra nem a alteração na estrutura do material em estudo. Este valor de deformação será fixado como o valor máximo em que G' e G" se mantêm constantes e será utilizado nos testes de varredura de frequência e temperatura, respectivamente.

#### 4.2.9.2 Ensaios de varredura de frequência

Os ensaios de varredura de frequência, 0,1 a 10 Hz, foram realizados para avaliar a dependência dos módulos de armazenamento (G') e de perda (G") de energia com a frequência na temperatura de 25 °C. Após a varredura de deformação, foi escolhido e fixado um valor de deformação na região de viscoelasticidade linear de acordo com cada amostra analisada.

#### 4.2.9.3 Ensaios de varredura de temperatura

A varredura de temperatura foi realizada para analisar a dependência dos módulos dinâmicos da amostra no intervalo de temperatura de 25 a 60 °C, dentro da RVL, variável de acordo com a amostra na temperatura de 60 °C e frequência de 1 Hz. Foram realizadas rampas de aquecimento e de resfriamento a uma taxa de 2 °C/min. Para a rampa de resfriamento, o mesmo protocolo foi realizado, porém com a temperatura variando de 60 a 20 °C.

### 4.2.10 Estudo de estabilidade dos géis carregados de emulsão durante a estocagem

#### 4.2.10.1 Avaliação dos valores de pH

Os valores de pH das amostras foram medidos ao longo de 91 dias de armazenagem, em intervalos de 7 dias, em pHmetro (UB-10, Denver Instruments, Arvada, Colorado, USA).

#### 4.2.10.2 Determinação de parâmetros colorimétricos

As análises de colorimetria instrumental foram realizadas em colorímetro (MiniScan XE0020Plus, HunterLab, Sunset Hills Road, Reston, VA, USA). Foram utilizados os seguintes parâmetros de leitura: iluminante D65 e ângulo de visão com abertura de 10º e o sistema CIE (*Commission Internationale de I'Eclairage*). Os parâmetros L*a*b* obtidos foram utilizados no cálculo do valor de croma (C*ab) e diferença total de cor (TCD). Estes cálculos foram realizados de acordo com as Equações 2, e 3, respectivamente.

Para obtenção do valor de croma a Equação (2) foi utilizada

$$\boldsymbol{C*_{ab}} = \sqrt{(\boldsymbol{a}*)^2 + (\boldsymbol{b}*)^2} \quad \text{(Equação 2)}$$

em que:

- $C^*_{ab}$ = croma (saturação da cor)
- b* = cromaticidade no eixo variando do amarelo/ azul
- a* = cromaticidade no eixo variando de vermelho verde

Por sua vez, a diferença total de cor (TCD) foi calculada pela Equação (3):

$$TCD = \sqrt{(L* - L*_0)^2 + (a* - a*_0)^2 (b* - b*_0)^2} \quad \text{(Equação 3)}$$

em que:

$L_0$*, $a_0$* e $b_0$* são os parâmetros obtidos no dia zero de estocagem

$L^*$, a* e b* são os parâmetros obtidos no dia de amostragem

#### 4.2.10.3 Avaliação da estabilidade microbiológica dos géis

As análises microbiológicas foram realizadas durante o período de 120 dias de armazenagem dos géis carregados na temperatura de 25 °C. Foram realizadas contagens de fungos filamentosos (bolores) e não-filamentosos (leveduras).

Para o preparo das amostras foram pesadas alíquotas de 10 gramas do gel carregado de emulsão e este foi adicionado em 90 mililitros de água peptonada 0,1%. A solução foi homogeneizada e as diluições foram estudadas na faixa de $10^{-1}$ a $10^{-3}$. O meio de cultivo utilizado foi o ágar Batata Dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico 10%. O meio de cultivo foi adicionado às placas de petri e, quando solidificado, foi pipetado 0,1 mL de cada diluição nas placas. O inóculo adicionado às placas contendo o meio de cultivo foi espalhado através de uma alça de Drigalsky. Então, as placas foram acondicionadas em BOD (MA-415, Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 25 °C durante 5 dias, quando ocorreu a contagem das colônias de bolores e leveduras. Os resultados obtidos foram multiplicados pelos valores das diluições. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em UFC/g (SILVA, 2010).

### 4.3 Análise estatística dos dados

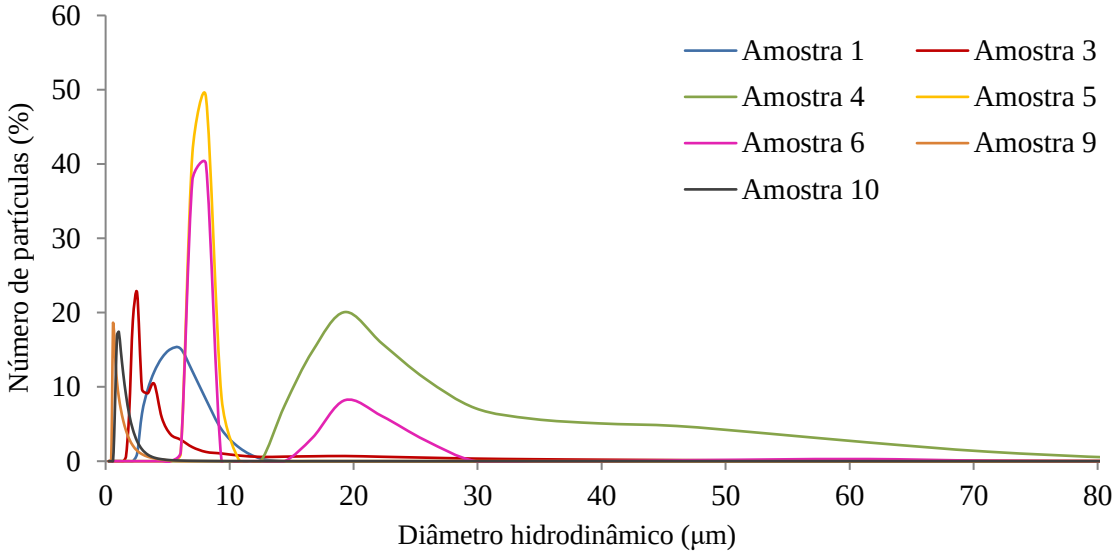
Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos ao procedimento ANOVA e teste de Tukey, ao nível de 95% de significância, utilizando-se o software Assistat 7.7 beta.

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

## 5.1 Testes preliminares para produção das emulsões e géis carregados

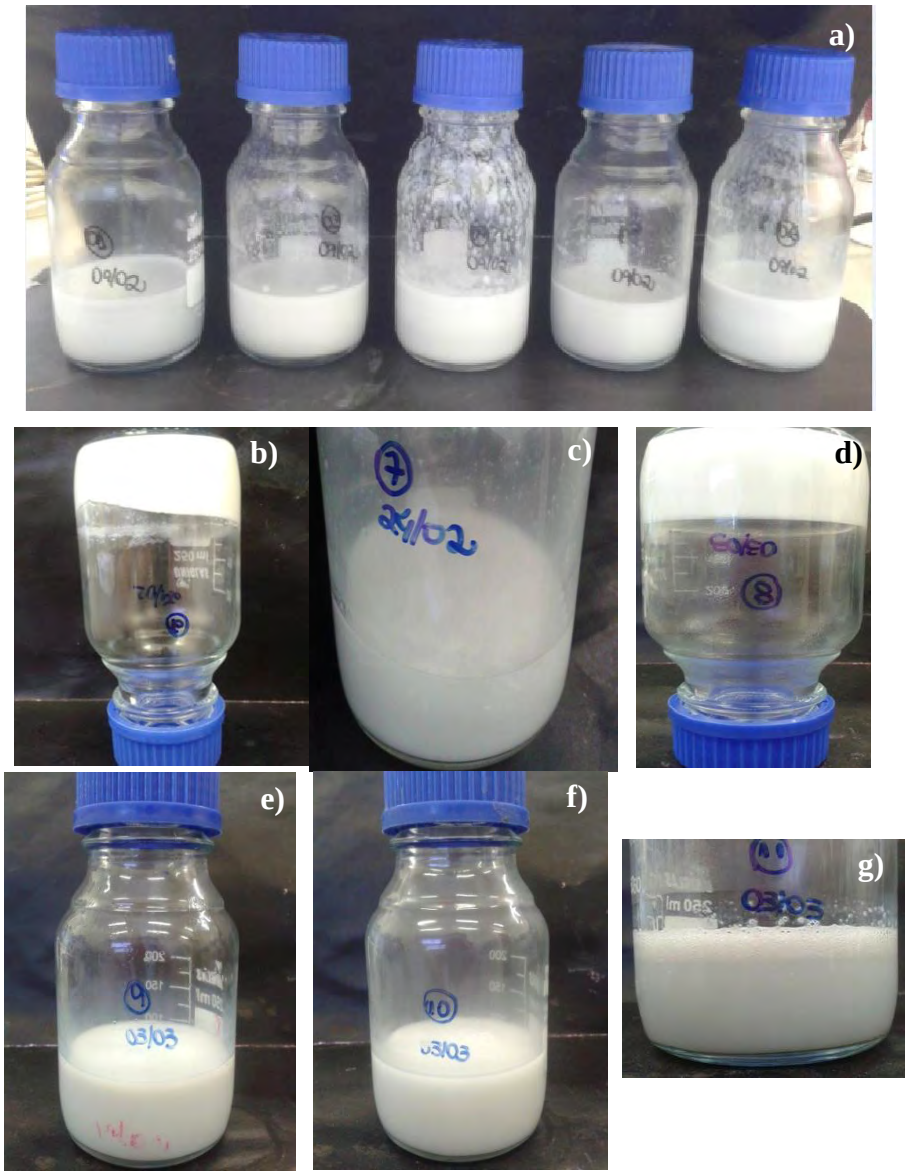
Os testes iniciais para a produção das emulsões foram realizados a partir de onze formulações distintas, mostradas na Tabela 5. Os resultados de distribuição de tamanho de gotículas obtidos a partir destas formulações são apresentados na Figura 15. Os resultados referentes às amostras 2, 7, 8 e 11 não aparecem no gráfico, pois após a produção apresentaram consistência sólida ou separação de fases, conforme ilustrado na Figura 16.

**Figura 15 -** Curvas de distribuição de diâmetro hidrodinâmico de gotícula das emulsões, no dia zero, produzidas de acordo com as formulações descritas na Tabela 5.




**Fonte:** Própria autoria.

**Figura 16 -** Aspecto visual das emulsões a) 1, 3, 4, 5 e 6; b) 2, c) 7, d) 8, e) 9, f) 10 e g) 11, no dia zero, produzidas de acordo com as formulações descritas na Tabela 5.

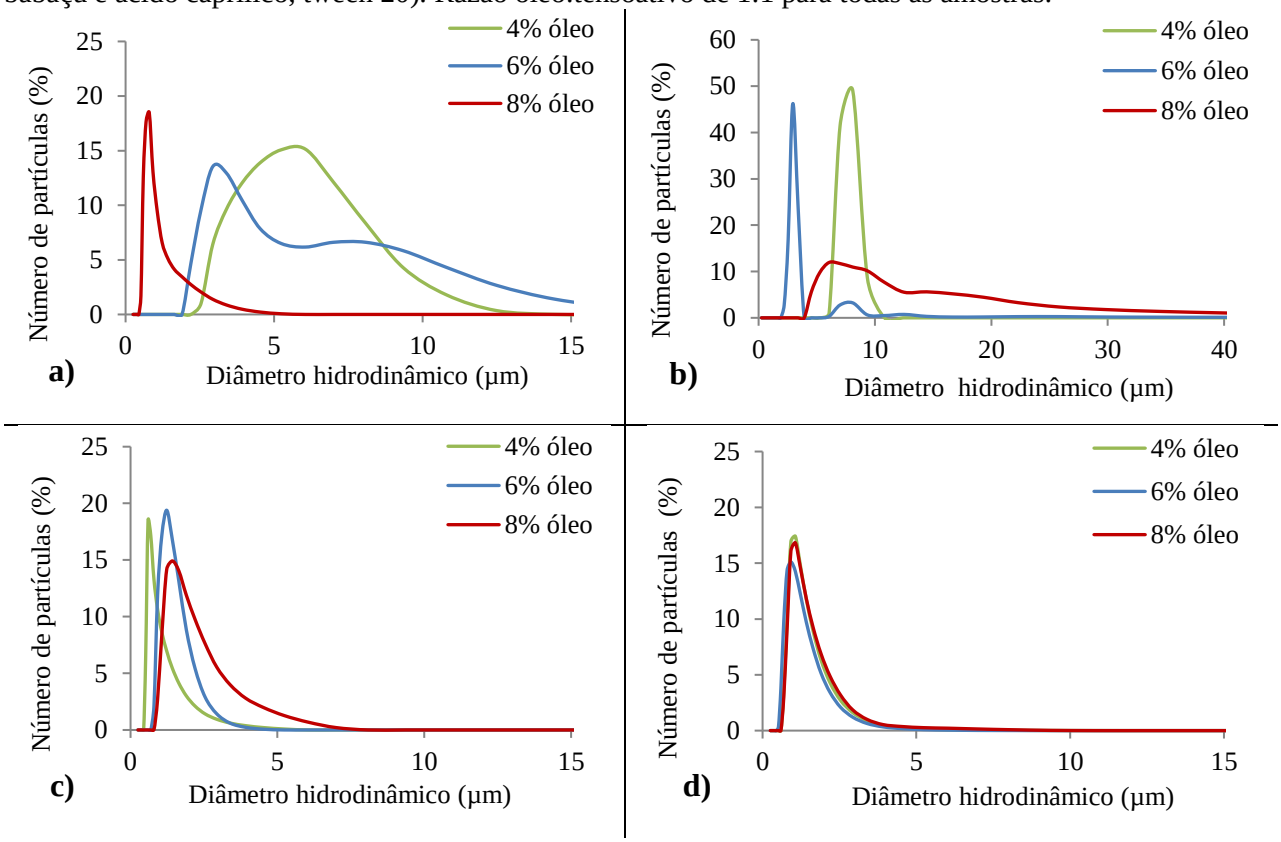



**Fonte:** Própria autoria.

A partir dos resultados apresentados nas Figuras 15 e 16, foi possível selecionar as melhores formulações de emulsões para o prosseguimento do projeto. Assim, as amostras selecionadas para os estudos posteriores foram: amostra 1 (óleo de babaçu, ácido palmítico e tween 20), amostra 5 (óleo de babaçu, ácido palmítico e tween 80), amostra 9 (ácido láurico, ácido caprílico e tween 20) e amostra 10 (óleo de babaçu, ácido caprílico e tween 20), uma vez que apresentaram diâmetros médios variando entre 1 e 10 µm, e também apenas uma população de gotas como pôde ser observado na Figura 15.

Após a escolha das formulações mais estáveis, foi avaliada a possibilidade do aumento da concentração de lipídios nas emulsões, e as curvas de distribuição de tamanho de gotas das emulsões estão mostradas na Figura 17. Para a amostra 1 (Figura 17a), o aumento na concentração de óleo melhorou a distribuição de tamanho de gota quando em uma concentração de 8% enquanto em uma concentração de 6% a distribuição mostrou-se heterogênea, com uma população contendo diversos tamanhos de gota, fator que pode levar à desestabilização do sistema ao longo da vida de prateleira. Na amostra 5 (Figura 17b), o aumento da concentração de óleo de 4 para 6% originou a formação de uma pequena segunda população, enquanto a 8% o sistema se mostrou altamente polidisperso. Já nas amostras 9 e 10 (Figuras 17c e 17d) o aumento na concentração de óleo não influenciou a distribuição do tamanho de gota, pois os sistemas emulsionados se mantiveram com distribuições de tamanho de gota homogêneas, uniformes, contendo apenas uma população cujo diâmetro variou de 1 a 7 µm.

**Figura 17 -** Influência do aumento da concentração de lipídios de 4% para 6 e 8% no diâmetro hidrodinâmico de gota para as emulsões a) 1(óleo de babaçu e ácido palmítico, tween 20), b) 5 (óleo de babaçu e ácido palmítico, tween 80), c) 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20) e d) 10 (óleo de babaçu e ácido caprilico, tween 20). Razão óleo:tensoativo de 1:1 para todas as amostras.




**Fonte:** Própria autoria.

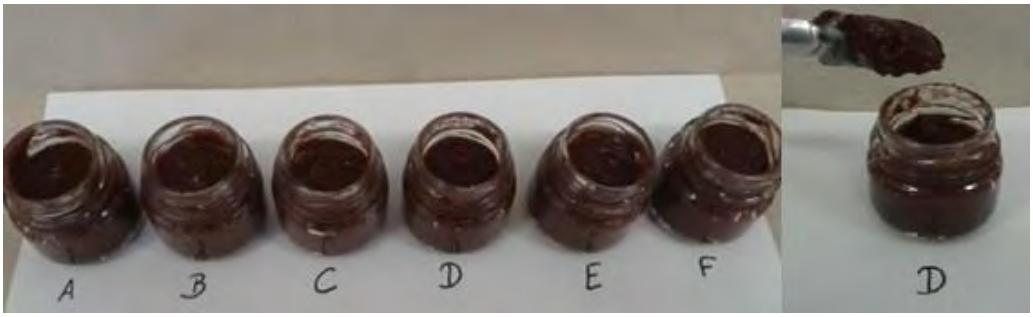
Em relação à produção dos géis, testes preliminares para determinação da formulação foram realizados e os géis foram escolhidos de acordo com a textura, sendo desejada uma textura

intermediária entre o muito viscoso e o firme, uma vez que as amostras serão acondicionadas e manipuladas em bisnagas, conforme ilustrado na Figura 18, devendo fluir ao serem pressionadas. Assim, os géis obtidos nos testes preliminares bem como o gel escolhido para o prosseguimento do trabalho podem ser observados na Figura 19 na qual a amostra escolhida está apresentada pela letra D, composta de 2% de goma guar, 1% de goma xantana, 1% de HPMC e 0,6% de goma locusta.

**Figura 18 -** Bisnaga para acondicionamento e comercialização dos géis carregados de emulsão contendo nutrientes para leitões.

**Fonte:** Própria autoria.

**Figura 19 -** Géis polissacarídicos contendo 9% de fumarato ferroso e variadas concentrações de polissacarídeos de acordo com a Tabela 8.

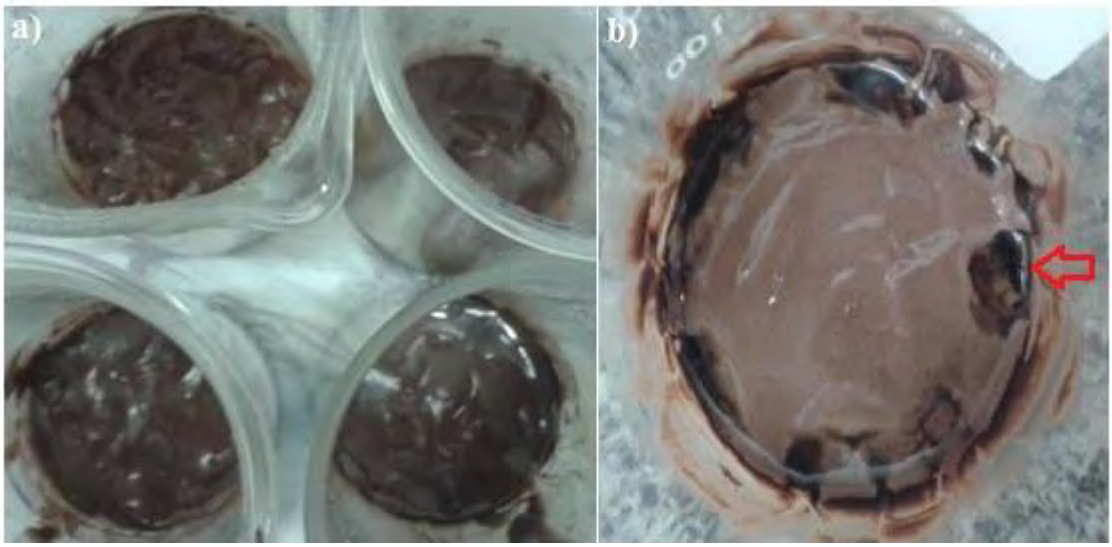



**Fonte:** Própria autoria.

Utilizando-se as emulsões produzidas, foram produzidos géis carregados, contendo em sua composição 2% (m/m) de goma guar, 1% (m/m) de goma xantana, 1% (m/m) de HPMC e 0,6% (m/m) de goma locusta, com as concentrações de 4, 6 e 8% (m/m) de lipídios. Estes géis foram submetidos ao processo de estabilidade térmica, e apresentaram boa resistência ao estresse sofrido como pode ser observado na Figura 20a, não havendo separação das fases. Os géis

produzidos com as amostras 1 e 5 apresentaram migração do fumarato ferroso para a superfície com o passar dos dias sob armazenamento (Figura 20b). Por tal motivo, tais amostras foram descartadas e o estudo prosseguiu com a amostra 9, contendo ácido láurico, ácido caprílico e tensoativo tween 20 e com a amostra 10, contendo óleo de babaçu, ácido caprílico e tensoativo tween 20.

**Figura 20 -** Aspecto visual das amostras de géis após estresse térmico a 40 e 50 ◦C das amostras contendo emulsões com 8% de lipídios a) 1 (óleo de babaçu e ácido palmítico, tween 20), 5 (óleo de babaçu e ácido palmítico, tween 80), 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20) e 10 (óleo de babaçu e ácido caprilico, tween 20); b) amostra 5: exemplo de visualização da migração do fumarato ferroso para a superfície.

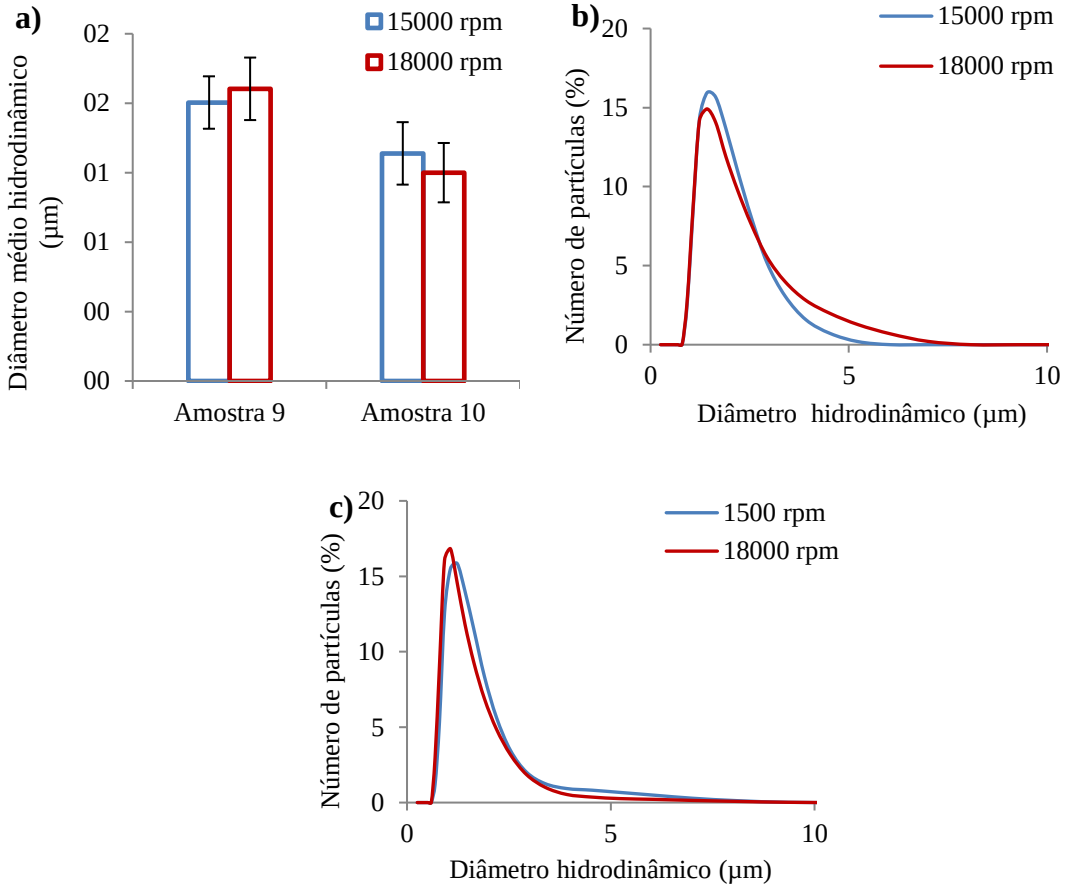



**Fonte:** Própria autoria.

### 5.1.1 Avaliação da redução da intensidade de agitação no processo de produção das dispersões

A redução da intensidade de agitação é importante em termos de escalonamento do processo. No presente trabalho, ao reduzir a intensidade de agitação de 18000 rpm para 15000 rpm pôde-se observar que não ocorreram mudanças no diâmetro médio hidrodinâmico (Figura 21a), bem como na distribuição do tamanho das gotículas (Figuras 21b e 21c), sendo a partir destes resultados, as amostras produzidas com uma intensidade de agitação de 15000 rpm.

**Figura 21 -** Influência da redução da intensidade de agitação no a) diâmetro médio hidrodinâmico das gotículas e distribuição do diâmetro hidrodinâmico das gotículas nas amostras b) 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20) e c) 10 (óleo de babaçu e ácido caprílico, tween 20), contendo ambas 8% de lipídio.




**Fonte:** Própria autoria.

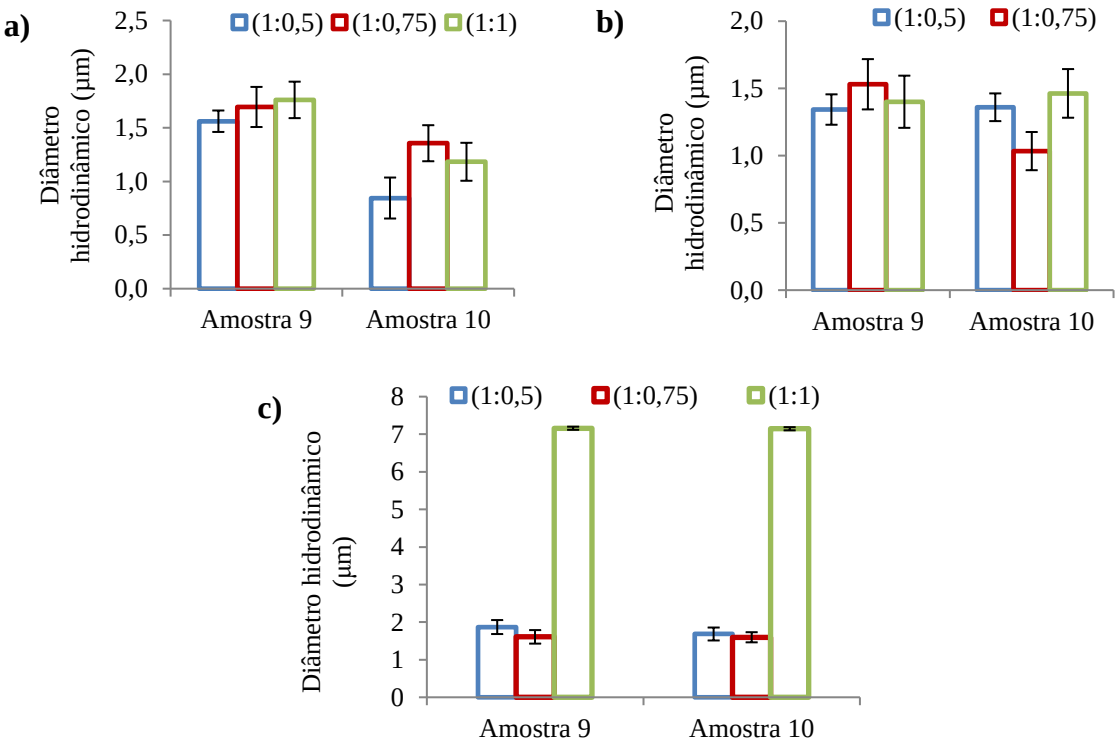
### 5.1.2 Avaliação da variação da razão óleo:tensoativo (ROT) nas emulsões e aumento da concentração de lipídios

O objetivo desta etapa foi avaliar se seria possível a redução da concentração de tensoativo utilizada para a estabilização das emulsões, pois tal diminuição de uso de insumos significa redução de custos do produto final. Além disso, foi estudado o aumento da concentração de lipídios para avaliar a concentração limite de lipídios suportado pelo sistema, uma vez que o aumento deste componente proporciona um ganho de valor energético, fornecendo um aporte energético aos animais e agregando valor ao produto.

Nas Figuras 22 e 23, é possível observar o diâmetro hidrodinâmico médio e as curvas de distribuição de tamanho de gotas, respectivamente, para as amostras 9 e 10 contendo 10, 15 e 20% de óleo, variando-se as ROT de 1:0,5; 1:0,75 e 1:1. Tanto para as amostras contendo 10% quanto para 15% de óleo, não houve diferenças nos diâmetros médios entre as diferentes

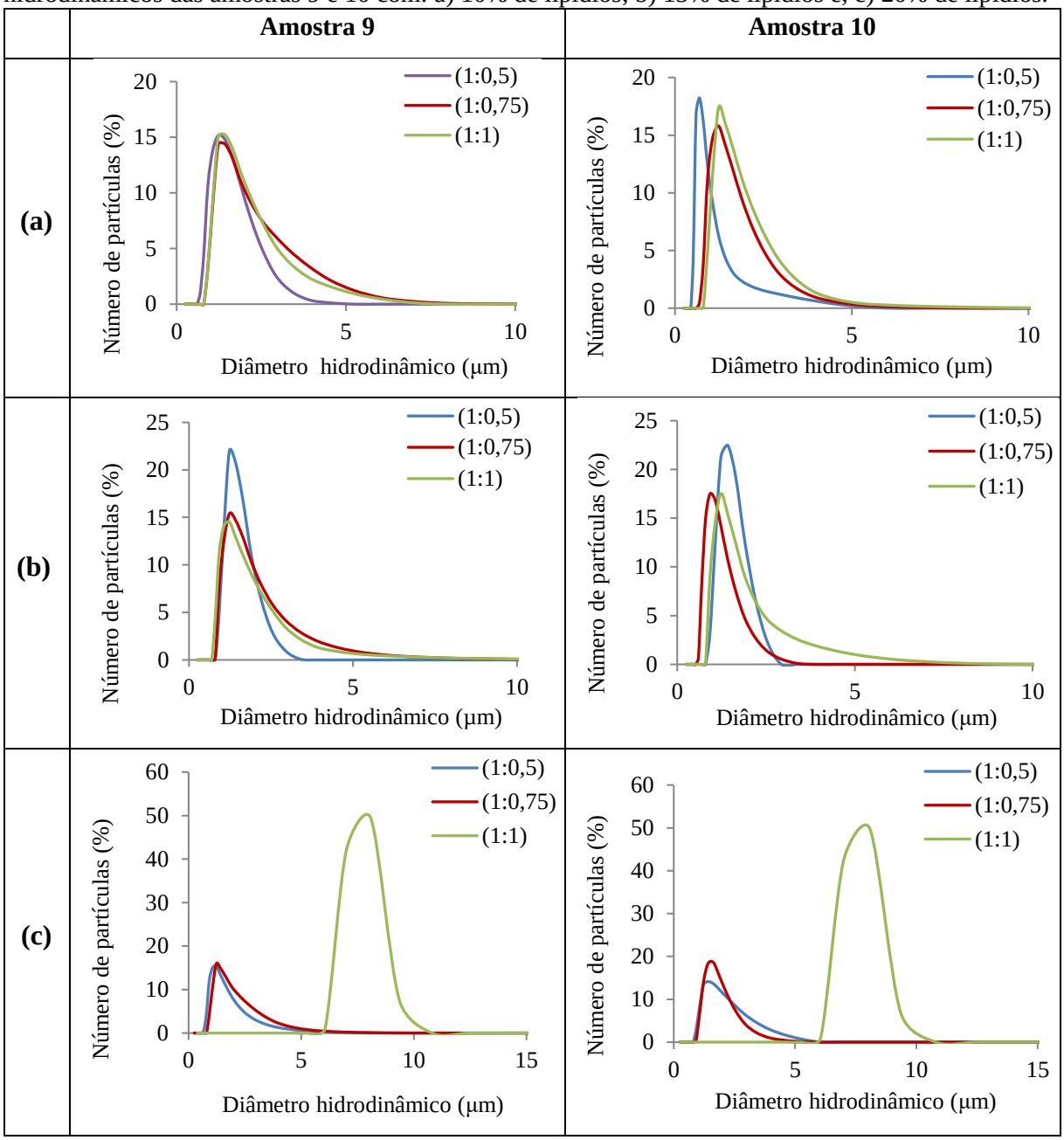
razões óleo/tensoativo, bem como na distribuição de tamanho das gotas. Além disso, os tamanhos médios mantiveram-se estáveis com o aumento da concentração de óleo, variando entre 1 e 7 µm, que pode ser considerado adequado, considerando-se que a concentração de tensoativo foi reduzida pela metade. Para as concentrações de 20% de óleo, as emulsões se mostraram muito viscosas para valores de ROT de 1:0,75 e 1:1. Além disso, as amostras em questão apresentaram maior diâmetro médio de gota (Figura 22c) e curvas de distribuição de tamanho mais heterogêneas (Figura 23c), sendo, portanto, desconsideradas no prosseguimento do estudo.

**Figura 22 –** Influência de diferentes valores de ROT no diâmetro médio hidrodinâmico das amostras 9 e 10 com: a) 10% de lipídios; b) 15% de lipídios e, c) 20% de lipídios.




**Fonte:** Própria autoria.

**Figura 23** - Influência de diferentes valores de ROT na distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos das amostras 9 e 10 com: a) 10% de lipídios; b) 15% de lipídios e, c) 20% de lipídios.

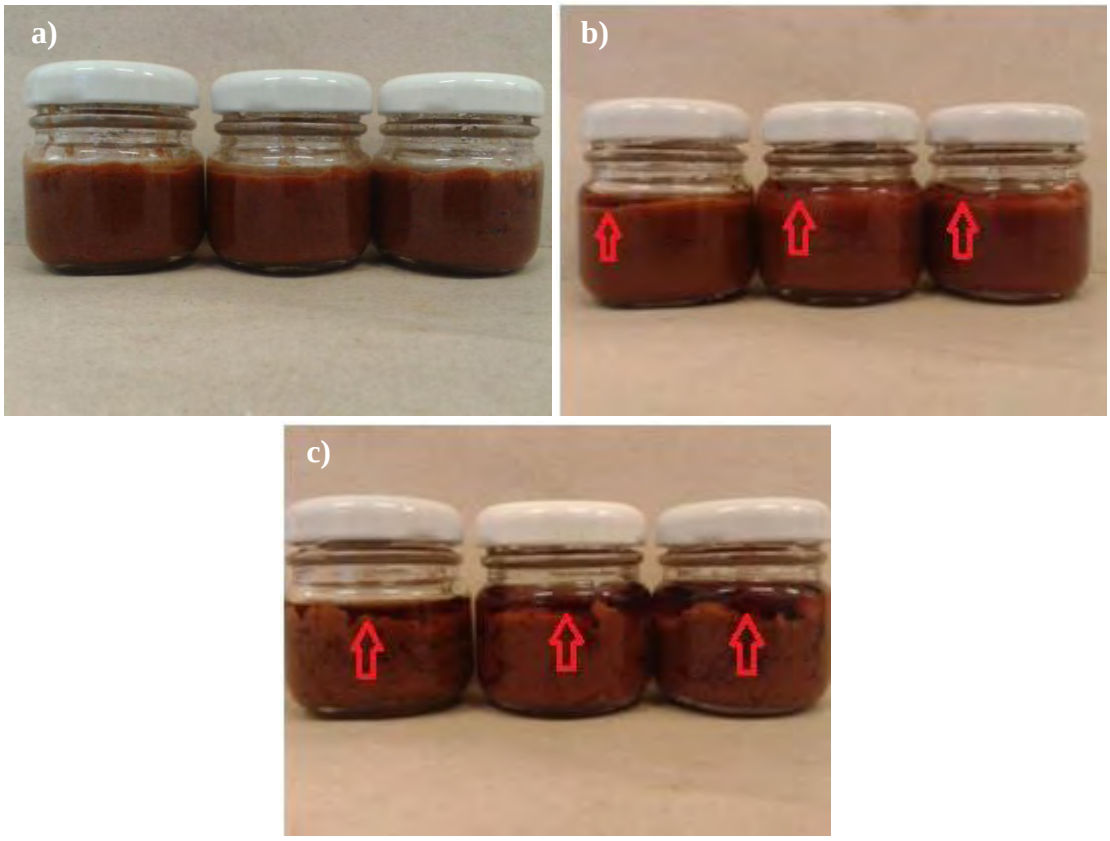



**Fonte:** Própria autoria.

As emulsões que apresentaram maior estabilidade na avaliação descrita na presente etapa foram, então, utilizadas na produção dos géis carregados. As emulsões contendo 10% de óleo, ao serem utilizadas na produção de géis carregados de emulsão, mantiveram os géis estáveis e estes suportaram os testes de estabilidade térmica, mantendo-se visualmente estáveis após o estresse (Figura 24a). Por sua vez, ao se utilizar as emulsões contendo 15% de óleo não foram obtidos géis carregados estáveis, sendo que estes desestabilizaram no teste de estabilidade térmica após serem submetidos à temperatura de 50 °C (Figura 24b), no qual é visível que a

fase oleosa migrou para a superfície. Este fenômeno ocorreu para todas as amostras. O mesmo fato ocorreu, e de forma mais pronunciada, para os géis carregados de emulsão contendo 20% de lipídios, o que pode ser facilmente observado na Figura 24c. Sendo assim, apesar de as emulsões terem se mantido estáveis com o aumento da concentração de óleo e redução da concentração de tensoativo, tornou-se inviável adicionar emulsões contendo estas altas concentração de lipídios (15 e 20%) aos géis, uma vez que apresentaram instabilidade e separação de fases. Assim, ficou definido no presente estudo que os géis carregados de emulsão seriam produzidos com 10% de óleo na emulsão, na razão óleo:tensoativo de 1:0,5.

**Figura 24 -** Géis carregados de emulsão, após estresse térmico a 40 e 50 ◦C, contendo: a) 10% de lipídios, b)15% de lipídios e c) 20% de lipídios na emulsão. As setas vermelhas indicam separação de fases.




**Fonte:** Própria autoria.

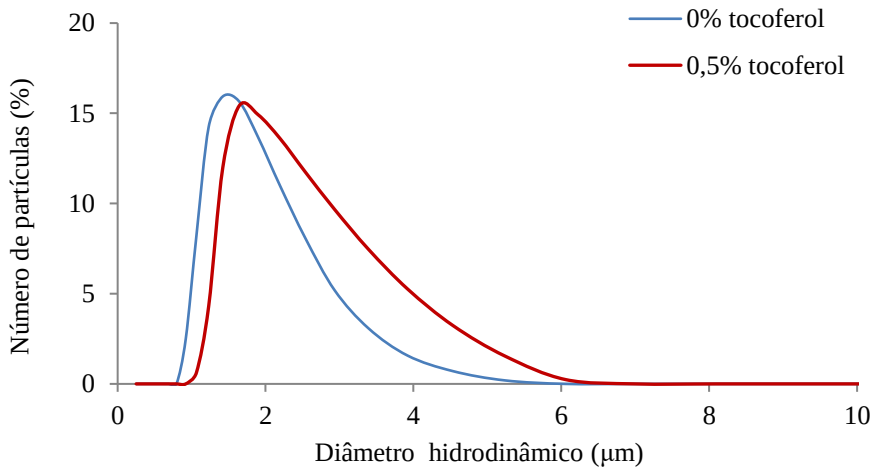
### 5.1.3 Adição de alfa-tocoferol, inulina e lactose às emulsões

Os testes de adição dos nutrientes às emulsões ocorreram utilizando-se a amostra 9, constituída por ácido láurico, ácido caprílico e tween 20 como tensoativo. A referida amostra foi selecionada devido ao perfil de ácidos graxos presente em sua composição. Os benefícios que tais compostos conferem à microbiota intestinal foi um fator importante na seleção da

amostra final para o prosseguimento do estudo. Assim, os nutrientes testados nesta amostra foram alfa-tocoferol, inulina e lactose em diferentes concentrações.

Ao se adicionar 0,5% (m/m) de alfa-tocoferol à emulsão não houve influência na distribuição de tamanho de gota das emulsões, como pode ser observado na Figura 25.

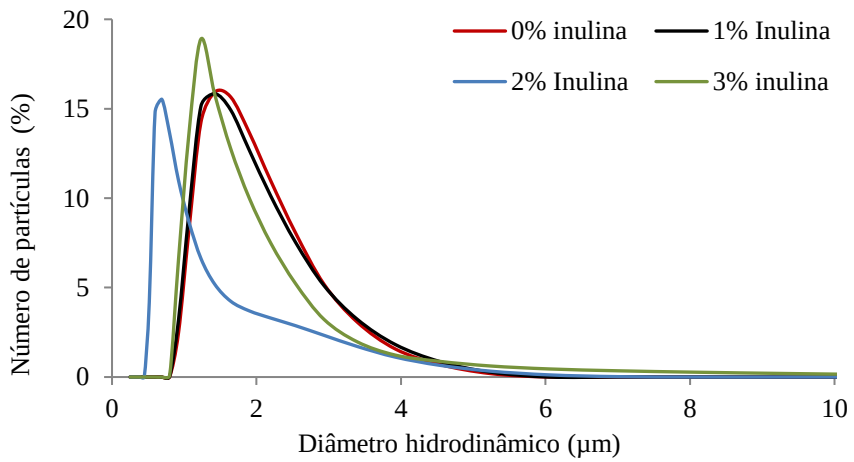
**Figura 25 -** Influência da adição de tocoferol na distribuição do tamanho de gota para amostra 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tensoativo tween 20).




**Fonte:** Própria autoria.

A adição de inulina na emulsão foi realizada em concentrações de 1, 2 e 3% conforme a Tabela 7. Como pode ser observado na Figura 26, o aumento na concentração do polissacarídeo não provocou alterações na distribuição de tamanho das gotas, e o sistema emulsionado permaneceu estável.

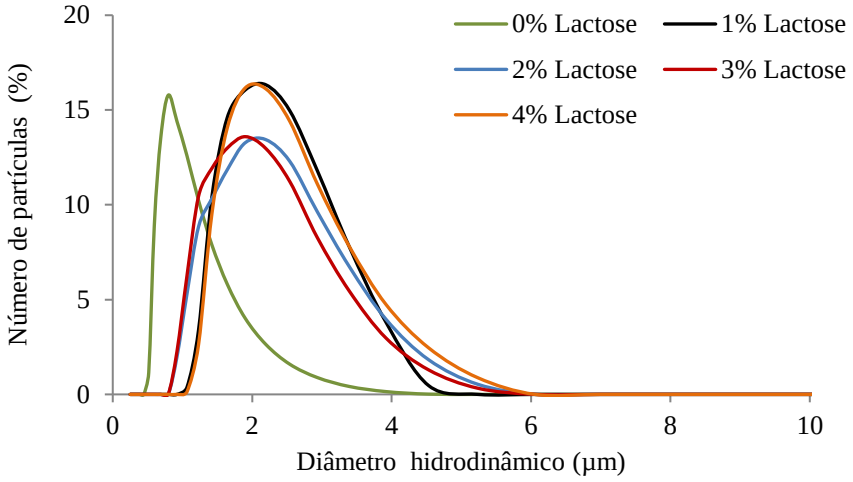
**Figura 26 -** Influência de diferentes concentrações de inulina na distribuição de tamanho de gota para a amostra 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tensoativo tween 20).




**Fonte:** Própria autoria.

Por sua vez, a adição de lactose também não influenciou no tamanho e na distribuição do tamanho de gotas das emulsões, como pode ser observado na Figura 28.

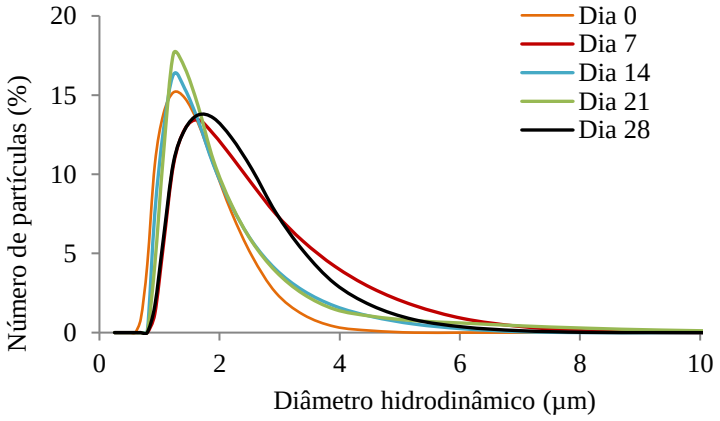
**Figura 27 -** Influência de diferentes concentrações de lactose na distribuição de tamanho de gota para emulsão 9 (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20) com 10% (m/m) de lipídios, proporção óleo/tensoativo (1:0,5), 0,5% de tocoferol e 2% (m/m) de inulina.




**Fonte:** Própria autoria.

Portanto, de acordo com os resultados obtidos nesta etapa, a amostra selecionada para as análises posteriores foi a amostra 9, contendo 10% de lipídios (5% ácido láurico e 5% ácido caprílico), na proporção óleo/tensoativo de 1:0,5, ou seja, 5% de tensoativo (tween 20) contendo 0,5% de alfa-tocoferol, 2% de inulina, e 4% de lactose. Esta formulação de emulsão foi então produzida em triplicata, que foram monitoradas por 28 dias de armazenagem a temperatura ambiente. Os resultados obtidos para as curvas de distribuição de tamanho de gota estão mostrados na Figura 28.

**Figura 28 -** Curvas de distribuição de tamanho de gotas da emulsão com 10% (m/m) de lipídios, 5% (m/m) tween 20, 0,5% (m/m) de alfa-tocoferol, 2% (m/m) de inulina e 4% (m/m) de lactose, durante 28 dias de armazenagem a temperatura ambiente.




**Fonte:** Própria autoria.

Além disso, a adição de lactose, inulina e tocoferol não influenciou na estabilidade térmica dos géis carregados de emulsão, que se mantiveram estáveis após o processo de estresse térmico (Figura 29).

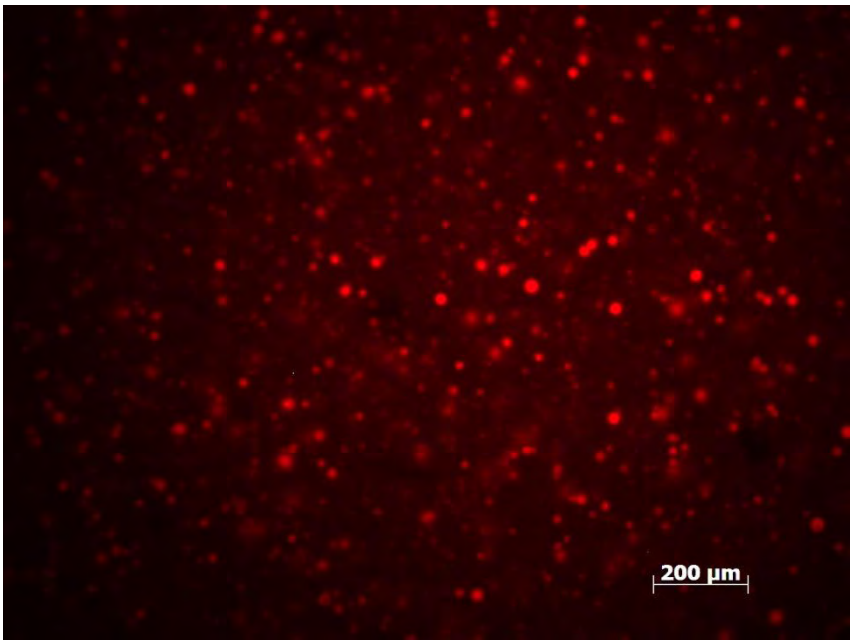
**Figura 29** - Géis carregados de emulsão (5% ácido láurico e 5%ácido caprílico, 5% tween 20) com 0,5% de alfa-tocoferol, 2% de inulina e 4% de lactose após o estresse térmico a 40 e 50 ◦C.

**Fonte:** Própria autoria.

### 5.1.4 Microscopia de fluorescência das emulsões

A emulsão contendo 5% de ácido láurico e 5% de ácido caprílico, 5% de tween 20 como tensoativo foi analisada em microscópio de fluorescência, em que a fase lipídica foi corada com corante vermelho do Nilo e a análise foi realizada utilizando-se um aumento de 20 vezes, conforme pode ser visto na Figura 30. As gotículas podem ser observadas na micrografia em coloração vermelha, apresentando estrutura esférica, tamanhos homogêneos e boa distribuição e dispersão no meio aquoso.

**Figura 30 -** Microscopia de fluorescência da emulsão (ácido láurico e caprílico, tween 20) (aumento: 20x).




**Fonte:** Própria autoria.

### 5.1.5 Quantificação da energia dos géis carregados de emulsão por calorimetria

O gel carregado de emulsão contendo 4% de lactose, 2% de inulina e 0,5% de alfa-tocoferol foi analisado quanto à quantidade de energia bruta. As amostras apresentaram um valor médio de energia bruta de 1,5507 ± 0,0063 cal/g de gel carregado. Tal resultado indica que o produto apresenta um baixo valor calórico, mas mostra-se coerente uma vez que 65% do sistema é constituído de água. Sabe-se que a energia metabolizada no organismo dos leitões representa 68% da energia bruta do produto, o que reduz ainda mais a energia fornecida pelo produto.

### 5.1.6 Atividade de água

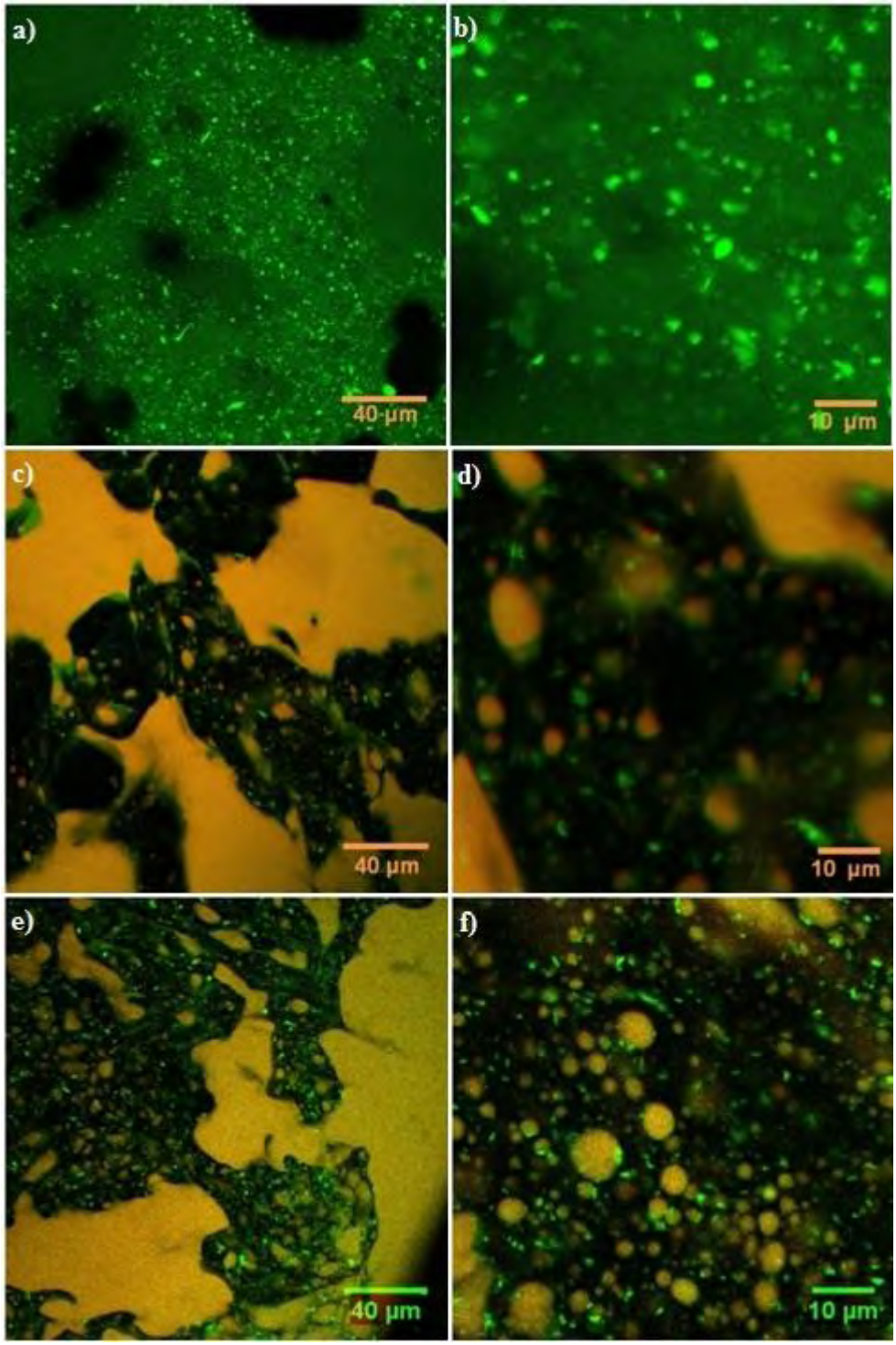
A atividade de água para o gel carregado de emulsão contendo 4% de lactose, 2% de inulina e 0,5% de alfa-tocoferol foi de 0,979 ± 0,003. Este resultado indicou alto valor de atividade de água, resultado que era esperado uma vez que o gel carregado em questão possui 65% de água em sua formulação.

### 5.1.7 Microscopia confocal a laser

As amostras de gel não-carregado (Figuras 31a e 31b), gel carregado de emulsão contendo fumarato ferroso (Figuras 31c e 31d) e gel carregado de emulsão sem fumarato ferroso (Figuras 31e e 31f) foram analisadas em microscópio confocal de fluorescência. Pode-se

observar nas Figuras 31a e 31b que o gel formado somente por polissacarídeos apresentou estrutura densa e heterogênea apresentando aeração, sendo possível observar a presença de bolhas. A heterogeneidade pode ser observada também por pontos verdes com maior fluorescência ao longo da estrutura, e pode ser relacionada a uma solubilidade incompleta das gomas utilizadas para a produção do gel. Nas Figuras 31c e 31d é possível observar a fase do gel não-carregado como uma estrutura mais densa e as gotículas esféricas incorporadas na matriz. Não foi possível destacar a fase emulsão separadamente da fase gel na análise uma vez que os comprimentos de onda utilizados nas análises para os corantes FTIC e vermelho do Nilo apresentaram sobreposição e então ambos apresentaram emissão nas mesmas faixas de comprimento de ondas. Além disso, houve influência da presença de fumarato ferroso na emissão dos corantes presentes. Assim, uma amostra produzida sem a incorporação de fumarato ferroso (Figuras 31e e 31f) foi analisada e foi possível perceber maior fluorescência das fases gel e emulsão. Foi possível observar a estrutura densa do gel polissacarídico e as gotículas da emulsão presentes na estrutura da matriz do gel, bem como as partículas de polissacarídeos que não foram completamente solubilizadas no meio. Os resultados da Figura 31e mostram uma leve ligação das gotículas à rede de gel, fracamente identificada por traços verdes, além de indicar a presença de bolhas de ar, devido ao fato de o sistema ser aerado. Pode ser observado na Figura 31f que as gotículas de óleo mantiveram sua estrutura esférica, distribuição homogênea ao longo da matriz e tamanhos de gota homogêneos.

**Figura 31 -** Microscopia confocal de fluorescência de a) e b) gel polissacarídico contendo fumarato ferroso, c) e d) gel carregado de emulsão com inulina, lactose, α-tocoferol e fumarato ferroso, e) e f) gel carregado de emulsão com inulina, lactose e α-tocoferol. Aumento de 10x para as amostras da coluna esquerda e 40x para as amostras da coluna direita.



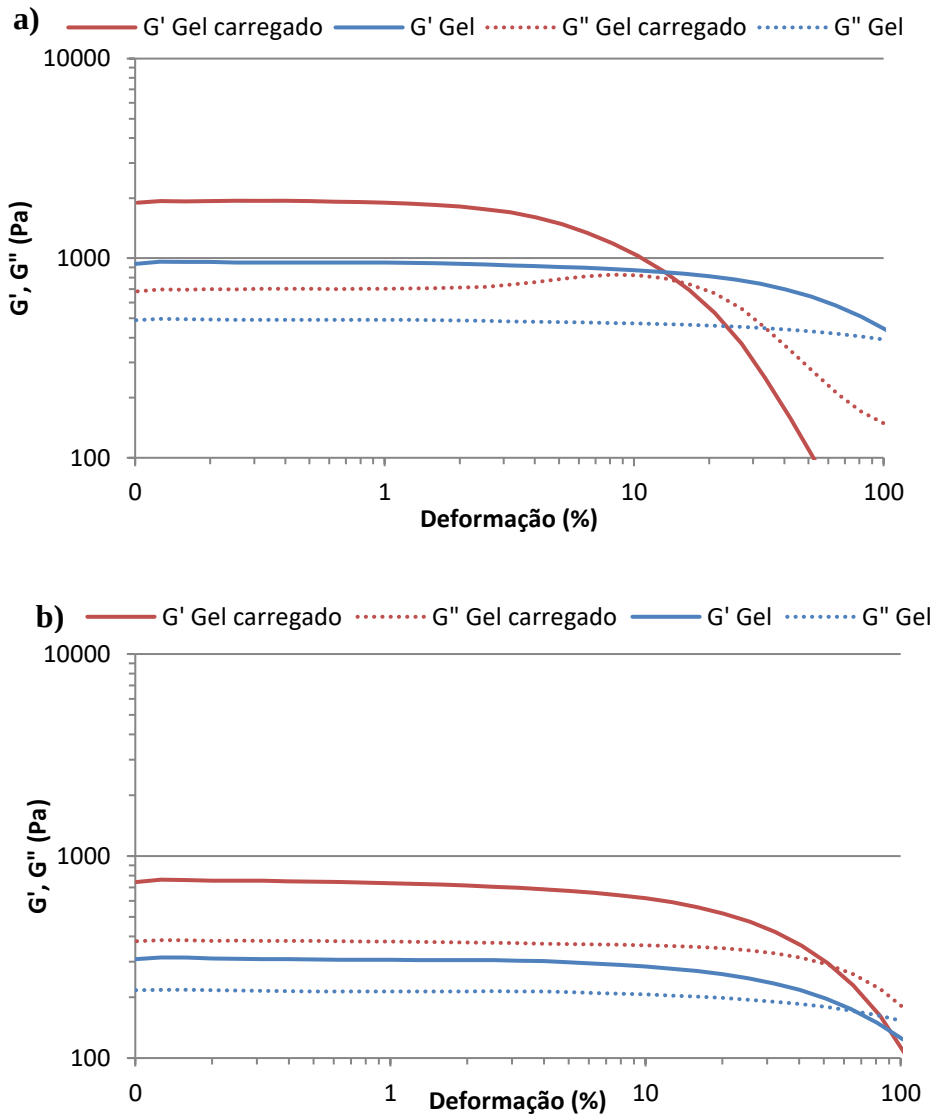

**Fonte:** Própria autoria.

## 5.2 Comportamento reológico dos géis

### 5.2.1 Ensaios oscilatórios

A varredura de deformação dos géis foi determinada, e a partir dos resultados obtidos nestes ensaios foi possível definir qual foi a região de viscoelasticidade linear (RVL) nas temperaturas de 25 e 60 ◦C para as amostras de géis e géis carregados (Figura 32).

**Figura 32 -** Varredura de deformação de géis polissacarídicos (2% goma guar, 1% goma xantana, 1% HPMC, 0,6% goma locusta e 9,09% fumarato ferroso) e géis carregados de emulsão (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20, 0,5% alfa-tocoferol, 2% inulina, 4% lactose e 9,09% fumarato ferroso) nas temperaturas de a) 25 °C e b) 60 °C.



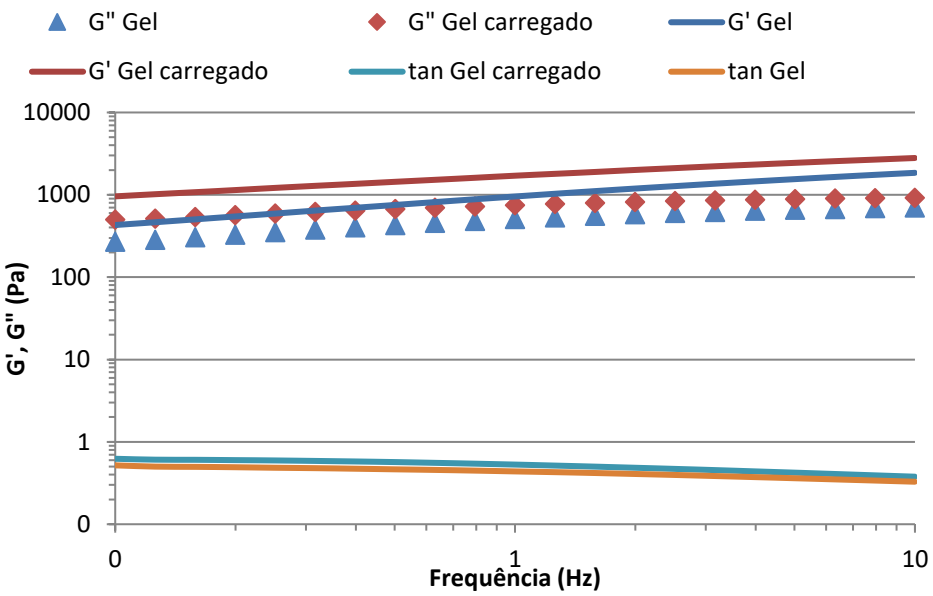

**Fonte:** Própria autoria.

Para ambas as temperaturas, o valor da RVL foi de 8% para os géis polissacarídicos contendo fumarato ferroso e de 4% de deformação para os géis carregados de emulsão. Este

intervalo é um parâmetro importante na realização das análises de varredura de frequência e de temperatura, uma vez que define o valor limite de deformação em que o material permanece sem alterações de sua estrutura. Quando ocorre a perda da linearidade, o material em estudo passa a sofrer modificações estruturais, o que pode ser observado na Figura 32 a partir da deformação aplicada de 4% para o gel carregado e 8% para o gel polissacarídico.

Por sua vez, a dependência dos módulos de armazenamento (G') e de perda (G") de energia com a frequência para os géis foi determinada e os resultados podem ser vistos na Figura 33:

**Figura 33** - Varredura de frequência de géis polissacarídicos (2% goma guar, 1% goma xantana, 1% HPMC, 0,6% goma locusta e 9,09% fumarato ferroso) e géis carregados de emulsão (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20, 0,5% alfa-tocoferol, 2% inulina, 4% lactose e 9,09% fumarato ferroso).




**Fonte:** Própria autoria.

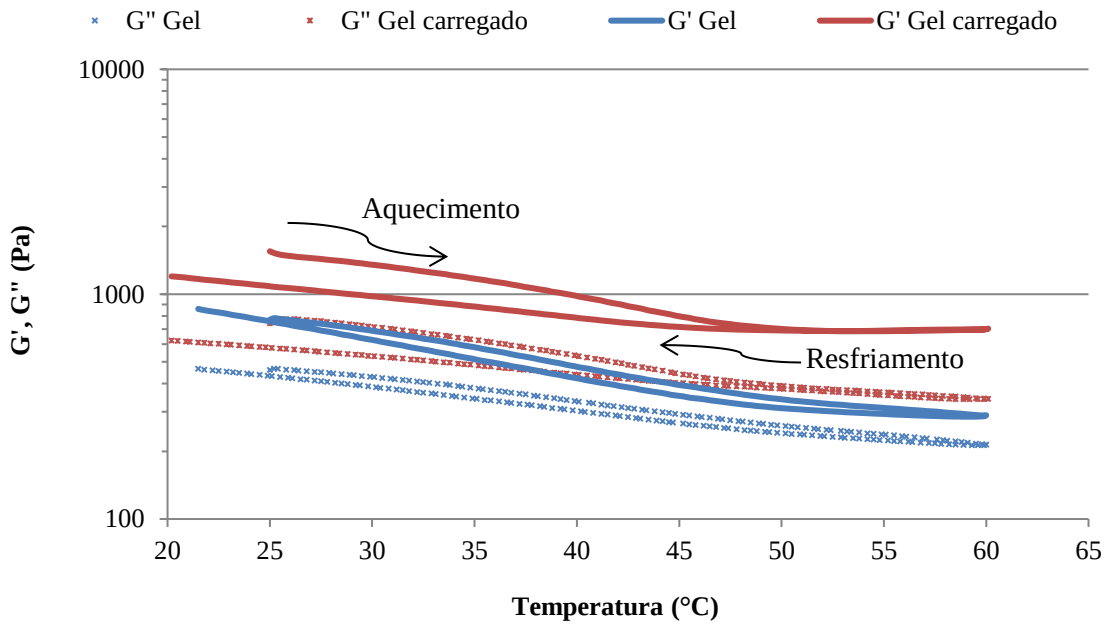
Os resultados mostrados na Figura 33 indicam que o módulo de armazenamento (G') foi maior que o módulo de perda (G") para ambas as amostras em todos os valores de frequência aplicados. Tal fato demonstra que os géis apresentaram características predominantemente elásticas. Como as razões G'/G" apresentaram valores entre 2 e 3, ou seja, valores inferiores a 10, os géis produzidos podem ser classificados como géis fracos. Além disso, ambos os parâmetros estudados apresentaram dependência da frequência. Segundo Steffe (1996), a dependência de G' e G" com a frequência é um comportamento típico de géis fracos, sendo G' maior do que G" e não apresentam cruzamento dos módulos, apesar de as amostras apresentarem tendência ao cruzamento em frequências maiores que 100 Hz. Quando os géis são elásticos ou verdadeiros, o G' não varia em função da frequência. Mao et al. (2012)

analisaram as propriedades reológicas de géis de goma guar e goma xantana. Na dependência da frequência para géis que continham 2,5% de gomas (m/v) na proporção de goma guar/goma xantana de 1:1, o módulo de armazenamento (G') foi maior que o módulo de perda (G") em todo o intervalo de frequência testado, indicando a formação de uma rede emaranhada fracamente associada. Os géis também apresentaram dependência com a frequência. Os resultados foram compatíveis com os resultados encontrados nesta pesquisa, porém, os valores de G' e G" foram superiores para os géis do presente trabalho, o que pode ser devido à maior proporção goma guar/goma xantana (2:1), à concentração de gomas e à presença do HPMC e de goma locusta, que podem ter contribuído para um aumento na força do gel, além do efeito sinérgico da goma locusta junto à goma xantana.

Tanto o G' como o G" apresentaram valores superiores para o gel carregado de emulsão em relação ao gel polissacarídico. Segundo Sala et al. (2007), pelas teorias de van der Poel e de Kerner para géis carregados, assume-se que a matriz polimérica está bem ligada às gotículas da emulsão, e que as gotículas não interagem entre si, apenas com a matriz, estando distribuídas de forma homogênea através da rede do gel. Ambas as teorias preveem o módulo dos géis carregados a certa concentração de emulsão que são comparáveis aos módulos da matriz de gel não carregado. Nestes géis carregados existem três situações que podem ocorrer. Na primeira situação, o G' da matriz de gel é menor que o G' das gotículas da emulsão, assim, sob deformação, as gotículas da emulsão deformam menos que a matriz e consequentemente o G' do gel carregado é maior que o G' da matriz. Na segunda situação, o G' da matriz de gel é igual ao G' das gotículas da emulsão, então, sob deformação, as gotículas da emulsão deformam na mesma proporção que a matriz e consequentemente o G' do gel carregado é igual ao G' da matriz de gel. E, por último, a terceira situação, em que o G' da matriz é maior que o G' das gotículas da emulsão, em que sob deformação, as gotículas da emulsão deformam mais do que a matriz de gel e como consequência, o G' do gel carregado é menor que o G' da matriz de gel. O resultado obtido no presente estudo ajusta-se à primeira situação descrita acima, em que o G' do gel carregado é maior que o G' da matriz polimérica, o que indica que sob deformação as gotículas da emulsão se deformam menos do que a matriz polimérica, apresentando maior G' que a matriz, e, como consequência, o módulo do gel carregado é mais elevado que o da matriz. O resultado encontrado nesta pesquisa pode estar de acordo com as teorias descritas acima devido à distribuição homogênea das gotículas de óleo da emulsão na rede de gel, não interagindo entre si e interagindo com a matriz, contribuindo para o aumento do módulo de armazenamento do sistema.

Por sua vez, a dependência de G’ e G” com a temperatura para géis carregados pode ser observada na Figura 34:

**Figura 34** - Varredura de temperatura para géis polissacarídicos (2% goma guar, 1% goma xantana, 1% HPMC, 0,6% goma locusta e 9,09% fumarato ferroso) e géis carregados de emulsão (ácido láurico e ácido caprílico, tween 20, 0,5% alfa-tocoferol, 2% inulina, 4% lactose e 9,09% fumarato ferroso).




**Fonte:** Própria autoria.

Na Figura 34, pode-se observar que tanto G’ como G” tiveram seus valores reduzidos com o aumento da temperatura. Segundo Vriesmann (2008), o aumento de temperatura enfraquece as ligações de hidrogênio e fortalece as interações hidrofóbicas da estrutura do gel polissacarídico. Assim, com o aumento da temperatura ocorre a perda da associação por ligações de hidrogênio, porém a perda é compensada por um reforço das interações hidrofóbicas. Quando a temperatura aumenta novamente ocorre o favorecimento das ligações de hidrogênio que formam zonas de junção, e, portanto, aumentam os valores de G’. O comportamento dos géis polissacarídicos com a variação da temperatura pode ser explicado pelas interações descritas acima.

Para os géis polissacarídicos, os valores de G’ e G” retornaram aos valores iniciais após o aquecimento e o resfriamento da amostra, apesar de apresentar uma pequena variação. O mesmo fato não ocorreu para os géis carregados de emulsão, em que estes valores não retomaram aos iniciais com o resfriamento da amostra. Vriesmann (2008) obteve comportamento semelhante em géis de pectina (1, 2 e 3%) com sacarose a 65% e atribuiu o resultado ao enfraquecimento das ligações de hidrogênio e ao fortalecimento das interações

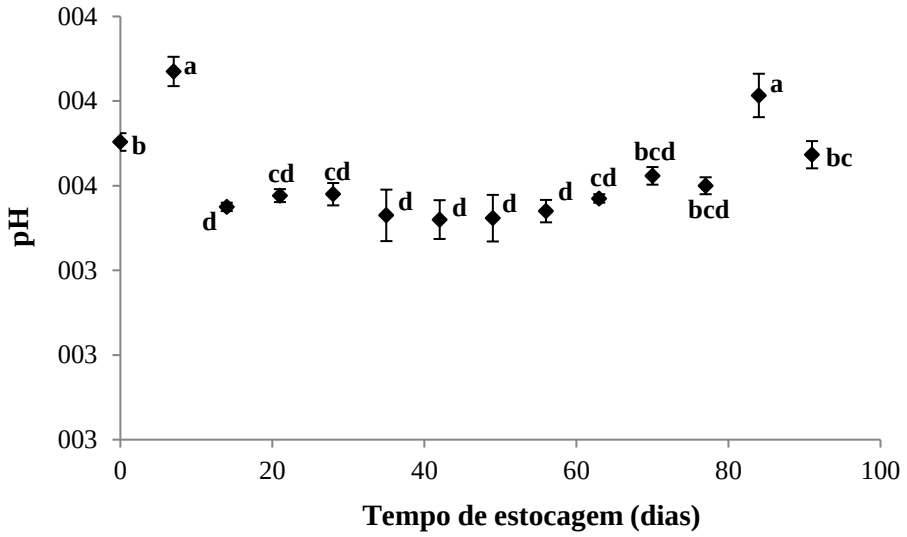
hidrofóbicas durante o aquecimento da amostra. E, segundo o autor, essas interações hidrofóbicas podem ter causado uma depleção na força do gel. Segundo Steffe (1996), este fenômeno é denominado histerese e está ligado ao fenômeno da tixotropia. A tixotropia está relacionada à capacidade que os coloides possuem de se liquefazer quando submetidos a determinadas taxas de aquecimento ou de cisalhamento e de retomar totalmente ou parcialmente ao seu estado anterior quando o cisalhamento ou aquecimento cessam. Este fenômeno pode ser descrito em termos de transição sol-gel. Então, quando o material retoma parcialmente ao seu estado anterior, a área formada entre as curvas de aquecimento e resfriamento é denominada histerese e é um fenômeno que ocorre comumente em géis. Assim, o gel polissacarídeo e o gel carregado de emulsão em estudo apresentaram comportamento tixotrópico, sendo que o gel carregado de emulsão apresentou maior histerese em relação ao gel polissacarídico, provavelmente devido à presença de gotículas de emulsão ligadas à sua rede que podem ter perdido parte da energia devido à submissão a maiores temperaturas, levando à desestabilização da emulsão.

## 5.3 Estudo de estabilidade dos géis carregados de emulsão durante a estocagem

### 5.3.1 Avaliação dos valores de pH

O pH das amostras foi avaliado ao longo da estocagem em intervalos de 7 dias. Os valores encontrados para pH variaram entre 3,52 e 3,87 ao longo da estocagem das amostras (Figura 35). Os resultados encontrados apresentaram diferenças significativas ao nível de 5% de significância ao longo do tempo, sendo as diferenças mais discrepantes nos dias 7 e 84 da estocagem. Entre os dias 14 e 77, os valores de pH se mostraram mais estáveis, com valores de pH variando entre 3,52 e 3,62, bem como no dia 91 em que a média dos valores foi de 3,67. Os resultados apresentaram valores baixos de pH devido à utilização de ácidos graxos de cadeia média na produção das emulsões.

**Figura 35 -** Valores de pH ao longo de 98 dias de estocagem.




**Fonte:** Própria autoria.

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de significância.

### 5.3.2 Avaliação da estabilidade microbiológica dos géis

O gel carregado de emulsão foi avaliado quanto ao crescimento de fungos filamentosos (bolores) e não-filamentosos (leveduras) ao longo de 120 dias de armazenamento, a 25 °C. A quantificação da presença destes microrganismos é importante, uma vez que o produto será armazenado e transportado em temperatura ambiente, e, os valor de pH e atividade de água das amostras torna o produto susceptível ao crescimento destes microrganismos.

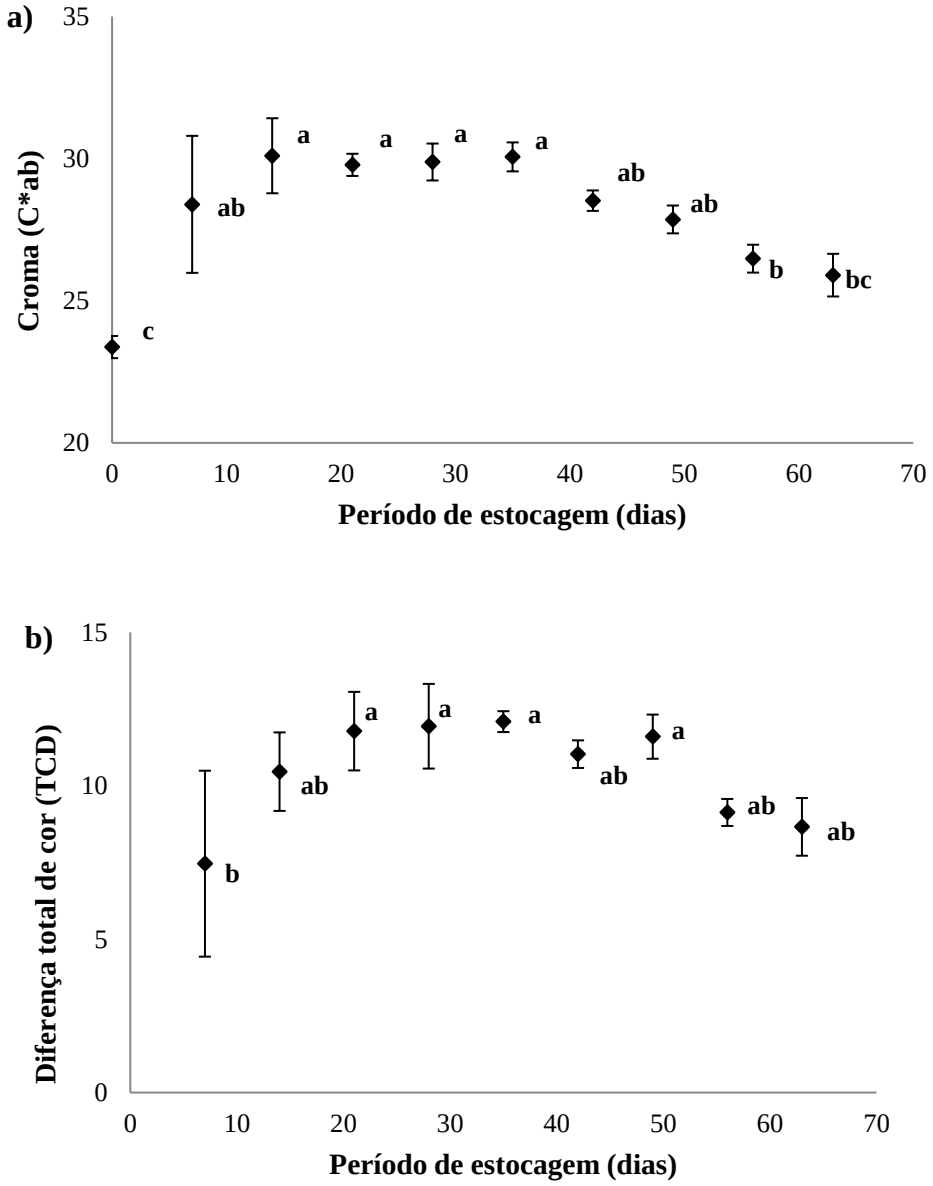
Ao longo do armazenamento não foi observado crescimento e desenvolvimento de fungos filamentosos e não-filamentosos, evidenciando a ausência destes microrganismos e comprovando que os componentes presentes no produto inibem o crescimento e desenvolvimento destes microrganismos. Huang et al. (2011) estudaram a capacidade de inibição de ácidos graxos de cadeia curta, de cadeia média e de cadeia longa sobre a ação de alguns microrganismos, entre bactérias e fungos. Os autores observaram que os ácidos caprílico e láurico, além do ácido capróico foram os únicos dentre os ácidos estudados ($C_1$ a $C_{16}$) que apresentaram inibição efetiva contra a ação do fungo em estudo, enquanto os diversos tipos de ácidos graxos apresentam atividades antibactericidas. Segundo Jay (2005), os ácidos graxos de cadeia média possuem atividades antimicrobianas e a cadeia carbônica saturada $C_{12}$ é a que possui maior atividade antimicrobiana. Os ácidos graxos em geral apresentam eficácia principalmente contra as bactérias Gram-positivas e contra leveduras. Segundo o citado autor, as cadeias $C_{12}$ a $C_{16}$ são mais ativas contra bactérias e as cadeias $C_{10}$ a $C_{12}$ são mais ativas contra

leveduras. Essa atividade antimicrobiana, mais especificamente, a inibição de leveduras pelo ácido láurico ($C_{12}$), pode ser relacionada à inibição destes microrganismos nas amostras estudadas. Além disso, a presença de benzoato de sódio, um antifúngico comercial, que foi utilizado nas concentrações permitidas pela legislação (Resolução Normativa n° 9, de 1978), também pode ter promovido a inibição dos fungos filamentosos e leveduras nas amostras.

### 5.3.3 Determinação de parâmetros colorimétricos

Quanto à estabilidade da cor, o gel carregado de emulsão foi avaliado ao longo de 63 dias de estocagem. O parâmetro croma indica a manutenção da intensidade da cor. Os resultados para este parâmetro (Figura 36a) indicam que ocorreu um aumento na intensidade da cor do gel carregado de emulsão do dia 0 ao dia 14, apresentando diferenças significativas. Logo após, a intensidade da cor se manteve constante ao longo de um mês de estocagem, quando ao 42° dia de estocagem a intensidade voltou a reduzir até o 63° dia de estocagem da amostra. Por sua vez, os valores para diferença total de cor (Figura 36b) apresentaram pequena variação ao longo do tempo de estocagem da amostra, com diferenças significativas nas medidas realizadas nas primeiras semanas (dia 7 ao dia 21) e as medidas realizadas nas últimas semanas de estocagem (dia 42 ao dia 63). A maior estabilidade apresentada foi entre os dias 21 e 34 de estocagem em que não ocorreram mudanças significativas nos valores de diferença total de cor.

**Figura 36 -** Parâmetros colorimétricos obtidos do gel carregado de emulsão (ácido láurico, ácido caprílico e tween 20) contendo inulina, lactose, α-tocoferol e fumarato ferroso ao longo de 63 dias de esticagem em (a) croma, (b) Diferença Total de Cor (TCD).




**Fonte:** Própria autoria.

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de significância

A alteração é visivelmente perceptível, conforme pode ser observado na Figura 37, uma vez que a amostra sofre uma alteração da cor de marrom escuro no dia de sua produção para marrom claro após 63 dias de estocagem. A alteração na cor pode estar relacionada a uma possível reação de oxidação do fumarato ferroso. Assim, pelas análises de cor pode-se concluir que a amostra em estudo apresenta alterações significativas na cor ao longo do tempo de estocagem.

**Figura 37 -** Cores obtidas segundo um conversor de cores para o sistema CIE-L*ab para as amostras no dia 0 e após 63 dias de estocagem a 25 °C.

Dia 0

Dia 63

**Fonte:** Própria autoria.

# 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nesta Dissertação de Mestrado foi possível chegar às seguintes conclusões:

(i) Foi possível produzir emulsões a partir de ácidos graxos de cadeia média e foi possível incorporar nutrientes na emulsão. A emulsão formada se manteve estável ao longo de 28 dias de análise.

(ii) Foi possível produzir géis polissacarídicos carregados de emulsão que se mantiveram estáveis quando submetidos a testes de estresse térmico.

(iii) O gel carregado de emulsão apresentou baixo valor energético e alto valor de atividade de água, comportamento reológico típico de géis fracos e tixotropia;

(iv) O gel carregado de emulsão apresentou-se microbiologicamente estável ao longo de 120 dias de estocagem, apresentando ausência de crescimento microbiano.

(v) Os valores de pH do gel carregado de emulsão se mantiveram estáveis ao longo de 91 dias de armazenamento;

(vi) Houve alteração da cor do gel carregado de emulsão ao longo de 63 dias de estocagem.

Assim, pode-se concluir que foi possível produzir um gel polissacarídico carregado de emulsão contendo nutrientes benéficos à saúde de leitões neonatos, bem como foi possível a incorporação de fumarato ferroso. Foi possível o desenvolvimento de um produto estável para o armazenamento em temperatura ambiente com estabilidade microbiológica ao longo da estocagem.

# REFERÊNCIAS

ABHYANKAR, A. R.; MULVIHILL, D. M.; AUTY, M. A. E. Combined microscopic and dynamic rheological methods for studying the structural breakdown properties of whey protein gels and emulsion filled gels. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 25, p. 275-282, 2011.

ABHYANKAR, A. R.; MULVIHILL, D. M.; AUTY, M. A. E. Combined confocal microscopy and large deformation analysis of emulsion filled gels and stirred acid milk gels. **Food Structure**, Amsterdam, v. 1, p. 127-136, 2014.

ALMEIDA, R. F. et al. Metabolismo do ferro em suínos recebendo dietas contendo fitase, níveis reduzidos de fósforo inorgânico e sem suplemento micromineral e vitamínico. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1097-1103, 2007.

ANDERSON, B. K; EASTER, R. A. **A review of iron nutrition in pigs**: pig book. Champaign: Illinois University, 1999.

ANTON, N.; BENOIT, J. P.; SAULNIER, P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates - a review. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 128, p. 185-199, 2008.

ANTON, N.; VANDAMME, T. F. The universality of low-energy nano-emulsification. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 377, p. 142-147, 2009.

BENJAMINS, J. et al. Partial coalescence as a tool to control sensory perception of emulsions. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 23, p. 102-115, 2009.

BERTECHINI, A. G. Nutrição mineral de leitões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 12., 2006, Curitiba/PR. **Anais...** Curitiba/PR, 2006. 1 CD-ROM.

BERTOL, T. M.; SANTOS FILHO, J. I.; LUDKE, J. V. Níveis de suplementação com lactose na dieta de leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, p. 1387-1393, 2000.

BIRD, P. H.; HARTMANN, P. E. The response in the blood of piglets to oral doses of galactose and glucose and intravenous administration of galactose. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 71, p. 553-561, 1994.

BOEHM, G.; STAHL, B. Oligosacharides from milk. **The Journal Nutrition**, Bethesda, v. 137, p. 847S-849S, 2007.

CALEFFI, E. R. et al. Isolation and prebiotic activity of inulin-type fructan extracted from *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen roots. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 80, p. 392-399, 2015.

CANÇADO, R. D.; LOBO, C.; FRIEDRICH, J. R. Tratamento da anemia ferropriva com ferro por via oral. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 32, p. 114-120, 2010.

CANEVAROLO JR, S. V. **Ciência dos polímeros:** um texto básico para tecnólogos e engenheiros. 2. ed. São Paulo: Artliber, 2002.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, London, v. 23, p. 1273 -1335, 1998.

COALHO, M. R. et al. **Anemia ferropriva em leitões recém-nascidos**: sua influência sobre a produção de suínos. 2010. Disponível em: <http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/4753/material/Uso%20do%20Ferro%20Dextran%20em%20Leit%C3%B5es%202.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2016.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DICKINSON, E.; STAINSBY, G. **Colloids in foods.** London: Elsevier, 1982.

DICKINSON, E. **Introduction to food colloids**. Oxford: Oxford University Press, 1992.

DICKINSON, E.; CHEN, J. Heat-set whey protein emulsion gels: role of active and inactive filler particles. **Journal of Dispersion Science and Technology**, New York, v. 20, p. 197-213, 1999.

DICKINSON, E. Emulsion gels: the structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 28, p. 224-241, 2012.

DOW CHEMICAL COMPANY. Using METHOCEL cellulose for controlled release of drugs in hidrophilic matrix systems. 2000.

EGELI, A. K.; FRAMSTAD, T. An evaluation of iron-dextran supplementation in piglets administred by injection on the first, third or fourth day after birth. **Research in Veterinary Science**, London, v. 66, p. 179-184, 1999.

FERNANDES, P. B. Influence of galactomannan on the structure and thermal behaviour of xanthan/galactomannan mixtures. **Journal of Food Engineering**, London, v. 24, p. 269-283, 1995.

FERREIRA, A. M. D.; BARBOSA, P. E. B.; CEDDIA, R. B. A influência da suplementação de triglicerídeos de cadeia média no desempenho em exercícios de ultra-resistência. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 9, p. 420-425, 2003.

FREDERICK, E.; WALSTRA, P.; DEWETTINK, K. Factors governing partial coalescence in oil-in-water emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 153, p. 30-42, 2010.

GARCÍA-OCHOA, F.; CASSAS, J. A. Viscosity of locust bean (Ceratonia siliqua) gum solutions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 59, p. 97-100, 1992.

GARTI, N.; BENICHOU, A. Recent development in double emulsions for food apliccations. In: FRIBERG, S. E.; LARSSON, K.; SJOBLOM, J. **Food emulsions**. 4. ed. New York: Marcel Dekker, 2004. cap. 10, p. 353.

GIBSON, G. R. et al. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. **Gastroenterology**, Maryland Heights, v. 108, p. 975-982, 1995.

GIBSON, G. R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 17, p. 259-275, 2004.

GRECCO, H. A. T. **Acidificantes em dietas de leitões desmamados:** desempenho, peso de orgãos, ph, morfometria e microbiota intestinal. 2014. 65 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

HAULY, M. C. O.; MOSCATTO, J. A. Inulina e oligofrutoses: uma revisão sobre as propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. **Ciências Exatas e Tecnológica**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 105-118, 2002.

HAVENAAR, R. et al. Inulin: fermentation and microbial ecology in the intestinal tract. **Food Reviews International**, New York, v. 15, p. 109-120, 1999.

HAYATI, I. N.; CHING, C. W.; ROZAINI, M. Z. H. Flow properties of o/w emulsions as affected by xanthan gum, guar gum and carboxymethyl cellulose interactions studied by a mixture regression modeling. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 53, p. 199-208, 2016.

HERRERA, M. L**. Analytical techniques for studying the physical properties of lipid emulsions**. New York: Springer US, 2012.

HIGIRO, J. et al. Rheological study of xanthan and locust bean gum interaction in dilute solution: Effect of salt. **Food Research International**, Kidlington, v. 40, p. 435-447, 2007.

HORNER, D. S. Formation and structure of acidified milk gels. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 9, p. 261-268, 1999.

HUANG, C. B. et al. Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. **Archives of Oral Biology**, Kidlington, v. 56, p. 650-654, 2011.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JUNQUEIRA, O. M. et al. Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 12, p. 2394-2400, 2009.

KENNEDY, J. R. M; KENT, K. E.; BROWN, J. R. Rheology of dispersions of xanthan gum, locust bean gum and mixed biopolymer gel with silicon dioxide nanoparticles. **Material Science and Engineering C: Materials for Biological Applications**, Amsterdam, v. 48, p. 347- 353, 2015.

KHOURYIEH, H. A. et al. Influence of mixing temperature on xanthan conformation and interaction of xanthan–guar gum in dilute aqueous solutions. **Food Research International**, Kidlington, v. 39, p. 964-973, 2006.

KHOURYIEH, H. A. et al. Effects of xanthan–locust bean gum mixtures on the physicochemical properties and oxidative stability of whey protein stabilised oil-in-water emulsions. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 167, p. 340-348, 2015.

KUNDU, P.; MISRHA, I. M. Removal of emulsified oil from oily wastewater (oil-in-water emulsion) using packed bed of polymeric resin beads. **Separation and Purification Technology**, Kidlington, v. 118, p. 519-529, 2013.

LI, R.; FEKE, D. L. Rheological and kinetic study of the ultrasonic degradation of locust bean gum in aqueous saline and salt-free solutions. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 27, p. 334-338, 2015.

LORENZO, G.; ZARITKY, N.; CALIFANO, A. Rheological analysis of emulsion-filled gels based on high acyl gellan gum. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 30, p. 672-680, 2013.

LYNCH, M. B. et al. The effect of high and low dietary crude protein and inulin supplementation on nutrient digestibility, nitrogen excretion, intestinal microflora and manure ammonia emissions from finisher pigs. **Animal**, Cambridge, v. 8, p. 1112-1121, 2007.

MAO, C.; ZENG, Y.; CHEN, C. Enzyme-modified guar gum/xanthan gelation: an analysisbased on cascade model. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 27, p. 50-59, 2012.

MASON, T. G. et al. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. **Journal of Physics: Condensed Matter,** Bristol, v. 18, p. R635-R666, 2006.

McCLEARY, B. V. Enzymic hydrolysis, fine structure, and gelling interaction of legume-seed d-galacto-d-mannans. **Carbohydrate Research**, Kidlington, v. 71, p. 205-230, 1979.

McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 65, p. 1270-1282, 2000.

McCLEMENTS, D. J. **Food emulsions:** principles, pratices and techniques. 2. ed. Florida: CRC Press, 2005.

McCLEMENTS, D. J.; LI, Y. Structured emulsion-based delivery systems: controlling the digestion and release of lipophilic food components. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 159, p. 213-228, 2010.

McCLEMENTS, D. J.; RAO, J. Food-Grade Nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, New York, v. 51, p. 285-330, 2011.

MIRSHA, S.; SEN, G. Microwave initiated synthesis of polymethylmethacrylate grafted guar (GG-g-PMMA), characterizations and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 48, p. 688-694, 2011.

MITCHELL, K. et al. The influence of additives on the cloud point, disintegration and dissolution of hydroxypropylmethylcellulose gels and matrix tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 66, p. 233-242, 1990.

MOLINO, J. P.; BALBINO, E. M. Lactose em rações para leitões desmamados. **Nutritime**, Viçosa, v. 7, n. 1, p. 1133-1149, 2010.

MORRIS, C.; MORRIS, G. A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 133, p. 237-248, 2012.

MORRISSEY, P. A. et al. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, Amsterdam, v. 49, p. 73-86, 1998.

MOSCA, A. C. et al. Inhomogeneous distribution of fat enhances the perception of fat-related sensory attributes in gelled foods. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 27, p. 448-455, 2012.

ODLE, J. New insights into the utilization of medium-chain triglycerides by the neonate: observations from a piglet model. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 127, p. 1061–1067, 1997.

PARADISO, V. M. et al. Production and characterization of emulsion filled gels based on inulin and extra virgin olive oil. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 45, p. 30-40, 2015.

PEKEL, N. et al. Radiation crosslinking of biodegradable hydroxypropylmethylcellulose. **Carbohydrate Polymers**, Kidlington, v. 55, p. 139-147, 2004.

PIERCE, K. M. et al. Performance of weanling pigs offered low or high lactose diets suplplemented with avilamycin or inulin. **British Society of Animal Science**, Scotland Midlothian, v. 80, p. 313-318, 2005.

PIERCE, K. M. et al. The interaction between lactose level and crude protein concentration on piglet post-weaning performance, nitrogen catabolism and faecal volatily fatty acid concentrations. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 132, p. 267-282, 2007.

PIMENTA, G. T. **Modificação da libertação de um fármaco muito solúvel mediante a utilização de sistemas matriciais contendo hidroxipropilmetilcelulose**. 2010. 134 f. Dissertação (Mestrado em Farmacotecnia Avançada) - Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2010.

POSSAMAI, M. **Desempenho, metabolismo e microbiota intestinal de leitões alimentados com rações contendo probióticos e simbióticos**. 2010. 64 f. Dissertação (Mestrado em Produção e Nutrição Animal) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2010.

POZZA, P. C. et al. Desempenho, microbiota intestinal e peso de órgãos de leitões na fase inicial recebendo rações com simbiótico e probiotico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 1327-1334, 2010.

RAJABI-SIABOOMI, A. R. et al. Structure and behavior in hydrophilic matrix sustained release dosage forms: 4. Studies of water mobility and diffusion coefficients in the gel layer of HPMC tablets using NMR imaging. **Pharmaceutical Research**, New York, v. 13, n. 3, p. 376-380, 1996.

RIZKALLA, S. W. et al. Chronic consumption of fresh but not heated yogurt improves breath-hydrogen status and short-chain fatty acid profiles: a controlled study in healthy men with or without lactose maldigestion. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 72, p. 1474-1479, 2000.

REY, A. I. et al. Modification of lipid compositiion and oxidation in porcine muscle and muscle microsomes as affected by dietary supplementation of n-3 with either n-9 or n-6 fatty acids and -tocopheryl acetate. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 113, p. 223-238, 2004.

ROCKS, J. K. Xanthan gum. **Food Technology**, Chicago, v. 25, n. 5, p. 22-31, 1971.

RODRIGUES, M. et al. Probióticos e prebióticos em rações sobre o metabolismo do nitrogênio em leitões. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá, 2009. 1 CD-ROM.

RODRIGUES, M. et al. Effects of inulin and a probiotic mixture on nutrient digestibility and nitrogen balance in piglets. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 62, p. 255-264, 2013.

SALA, G. et al. Effect of droplet–matrix interactions on large deformation properties of emulsion-filled gels. **Journal of Texture Studies**, Hoboken, v. 38, p. 511-535, 2007.

SALA, G. et al. Deformation e fracture of emulsion-filled gels: effect of oil content and deformation speed. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 23, p. 1381-1393, 2009a.

SALA, G. et al. Deformation and fracture of emulsion-filled gels: effect of gelling agent concentration and oil droplet size. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 23, p. 1853-1863, 2009b.

SANTOS, E. M. Final reporto on the safety assessment of hydroxyethylcellulose, hydroxypropylcellulose, methylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose, and cellulose gum. **Journal of the American College of Toxicology**, Thousand Oaks, v. 5, n. 3, p. 1-59, 1986.

SCHNEIDER, C. Chemistry and biology of vitamin E. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 29, p. 7-30, 2005.

SCHUBERT, H.; ENGEL, R. Product And Formulation Engineering of Emulsions. **Chemical Engineering Research and Design**, London, v. 82, p. 1137-1143, 2004.

SECOUARD, S.; GRISEL, M.; MALHIAC, C. Flavour release study as a way to explain xanthan–galactomannan interactions. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 21, p. 1237-1244, 2007.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos:** métodos químicos e biológicos. Viçosa, MG: UFV, 1981.

SILVA, P. **Farmacologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1994.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Varela: São Paulo. 2010.

SILVA, R. A. M. et al. Desempenho, qualidade de carcaça e carne de suínos alimentados com dietas contendo antioxidantes e ractopamina. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, p. 3971-3982, 2013.

SILVA, J. C. et al. Characterization, physicochemical stability, and evaluation of in vitro digestibility of solid lipid microparticles produced with palm kernel oil and tristearin. **Food Science and Technology**, London, v. 34, p. 532-538, 2014.

SOLÈ, I. et al. Optimization of nano-emulsion preparation by low-energy methods in an ionic surfactant system. **Langmuir**, Washington, v. 22, p. 8326-8332, 2006.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Organic chemistry**. 7. ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2000.

SOUZA, V. L. F. et al. Vitamina E no desempenho, características de carcaça e qualidade do presunto cozido de suínos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 581-587, 2007.

SRIVASTAVA, M.; KAPOOR, V. P. Seed galactomannans: an overview. **Chemistry & Biodiversity**, Weinheim, v. 2, p. 295-317, 2005.

STEFFE, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. 2. ed. Michigan: Freeman Press, 1996.

TIENGTAM, N. et al. Effects of inulin and Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus) as prebiotic ingredients in the diet of juvenile Nile tilapia (Oreochromis niloticus). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 207 p. 120-129, 2015.

TOMBS, M. P. Biotechnology of protein and polysaccharide gels. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 14, p. 337-363, 1997.

VAN DAM, H. Organic acids and their salts. **Pig Progress**, Belfast, v. 22, p. 26-28, 2006.

VAN VLIET, T. Rheological properties of filled gels. influence of filler matrix interaction. **Colloid & Polymer Science**, Heidelberg v. 266, p. 518-524, 1988.

VIOLA, E. S. **Deficiências de microelementos**: enfoque metabólico e nutricional. 2003. Disponível em:< https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/oligoelementos.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2015.

VRIESMANN, L. C. **Extração, caracterização e aspectos reológicos de polissacarídeos da polpa dos frutos de theobroma grandiflorum (cupuaçu).** 2008. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

ZENTEK, J. et al. Nutritional and physiological role of medium-chain triglycerides and medium-chain fatty acids in piglets. **Animal Health Research Reviews**, Cambridge, v. 12, p. 83- 93, 2011.

WALSTRA, P. Principles of emulsion formation. **Chemical Engineering Science**, Kidlington, v. 48, p. 333-349, 1993.

WALSTRA, P. Emulsion stability. In: BECHER, P. **Encyclopedia of emulsion technology**. New York: Editora Marcel Dekker, 1996. v. 4, capítulo 1.

**ANEXO A** – Trabalhos e produtos derivados desta Dissertação de Mestrado:

- Apresentação de trabalho no formato de pôster no 6° Encontro Técnico do RHAE Pesquisador na Empresa, com o título "Aprimoramento de suplemento de ferro para leitões recém-nascidos com nutrientes melhoradores de desempenho para substituir a tradicional injeção intramuscular deste elemento".

- Artigo de revisão sobre géis carregados de emulsão com o título: "Rheology of Emulsion-Filled Gels Applied to the Development of Food Materials".

- Depósito de patente referente ao produto desenvolvido nesta Dissertação de Mestrado.

ANEXO B - Ficha técnica da inulina

**Ficha Técnica**

## Produto: FRUTAFIT (Inulina)

A inulina é um prebiótico nativo, extraído da raiz da chicória que desempenha funções fisiológicas no organismo como prevenção da diarréia, redução do colesterol plasmático, produção de nutrientes e aumento da biodisponibilidade de minerais. Ela também ajuda na sensação de saciedade à medida que desacelera a digestão, contribuindo para impedir picos de açúcar no sangue. Os monogástricos podem metabolizar este carboidrato no intestino grosso, mas não no estômago. A inulina é exclusivamente fermentada pela flora acidófila e como produtos dessa fermentação temos a massa bacteriana e os ácidos graxos livres que são absorvidos pelo animal. A estimulação do sistema imune é influenciada pelo desenvolvimento das bactérias benéficas para tornar-se o gênero predominante nas fezes e reduz a exclusão competitiva de bactérias patogênicas.

**Especificação**

| | |
|---|---|
| Aparência | pó fino |
| Corbranca | amarelado. |
| Pureza | 80% min |
| Fructose, glucose | 10% max. |
| Calorias | 1.2 kcal/grama. |

**Ação**

Os efeitos sobre a flora intestinal são os seguintes:

* Regulamento do volume da massa fecal e do trânsito intestinal;
* Acidificação do conteúdo intestinal e desenvolvimento de ácidos graxos livres;
* Uma maior absorção de minerais (Ca, Mg, etc);
* Uma maior excreção de nitrogênio fecal: redução da concentração de amoníaco;
* Estímulo à saúde do animal: garantia de uma melhor imunidade.

**ANEXO C -** Ficha técnica do ácido caprílico

Química Anastacio

SGS ISO 9001

## *CERTIFICADO DE QUALIDADE*

**PRODUTO:** ACIDO CAPRILICO

**DATA FABRICAÇÃO:** 23/03/2014

**VALIDADE:** 03/2015

**NR LOTE:** ITJ1421-14

| CARACTERÍSTICAS | ESPECIFICAÇÕES | MINIMO | MAXIMO | RESULTADOS | METODO |
|---|---|---|---|---|---|
| ÍNDICE DE ACIDEZ (mg KOH/g) | | 383,0000 | 390,0000 | 388,0000 | |
| ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO (mg KOH/g) | | 384,0000 | 391,0000 | 389,0000 | |
| ÍNDICE DE IODO (gI2/100g) | | | 0,5000 | 0,1500 | |
| COR (LOVIBOND 5 1/4")AMARELO | | | 3,0000 | 0,6000 | |
| COR (LOVIBOND 5 1/4") VERMELHO | | | 0,3000 | 0,1000 | |
| COR APHA | | | 60,0000 | 27,0000 | |
| TITULO °C | | 15,0000 | 17,0000 | 16,0000 | |
| C 6 % | | | 1,0000 | 0,1000 | |
| C 8 % | | 99,0000 | | 99,5000 | |
| C 10 % | | | 1,0000 | 0,2000 | |

**ANEXO D –** Ficha técnica Tween 20

Labsynth Empresa Certificada: ISO 14001

| DEPARTAMENTO DE CONTROLE DE QUALIDADE<br><br>BOLETIM TÉCNICO | | | FAB.: 19/01/2013<br>VAL.: 19/01/2015<br>Origem :<br>Oxiteno |
|---|---|---|---|
| PRODUTO<br>TWEEN 20 U.S.P. 23 | | | Lote Fabricante :<br>130119C11191 |
| LOTE<br>177436 | FÓRMULA<br>- - - - - - | P.M.<br>--------- | CHAVE AUTENTICIDADE<br>BEQHZ-IGRTE-EIFMU-ZSLBG |

| TESTES | LIMITES | RESULTADOS |
|---|---|---|
| 01 CARACTERÍSTICAS | Líq. viscoso, límpido, amarelo a castanho ambar | de acordo |
| 02 IDENTIFICAÇÃO | Positiva | positiva |
| 03 ARSÊNIO | máx. 01ppm | < 01ppm |
| 04 ÍNDICE DE ACIDEZ | Passa o teste | P.T. |
| 05 ÍNDICE DE HIDROXILA | 96 - 108 | 99,39 |
| 06 ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO | 40 - 50 | 41,41 |
| 07 METAIS PESADOS | máx. 0,001% | < 0,001% |
| 08 RESÍDUO DE IGNIÇÃO | máx. 0,25% | 0,20% |
| 09 ÁGUA | máx. 3,0% | 2,32% |

**ANEXO E** – Ficha técnica Tween 80

Labsynth

| DEPARTAMENTO DE CONTROLE DE QUALIDADE<br><br>BOLETIM TÉCNICO | | | FAB.: 14/07/2013<br>VAL.: 14/07/2015<br>Origem :<br>Oxiteno |
|---|---|---|---|
| PRODUTO<br>TWEEN 80 U.S.P. 23 | | | Lote Fabricante :<br>130714M57908 |
| LOTE<br>178139 | FÓRMULA<br>- - - - - - | P.M.<br>--------- | CHAVE AUTENTICIDADE<br>EXEKO-GSKRL-PGHFV-LWTIV |

| TESTES | LIMITES | RESULTADOS |
|---|---|---|
| 01 CARACTERÍSTICAS | Liq. viscoso, límpido, castanho | de acordo |
| 02 IDENTIFICAÇÃO | Positiva | positiva |
| 03 ARSÊNIC | máx. 01ppm | < 01ppm |
| 04 DENSIDADE / 25°C | 1,06 - 1,09 | 1,0729 |
| 05 ÍNDICE DE ACIDEZ | Passa o teste | P.T. |
| 06 ÍNDICE DE HIDROXILA | 65 - 80 | 72,35 |
| 07 ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO | 45 - 55 | 50,29 |
| 08 METAIS PESADOS | máx. 0,001% | < 0,001% |
| 09 RESÍDUO DE IGNIÇÃO | máx. 0,25% | < 0,25% |
| 10 VISCOSIDADE | 300 - 500 cps | 480 cps |
| 11 ÁGUA | máx. 3,0% | 2,74% |

**ANEXO F** – Ficha técnica HPMC

Pg. 1 of 1

Certificate 5242428 The Dow Chemical Company Page 1
Date: 04/08/2011 Certificate of Analysis Shipped: 04/08/2011
QA PRODUCT RELEASE
COLORCON INC Fax: 215-616-6325
151 DOMORAH DR
MONTGOMERYVILLE PA 18936-0000 UNITED STATES
Cust P.O.: NP 58461 Divy Note: 71014009 10
Material: METHOCEL* K100M Premium CR
Hydroxypropyl Methylcellulose Spec: 00002684-S
Batch: ZB23012N02 Mfgo: 02/23/2011 Retest Date: 02/22/2016
Ship from: THE DOW CHEMICAL COMPANY BAY CITY MI UNITED STATES
It is hereby certified the material indicated above has been manufactured in accordance with the FDA cGMPs, Kosher guidelines, was inspected and tested in accordance with the conditions and the requirements of current USP, EP and JP for Hypromellose as well as the current specific purity criteria for the food additive Hydroxypropyl Methyl Cellulose (E464) and unless agreed otherwise conforms in all respects to the specification relevant thereto.

| Feature | Units | Results ZB23012N02 | Limits Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|
| Apparent Viscosity Brookfield 2% in water, @ 20degC | mPa.s | 124.036 | 75.000 | 140.000 |
| Loss on Drying | % | 2.8 | ---- | 5.0 |
| Residue on Ignition | % | 0.7 | ---- | 1.5 |
| Ash, Sulfated | % | 0.7 | ---- | 1.5 |
| pH, 2% in Water | - | 6.8 | 5.0 | 8.0 |
| Assay, Methoxyl | % | 22.7 | 22.0 | 24.0 |
| Assay, Hydroxypropoxyl | % | 10.2 | 9.5 | 11.5 |
| Appearance Opalescence | | Passes | | |
| Appearance solution color | | Passes | | |
| Particle Size Thru 40 U. S. Std. Sieve | % | 100.0 | 99.0 | ---- |
| Particle Size Thru 100 U. S. Std Sieve | % | 96.5 | 90.0 | ---- |
| Particle Size Thru 230 U.S.Std. Sieve | % | 59.5 | 50.0 | 80.0 |

This Batch, based on audit testing and process control, is certified to be NMT 20 ppm heavy metals (as Pb) and also meets all specification requirements for harmonized identification tests, residual solvents and microbiological limits.
Batch (Lot) Number manufactured location: 2N - Midland, MI; 24 - Plaquemine, LA

Julie Wright, SORTEFIBER, METHOCEL Quality Systems Specialist
For inquiries please contact Customer Service at 1-800-232-2436 (USA).

* Trademark of The Dow Chemical Company