UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

THAIS RIBEIRO BORRIN

Nanoemulsões produzidas pelo método do ponto de inversão da emulsão (EIP) para encapsulação de curcumina: parâmetros de produção, estabilidade físico-química e incorporação em sorvete

Pirassununga

2015

THAIS RIBEIRO BORRIN

Nanoemulsões produzidas pelo método do ponto de inversão da emulsão (EIP) para encapsulação de curcumina: parâmetros de produção, estabilidade físico-química e incorporação em sorvete

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Engenharia e Ciência de Materiais - Desenvolvimento, caracterização e aplicação de materiais voltados à agroindústria

Orientadora: Profª Drª Samantha Cristina de Pinho

Pirassununga

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

B737n Borrin, Thais Ribeiro
Nanoemulsões produzidas pelo método do ponto de
inversão da emulsão (EIP) para encapsulação de
curcumina: parâmetros de produção, estabilidade físico-
química e incorporação em sorvete / Thais Ribeiro
Borrin. -- Pirassununga, 2015.
114 f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Alimentos.
Área de Concentração: Engenharia e Ciências de
Materiais.
Orientadora: Profa. Dra. Samantha Cristina de Pinho.

1. Nanoemulsão 2. Curcumina 3. Emulsificação por
método de baixa energia. 4. Sorvete. I. Título.

A Deus, autor da vida, Senhor do impossível, alvo da minha adoração e gratidão. Ao meu marido, meu incentivador, provedor e amigo. Aos meus pais, José, Lourdes e meu irmão Thiago, que sempre me instruíram a buscar conhecimento.

AGRADECIMENTOS

À Deus, alvo da minha gratidão por este trabalho, por me direcionar, auxiliar e amar.

À profª Samantha C. de Pinho, pela orientação, ensino, dedicação, paciência, compreensão e pelo investimento em minha vida por tantos anos.

Às estagiárias (alunas de Graduação) Eduarda Lopes Georges e Juliana Gobbi de Lima, pelo companheirismo e auxílio nos experimentos deste projeto.

À Profa. Dra. Izabel C.F. Moraes pela ajuda com as análises reológicas.

À Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha e a técnica de laboratório Vanessa Martins da Silva (DEA/FEA/Unicamp) pela ajuda com as análises de tensão interfacial dinâmica.

À técnica de laboratório Carla Mônaco pela ajuda com as análises de tensão interfacial.

Aos técnicos de laboratório Fábio Gallo, Tatiana Cardoso Sanches, Camila Velludo Molina e Marcelo Thomazini pela ajuda com a realização de análises e equipamentos.

À Seção de Laticínios/PUSP-P pela doação das matérias-primas, e pela dedicação do Sr. Osvaldo e da funcionária Silvia na fabricação dos sorvetes.

Aos amigos do Laboratório de Coloides/ZEA, em especial: Marília Moraes, Taíse Toniazzi, Graziela Veiga, Camila Molina, Grazielle Bovi, Ivana Andrade, Nayla Souki, Thais Brito, Matheus Chaves, Camila Cazado e Caio Pianta, por todo o companheirismo, ajuda, parceria nas sensoriais, pelo compartilhar de conhecimento, pelos momentos bons em que dividimos. Que equipe abençoada!

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - pela bolsa de Mestrado concedida.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao meu marido Thiago, pelo apoio incondicional, pela paciência, pelo carinho e dedicação.

RESUMO

BORRIN, T. R. Nanoemulsões produzidas pelo método do ponto de inversão da emulsão (EIP) para encapsulação de curcumina: parâmetros de produção, estabilidade físico-química e incorporação em sorvete. 2015. 114 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

A curcumina possui uma grande variedade de propriedades benéficas para a saúde humana. Devido a este fato, a indústria alimentícia tem aumentado a aplicação deste bioativo como aromatizante, conservante e aditivo para substituição dos corantes amarelos artificiais. No entanto, incorporar a curcumina em formulações alimentícias pode ser problemático porque sua molécula hidrofóbica tem baixa solubilidade em água e é muito sensível à luz. Os métodos de encapsulação em nanoemulsões podem tornar viável a proteção do curcuminóide, bem como permitir sua dispersibilidade em água. O objetivo do presente trabalho de Mestrado foi produzir nanoemulsões encapsulando curcumina pelo método do ponto de inversão da emulsão (EIP, *emulsion inversion point*), determinando parâmetros de operação que viabilizem um futuro escalonamento do processo e incorporação das dispersões em sorvete de massa sabor abacaxi. Os parâmetros de produção foram ajustados como: tipo e concentração de tensoativo (razão SOR), concentração de óleo de soja, tipo e concentração de cosolvente, tipo de impelidor/ velocidade de agitação e vazão de entrada da fase aquosa. As porcentagens de curcumina encapsulada foram 0,03, 0,07 e 0,10%. Dentre estas, a concentração de 0,07% foi a mais viável para a aplicação no sorvete de massa sabor abacaxi, por apresentar melhor distribuição de tamanho de gotícula (diâmetro hidrodinâmico), não apresentar variação significativa de oxidação lipídica, boa manutenção da curcumina encapsulada (70%) e, conseqüentemente, a sua cor, apresentando maior estabilidade do parâmetro TCD por um período de 60 dias. Os testes reológicos não mostraram mudança na estrutura de nanoemulsões com a encapsulação de curcumina. Das formulações testadas para sorvete de abacaxi contendo curcumina, a formulação usando nanoemulsões substituindo 50% da mistura comercial (B) teve uma maior aceitação de cor, sabor e aroma, sendo compatível com a formulação comercial (A). Esta formulação (B) e aquela com substituição completa da mistura comercial (C) apresentaram uma maior estabilidade quanto à manutenção da cor durante o período do estudo. Os testes reológicos não mostraram diferença estrutural entre as formulações testadas para sorvete de abacaxi. Indicando que não houve influência nas características estruturais do sorvete contendo nanoemulsão com curcumina encapsulada.

Palavras-chave: nanoemulsão. curcumina. emulsificação por método de baixa energia. sorvete.

ABSTRACT

BORRIN, T.R. Curcumin- loaded nanoemulsions produced by emulsion inversion point (EIP) method: process parameters, physico-chemical stability and incorporation in ice cream. 2015. 114f. M. Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

Curcumin has several beneficial properties and the food industry has been trying to increase the use of curcumin as flavoring, conservant or as a replacer of artificial yellow dyes. However, incorporating curcumin can be difficult due to its hydrophobicity and low water solubility, as well as high sensitivity to light. Encapsulation in nanoemulsions can be an interesting technological alternative to encapsulate and protect the curcuminoid. The objective of this study was to produce nanoemulsions encapsulating curcumin by the low-energy method EIP (emulsion inversion point), determining operating parameters that enable a future escalation of the process and incorporation of dispersions in pineapple ice cream. The production parameters were adjusted as: type and concentration of surfactante, soybean oil concentration, type and concentration of cosolvent, impeller type/speed stirring and flow of the aqueous phase. The percentages of encapsulated curcumin were 0.03, 0.07 and 0.10%. The concentration of 0.07% was the most viable for application in pineapple ice cream, for presenting better distribution of droplet size (hydrodynamic diameter), do not presente of significant changes in lipid oxidation, good maintenance of encapsulated curcumin (70%) and therefore its color, with greater stability of the TCD parameter for a period of 60 days. The rheological tests showed no change in the nanoemulsions structure with encapsulating curcumin. Among the formulations tested for pineapple ice cream incorporating encapsulated curcumin, the formulation using nanoemulsions replacing 50% of the commercial mixture (B) had a better acceptance of color, flavor and aroma and it is compatible with the commercial formulation (A). This formulation (B) and that with complete replacement of the commercial mixture (C) had a higher stability and maintenance of color during the storage period. The rheological tests showed no structural difference between the formulations tested for pineapple ice cream, indicating no influence on the structural characteristics of the ice cream containing nanoemulsion with encapsulated curcumin.

Keywords: nanoemulsions. curcumin. low energy emulsification. ice cream.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fenômenos físico-químicos que podem afetar a estabilidade das nanoemulsões.	19
Figura 2: Representação esquemática do mecanismo mecânico homegeneizador com válvula de alta pressão para produção de nanoemulsão.	22
Figura 3: Representação esquemática do mecanismo mecânico microfluidizador para produção de nanoemulsão.	22
Figura 4: Representação esquemática do mecanismo mecânico, homogeneizador ultra-sônico para produção de nanoemulsão.	23
Figura 5: Dinâmica do comportamento de fases por inversão de fase transicional e catastrófico.	26
Figura 6: Representação esquemática do método ponto de inversão de fase da emulsão.	28
Figura 7: Formação das estruturas micelar e bicontínua para inverter uma emulsão A/O para O/A.	29
Figura 8: Representação esquemática do processo de inversão de fases pelo método EIP em função do tempo de agitação.	30
Figura 9: Fluxos radial, axial e tangencial para impelidores.	32
Figura 10: Diferentes tipos de impelidores e seus fluxos característicos: (a) disco Cowles, em (b) hélice naval e em (c) âncora.	33
Figura 11: Planta e rizoma da <i>Curcuma longa</i> L.	34
Figura 12: Estrutura química da curcumina.	35
Figura 13: Esquematização das propriedades funcionais da curcumina.	36
Figura 14: Consumo brasileiro de sorvetes de massa, picolés e soft entre os anos 2003 e 2014: (■) sorvete de massa, (■) picolé e (■) <i>soft</i>	39
Figura 15: Consumo brasileiro de sorvetes entre os anos 2003 e 2014.	39
Figura 16: Estruturas formadas no sorvete após o processamento, em (a) microscopia eletrônica da estrutura do sorvete e em (b) estrutura do sorvete com constituintes que não são completamente visíveis em (a).	41
Figura 17: Esquematização do processamento para produção das nanoemulsões pelo método ponto de inversão da emulsão.	45
Figura 18: Diferentes tipos de impelidores e seus fluxos característicos: (a) hélice naval, em (b) disco Cowles e em (c) âncora.	46
Figura 19: Fluxograma do Processamento de produção do sorvete de abacaxi contendo nanoemulsões com curcumina encapsulada.	53
Figura 20: Resultado visual dos testes de produção de nanoemulsões com diferentes valores de razão SOR, para dispersões produzidas com os tensoativos Tween 20, 60 e 80.	58
Figura 21: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das gotículas da nanoemulsão produzida com tween 60 com razão SOR =1,25: (a) 10% de óleo de soja, (b) 15% de óleo de soja, (c) 20% de óleo de soja.	60
Figura 22: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das gotículas de nanoemulsão produzida com Tween 80 e SOR = 1,0: (a) 10% de óleo de soja; (b) 15% de óleo de soja; (c) 20% de óleo de soja.	61
Figura 23: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das nanoemulsões produzidas pelo impelidor (a) disco Cowles, (b) hélice naval e (c) âncora, utilizando 20% de óleo de soja e tensoativo Tween 80 com SOR=1.	64
Figura 24: Amostras produzidas com Tween 80 e cosolvente glicerol; em (a) SOR=1,25 e concentrações de glicerol de 5,10,15,30,40 e 50%, em (b) 20% de glicerol com SOR= 0,75; 1,0 e 1,25; após 7 dias de armazenamento.	67
Figura 25: Distribuição da variação da tensão interfacial em função do tempo pelo método da gota pendente; em (a) fases óleo e água; (b) óleo e água com tensoativo Tween 80, (c) óleo e água com	

tensoativo Tween 80 e 10% de glicerol; em (d) óleo e água com tensoativo Tween 80 e 20% de glicerol; em (e) óleo e água com tensoativo Tween 80 e 30% de glicerol.	71
Figura 26: Viscosidade das nanoemulsões com tensoativo Tween 80 e com diferentes concentrações de cosolvente glicerol em função da taxa de cisalhamento, em (■) 5% de glicerol, (●) 10% de glicerol, (■) 20% de glicerol e (●) 30% de glicerol.	73
Figura 27: Aspecto visual das nanoemulsões produzidas com 20% de óleo de soja, tensoativo Tween 80 com SOR= 1,0 e 1,25.	76
Figura 28: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das nanoemulsões produzidas com tensoativo Tween 80 (a) SOR =1 e (b) SOR=1,25 durante o período de 56 dias de armazenamento.	77
Figura 29: Comportamento da condutividade (□) e do módulo de armazenamento G' (■), durante a adição da fase aquosa no processo de produção das nanoemulsões.	79
Figura 30: Comportamento reológico em função da adição da fase aquosa durante a produção das nanoemulsões, em (■) 10% de fase aquosa, (●) 20% de fase aquosa, (■) 30% de fase aquosa, (●) 40% de fase aquosa, (■) 50% de fase aquosa, (○) 55% de fase aquosa.	80
Figura 31: Aspecto visual das nanoemulsões encapsulando curcumina produzidas.	81
Figura 32: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das nanoemulsões encapsulando curcumina, em (a) com 0,03% de curcumina, (b) 0,07% e (c) 0,10%.	82
Figura 33: Variação do diâmetro médio das nanoemulsões encapsulando (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e	83
Figura 34: Variação da oxidação lipídica das nanoemulsões encapsulando (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e (■) 0,10% durante o período de 60 dias de estocagem.	84
Figura 35: Quantificação da concentração de curcumina nas nanoemulsões encapsulando: (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e (■) 0,10% durante o período de 60 dias de estocagem.	84
Figura 36: Variação dos parâmetros colorimétricos das nanoemulsões encapsulando (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e	85
Figura 37: Variação da coloração obtida de acordo com os parâmetros colorimétricos.	87
Figura 38: Variação da viscosidade (a) e o comportamento das mesmas frente a tensão de cisalhamento (b) para as nanoemulsões contendo (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e (■) 0,10%.	88
Figura 39: Formulações de sorvete de abacaxi produzidas com nanoemulsões encapsulando curcumina, em (a) sorvete utilizando 100% mix comercial, (b) sorvete com substituição de 50% do mix comercial por nanoemulsão com curcumina, (c) sorvete com substituição de 100% do mix comercial por nanoemulsão com curcumina e em (d) sorvete com adição de curcumina sem estar encapsulada (curcumina livre).	90
Figura 40: Parâmetros colorimétricos obtidos para os sorvetes contendo curcumina encapsulada A (■), (■) B, (■) C e (■) D durante o período de estocagem de 60 dias, em (a) ângulo de hue, em (b) croma e em (c) os parâmetros L^* e TCD.	93
Figura 41: Resultados da análise sensorial para os sorvetes contendo nanoemulsão com curcumina encapsulada (■) A, (■) B, (■) C e (■) D, durante o período de estocagem de 60 dias, em (a) atributo sabor, em (b) aroma, em (c) cor e em (d) aceitação global.	96
Figura 42: Variação da viscosidade (a) e o comportamento dos sorvetes frente a tensão de cisalhamento (b) para os sorvetes contendo nanoemulsões com curcumina encapsulada (■) A, (■) B, (■) C e (■) D.	97
Figura 43: Curva de calibração da bomba peristáltica.	110
Figura 44: Curva de calibração quantificação curcumina em DMSO.	111
Figura 45: Curva de calibração quantificação oxidação lipídica.	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Exemplos de sistemas de liberação de curcumina.	37
Tabela 2: Valores testados para definição da relação SOR para o tensoativo Tween 20, 60 e 80.....	45
Tabela 3: Formulações testadas para diferentes porcentagens de óleo para os tensoativos Tween 60 e 80 sob as razões	46
Tabela 4: Formulação das nanoemulsões testadas com diferentes tipos de impelidores.....	47
Tabela 5: Formulações contendo etilenoglicol como co-tensoativo na fase aquosa, produzidas com os tensoativos	48
Tabela 6: Formulações das nanoemulsões encapsulantes.....	48
Tabela 7: Formulação das nanoemulsões produzidas com curcumina encapsulada.....	49
Tabela 8: Composição da produção do sorvete de abacaxi incorporando nanoemulsão com curcumina encapsulada.....	54
Tabela 9: Resultados para nanoemulsões produzidas com tensoativos Tween 60 e 80 com variação da porcentagem de óleo de soja durante o período de estocagem.	59
Tabela 10: Resultados obtidos para as nanoemulsões produzidas com diferentes impelidores, velocidades de agitação e vazões de entrada para a formulação com Tween 80 SOR=1, 20% de óleo de soja.....	63
Tabela 11: Resultados testes com co-solvente glicerol após 7 dias de armazenamento.....	66
Tabela 12: Resultados da densidade entre a água, óleo, tensoativo Tween 80 e deste tensoativo com diferentes concentrações de glicerol.	69
Tabela 13: Resultados da tensão interfacial entre óleo frente à água, água com tensoativo Tween 80 e ainda, com água tensoativo Tween 80 e diferentes concentrações de glicerol.	70
Tabela 14: Variação dos parâmetros reológicos em função da variação da concentração de glicerol nas nanoemulsões produzidas com tensoativo Tween 80.	74
Tabela 15: Diâmetro médio das nanoemulsões produzidas com tensoativo Tween 80 (SOR =1,25 e 1,0), 20% de óleo de soja, 20% de glicerol.	78
Tabela 16: Parâmetros reológicos obtidos com o aumento da fase aquosa durante o processo de produção das nanoemulsões.....	81
Tabela 17: Avaliação da estabilidade das nanoemulsões contendo curcumina encapsulada pelo período de estocagem de 60 dias.	86
Tabela 18: Comportamento dos parâmetros reológicos para nanoemulsões com diferentes porcentagens de curcumina.....	89
Tabela 19: Caracterização dos sorvetes produzidos com nanoemulsão contendo curcumina encapsulada.....	91
Tabela 20: Resultados análise de colorimetria para os sorvetes com nanoemulsões contendo curcumina encapsulada durante o período de estocagem de 60 dias.	94
Tabela 21: Parâmetros reológicos dos sorvetes contendo nanoemulsão com curcumina encapsulada.	97

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACN - acetonitrila

A/O – emulsão água-óleo

A/O/A – emulsão múltipla água-óleo-água

BHT - hidroxitolueno butilano

CIE- comissão internacional de iluminação (*commission Internationale de l'Eclairage*)

CMC – concentração micelar crítica

DMF – dimetilformaldeído

DMSO - dimetilsulfóxido

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

HLD – desvio hidrofílico lipofílico (*hydrophilic lipophilic desviation*)

HCl – ácido clorídrico

KCl – cloreto de potássio

O/A – emulsão óleo em água

O/A/O – emulsão múltipla óleo em água em óleo

PCS- espectroscopia de correlação de fótons (*photon correlation spectroscopy*)

PIC – inversão da composição das fases (*phase inversion composition*)

PIT – temperatura de inversão de fase (*phase inversion composition*)

SOR – razão tensoativo/óleo (*surfactant/oil ratio*)

TBARS – *thiobarbituric acid reactive substances*

TBA – ácido tiobarbitúrico

TCA – ácido tricloroacético

TCD- diferença total de cor (*total color difference*)

TEP - tetraetoxipropano

THF – tetraidrofurano

WOR – razão óleo/água (*water/oil ratio*)

LOW P_{ow} – coeficiente de partição óleo/água

LISTA DE SÍMBOLOS

ΔP - variação pressão de Laplace

γ - tensão interfacial entre a fase oleosa e aquosa

r - raio das gotículas

EON - número de grupos de óxido de etileno por molécula de tensoativo não-iônico

α - número de átomos de carbono

S - salinidade da fase aquosa

K - constante empírica que depende do grupo presente na cabeça do tensoativo

ACN - número de alcanos presentes no mol

A – concentração de álcool

σ - parâmetro característico do tipo de tensoativo

T - temperatura do sistema

ΔT – variação de temperatura do sistema

T_{ref} - temperatura de referência

C*- croma (saturação da cor)

b*- cromaticidade no eixo variando do amarelo/azul

a*- cromaticidade no eixo variando do vermelho/verde

L*- luminosidade

h° : ângulo de Hue (graus)

ΔE^* - diferença total de cor

K - índice de consistência (Pa.sn)

σ - tensão de cisalhamento (Pa)

$\dot{\gamma}$ - taxa de deformação (s^{-1})

n - índice de comportamento de fluxo (adimensional)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Nanoemulsões: Estrutura e Estabilidade.....	17
2.1.1 Estabilidade Físico-Química das Nanoemulsões	18
2.2 Métodos de Produção de Nanoemulsões.....	21
2.1.1 Métodos de Produção de Nanoemulsões de Baixa Energia por Inversão de Fases.....	24
2.1.1.1 Método do Ponto de Inversão da Nanoemulsão (EIP)	27
2.3 Influência dos Tipos de Impelidores em um Processo de Agitação	30
2.4 Curcumina: Estrutura, Propriedades e Microencapsulação.....	34
2.3 Sorvete.....	38
3. OBJETIVOS	43
4. MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1 Materiais.....	44
4.2 Métodos.....	44
4.2.1 Determinação das Condições Operacionais para Produção das Nanoemulsões pelo Método do Ponto de Inversão da Emulsão (EIP).....	44
4.2.2 Definição da Razão Tensoativo/Óleo (SOR)	45
4.2.3 Definição do Impelidor a ser Utilizado no Processo de Emulsificação	46
4.2.4 Experimentos com Cosolvente Glicerol	47
4.2.5 Definição da Formulação da Nanoemulsão Encapsulante	48
4.2.6 Produção de Nanoemulsões com Curcumina Encapsulada	48
4.2.7 Determinação do Diâmetro Médio e Distribuição do Tamanho de Gota.....	49
4.2.8 Quantificação da Curcumina encapsulada nas Nanoemulsões	49
4.2.9 Quantificação da Oxidação Lipídica em Nanoemulsões	50
4.2.10 Determinação da Densidade e Tensão Interfacial	50
4.2.11 Determinação do Ponto de Inversão da Emulsão.....	50
4.2.12 Obtenção de Dados De Colorimetria Instrumental	50
4.2.13 Análises Reológicas	52
4.2.14 Produção do Sorvete de Abacaxi Incorporando Nanoemulsões com Curcumina Encapsulada.....	52
4.2.15 Caracterização do Sorvete de Abacaxi Incorporando Nanoemulsões com Curcumina Encapsulada.....	55
4.2.15.1 Determinação da composição centesimal, pH, Teor de Sólidos Solúveis e <i>Overrun</i>	55
4.2.15.2 Avaliação sensorial dos sorvetes de abacaxi.....	56
4.2.16 Análises Estatísticas.....	56

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
5.1 Determinação das Condições de Produção das Nanoemulsões pelo Método do Ponto de Inversão da Emulsão (EIP).....	57
5.1.1 Determinação da Concentração de Tensoativo e Óleo de Soja para a Produção das Nanoemulsões.....	57
5.1.2 Determinação dos Parâmetros de Agitação e Vazão de Adição da Fase Aquosa.....	62
5.1.3 Determinação da Concentração de Cosolvente Glicerol.....	66
5.1.4 Estudo da Influência do Glicerol na Estabilidade das Nanoemulsões	68
5.1.5 Determinação da Formulação Otimizada para Encapsulação de Curcumina nas Nanoemulsões.....	76
5.2 Determinação do Ponto de Inversão de Fases.....	78
5.3 Estabilidade das Nanoemulsões contendo Curcumina Encapsulada.....	81
5.4 Aplicação da Nanoemulsão Contendo Curcumina em Sorvete de Abacaxi.....	90
6. CONCLUSÕES.....	99
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	100
8. REFERÊNCIAS.....	101
APÊNDICES	110

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda de consumidores à procura de uma alimentação mais saudável para a manutenção da saúde tem ganhado importância nos últimos anos. Tal demanda, portanto, tornou muito necessário o desenvolvimento de tecnologias que possibilitem agregar compostos bioativos aos alimentos, como vitaminas e agentes nutracêuticos, bem como a produzir sistemas alimentícios que possam melhorar a sua bioacessibilidade. Assim, é fundamental o estudo de formas de proteção e aumento da solubilidade em meio aquoso destes bioativos para que sejam efetivamente incorporados nos alimentos.

A curcumina possui uma grande variedade de propriedades benéficas e por causa disso, a indústria alimentícia tem buscado o uso da curcumina como aromatizante, conservante ou como aditivo para substituir os corantes artificiais amarelo. Mas a incorporação da curcumina em matrizes alimentícias é difícil porque sua molécula hidrofóbica tem baixa solubilidade em água e é muito sensível à luz.

Neste âmbito, as nanoemulsões são uma via de aplicação deste bioativo em alimentos, os encapsulando, protegendo e distribuindo. Para tanto, necessita-se do desenvolvimento de métodos que possibilitem tal aplicação em escala industrial.

Frente a isto, o método de produção de nanoemulsão por baixa energia apresenta-se viável, uma vez que faz uso de equipamentos simples (fáceis de implementar), baixo consumo de energia, bem como a produção de gotículas com diâmetros reduzidos (nanômetros). Dentro deste, destaca-se o método de produção de nanoemulsão por inversão de fase que utiliza a variação das propriedades físico químicas do tensoativo para formação da nanoemulsão, variando apenas a relação de concentração entre as fases oleosa e aquosa. O aumento da quantidade de fase aquosa muda a curvatura espontânea do tensoativo, o qual possui afinidade com esta fase. Assim, ocorre então a migração do mesmo por entre as fases, emulsionando a nanoemulsão e gerando gotículas de óleo de tamanho reduzido.

O objetivo do presente trabalho foi então de produzir nanoemulsões encapsulando curcumina pelo método de baixa energia ponto de inversão da emulsão (EIP), determinando parâmetros de operação que viabilizem um futuro escalonamento do processo e incorporação das dispersões em sorvete de massa sabor abacaxi.

Fazendo uso deste método, os parâmetros de produção foram adequados, como o tipo e concentração do tensoativo (razão SOR), concentração de óleo de soja, tipo e concentração de cosolvente, tipo de impelidor específico, velocidade de agitação ideal e ainda, a vazão de entrada de uma das fases. As nanoemulsões foram produzidas encapsulando curcumina em 3

porcentagens diferentes e foram avaliadas quanto à sua estabilidade por meio das distribuições de diâmetro médio hidrodinâmico, oxidação lipídica, quantificação da curcumina por absorbância e colorimetria. Os sorvetes produzidos foram avaliados quanto à manutenção da coloração durante o período de estocagem e também quanto à aceitação por meio de avaliações sensoriais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Nanoemulsões: Estrutura e Estabilidade

Nanoemulsões são sistemas coloidais que podem encapsular, proteger e liberar componentes bioativos lipofílicos e que tem sido cada vez mais utilizadas na indústria alimentícia, farmacêutica e agroquímica com tais finalidades (McCLEMENTS, 2012; FERNANDEZ et al., 2004; TADROS et al., 2004; MASON et al., 2006; McCLEMENTS; RAO, 2011). Tais sistemas coloidais são caracterizados por serem dispersões obtidas a partir de dois líquidos imiscíveis, desde que, pelo menos um destes líquidos seja disperso sob a forma de nanogotículas (com diâmetro menor que 100 nm), possuindo assim, duas fases, em que pequenas gotículas de uma das fases (a fase *dispersa*) estão dispersas na outra fase (fase *contínua*) (COSGROVE, 2005; HUNTER, 2001; HIEMENZ; RAJAGOPALAN, 1997; TADROS et al., 2004). Dependendo do método de preparação dessas dispersões e das matérias-primas utilizadas, diferentes distribuições de tamanhos de gotículas podem ser obtidas.

Atualmente, têm-se produzido nanoemulsões visando aplicações em alimentos, para encapsulação, proteção e liberação controlada de ingredientes funcionais lipofílicos, tais como, por exemplo, lipídios biologicamente ativos, vitaminas lipofílicas, agentes conservantes, carotenoides e flavonoides (MCCLEMENTS; RAO, 2011, MAYER; WEISS; MCCLEMENTS, 2013). Alguns exemplos de encapsulação de bioativos em nanoemulsões são: vitamina – E (MAYER; WEISS; MCCLEMENTS, 2013), quercetina (KARADAG et al., 2013), curcumina (SUN, et al., 2012) e β - caroteno (TRUJILLO et al., 2013).

As nanoemulsões, assim como as emulsões convencionais, podem ser do tipo óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O). Sendo sistemas termodinamicamente instáveis, e que, portanto, não podem ser formadas espontaneamente, necessitando de adição de energia para que tal processo ocorra. Tal energia pode ser proveniente de dispositivos mecânicos, como no caso dos métodos de alta energia, como por exemplo, homogeneizadores de alta pressão, microfluidizadores e homogeneizadores ultrassônicos; ou ainda, podem ser produzidas pela alteração da energia química dos componentes, por meio de métodos de baixa energia, como por exemplo, emulsificação espontânea ou métodos por inversão de fase (MCCLEMENTS, 2012; SOLANS et al., 2005).

Uma das vantagens do uso de nanoemulsões é que as mesmas podem ser capazes de aumentar a biodisponibilidade de substâncias bioativas lipofílicas, uma vez que a presença dos lipídios altera os mecanismos de digestão dos bioativos (JEONG; PARK; PARK, 2007;

PORTER; TREVASKIS; CHARMAN, 2007). Além disso, a encapsulação ainda permite, em alguns casos, o aumento da vida de prateleira dos bioativos encapsulados, devido à proteção contra oxidação e volatilização, por exemplo (DESAI; PARK, 2005; McCLEMENTS; RAO, 2011).

Outra vantagem, esta tecnológica, do uso das nanoemulsões é que as gotas nanométricas fazem com que a dispersão seja opticamente transparente e por isso, podem ser adequadas para incorporação em produtos que não possam sofrer alterações em relação à sua turbidez (McCLEMENTS; RAO, 2011).

2.1.1 Estabilidade Físico-química das Nanoemulsões

Alguns fatores que são reguladores da estabilidade cinética das nanoemulsões devem ser estudados, uma vez que apesar das nanoemulsões geralmente possuem maior estabilidade cinética do que as emulsões convencionais (com maiores diâmetros de gota) elas apresentam instabilidade termodinâmica por conta da maior área interfacial que possuem (McCLEMENTS, 2005; TADROS et al., 2004).

O fator que acarreta tal desfavorecimento é a energia livre positiva presente na interface entre a fase óleo e a fase aquosa. A variação da energia livre presente na formação da nanoemulsão determina se uma emulsão é estável termodinamicamente ou não, mas não dá indicação sobre a velocidade em que suas propriedades mudam com o tempo, ou ainda, o mecanismo físico responsável por estas (estabilidade cinética) (McCLEMENTS, 2005; DICKINSON, 1992).

A estabilidade da nanoemulsão quanto à manutenção de suas propriedades em função do tempo em diferentes condições ambientais, é o fator mais importante para o foco em aplicações alimentícias. Consequentemente, o interesse maior está na estabilidade cinética das nanoemulsões do que em sua estabilidade termodinâmica (McCLEMENTS, 2005; DICKINSON, 1992).

A estabilidade cinética só pode ser compreendida levando em conta a natureza dinâmica das nanoemulsões e interações entre as gotículas que as contêm. Por possuírem natureza dinâmica, sabe-se que as gotículas permanecem num estado contínuo de movimento e frequentemente colidem umas com as outras, o que ocorre devido ao movimento browniano ou por forças externas (McCLEMENTS, 2005).

Os principais fenômenos físico-químicos que afetam a estabilidade cinética das nanoemulsões são apresentados na Figura 1.

Figura 1: Fenômenos físico-químicos que podem afetar a estabilidade das nanoemulsões.

Fonte: (adaptado de McCLEMENTS, D. J., WEISS, J. Lipid Emulsions. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 3º ed., John Wiley & Sons, 2005).

A separação gravitacional ocorre por ação da força da gravidade sobre as gotículas, resultante da diferença de densidade das gotículas e da fase contínua. Se as gotículas possuem densidade menor do que a fase contínua, elas apresentam tendência de se deslocar para cima, o que é o fenômeno conhecido como cremação. Se elas têm uma densidade maior que da fase contínua, tendem a deslocar-se para baixo – trata-se da sedimentação (Figura 1). A densidade da maioria dos óleos comestíveis é menor do que a da água, e assim a ocorrência de cremação é sempre maior que de sedimentação (McCLEMENTS, 2005). Porém, tal fenômeno deve ser controlado, porque faz com que as gotículas permaneçam em contato durante um tempo prolongado, o que pode levar a floculação ou coalescência, e, eventualmente, formação de uma camada de óleo puro na parte superior da emulsão (separação de fase) (McCLEMENTS, 2005).

A floculação é o processo em que duas ou mais gotículas se associam, mas mantêm a integridade individual de cada uma. Este fenômeno acarreta um aumento da viscosidade da emulsão e pode conduzir à formação de um gel, e, portanto, pode ser benéfica ou não,

dependendo da característica final que se deseja para a nanoemulsão (McCLEMENTS, 2005; TAN, 2004).

Por sua vez, a coalescência é o processo em que duas ou mais gotículas se fundem para formar uma gotícula maior e assim, envolve uma diminuição da área de contato entre as fases contínua e dispersa, e então, este fenômeno por levar rapidamente a formação da cremeação ou sedimentação e posteriormente à separação de fase. Este processo só ocorre quando as gotas estão próximas e a interface que as separa é rompida. Em geral, a ocorrência da coalescência é determinada pelo mecanismo físico responsável pelo contato entre as gotículas e a atuação das forças de curto alcance, como por exemplo, o movimento browniano (McCLEMENTS, 2005; WALSTRA, 2003).

Já o amadurecimento (ou maturação) de Ostwald (em inglês, *Ostwald ripening*) provoca um crescimento do tamanho de partícula pelo aumento do tamanho das mesmas, o que ocorre à custa de gotículas pequenas dentro de um sistema, que encolhem e são absorvidas pelas maiores. Este fenômeno é devido à energia livre de gotículas pequenas ser maior do que a de gotículas maiores, o que faz com que as gotículas pequenas sejam absorvidas pelas maiores por competitividade de difusão, o que pode em um tempo infinito, reduzir todas as gotículas para uma única (separação de fase) (McCLEMENTS; RAO, 2011; WOOSTER; GOLDING; SANGUANSRI, 2008; WANG; GLICKSMAN, 2007; McCLEMENTS; WEISS, 2005).

Portanto, as nanoemulsões são mais propensas à desestabilidade pela maturação de Ostwald devido ao pequeno tamanho das gotículas. Porém, apresentam vantagens quando comparadas com emulsões e microemulsões, pois ainda devido à este pequeno tamanho, ocorre a diminuição dos fenômenos de agregação dessas gotículas (floculação e coalescência) e da separação gravitacional, fazendo com que as mesmas sejam mais estáveis cineticamente (McCLEMENTS; RAO, 2011; McCLEMENTS, 2005).

Devido aos fenômenos descritos, corrobora-se que quanto menor o tamanho das gotículas, maiores os benefícios quanto à estabilidade cinética. Assim, o grande objetivo da produção de nanoemulsões é produzir gotículas suficientemente pequenas para garantir a estabilidade cinética em função do tempo para aplicações industriais (OSTERTAG; WEISS; McCLEMENTS, 2012; McCLEMENTS; RAO, 2011).

2.2 Métodos de Produção de Nanoemulsões

Nanoemulsões podem ser produzidas por meio de processos classificados como processos de alta e baixa energia. Processos alta energia utilizam dispositivos mecânicos, capazes de gerar forças de cisalhamento intensas que podem quebrar estruturas da ordem de micrômetros em partículas nanométricas (SANTANA et al., 2013; McCLEMENTS; RAO, 2011).

Normalmente, nos processos de nanoemulsificação por alta energia ocorre primeiramente a mistura das fases oleosa e aquosa, resultando em uma emulsão grosseira com tamanho de gotícula grande e após, esta emulsão grosseira é forçada a passar por um sistema com introdução de forças de cisalhamento; a qual irá reduzir o tamanho médio de gota (JAFARI et al., 2008, McCLEMENTS; RAO, 2011).

A razão da utilização de alta energia está no fato de que a força para a quebra das gotículas deve ser maior do que a força de equilíbrio destas gotículas, ou seja, a força que mantêm as gotas em forma esférica. Tais forças de equilíbrio dão origem à denominada pressão de Laplace, representada pela Equação (1):

$$\Delta P = \frac{\gamma}{2r} \quad (1)$$

Na Equação (1), γ é a tensão interfacial entre a fase oleosa e aquosa e r é o raio das gotículas. Por meio da referida equação, percebe-se que a pressão de Laplace aumenta com a diminuição do raio das gotículas ou com o aumento da tensão interfacial entre as fases. E ainda, quanto maior a diminuição do raio, maior a dificuldade para se continuar quebrando as gotículas (McCLEMENTS; RAO, 2011; SCHUBERT; BEHREND, 2003; SCHUBERT; ENGEL, 2004).

A obtenção de um pequeno tamanho de gotículas para o método de alta energia depende de fatores do equipamento como força, fluxo, intensidade de energia e também de outros fatores como temperatura, composição da amostra (como as concentrações das fases oleosa e aquosa), tipo e concentração de tensoativo, além de fatores físico-químicos como tensão interfacial e viscosidade (WOOSTER; GOLDING; SANGUANSRI, 2008; McCLEMENT; RAO, 2011).

Alguns dispositivos utilizados para a produção de nanoemulsões pelo método de alta energia são: homogeneizadores, microfluidizadores e ultrassonicadores (WOOSTER; GOLDING; SANGUANSRI, 2008; McCLEMENTS; RAO, 2011).

Os homogeneizadores a alta pressão reduzem o tamanho de gotículas pré-existent (emulsões grosseiras) por meio de forças intensas de cisalhamento. Neste processo, as gotas são quebradas em menores ao serem forçadas a passar pela válvula do homogeneizador (Figura 2). Quanto maior o número de passagens pela válvula ou ainda, quanto maior a pressão exercida, menores são as gotículas formadas (McCLEMENTS; RAO, 2011; SCHUBERT; BEHREND, 2003; SCHUBERT; ENGEL, 2004).

Figura 2: Representação esquemática do mecanismo mecânico homogeneizador com válvula de alta pressão para produção de nanoemulsão.

Fonte: (adaptado de McCLEMENTS; RAO, 2011).

Nos microfluidizadores a emulsão grosseira é forçada por alta pressão a escoar por dois orifícios, formando duas correntes que são direcionadas para uma câmara de interação, onde ocorre a colisão desses fluxos e forças de cisalhamento são geradas, levando à desestabilização das gotas e transformando-as em gotículas menores (Figura 3) (McCLEMENTS; RAO, 2011; HATANAKA et al., 2010; WOOSTER; GOLDING; SANGUANSRI, 2008).

Figura 3: Representação esquemática do mecanismo mecânico microfluidizador para produção de nanoemulsão.

Fonte: (adaptado de McCLEMENTS; RAO, 2011).

Os homogeneizadores ultrassônicos utilizam alta intensidade de ondas ultrassônicas para gerar a força de cisalhamento necessária para quebrar a emulsão em pequenas gotículas (LEONG et al., 2009). Tais ondas são geradas por um *probe* colocado dentro dos líquidos a serem homogeneizados e gera nestes, vibrações que possibilitam a formação, crescimento e quebra de pequenas gotículas (LEONG et al., 2009; McCLEMENTS; RAO, 2011). Este mecanismo é esquematizado na Figura 4:

Figura 4: Representação esquemática do mecanismo mecânico, homogeneizador ultrassônico para produção de nanoemulsão.

Fonte: (adaptado de McCLEMENTS; RAO, 2011).

Os processos de alta anergia muitas vezes são desfavoráveis para aplicações industriais, por necessitar de equipamentos caros e custos elevados para funcionamento; ou ainda por utilizarem alta força de cisalhamento, podem romper as gotículas, o que as tornam inviáveis para encapsulação de um bioativo (FERNANDEZ et al., 2004; YANG et al., 2012).

Por outro lado, há um interesse crescente na utilização de métodos de baixo consumo de energia para produzir nanoemulsões, uma vez que o método dispõe de equipamentos mais simples e apresenta menor custo de implantação. Além de possibilitar a produção de gotículas de diâmetros muito reduzidos (podendo chegar a 20 nm), o que favorece a encapsulação, proteção e liberação controlada de bioativos e assim, os tornam mais eficazes do que os métodos de alta energia para estes casos. Uma desvantagem de tais métodos é, algumas vezes, a necessidade de maiores quantidades de tensoativo, o que pode alterar as características do produto, modificar textura, sabor ou torná-lo impróprio para consumo (OSTERTAG; WEISS; McCLEMENTS, 2012; YANG et al., 2012).

Os processos de nanoemulsificação de baixa energia baseiam-se na formação espontânea de gotículas de óleo nos sistemas mistos de óleo-água-tensoativo, quando a

solução ou as condições ambientais são alteradas, utilizando a energia química do sistema. Como exemplo de métodos de baixa energia estão os métodos de inversão de fase e os métodos de emulsificação espontânea (TADROS et al., 2004; ANTON; VANDAMME, 2009; SOLANS; SOLÉ, 2012).

Entretanto, os processos de baixa energia são limitados quanto aos tipos de fase oleosa e tensoativos que podem ser empregados. Frequentemente é necessário utilizar concentrações relativamente elevadas de tensoativo para que haja efetiva formação da nanoemulsão, o que pode muitas vezes limitar seu uso em diversas aplicações alimentícias (McCLEMENTS; RAO, 2011).

Possuem também relativa facilidade de reprodução em escala industrial, sendo mais simples de implementar, gerando menor custo quanto aos equipamentos e quantidade de energia utilizados. Devido a estes motivos, tem havido um crescente interesse no desenvolvimento destes métodos e a utilização dos mesmos em diversas aplicações industriais (ANTON; VANDAMME, 2009; YANG et al., 2012; SALAGER et al., 2004).

A diferenciação destes se dá pela na mudança na estrutura do tensoativo ao serem formadas as nanoemulsões. Se a formação for desencadeada pela rápida difusão do tensoativo a partir da fase dispersa para a fase contínua, sem envolver modificações na curvatura do tensoativo, então o método é classificado como emulsificação espontânea. Se ocorrem alterações na curvatura do tensoativo, então o método é classificado como inversão de fase (ANTON; VANDAMME, 2009; YANG et al., 2012; SOLANS; SOLÉ, 2012).

2.1.1 Métodos de Produção de Nanoemulsões de Baixa Energia por Inversão de Fases

Os métodos de produção de nanoemulsões por inversão de fases consistem na conversão de uma emulsão de óleo em água (O/A) para uma emulsão óleo em água (A/O) ou vice-versa. Os métodos de inversão de fases incluem os métodos da temperatura de inversão de fase (*PIT- phase inversion temperature*), inversão da composição das fases (*PIC- phase inversion composition*) e ponto de inversão da emulsão (*EIP- emulsion inversion point*) (MAYER; WEISS; McCLEMENTS, 2013; McCLEMENTS; RAO, 2011).

Tais métodos baseiam-se nas inversões de fase catastrófica ou transicional. A inversão de fase transicional ocorre por mudanças na formulação, como alteração de parâmetros físico-químicos do tensoativo, na fase oleosa ou na fase aquosa, as quais podem alterar a afinidade do tensoativo pelas fases. Tais alterações originam uma grandeza denominada HLD, ou desvio hidrofílico lipofílico (*Hydrophilic Lipophilic Deviation*). A Equação (2) é um

exemplo de equação utilizada para a obtenção do HLD para tensoativos não-iônicos (SALAGER et al., 2000; WITTHAYAPANYANON; HARWELL; SABATINI, 2008).

$$\text{HLD} = \alpha - \text{EON} - k \text{ ACN} + b S + \phi(A) + cT (T - T_{\text{ref}}) \quad (2)$$

onde: EON = número de grupos de óxido de etileno por molécula de tensoativo não-iônico, α é uma função linear do número de átomos de carbono no grupo alquilo (CSN); S = salinidade da fase aquosa (concentração mássica de NaCl); K = constante empírica que depende do grupo presente na cabeça do tensoativo; ACN = número de alcanos presentes no mol, que, indiretamente, indica a hidrofobicidade da fase oleosa; (A) = leva em conta a presença de álcool; σ = parâmetro característico do tipo de tensoativo; T = temperatura do sistema, e ΔT é a diferença de temperatura do sistema e a temperatura de referência ($T_{\text{ref}} = 25^\circ\text{C}$) (SALAGER et al., 2000; WITTHAYAPANYANON; HARWEL; SABATINI, 2008).

O parâmetro S (salinidade) leva em consideração a concentração de NaCl e pode gerar uma condição ideal, em que $\text{HLD} = 0$ e assim, o tensoativo apresenta a mesma afinidade com as fases oleosa e aquosa, interagindo igualmente entre elas e assim, se acumula mais facilmente na interface água e óleo. HLD positivo significa que o tensoativo tem maior afinidade lipofílica, HLD negativo, maior afinidade hidrofílica (SALAGER et al., 2000, 2004; WITTHAYAPANYANON; HARWELL; SABATINI, 2008).

No método PIT é possível modificar o HLD por alteração da temperatura, ocorrendo uma inversão transicional, ou seja, a afinidade do tensoativo entre as fases oleosa e aquosa é modificada, causando a inversão destas. A inversão de fases catastrófica, por sua vez, ocorre por meio de alterações na composição do sistema, como por exemplo, alterações na razão água/óleo (WOR), como ocorre no método EIP. Uma esquematização destes processos pode ser visualizada no diagrama de fases na Figura 5. As inversões de fases transicional e catastrófica ainda podem ocorrer por meio de outras alterações como concentração do tensoativo, razão óleo/tensoativo (SOR), velocidade de agitação, vazão de adição da fase aquosa e concentração de eletrólitos presente no meio (JAHANZAD et al., 2009; SAJJADI; JAHANZAD; YIANNESKIS, 2004).

Figura 5: Dinâmica do comportamento de fases por inversão de fase transicional e catastrófica.

Fonte: (adaptado de OSTERTAG; WEISS; MCCLEMENTS, 2012).

No diagrama mostrado na Figura 5, na abscissa localiza-se a razão óleo/água utilizada na produção da nanoemulsão (WOR). A inversão de fase catastrófica é mostrada pela seta horizontal, sendo que esta ocorre por meio de variações na composição do sistema. Já a inversão de fase transicional é representada pela seta vertical, que indica a inversão das fases por meio de variações no HLD (ordenada do diagrama). (SAJJADI; JAHANZAD; YIANNESKIS, 2004, McCLEMENTS e RAO, 2011).

Em regiões denominadas como A, as fases oleosa e aquosa possuem valores bastante próximos, ($WOR \approx 1$) e assim, tanto a formação de emulsões O/A e A/O são favorecidas. Por sua vez, nas regiões denominadas como B, a fase oleosa está em maior quantidade e assim a formação de emulsões do tipo A/O é favorecida. Nas regiões denominadas como C, a fase aquosa está em maior quantidade e assim, a produção de emulsões do tipo O/A é favorecida. Se todos os fatores (HLD, sinal, WOR e letra) são favoráveis à formação de um tipo de emulsão, então esta emulsão é denominada “normal” e tende a ser estável. Entretanto, se o fator formulação favorecer a formação de um tipo de emulsão, mas o fator composição favorecer à outra, este sistema é dito ser “anormal” e tende a ser instável. Um exemplo deste é o caso de o tensoativo estar inicialmente na fase em que ele possui menor afinidade, ou seja, um tensoativo hidrofílico estar inicialmente na fase oleosa, o que ocorre no método EIP. Assim, pode se definir os regimes (A - , A + , B + e C -) como “normais” (estáveis) e os regimes (B - e C +) como “anormais” (instáveis). As emulsões “anormais” são geralmente instáveis à coalescência e separação de fases e assim, emulsões múltiplas (O/A/O ou A/O/A)

podem ser formadas nas regiões próximas aos limites das fases causadas pela inclusão de uma fase em outra, até que ocorra enfim, a inversão de fases e consequentemente a inversão de uma emulsão O/A em A/O e vice-versa (LEAL – CALDERON; SCHNITT; BIBETTE, 2007; McCLEMENTS; RAO 2011; JAHANZAD et al., 2009; BERNEWITZ et al., 2014) .

Como já citado, valores positivos de HLD indicam maior afinidade do tensoativo com a fase aquosa, por isso a preferência para formação de emulsões O/A nesta região do gráfico. Nesta região, ocorre também a formação da forma micelar do tensoativo que são representadas por letras e sinal positivo (A+, B+, C+), neste, a fase oleosa contém micelas do tensoativo e a fase aquosa contém monômeros do tensoativo na concentração micelar crítica (CMC). Por sua vez, valores negativos de HLD indicam maior afinidade do tensoativo com a fase oleosa, por isso há, preferencialmente, a formação de emulsões A/O na região negativa de HLD e nesta região ocorre a formação da estrutura micelar reversa, que são representadas por letras e sinal negativo (A-, B-, C-). Como dito também, em HLD igual a zero, o tensoativo apresenta afinidade lipofílica e hidrofílica, formando assim, estruturas bicontínuas ou lamelares (SAJJADI; JAHANZAD; YIANNESKIS, 2004; BROOKS; RICHMOND, 1994; McCLEMENTS; RAO, 2011).

Diante das definições expostas, pode-se então compreender o diagrama da Figura 6. Uma vez que foram estabelecidas as condições ótimas (WOR/HLD) para a formação da nanoemulsão por inversão de fase, pode-se prever o comportamento (hidrofilicidade ou lipofilicidade) do tensoativo quando o sistema for modificado (por exemplo, por adição de sal, álcool, óleo, modificação da temperatura e cosolvente). Se uma nanoemulsão poderá ou não ser formada por estas modificações, irá depender da quantidade de tensoativo, bem como o método utilizado (alta ou baixa energia) e seus parâmetros de produção, visto que o tamanho das gotículas sofre variações antes e depois do ponto de inversão de fase (LEAL–CALDERON; SCHNITT; BIBETTE, 2007; McCLEMENTS; RAO 2011).

2.1.1.1 Método do Ponto de Inversão da Nanoemulsão (EIP)

O método do ponto de inversão da emulsão (EIP) ocorre por meio da inversão de fase catastrófica, em que a razão das fases oleosa/aquosa é alterada, sendo que as propriedades do tensoativo permanecem constantes. O mecanismo de produção de nanoemulsões pelo método EIP é apresentado na Figura 6:

Figura 6: Representação esquemática do método ponto de inversão de fase da emulsão.

Fonte: (adaptado de McCLEMENTS; RAO, 2011).

Como mostrado na Figura 6, inicialmente ocorre a adição da fase aquosa para uma fase orgânica contendo óleo e um tensoativo hidrofílico. Em baixas quantidades de adição da fase aquosa, gotas de água são formadas dentro da fase oleosa (emulsão A/O). No entanto, uma vez que um teor de água crítico é excedido, a taxa de coalescência das gotículas de água excede a taxa de coalescência de gotículas de óleo, assim, o equilíbrio entre a coalescência e a quebra das gotículas não pode mais ser mantido, ocorrendo a formação de emulsões múltiplas e após, as fases se invertem passando de uma emulsão A/O para O/A (SAJJADI; JAHANZAD; YIANNESKIS, 2004; BROOKS; RICHMOND; 1994).

O aumento da quantidade de fase aquosa muda a curvatura espontânea do tensoativo e este forma uma monocamada flexível na interface da fase oleosa e aquosa. Com o aumento da fase aquosa, ocorre a migração do tensoativo da fase oleosa para a aquosa, visto que trata-se de um tensoativo hidrofílico que está inicialmente em um ambiente desfavorável - anormal (fase oleosa), migrando para sua fase de ambiente favorável (aquosa). Durante esta dispersão do tensoativo ocorre a emulsificação e modificações em sua estrutura; passando por estruturas intermediárias, como lamelar e bicontínua até o ponto de inversão (EIP), e finalmente, decompondo em gotículas de óleo menores como mostrado na Figura 7 (FERNANDEZ et al.; 2004; BROOKS; RICHMOND, 1994; JAHANZAD et al., 2009; BERNEWITZ et al., 2014).

Figura 7: Formação das estruturas micelar e bicontínua para inverter uma emulsão A/O para O/A.

Fonte: (adaptado de FERNANDEZ et al., 2004).

Então, devido ao aumento do volume de água no sistema, a partir de uma emulsão de A/O) forma-se uma emulsão múltipla (O/A/O), e, finalmente, uma emulsão (O/A) com gotículas de tamanho reduzido (FERNANDEZ et al.; 2004; BROOKS; RICHMOND, 1994; JAHANZAD et al., 2009).

Segundo Bernewitz et al., 2014 e Jahanzad et al., 2009 este processo ocorre por meio de dois tipos de difusões, primeiramente da fase aquosa na fase oleosa (emulsão externa) e posteriormente, das gotas de óleo dentro das gotículas de água (emulsão interna). Este fenômeno é o que forma as emulsões múltiplas e estas levam então, à formação da emulsão final estável, invertendo assim uma emulsão inicial A/O à uma emulsão final O/A e vice – versa, como mostrado na Figura 8.

Esta formação de gotículas pequenas é facilitada pelo fato de a tensão interfacial ser mínima no ponto EIP. Quanto maior a concentração de tensoativo e tempo de agitação (parâmetros de produção), melhor a formação das gotículas pequenas de óleo (solubilização do óleo), e melhor também a formação das estruturas intermediárias: lamelar e bicontínua (O/A/O). Estes dois fatores juntos contribuem para uma melhor distribuição de tamanho das gotículas alcançado e são fundamentais para este fim (FERNANDEZ et al.; 2004; BROOKS; RICHMOND, 1994; JAHANZAD et al., 2009; BERNEWITZ et al., 2014).

Figura 8: Representação esquemática do processo de inversão de fases pelo método EIP em função do tempo de agitação.

Fonte: (adaptado de JAHANZAD et al. 2009).

Para concentrações baixas de tensoativo, a solubilização de óleo não é completa, resultando em gotículas maiores. Portanto, existe uma concentração crítica mínima (CMC) necessária de tensoativo para garantir a formação das estruturas bicontínua e lamelar, que por sua vez se decompõem em gotículas de óleo de tamanho submicrométrico após a inversão de fase. Se o tensoativo estiver em excesso, este pode contribuir para a estabilidade da nanoemulsão (MAYER; WEISS; McCLEMENTS, 2013; FERNANDEZ et al., 2004; BROOKS; RICHMOND, 1994).

Assim, corrobora-se que o tensoativo tem grande importância na estabilidade das nanoemulsões a longo prazo e juntamente com a velocidade e tipo de agitação, taxa de adição de água (vazão) e ainda utilização de um cosolvente, consistem nas variáveis mais importantes para o método de produção de emulsão por inversão de fase (EIP), influenciando no valor da concentração crítica (aquosa) em que a inversão ocorre, bem como no tamanho das gotículas produzidas (McCLEMENTS; RAO 2011; OSTERTAG; WEISS; McCLEMENTS, 2012). Neste contexto, o estudo destas variáveis torna-se importante para o desenvolvimento deste método.

2.3 Influência dos Tipos de Impelidores em um Processo de Agitação

Um processo de emulsificação, por ser uma operação envolvendo a mistura de líquidos imiscíveis, normalmente envolve um grande número de variáveis operacionais. Todas as fases da emulsificação - a quebra das gotículas; a difusão do tensoativo pelas fases dispersa e contínua, bem como a coalescência das gotículas são influenciadas pela agitação do meio, que pode ser realizada por meio mecânico. Existem diferenças geométricas nos impelidores

utilizados para produzir emulsões, que fornecem diferentes padrões de fluxo, o que, por sua vez, leva a diferenças na distribuição das forças de cisalhamento no meio líquido (BRITO et al, 1992; SANCHEZ et al., 1998, 2001).

Pode-se dizer que o tipo de impelidor é fator determinante na troca de massa e energia no sistema agitado e são classificados de acordo com o regime de mistura que imprimem ao meio agitado: laminar, turbulento ou transicional. De modo geral, no escoamento laminar o diâmetro do impelidor se aproxima do diâmetro do tanque, uma vez que o transporte de quantidade de movimento neste, é baixo. No escoamento turbulento a transferência da quantidade de movimento é maior, e o diâmetro do impelidor varia de um quarto a metade do diâmetro do tanque (SILVA, 2002; TATTERSON, 1991; UPADYAHY et al., 1994).

Os impelidores também podem ser classificados de acordo com o tipo de escoamento que geram no meio agitado: axial, radial, tangencial ou misto. Para os de fluxo axial a principal direção da descarga do fluido do impelidor coincide com a direção do eixo do agitador e são geralmente utilizados nas aplicações de fluxo controlado, suspensão de sólidos e transferência de calor que requer alta eficiência de bombeamento. Para os de fluxo radial a principal direção da descarga do fluido do agitador coincide com a direção normal ao eixo de rotação. Estes são mais utilizados para transferência de massa líquido-líquido e gás-líquido. Os de fluxo tangencial, a direção de descarga do líquido atua próximo e paralelo ao círculo de rotação do eixo-impelidor, os quais são aplicados para agitar líquidos de altas viscosidades (SILVA, 2002; OLDSHUE, 1983; MARTINI, 2010; UPADYAHY et al., 1994). A Figura 9 ilustra os diferentes tipos de fluxo que podem ocorrer em um tanque agitado:

Figura 9: Fluxos radial, axial e tangencial para impelidores.

Fonte: (adaptado de OLDSHUE, 1983).

A escolha do tipo de impelidor a ser adotado é função das especificações de cada processo, e os fluxos gerados determinam diferentes relações entre bombeamento e cisalhamento. Como exemplo, a Figura 10 mostra a estrutura e o tipo de fluxo característico dos impelidores do tipo disco de Cowles, âncora e hélice naval.

Figura 10: Diferentes tipos de impelidores e seus fluxos característicos: (a) disco Cowles, em (b) hélice naval e em (c) âncora.

Fonte: (adaptado de MARTINI, 2010; MIRRO, R. VOLL, K. Which impeller is right for your cell line. Bioprocess International. 2009. Disponível em: <<http://www.bioprocessintl.com/analytical/cell-line-development/which-impeller-is-right-for-your-cell-line-183538/>>).

O impelidor tipo âncora é utilizado onde se requer um baixo nível de turbulência num fluido viscoso, operando em regime laminar. Este impelidor produz fluxo tangencial, impulsionando o fluxo em movimento circular, paralelo à parede do tanque, sendo utilizado também como raspador (minimiza a formação de depósitos) e possui elevado consumo de energia (SILVA, 2002; OLDSHUE, 1983; MARTINI, 2010).

O impelidor tipo disco de Cowles produz um forte fluxo radial que impulsiona este fluxo para as paredes do tanque, possui alto cisalhamento podendo muitas vezes apresentar certa agressividade dependendo do produto processado (OLDSHUE, 1983; MARTINI, 2010).

O impelidor do tipo hélice naval produz fluxo axial que impulsiona o fluxo para o fundo do tanque, apresenta menor cisalhamento e menor consumo de energia, sendo assim, menos agressivos ao produto processado (OLDSHUE, 1983; MARTINI, 2010).

2.4 Curcumina: Estrutura, Propriedades e Microencapsulação

A curcumina é o princípio ativo extraído do rizoma da *Curcuma longa*, uma planta herbácea da família *Zingiberaceae*, nativa da Índia. De grande interesse econômico, a curcumina é o rizoma seco e moído, popularmente chamado de açafrão e tem sido amplamente utilizado na alimentação como corante e flavorizante. O condimento *curry*, por exemplo, é uma mistura de especiarias, sendo a cúrcuma um de seus ingredientes principais. Além disso, é utilizada como remédio caseiro para uma variedade de doenças há séculos pela medicina indiana (PEREIRA; STRINGHETA, 1998; AGGARWAL et al., 2005; NAKSURIYA et al., 2014).

Diferentes espécies de cúrcuma são nativas de países do sudeste asiático, contudo, a Índia é o seu principal produtor. A maioria das espécies cresce em regiões de clima quente e úmido, com características de regiões subtropicais e tropicais (AHMED et al., 2012; PEREIRA; STRINGHETA, 1998). A planta e o rizoma da *Curcuma longa* é mostrada na Figura 11.

Figura 11: Planta e rizoma da *Curcuma longa* L.

Fonte: (CIAGRI USP. Plantas medicinais: açafrão, cúrcuma ou zedoária. 2015. Disponível em: <http://www.ci-67.ciagri.usp.br/pm/ver_1pl.asp?_cod=144>).

O rizoma da cúrcuma tem como principais constituintes o óleo essencial, amido, proteínas e fibras; além dos pigmentos curcuminoides que são compostos por três substâncias principais: a curcumina (77%), a desmetoxicurcumina (17%) e a bisdesmetoxicurcumina (3%). Esses pigmentos são estáveis a pH ácido, são sensíveis a luz, porém altamente estáveis ao calor (PEREIRA; STRINGHETA, 1998; ANUCHAPREEDA et al., 2012; YAN et al., 2011).

Nas últimas décadas, a *Curcuma longa* L. foi uma das plantas mais pesquisadas devido às suas propriedades funcionais, sendo a curcumina seu principal agente farmacológico. A curcumina é caracterizada como um antioxidante fenólico de cor amarela natural praticamente insolúvel em água e solúvel em metanol, etanol, acetona, dimetilformoldeído (DMF), dimetilsufóxido (DMSO), clorofórmio, acetonitrila (ACN). Sua estrutura química é composta por dois anéis metoxifenóis, que são simetricamente ligados em conjugação através da porção β -dicetona) (CHIGNELL et al., 1994; NAKSURIYA et al., 2014; SEETTHACHEEWAKUL et al., 2010), conforme apresentado na Figura 12.

Figura 12: Estrutura química da curcumina.

Fonte: (NAKSURIYA et al. 2014).

Os pigmentos da curcumina absorvem a luz visível em comprimento de onda entre 420-425 nm e possuem grande suscetibilidade à degradação fotoquímica, o que se torna uma limitação importante para sua aplicação em matrizes alimentícias. Segundo estudos, é segura a ingestão de até 12 g/dia para seres humanos (THF) (CHIGNELL et al., 1994; NAKSURIYA et al., 2014; SEETTHACHEEWAKUL et al., 2010; ANUCHAPREEDA et al., 2012).

A curcumina exibe diversas atividades farmacológicas contra muitas doenças crônicas, incluindo diabetes tipo II, artrite, esclerose múltipla, doença de Alzheimer e aterosclerose. Também inibe a agregação de plaquetas, suprime trombose e inibe a replicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Além disso, a curcumina melhora a cicatrização de feridas e protege contra a lesão hepática, formação de catarata e fibrose pulmonar. Muitas outras atividades farmacológicas também foram constatadas como atividade antiinflamatória, antioxidante, antibacteriana, antifúngica, antitumoral, anti-hipertensivo, antiviral, atividade cardioprotetora, hepatoprotetora, hipoglicêmica, neuroprotetora, inibe distúrbios respiratórios e melhora lesões gástricas (NAKSURIYA et al., 2014; ANUCHAPREEDA et al., 2012; XIA, et al., 2007; YAN et al., 2011).

Na atividade antitumoral, pesquisas clínicas e laboratoriais têm demonstrado o potencial da curcumina na prevenção e no tratamento, apresentando efeitos anti proliferativos e pró-apoptóticos contra diversos tipos de tumor, incluindo tumores de mama, próstata,

fígado, melanoma, leucemia, câncer de cólon, duodenal, estômago, pulmão, esofágico e oral. A curcumina contribuiu com a inibição da formação e progressão do tumor, sendo descrita como um bom agente anti-angiogênico (GUPTA et al., 2012; NAKSURIYA et al., 2014; ANUCHAPREEDA et al., 2012).

Uma esquematização das diferentes ações benéficas da curcumina pode ser visualizada na Figura 13.

Figura 13: Esquematização das propriedades funcionais da curcumina.

Fonte: (adaptado de AGGARWAL et al. 2005 e NAKSURIYA et al., 2014).

Devido a essas propriedades benéficas, a indústria alimentícia tem tentado aumentar o uso de curcumina como aditivo natural, uma vez que este composto não apresenta toxicidade mesmo em altas concentrações. Outro aspecto importante que pode ser centrado em estudos sobre a curcumina é que ele pode ser usado para substituir corantes amarelos artificiais, como amarelo # 5 e # 6, que são conhecidos por ter um potencial alergênico, especialmente para as crianças (HANNUKSELA; HAAHTELA, 1987; MOUTINHO; BERTGES; ASSIS, 2007; BASNET; SKALKO-BASNET, 2011; STANKOVIC, 2004; STRIMPAKOS; SHARMA, 2008).

Apesar dos seus vários atributos benéficos, curcumina é uma molécula hidrofóbica ($\log P_{ow} = 3,07$) com baixa solubilidade em água (0,052 g / l), grande sensibilidade à luz, e estas características resultam em duas desvantagens: (i) uma dificuldade tecnológica para ser incorporado em meios aquosos (no caso das formulações da maioria dos alimentos); (ii) um baixo grau de biodisponibilidade, típica das substâncias lipofílicas (McCLEMENTS, 2012).

Muitas tentativas têm sido feitas para reverter estas desvantagens, e quase todos eles estão relacionados com a utilização de técnicas de microencapsulação, especialmente em matrizes lipídicas. O desenvolvimento de novos sistemas de liberação de curcumina tem sido objeto de inúmeros estudos visando melhorar a aplicação deste bioativo, aumentando sua biodisponibilidade. Alguns exemplos são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Exemplos de sistemas de liberação de curcumina.

Sistema de Liberação	Referência
Lipossomas	Barui et al, 2014; Karewicz et al, 2013; Takahashi et al, 2008
Partículas Lipídicas Sólidas	Rahman, Ramanathan e Sankar, 2014; Sanghoon et al, 2014.
Nanoemulsões	Sari et al, 2014; Tikekar et al, 2013; Anuchapreeda et al, 2012.

Fonte: (BARUI et al. Simultaneous delivery of doxorubicin and curcumin encapsulated in liposomes of pegylated RGDK-lipopeptide to tumor vasculature. *Biomaterials*, v. 35, n.5, p. 1643-1656, 2014, ANUCHAPREEDA et al. Preparation of lipid nanoemulsions incorporating curcumin for cancer therapy. *Journal of Nanotechnology*, p. 1-11, 2012, KAREWICZ, et al. Curcumin-containing liposomes stabilized by thin layers of chitosan derivatives. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 109, p.307- 316, 2013, RAHMAN, et al. Preparation, characterization and in vitro cytotoxicity assay of curcumin loaded solid lipid nanoparticle in IMR32 neuroblastoma cell line. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 27, p. 1281-1285, 2014, SANGHOON, et al. pH-controlled delivery of curcumin from a compartmentalized solid lipid nanoparticle mesostructured silica matrix. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 2, p.7910-7917, 2014, SARI, et al. Preparation and characterization of nanoemulsions encapsulating curcumin. *Food Hydrocolloids*, v. 43, p. 540-546, 2015, TAKAHASHI, et al. Evaluation of an oral carrier system in rats: bioavailability and antioxidant properties of liposome-encapsulated curcumin. *Journal of Agric. Food Chem*, v. 57, p. 9141-9146, 2008, TIKEKAR, et al. Fate of curcumin encapsulated in silica nanoparticle stabilized Pickering emulsion during storage and simulated digestion. *Food Research International*, v. 51, n.1, p. 370-377, 2013).

A nanotecnologia é um dos métodos mais eficaz na liberação de curcumina. Muitos estudos têm mostrado a viabilidade da utilização de nanoemulsões lipídicas para este fim. As nanoemulsões apresentam vantagens como a biocompatibilidade, a biodegradabilidade, estabilidade física e facilidade de produção em larga escala. E uma vez que a curcumina tem uma natureza hidrofóbica, pode ser encapsulada por uma nanoemulsão lipídica, tornando esse, um mecanismo promissor de administração e liberação da curcumina; melhorando a estabilidade durante o armazenamento e protegendo a curcumina dos processos metabólicos

digestivos (NAKSURIYA et al., 2014; SEETTHACHEEWAKUL et al., 2010; ANUCHAPREEDA et al., 2012; WANG et al., 2008).

Um outro problema que pode resultar da incorporação de curcumina na alimentação é devido ao seu sabor picante típico, que podem alterar significativamente as propriedades sensoriais do produto (especialmente produtos doces) e diminuir significativamente a sua aceitação por parte dos consumidores. A microencapsulação também pode ajudar a minimizar este efeito indesejável num produto alimentar (DESAI; PARK, 2005; GOUIN, 2004).

2.3 Sorvete

Os sorvetes são alimentos enquadrados na categoria de gelados comestíveis pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Sendo definidos como produtos alimentícios obtidos a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias, ou de uma mistura de água, açúcares e outros ingredientes ou substâncias que tenham sido submetidas ao congelamento, em condições tais que garantam conservação do produto no estado congelado ou parcialmente congelado durante a armazenagem, o transporte e a entrega ao consumo (BRASIL, 2005). Mais especificamente, é considerado uma combinação de componentes congelados como leite, estabilizantes, emulsificantes agentes flavorizantes e adoçantes (MARSHALL; GOFF; HARTEL, 2003).

A produção de tipos de sorvetes é classificada, segundo a ANVISA, em:

- sorvetes de massa ou cremosos: são misturas homogêneas ou não de ingredientes alimentares, batidas e resfriadas até o congelamento, resultando em massa aerada.
- picolés: são porções individuais de gelados congelados de ingredientes alimentares, com ou sem batimento geralmente suportado por uma haste.
- produtos especiais gelados (*soft*): são os gelados mistos constituídos por gelados comestíveis em combinação com alimentos não gelados, representados por porções interna e ou externamente ao conjunto, tais como: sanduíche de sorvete, bolo de sorvete, torta gelada (BRASIL, 2005).

Dentre esses produtos, o sorvete de massa é um dos mais populares entre os consumidores, sendo apreciado pelo público em geral, independentemente da idade ou poder aquisitivo (CRUZ et al., 2009). Tal afirmação é confirmada pela Associação Brasileira das Indústrias e do Setor de Sorvetes – ABIS (2014), como mostrado pela Figura 14, que exemplifica um maior consumo de sorvetes de massa no Brasil comparados com os sorvetes picolé e *soft* (ABIS, 2014).

Figura 14: Consumo brasileiro de sorvetes de massa, picolés e soft entre os anos 2003 e 2014: (■) sorvete de massa, (■) picolé e (■) soft.

Fonte: (adaptado de ABIS, 2014).

Em relação ao consumo total de sorvetes, os brasileiros consumiram 1305 milhões de litros em 2014, com um aumento de 90,5% entre 2003 e 2014, como podem ser visto na Figura 15.

Figura 15: Consumo brasileiro de sorvetes entre os anos 2003 e 2014.

Fonte: (adaptado de ABIS, 2014).

O crescimento do consumo de sorvete estimula estudos a respeito de agregação de valores a este produto, o que pode ocorrer por meio da incorporação de componentes bioativos (CRUZ et al., 2009).

Em relação à percepção do sabor e da textura do sorvete sentido pelo consumidor, ela está baseada na estrutura desse alimento, sendo considerada como um dos seus principais atributos por se tratar de uma mistura heterogênea e tecnologicamente, como um coloide complexo, o qual é formado por bolhas de ar, glóbulos de gordura, cristais de gelo (fase descontínua) e por proteínas, carboidratos, sais e gomas, a qual caracteriza-se por ser líquida e não congelada (fase contínua). Na estrutura, a fase descontínua está recoberta pela fase contínua, ou seja, as bolhas de ar são parcialmente recobertas por glóbulos de gordura e estes recobertos por uma camada de proteína/emulsificante (SOLER; VEIGA 2001; GOFF, 1997; PEREDA et al., 2005).

Esta estrutura, porém, é influenciada pelas etapas do processamento: homogeneização, maturação e principalmente pelo congelamento. Durante o processamento da calda ocorre a homogeneização da mistura (formação da emulsão) e também a distribuição do tamanho dos glóbulos de gordura, por meio da adsorção das proteínas. Posteriormente, a calda é resfriada e mantida ao processo de maturação por um intervalo de até 24 horas à temperatura entre 0 e 4 ° C. Nessa etapa, tem início a cristalização da gordura e a completa hidratação de ingredientes secos, como proteínas e estabilizantes. Após a etapa de maturação, a mistura é submetida ao processo de cristalização com agitação, que se refere ao congelamento parcial do produto simultânea à incorporação de ar. Nesta etapa, a mistura líquida é transformada num produto viscoso com estrutura semi-sólida, constituída de multifases (GOFF; HARTEL, 2013; EISNER; WILDMOSER; WINDHAB, 2005; CLARKE, 2003), que está esquematizada na Figura 16:

Figura 16: Estruturas formadas no sorvete após o processamento, em (a) microscopia eletrônica da estrutura do sorvete e em (b) estrutura do sorvete com constituintes que não são completamente visíveis em (a).

Fonte: (adaptado de GOFF, H.D.; HARTELL, R. W. Ice Cream. 7ª ed., New York, Springer, 462p., 2013 e GOFF, 1997).

Os glóbulos de gordura se concentram na superfície da célula de ar durante o congelamento do sorvete. A quantidade de glóbulos deve ser suficiente para formar a camada que recobre a bolha de ar, aumentando assim a resistência de sua lamela, dando ao sorvete firmeza residual depois da fusão dos cristais de gelo; o que ocorre pela diminuição do seu tamanho, ocasionado pelo aumento da concentração de gordura; isto é muito importante para a mastigação (PEREDA, 2005; SOLER; VEIGA, 2001).

A quantidade de ar incorporada em relação ao volume do produto, também denominado de *overrun*, define a área superficial do ar a ser recoberta pela gordura livre e pelos glóbulos isolados (MOSQUIM, 1999; CLARKE, 2003).

A composição do sorvete também interfere nas suas características físicas porque está relacionada com o processo, que influenciará diretamente o estado de agregação dos glóbulos de gordura, a quantidade de ar incorporada, o tamanho das bolhas de ar, a viscosidade da fase aquosa e o tamanho e estado de agregação dos cristais de gelo. A viscosidade da mistura é afetada pela composição (principalmente gordura e estabilizante) e com seu aumento, aumentam também a resistência ao derretimento e a cremosidade do sorvete (GOFF; HARTEL, 2013).

A utilização de emulsificantes é importante por afetar a estrutura de gordura, através do deslocamento de proteínas da interface com o ar, e por tornar os glóbulos de gordura mais suscetíveis à coalescência parcial (GOFF, 1997; SOLER; VEIGA, 2001).

A gordura é constituinte de grande importância por favorecer a percepção do sabor e aroma, além de lubrificar a boca durante o consumo e também contribuir com a textura do

sorvete. Além disso, ajuda a estabilizar a espuma, que é responsável pela textura cremosa do produto e também adiminuir a velocidade de derretimento do sorvete (GOFF; HARTEL, 2013).

A sacarose tem como principal função conferir sabor doce. Porém, contribui com o teor de sólidos na fase contínua do sorvete e regula a formação de cristais de gelo no sorvete por meio da redução do ponto de congelamento do produto (SOLER; VEIGA, 2001; GOFF; HARTEL, 2013).

Os estabilizantes ajudam na estabilidade da emulsão, prevenindo a fusão da gordura. Por possuírem propriedades hidrofílicas, que retém a água, evitam a formação de cristais grandes que ocorrem principalmente nas flutuações de temperatura. O mecanismo consiste em reduzir a água livre do sistema, ligando-se à água e, conseqüentemente, imobilizando-a dentro de uma estrutura de gel (SANTOS, 2008).

Os emulsificantes são compostos de natureza hidrofílica-hidrofóbica que auxiliam na formação da estrutura dos glóbulos de gordura e bolhas de ar, promovendo uma textura mais resistente ao derretimento. Por atuar na redução da tensão interfacial entre a gordura e a água, possibilita a formação de uma membrana mais resistente à coalescência e uma melhor estabilização das bolhas de ar (GOFF, 2005; CRUZ et al., 2009).

Diante do exposto na revisão bibliográfica, o presente trabalho objetivou a produção de sorvete de massa de sabor abacaxi utilizando nanoemulsões com curcumina encapsulada como aditivo alimentício, buscando proporcionar benefícios para a saúde humana e também viabilizar este aditivo como uma possível substituição dos corantes mais utilizados para o sorvete de massa sabor abacaxi (corantes artificiais amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina).

Tais corantes artificiais podem gerar alguns efeitos adversos, como, por exemplo, alergias, urticárias, problemas gástricos e angioedemas, que são causados pela tinta azóica presente no corante amarelo crepúsculo. Já o amarelo tartrazina pode gerar reações alérgicas em asmáticos, problemas gástricos e estudos tem afirmado que possivelmente seja causa de insônia em crianças (MOUTINHO; BERTGES; ASSIS, 2007).

3. OBJETIVOS

O presente projeto de Mestrado objetivou produzir nanoemulsões encapsulando curcumina pelo método de baixa energia ponto de inversão da emulsão (EIP), determinando-se parâmetros de operação que viabilizassem um futuro escalonamento do processo e incorporação das dispersões em sorvete.

Para a obtenção deste objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram determinados:

- Definição dos parâmetros de produção da nanoemulsão como: vazão de entrada da fase aquosa, velocidade de agitação e tipo de impelidor;
- Obtenção de uma formulação específica, com concentração definida das fases oleosa e aquosa, envolvendo a escolha do tipo e da concentração do tensoativo e do cosolvente adequado;
- Encapsulação do bioativo hidrofóbico curcumina nas nanoemulsões produzidas e monitoramento de sua estabilidade ao longo do tempo de armazenagem.
- Incorporação da nanoemulsão contendo curcumina encapsulada em sorvete de massa sabor abacaxi, caracterização físico-química do produto, e avaliação da aceitação do sorvete por meio de avaliação sensorial ao longo do tempo de armazenagem.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Para a produção das nanoemulsões foi escolhido como lipídio o óleo de soja comercial (Liza), produzido pela Cargill (Mairinque, SP, Brasil). Os tensoativos testados foram o polisorbato 20 (Tween 20, Synth, Diadema, SP, Brasil), o polisorbato 60 (Tween 60, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA), o polisorbato 80 (Tween 80, Synth, Diadema, SP, Brasil) bem como glicerol (Synth, Diadema, SP, Brasil). A curcumina (CAS 7727, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) foi utilizada como bioativo a ser encapsulado. O benzoato de sódio (Synth, Diadema, SP, Brasil), foi utilizado como conservante. A água deionizada utilizada nos experimentos foi obtida de um sistema de ultrapurificação Direct Q3 (Millipore, Billerica, MA, EUA).

Os sorvetes foram produzidos utilizando-se uma mistura comercial de corantes amarelos e aroma de abacaxi (Algemix, Duas Rodas, Jaraguá do Sul, SC, Brasil), aroma líquido artificial de abacaxi (Duas Rodas, Jaraguá do Sul, SC, Brasil), glicose (Cargill, Porto Ferreira, SP, Brasil), emulsificante (Selecta, Duas Rodas, Jaraguá do Sul, SC, Brasil), estabilizante (Super liga neutra, Duas Rodas, Jaraguá do Sul, SC, Brasil), leite bovino integral pasteurizado (3% de gordura) obtido pela própria Prefeitura do Campus da USP de Pirassununga, gordura vegetal hidrogenada (Primor, Jaguaré, SP, Brasil), açúcar (Colombo, Ariranha, SP, Brasil), leite em pó (Selecta, Duas Rodas, Jaraguá do Sul, SC, Brasil) e ácido cítrico anidro (Cargill, Uberlândia, MG, Brasil).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Determinação das Condições Operacionais para Produção das Nanoemulsões pelo Método do Ponto de Inversão da Emulsão (EIP)

As nanoemulsões foram produzidas pelo método do ponto de inversão da emulsão (EIP), à temperatura ambiente (aproximadamente 25° C). Primeiramente, a fase oleosa- consistindo de óleo de soja, tensoativo (Tween 80, 60 ou 20) e curcumina - foi agitada magneticamente por 15 minutos. A fase aquosa (água e cosolvente glicerol, quando presente) foi então adicionada à fase oleosa por meio de uma bomba peristáltica (Masterflex, Easy-Load II, Cole Parmer, Vernon Hills, IL, EUA), curva padrão (APÊNDICE A), com vazão variando de 4 a 12 mL/min, enquanto a mistura foi agitada mecanicamente (300-500 rpm). Após o final da

adição da fase aquosa à fase oleosa, a dispersão resultante continuou a ser agitada durante 30 minutos, como mostra a esquematização do processo na Figura 17:

Figura 17: Esquematização do processamento para produção das nanoemulsões pelo método ponto de inversão da emulsão.

Fonte: (Própria autoria).

4.2.2 Definição da Razão Tensoativo/Óleo (SOR)

O primeiro parâmetro de processo estudado para a produção das nanoemulsões pelo método EIP foi o tipo e concentração de tensoativo por meio da razão SOR (tensoativo/óleo). Para estes testes a concentração de óleo foi fixada em 10% e o impelidor utilizado foi o disco cowles, com velocidade de agitação de 300 rpm e vazão de 4ml/min. As emulsões foram deixadas em repouso por 24 horas e após este tempo foram avaliadas visualmente. A Tabela 2 mostra os valores testados para definição do SOR para os tensoativos Tween 20, 60 e 80.

Tabela 2: Valores testados para definição da relação SOR para o tensoativo Tween 20, 60 e 80.

SOR	Tensoativo (%)	Óleo de soja (%)	Água (%)
0,10	1,0	10	89
0,30	3,0	10	87
0,50	5,0	10	85
0,75	7,5	10	82,5
1,0	10	10	80
1,25	12,5	10	77,5
1,5	15	10	75
2,0	20	10	70
2,5	25	10	65

Fonte: (Própria autoria).

Posteriormente, os melhores tensoativos e suas respectivas melhores relações SOR foram testadas com porcentagens de óleo de 10, 15 e 20% para verificar a estabilidade destas emulsões. As amostras foram feitas em triplicata e as proporções são mostradas na Tabela 3.

Tabela 3: Formulações testadas para diferentes porcentagens de óleo para os tensoativos Tween 60 e 80 sob as razões SOR de 1,25 e 1,0.

SOR	Tensoativo (%)	Óleo de soja (%)	Água (%)
Tween 60			
1,25	12,5	10	77,5
	18,75	15	66,25
	25	20	55
Tween 80			
1,0	10	10	80
	15	15	70
	20	20	60

Fonte: (Própria autoria).

4.2.3 Definição do Impelidor a ser Utilizado no Processo Emulsificação

Os tipos de impelidores testados no presente projeto de Mestrado foram o tipo disco Cowles, âncora e hélice naval, visando testar os três tipos de fluxo, axial, radial e tangencial. As estruturas destes impelidores estão apresentadas na Figura 18.

Figura 18: Diferentes tipos de impelidores e seus fluxos característicos: (a) hélice naval, em (b) disco Cowles e em (c) âncora.

Fonte: (adaptado de MARTINI, 2010).

Os testes foram realizados com a nanoemulsão mais estável da etapa anterior, a saber, Tween 80 com relação SOR=1 e 20% de óleo de soja. O impelidor disco Cowles foi testado

com velocidade de 500 rpm e vazão de 4 ml/ min por possuir menor potencial de cisalhamento e os impelidores hélice e âncora, por apresentarem maior potencial de cisalhamento, foram testados com velocidade de agitação de 300 rpm e vazão de 12 ml/min. As formulações estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4: Formulação das nanoemulsões testadas com diferentes tipos de impelidores.

Impelidor	Velocidade Agitação (rpm)	Vazão (ml/min)	Razão SOR	Porcentagem óleo (%)	Tensoativo Tween 80 (%)
Cowles	500	4	1	20	20
	< 500	> 4	1	20	20
Hélice naval	300	12	1	20	20
	> 300	< 12	1	20	20
Âncora	300	12	1	20	20
	> 300	< 4	1	20	20

Fonte: (Própria autoria).

4.2.4 Experimentos com Cosolvente Glicerol

O cosolvente glicerol foi testado com as formulações apresentadas na Tabela 5. Para este processo, o cosolvente foi adicionado à fase aquosa, tendo sido a nanoemulsão produzida pelo mesmo protocolo já descrito no item 4.2.

Tabela 5: Formulações contendo glicerol como cosolvente na fase aquosa, produzidas com o tensoativo Tween 80.

Glicerol (%)	SOR	Porcentagem óleo (%)	Água (%)
5	0,75	20	60
	1,25		50
10	0,75	20	55
	1		50
20	1,25	20	45
	0,75		45
30	1	20	40
	1,25		35
	0,75		35
	1		30
	1,25		25

Fonte: (Própria autoria).

4.2.5 Definição da Formulação da Nanoemulsão Encapsulante

Após a definição de vários parâmetros, como tipo e concentração de cosolvente, concentração de óleo de soja e os parâmetros de produção (impelidor, velocidade e vazão); apenas a concentração de tensoativo e sua respectiva relação SOR foram estudadas. As formulações estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6: Formulações das nanoemulsões encapsulantes.

Razão SOR	Tensoativo Tween 80 (%)	Cosolvente Glicerol (%)	Óleo de soja (%)	Água (%)
0,75	15	20	20	45
1,00	20	20	20	40
1,25	25	20	20	35

Fonte: (Própria autoria).

4.2.6 Produção de Nanoemulsões com Curcumina Encapsulada

A etapa de encapsulação da curcumina foi realizada com três diferentes porcentagens de bioativo (0,03%, 0,07% e 0,10%) em massa (g/100g) de nanoemulsão; e foram encapsuladas na nanoemulsão escolhida como mais viável como matriz encapsulante e sua formulação está apresentada na Tabela 7.

Tabela 7: Formulação das nanoemulsões produzidas com curcumina encapsulada.

Componente	Formulação da nanoemulsão		
Curcumina (%)	0,03	0,07	0,10
Oleo de soja (%)	20	20	20
Tensoativo (Tween 80) (%)	25	25	25
Glicerol (%)	20	20	20
Água deionizada (%)	34,95	34,91	34,88
Benzoato de sódio (%)	0,02	0,02	0,02

Fonte: (Própria autoria).

4.2.7 Determinação do Diâmetro Médio e Distribuição do Tamanho de Gota

O diâmetro médio hidrodinâmico e a distribuição de tamanho das gotas foram determinados por espectroscopia de correlação de fótons (PCS, por espalhamento de luz) utilizando-se o equipamento ZetaPlus (Brookhaven Instruments Company, Holtsville, NY, EUA) a 25 °C. O comprimento de onda do laser foi 657 nm, em ângulo de incidência a 90°. As dispersões foram diluídas em água deionizada para evitar o efeito de espalhamento múltiplo. As análises de dados foram realizadas pelo software incluso no sistema (90Plus). Para cada medida foram feitas dez corridas, fornecendo como resultado uma média do diâmetro hidrodinâmico e a distribuição de tamanho de gotículas encontrado em toda a amostra.

4.2.8 Quantificação da Curcumina Encapsulada nas Nanoemulsões

A curcumina encapsulada nas nanoemulsões foi determinada por meio da extração da mesma com dimetilsulfóxido (DMSO) (CHIGNELL, et al., 1994), usando uma diluição da amostra em 25x. A concentração da curcumina foi determinada por leitura da absorbância das amostras a 424 nm e a absorbância foi convertida à concentração de curcumina utilizando uma curva padrão com $R^2 = 0,997$ (APÊNDICE B).

4.2.9 Quantificação da Oxidação Lipídica em Nanoemulsões

A determinação da oxidação lipídica das nanoemulsões durante a armazenagem foi realizada quantificando substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), mensurando assim os produtos da reação de oxidação de lípidos. Uma solução de TCA (ácido tricloroacético) e TBA-HCl foi preparada pela mistura de 15 g de TCA, 0,33 g de TBA, 1,8 mL de 12 M de HCl e 83 mL de água deionizada. Esta solução sofreu acréscimo de 3 mL de 2% mássico de BHT em etanol, desta, foram retirados 2 mL de solução e misturados com 2 mL da amostra de emulsão. Após, foram aquecidos em banho a 99° C durante 15 min, resfriados até a temperatura ambiente e centrifugados a 1000g por 15 min, utilizando uma centrífuga (Z326K, Hermle, Wehingen, BW, Alemanha). A absorbância foi medida a 532 nm usando um espectrofotômetro (Libra 22S, Biochrom, Cambridge, UG, Reino Unido) e as concentrações de TBARS foram determinadas a partir da curva padrão (APÊNDICE C), preparada com 1,1,3,3 tetraetoxipropano (TEP) (LEE et al., 2011).

4.2.10 Determinação da Densidade e Tensão Interfacial

As densidades foram obtidas pelo densímetro DMA4500 (Anton Paar, São Paulo, SP, Brasil), no Laboratório de Engenharia de Separações do Departamento de Engenharia de Alimentos/FZEA/USP. Estes dados foram utilizados como entrada para cálculo da tensão interfacial. Os valores de tensão interfacial foram obtidos utilizando o tensiômetro de força Sigma 702 (Attension, Espoo, Finlândia) com anel de Du Nouy de Platina-Irídio, com raio de 9,545 mm e raio do filamento de 0,185 mm, no Laboratório Multiusuário de Análise de Alimentos (ZEA). Para avaliar o comportamento da tensão interfacial ao longo do tempo, foi utilizado o tensiômetro Tracker S (Teclis, Longessaigne, França), pelo método de gota pendente. Todos os ensaios foram conduzidos a 25 ° C.

4.2.11 Determinação do Ponto de Inversão da Emulsão

As medidas de condutividade elétrica durante a inversão de fases, ou seja, enquanto ocorria a adição da fase aquosa na fase oleosa, foi feita utilizando-se o condutivímetro (DM-32, Digimed, São Paulo, SP, Brasil) aferido com solução padrão de KCl 0,1N, na temperatura de 25°C, em duplicata (AZZINI, 1999; FERRARI, 1998).

4.2.12 Obtenção de Dados de Colorimetria Instrumental

A curcumina encapsulada em nanoemulsões, bem como a cor do sorvete de abacaxi, foram monitoradas por colorimetria instrumental. Estas análises foram realizadas em um

colorímetro (Miniscan XE PLUS, Hunterlab, Reston, EUA). A leitura ocorreu com o iluminante D65 e ângulo de visão com abertura de 10°, sendo que o sistema de leitura utilizado foi o CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*). Foram determinados os fatores (L^* , a^* , b^*) e calculados os valores de croma (C^*) ângulo de Hue (h°) e diferença total de cor (TCD, ou ΔE^*). A determinação do parâmetro C^* foi determinada pela Equação (3):

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3)$$

onde:

C^* : croma (saturação da cor)

b^* : cromaticidade no eixo variando do amarelo/azul

a^* : cromaticidade no eixo variando do vermelho/verde

A tonalidade do sistema, definida como o ângulo de Hue, foi obtida pela Equação (4):

$$h^\circ = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (4)$$

onde:

h° : ângulo de Hue (tonalidade definida em graus)

b^* : cromaticidade no eixo variando do amarelo/azul

a^* : cromaticidade no eixo variando do vermelho/verde

Por sua vez, a diferença total de cor (TCD) foi obtida pela Equação (5):

$$TCD = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}$$

onde,

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

L^* , a^* e b^* são parâmetros obtidos nos dias de amostragem

Estas análises foram realizadas em triplicata no Laboratório de Processos em Engenharia de Alimentos, ZEA/FZEA/USP.

4.2.13 Análises Reológicas

Os testes reológicos das nanoemulsões e do sorvete foram realizados no reômetro rotacional (AR 2000, TA Instruments, New Castle, EUA) e o software Rheology Advantage Instrument control AR. A geometria utilizada foi a cone placa (ângulo do cone de 2°, 60 mm de diâmetro e cilindros concêntricos de 15mm de diâmetro). O período de relaxação das amostras antes do início do processo foi de 2 min. As curvas de escoamento foram obtidas através da taxa de deformação de 0,01 a 100 s⁻¹ (curva ascendente) e de 100 s⁻¹ a 0,01 s⁻¹ (curva descendente). Os dados experimentais foram ajustados ao modelo Lei da Potência de acordo com a Equação (6).

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad (6)$$

Onde: K é o índice de consistência (Pa.sn); σ a tensão de cisalhamento (Pa); $\dot{\gamma}$ a taxa de deformação (s⁻¹); e, n o índice de comportamento de fluxo (adimensional). Os resultados foram analisados usando o software de análise de dados Advantage V.5.3.1 Reologia (TA Instruments, New Castle, EUA). As nanoemulsões foram analisadas a temperatura ambiente e o sorvete em 5° C. O módulo de armazenamento (G') foi obtido à 1 Hz fixo, o qual foi escolhido pela varredura de deformação no intervalo de viscoelasticidade.

4.2.14 Produção do Sorvete de Abacaxi Incorporando Nanoemulsões com Curcumina Encapsulada

O sorvete de abacaxi foi produzido de acordo com as formulações apresentadas na Tabela 9. O xarope foi produzido em um misturador industrial (Metvisa LQL-25, Brusque, SC, Brasil) e deixado durante 24 horas a 4 ° C. Após a etapa de maturação, o xarope foi agitado sob congelamento (- 6° C) (Brasfrio , São Carlos, SP, Brasil) por 7 minutos. Em seguida, o sorvete foi embalado e mantido sob congelamento a - 10° C, em embalagens brancas opacas. O fluxograma do processamento do sorvete pode ser visualizado na Figura 19 e a formulação dos sorvetes produzidos na Tabela 8.

Figura 19: Fluxograma do Processamento de produção do sorvete de abacaxi contendo nanoemulsões com curcumina encapsulada.

Fonte: (Própria autoria).

Tabela 8: Composição da produção do sorvete de abacaxi incorporando nanoemulsão com curcumina encapsulada.

Ingrediente	Formulação dos sorvetes			
	A	B	C	D
Leite pasteurizado 3% gordura (%)	69,9	68,6	67,1	69,1
Açúcar (%)	12,6	12,6	12,6	12,6
Leite em pó (%)	7,0	7,0	7,0	7,0
Glicose (%)	4,9	4,9	4,9	4,9
Gordura vegetal (%)	2,1	2,0	2,0	2,0
Estabilizante (%)	0,7	0,7	0,7	0,7
Emulsificante (%)	0,7	0,7	0,7	0,7
Aroma de abacaxi (%)	-	1,0	2,0	2,0
Mix comercial com corante amarelo e aroma de abacaxi (%)	2,1	1,0	-	-
Ácido cítrico (%)	-	0,5	1,0	1,0
Nanoemulsão com curcumina encapsulada (%)	-	1,0	2,0	-
Curcumina em pó (livre) (%)	-	-	-	0,001

*A = Sorvete com mix commercial contendo corante amarelo e aroma de abacaxi; B = Sorvete com 50% de substituição do mix comercial por nanoemulsão contendo curcumina encapsulada; C = Sorvete com 100% de substituição do mix commercial por nanoemulsão com curcumina encapsulada; D = Sorvete com curcumina livre.

Fonte: (Própria autoria).

A estabilidade do sorvete contendo curcumina encapsulada foi avaliada indiretamente por colorimetria instrumental (como descrito em 4.2.12).

4.2.15 Caracterização do Sorvete de Abacaxi Incorporando Nanoemulsões com Curcumina Encapsulada

4.2.15.1 Determinação da composição centesimal, pH, Teor de Sólidos Solúveis e *Overrun*

Para a composição centesimal do sorvete de abacaxi contendo curcumina encapsulada, a determinação do conteúdo protéico foi realizada pelo método de Kjeldahl. A porcentagem de umidade foi determinada por método gravimétrico por secagem em estufa a 105 °C e o teor de cinzas por secagem em mufla (550 °C), seguindo métodos padronizados (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

A determinação do teor de gordura foi realizada pelo método de Gerber que utiliza a hidrólise ácida para extrair a gordura do alimento e é comumente utilizada em leites e produtos lácteos (BRASIL, 2006; CECCHI, 2003).

A determinação da porcentagem do teor de carboidrato presente no sorvete de abacaxi contendo nanoemulsão com curcumina encapsulada foi feita matematicamente por diferença entre a massa total e as demais massas de proteína, gordura, cinzas e umidade. Todas as análises foram feitas em triplicata.

O pH das amostras de sorvete foi medido com pHmetro (Ultrabasic UB-10, Denver Instrument, Denver, CO, EUA). As medidas foram realizadas em triplicata. O teor de sólidos solúveis foi determinado utilizando-se o refratômetro (Handheld Refractometer r²mini, Reichert, NY, EUA), de acordo com a metodologia estabelecida pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995), com correção automática do °Brix para a temperatura.

A medida de saturação a incorporação de ar obtido no processamento do sorvete ocorre por meio da comparação da massa da calda e do sorvete congelado, o que é chamado de cálculo de *overrun*. Tais medições de *overrun* foram realizadas por amostra através da comparação da massa da mistura do sorvete não congelado (mistura/calda) e do sorvete em um recipiente de volume fixo (MARSHALL; GOFF; HARTEL, 2003; MUSE; HARTEL, 2004). O valor do *overrun* (%) foi calculado segundo a Equação (7).

$$Overrun = \frac{Massa\ da\ mistura - Massa\ do\ sorvete}{Massa\ do\ sorvete} \times 100 \quad (7)$$

4.2.15.2 Avaliação sensorial dos sorvetes de abacaxi

A avaliação sensorial dos sorvetes foi feita por meio de sessões com testes afetivos, que foram utilizados para avaliar a aceitação do consumidor ao produto utilizando uma escala hedônica de nove pontos para os parâmetros cor, sabor, aroma e aceitação global. Recrutou-se aproximadamente 60 provadores consumidores de sorvete dentre alunos e funcionários do campus de Pirassununga (USP), de ambos os sexos e diferentes faixas etárias. As amostras de sorvete foram mantidas sob congelamento de aproximadamente -10°C , sendo que sua aceitação sensorial foi monitorada em três tempos de armazenagem: 1, 30 e 60 dias. Aos provadores foi solicitado assinalar, em uma escala hedônica de 9 pontos, com valores de 1 a 9, o quanto gostaram ou desgostaram do produto em relação aos quatro parâmetros supracitados: cor, sabor, aroma e aceitação global. O modelo de ficha utilizada para preenchimento dos provadores se encontra no (APÊNDICE D). As amostras foram apresentadas de forma codificada em números contendo 3 algarismos escolhidos de tabela estatística de ordens aleatórias dos dígitos 1 a 9 arranjados em grupos de 3 colunas (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1991). O ensaio ocorreu com a prévia autorização do Comitê de Ética da FZEA/USP, de acordo com normas para Estudos com Humanos da Plataforma Brasil. Os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido foram assinados por cada um dos provadores em todas as sessões realizadas. Um modelo do Termo de Consentimento pode ser visualizado no (APÊNDICE E). Os testes foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos / FZEA – USP.

4.2.16 Análises Estatísticas

Os tratamentos estatísticos dos resultados foram feitos por meio da análise de variância e do teste de Tukey para comparar as médias dos tratamentos; o que ocorreu com auxílio do programa SAS versão 9.3. O nível de significância para todos os testes foi de 5%. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação das Condições de Produção das Nanoemulsões pelo Método do Ponto de Inversão da Emulsão (EIP)

Um dos objetivos principais do presente projeto foi definir os parâmetros de produção da nanoemulsão como a vazão da fase aquosa, velocidade de agitação e tipo de impelidor, bem como de uma formulação específica, com concentração definida das fases oleosa e aquosa, envolvendo a escolha do tipo e das concentrações do tensoativo e do cosolvente adequadas. Tais fatores foram determinados visando um futuro escalonamento do processo e incorporação destas dispersões em sorvete.

5.1.1 Determinação da Concentração de Tensoativo e Óleo de Soja para a Produção das Nanoemulsões

Inicialmente, visando encontrar a melhor composição para a estabilização da interface (concentração e tipos de tensoativos) para a produção das nanoemulsões pelo método EIP, foram realizados testes para determinação da razão SOR (tensoativo/óleo) ideal para que as nanoemulsões permanecessem estáveis. A concentração de óleo foi fixada em 10%, o impelidor utilizado foi o disco cowles com velocidade de agitação de 300 rpm e vazão de 4ml/min. Os tensoativos testados foram Tween 20, 60 e 80. Os resultados estão apresentados na Figura 20 e foram obtidos após 24 horas de repouso das amostras.

Figura 20: Resultado visual dos testes de produção de nanoemulsões com diferentes valores de razão SOR, para dispersões produzidas com os tensoativos Tween 20, 60 e 80.

Fonte: (Própria autoria).

Como apresentado na Figura 20, o tensoativo Tween 20 não conseguiu estabilizar as emulsões em nenhuma razão SOR (tensoativo/óleo) testadas, tornando-se inadequado para a produção de nanoemulsões pelo método EIP nestas condições. O tensoativo Tween 60 conseguiu estabilizar emulsões com relação SOR acima de 1,25 (mínima) e o tensoativo Tween 80 estabilizou emulsões com relação SOR acima de 1,0; sendo esta a razão mínima possível para a estabilização. E, portanto, a escolhida para a continuação dos ensaios, visto que quanto maior a razão SOR, maior a quantidade de tensoativo utilizado na formulação e sabe-se que, quanto maior sua concentração menor a viabilidade de sua utilização em matrizes alimentícias.

Frente a estas definições de valores de SOR, foram produzidas novas nanoemulsões com concentrações diferentes de óleo de soja. A variação de concentração estabelecida foi de

10-30% de óleo de soja, porém, o limite estabelecido foi de 20%. Visto que, com concentrações acima desta, havia separação de fases das nanoemulsões. Assim, as porcentagens de (10, 15 e 20%) foram testadas utilizando os melhores resultados obtidos na etapa anterior, ou seja, os tensoativos Tween 60 e 80 nas relações SOR de 1,25 e 1,0, respectivamente. A estabilidade destas nanoemulsões foi acompanhada ao longo do tempo de estocagem, em relação às distribuições do diâmetro hidrodinâmico das gotículas e do diâmetro médio. A Tabela 9 apresenta os resultados para o diâmetro médio durante o período de estocagem avaliado.

Tabela 9: Resultados para nanoemulsões produzidas com tensoativos Tween 60 e 80 com variação da porcentagem de óleo de soja durante o período de estocagem.

Tensoativo	Razão SOR	Porcentagem óleo (%)	Diâmetro médio (nm)			
			Dia 0	Dia 7	Dia 15	Dia 28
Tween 60	1,25	10	257,2 ^A ± 5,1	262,4 ^A ± 4,3	473,2 ^B ± 1,9	583,1 ^C ± 0,9
		15	226,7 ^A ± 4,8	241,2 ^A ± 1,4	230,5 ^A ± 4,3	302,4 ^B ± 3,1
		20	196,3 ^A ± 2,8	222,9 ^A ± 1,5	224,7 ^A ± 2,1	361,2 ^B ± 1,2
Tween 80	1	10	294,7 ^B ± 4,6	237,9 ^A ± 5,4	392,2 ^C ± 5,8	309,7 ^B ± 7,0
		15	237,6 ^A ± 2,1	241,1 ^A ± 4,4	257,3 ^A ± 6,3	461,7 ^B ± 14,2
		20	245,1 ^A ± 3,1	235,6 ^A ± 5,5	229,4 ^A ± 3,9	200,2 ^A ± 2,5

* A, B, C: a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma linha para cada formulação não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

Como comprovado pela Tabela 9, apenas a formulação utilizando Tween 80 com 20% de óleo de soja se manteve estável durante o período estudado. Porém, como o diâmetro médio é um parâmetro que não deve ser avaliado sozinho, as curvas de distribuição destes diâmetros foram analisados e estão apresentados nas Figuras 21 e 22.

Para o Tween 60, na Figura 21(a), as nanoemulsões produzidas com 10% de óleo de soja se mostraram estáveis apenas até 7 dias de armazenamento, as com 15% (b) se mostraram estáveis até 15 dias de armazenamento, o que comprova os resultados da Tabela 9. Porém, as amostras com 20% de óleo de soja (c) se mostraram estáveis apenas até 7 dias de armazenamento, o que não é comprovado pelo diâmetro médio, indicando que este parâmetro deve ser avaliado juntamente com as curvas de distribuição para inferir sobre a estabilidade da nanoemulsão. Ainda na Figura 21, é importante notar que as dispersões apresentaram

comportamento bimodal nas curvas, ou seja, mantendo dois picos de tamanho de gotículas. Tal fato não é desejável, pois os sistemas dispersos ficam mais propensos à desestabilização a longo prazo.

Figura 21: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das gotículas da nanoemulsão produzida com tween 60 com razão SOR =1,25: (a) 10% de óleo de soja, (b) 15% de óleo de soja, (c) 20% de óleo de soja.

Fonte: (Própria autoria).

As nanoemulsões produzidas com tensoativo Tween 80 e concentrações de óleo de soja de 10, 15 e 20% estão apresentadas na Figura 22. Na Figura 22 (a), as nanoemulsões produzidas com 10% de óleo de soja se mostraram estáveis apenas até 7 dias de armazenamento e em (b) as nanoemulsões produzidas com 15% de óleo de soja se mostraram estáveis até 21 dias de armazenamento, comprovando os diâmetros médios obtidos neste período (Tabela 9). Entretanto, ambas as distribuições apresentaram comportamento bimodal

das curvas, com dois picos característicos; indicando uma baixa estabilidade destas nanoemulsões.

Figura 22: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das gotículas de nanoemulsão produzida com Tween 80 e SOR = 1,0: (a) 10% de óleo de soja; (b) 15% de óleo de soja; (c) 20% de óleo de soja.

Fonte: (Própria autoria).

Finalmente, pode-se observar que na Figura 21 (c) as nanoemulsões produzidas com tensoativo Tween 80 e 20% de óleo de soja se mostraram estáveis durante o período de 28 dias de armazenamento, apresentando melhor distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos, indicando que o aumento da quantidade de óleo na formulação da nanoemulsão poderia levar a sistemas dispersos mais estáveis, quando produzidos pelo método do EIP.

Este resultado foi comprovado pelo diâmetro médio obtido durante o período (Tabela 9) e este não apresentou diferença significativa estatisticamente ao nível de 5% pelo teste de tukey. Assim, a concentração de tensoativo Tween 80 sob a razão SOR=1,0 e a concentração

de óleo de soja de 20% foram escolhidas como as mais viáveis para a continuidade da determinação dos parâmetros de produção para as nanoemulsões produzidas pelo método EIP.

5.1.2 Determinação dos Parâmetros de Agitação e Vazão de Adição da Fase Aquosa

Com o aumento da concentração de óleo de soja, houve, consequentemente, o aumento da concentração do tensoativo, visto que estes dois componentes possuem uma relação proporcional (SOR). Devido a isso, os parâmetros de agitação do processo tiveram que ser modificados, como o tipo de impelidor utilizado, velocidade de agitação e a vazão de entrada da fase aquosa.

O impelidor utilizado até esta etapa do estudo (disco Cowles), provocou formação de uma camada de tensoativo preso à sua estrutura, o que poderia levar à erros na interpretação dos resultados quanto à melhor condição SOR/ tipo de tensoativo. Por isso, decidiu-se testar outros dois tipos de impelidores, para tentar obter uma melhor condição de homogeneização, ou seja, sem formação de resíduos de tensoativo no corpo do impelidor.

Os novos impelidores testados foram os tipos hélice naval e âncora. A velocidade de agitação também foi variada, visto que alguns impelidores apresentavam fluxos diferenciados, assim, desfavoreciam a formação da nanoemulsão. O impelidor do tipo disco Cowles foi utilizado com velocidade de agitação de 500 rpm e os impelidores tipo âncora e hélice naval com velocidade de 300 rpm.

A vazão de entrada da fase aquosa foi aumentada para os impelidores tipo naval e âncora, sendo mantidas a 12 ml/min, visto que para estes impelidores a homogeneização era favorecida e uma maior vazão apresentou-se benéfica para um melhor emulscionamento. O impelidor tipo disco Cowles foi mantido com vazão de entrada da fase aquosa em 4 ml/min.

As nanoemulsões produzidas com estes parâmetros foram avaliadas por um período de 15 dias. A formulação destas nanoemulsões foi a obtida anteriormente, ou seja, concentração de óleo de soja de 20% e de tensoativo Tween 80 de 20% (SOR=1,0). A Tabela 10 mostra os diâmetros obtidos neste período, bem como a caracterização da homogeneização obtida nestes processos.

Tabela 10: Resultados obtidos para as nanoemulsões produzidas com diferentes impelidores, velocidades de agitação e vazões de entrada para a formulação com Tween 80 SOR=1, 20% de óleo de soja.

Impelidor	Agitação (rpm)	Vazão (ml/min)	Diâmetro médio (nm)			Resultado
			Dia 0	Dia 7	Dia 15	
Cowles	500	4	245 ^A ± 3,1	236 ^A ± 5,5	229 ^A ± 3,9	Homogeneização não completa, formação de resíduos no corpo do impelidor.
	> 500	< 4	Separação de fases			Formação de espuma e resíduos no corpo do impelidor.
Hélice Naval	300	12	250 ^A ± 3,1	464 ^B ± 4,4	448 ^B ± 4,3	Homogeneização não completa com formação de resíduos no fundo do recipiente.
	> 300	< 12	Separação de fases			Formação de espuma e resíduos no corpo do impelidor e fundo do recipiente.
Âncora	300	12	214 ^A ± 3,9	213 ^A ± 4,0	307 ^B ± 4,6	Homogeneização completa sem formação de resíduos no corpo do impelidor.
	> 300	< 12	Separação de fases			Formação de espuma e pouco resíduo no corpo do impelidor.

* A, B: a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma linha para cada formulação não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

A Figura 23 mostra as distribuições do diâmetro hidrodinâmico das nanoemulsões produzidas com os diferentes impelidores. De acordo com estes resultados, o impelidor disco Cowles apresentou melhor comportamento de distribuição de tamanho do diâmetro, o que comprova os diâmetros médios apresentados na Tabela 10. Porém, quando levado em consideração os resultados quanto à homogeneização dos sistemas, comprova-se que o mesmo não conseguiu homogeneizar com eficiência a emulsão, gerando formação de resíduos no corpo do impelidor. O mesmo comportamento ocorreu com o impelidor do tipo hélice naval, no qual foi perceptível que a média do diâmetro hidrodinâmico não se manteve estável, bem como a distribuição destes diâmetros (Figura 23). Além disso, houve formação de resíduos no fundo do recipiente utilizado, bem como no corpo do impelidor. O impelidor do tipo âncora gerou gotas com diâmetros hidrodinâmicos estáveis até 7 dias de armazenamento

e o diâmetro obtido no dia 15 foi considerado aceitável, e ainda, não permitiu a formação de resíduos no corpo do impelidor ou do recipiente, homogeneizando melhor as nanoemulsões durante o processo de produção das mesmas.

Figura 23: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das nanoemulsões produzidas pelo impelidor (a) disco Cowles, (b) hélice naval e (c) âncora, utilizando 20% de óleo de soja e tensoativo Tween 80 com SOR=1.

Fonte: (Própria autoria).

Como citado anteriormente, Brooks e Richmond (1991), Sajjadi, Jahanzad e Yianneskis (2004), Jahanzad et al. (2009) e Bernewitz et al. (2014) indicaram que a inversão de fase catastrófica em um sistema que contém uma grande quantidade de tensoativo ocorre, primeiramente, pela difusão da fase aquosa em uma fase oleosa (emulsão externa) e posteriormente, pela formação de emulsões múltiplas O/A/O, as quais ocorrem pela difusão da fase oleosa em gotículas de água (emulsão interna). Devido a esta difusão do óleo, ocorre o aumento da formação das gotículas na emulsão múltipla e estas gotículas começam a

coalescer e então, ocorre a inversão de fase e posteriormente a formação da emulsão final. Este processo depende da taxa de coalescência das gotículas da emulsão múltipla, pelo fato de que estas gotículas devem coalescer e não se romperem. E esta é controlada pela hidrodinâmica do sistema agitado, estando em função do tipo de impelidor e velocidade de agitação e ainda, da vazão de entrada da fase aquosa. O impelidor disco Cowles produz um forte fluxo radial e uma alta taxa de cisalhamento (OLDSHUE, 1983). O que introduz ao sistema uma grande quantidade de energia, o que pode provocar o rompimento das gotículas e também a expulsão do tensoativo da fase oleosa, o qual possivelmente, se aderiu às paredes do impelidor, formando resíduos de tensoativo.

O hélice naval produz um fluxo axial que direciona o fluxo para o fundo do tanque, o que provavelmente foi responsável pela formação de resíduos no fundo do recipiente e apesar de atuar a menores taxas de cisalhamento do que o disco Cowles (OLDSHUE, 1983), apresentou formação de resíduos no corpo do impelidor, o que indica que sua taxa de cisalhamento também foi alta para o sistema, fornecendo muita energia e não possibilitou que a difusão da emulsão ocorresse de forma lenta o suficiente para emulsionar e não proporcionar separação de fase.

Já o impelidor do tipo âncora possui baixo nível de turbulência, sendo indicado para fluidos viscosos e processos que operam em regime laminar. Este tipo de impelidor é, muitas vezes, utilizado como "raspador", minimizando a formação de depósitos no tanque agitado (OLDSHUE, 1983; SANCHEZ et al., 2001). Essas características foram, provavelmente, responsáveis pelo melhor desempenho deste impelidor, visto que por operar em regime laminar e não possuir turbulência, permitiu a difusão da emulsão (externa e interna) de forma lenta o suficiente que evitou o rompimento das gotículas (dissolução) ao gerar uma taxa de coalescência ótima. Assim, não houve formação de resíduos para este impelidor quando operado à uma velocidade de agitação de 300 rpm e juntamente com a vazão adequada de 12 ml/min, homogeneizaram melhor as emulsões e formaram nanoemulsões mais estáveis.

O impelidor do tipo âncora gerou uma média de diâmetro hidrodinâmico estável até 7 dias de armazenamento e por possuir fluxo tangencial e alta força de cisalhamento, conseguiu homogeneizar melhor as nanoemulsões sem permitir a formação de resíduos no corpo do impelidor. Assim, este impelidor foi definido como o mais viável para a produção das nanoemulsões; e ainda, juntamente com este, os melhores parâmetros para sua atuação foram definidos, como a velocidade de agitação (300 rpm) e vazão de entrada da fase aquosa (12 ml/min). Estes parâmetros foram escolhidos para a continuação da produção das nanoemulsões pelo método EIP.

5.1.3 Determinação do Tipo e Concentração de Cosolvente Glicerol

Após as definições dos parâmetros de operação citados anteriormente e a permanência da não estabilidade das nanoemulsões durante um período longo de armazenagem (15 dias apenas); o cosolvente glicerol foi testado visando ajudar o tensoativo à inverter as fases da emulsão e proporcionar melhor homogeneização, possibilitando assim a redução do tamanho das gotículas e gerando maior estabilidade em função do tempo. Os testes foram realizados nas porcentagens mássicas de cosolvente glicerol de 5 -30% com as razões SOR de 0,75; 1,0 e 1,25. As proporções e os resultados obtidos visivelmente após 7 dias de armazenamento, estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Resultados testes com cosolvente glicerol após 7 dias de armazenamento.

Cosolvente glicerol (%)	Razão SOR	Porcentagem óleo (%)	Resultado (após 7 dias de armazenamento)
5	0,75	20	Não houve homogeneização
	1		Não houve homogeneização
	1,25		Não houve homogeneização
10	0,75	20	Não houve homogeneização
	1		Não houve homogeneização
	1,25		Não houve homogeneização
20	0,75	20	Separação de fase
	1		Homogeneização completa
	1,25		Homogeneização completa
30	0,75	20	Separação de fase
	1		Separação de fase
	1,25		Separação de fase

Fonte: (Própria autoria).

O cosolvente glicerol, conseguiu estabilizar nanoemulsões em concentração de 20% para as razões SOR =1,0 e 1,25; como mostrado na Tabela 11 e Figura 24.

Figura 24: Amostras produzidas com Tween 80 e cosolvente glicerol; em (a) SOR=1,25 e concentrações de glicerol de 5,10,15,30,40 e 50%, em (b) 20% de glicerol com SOR= 0,75; 1,0 e 1,25; após 7 dias de armazenamento.

(a)

(b)

Fonte: (Própria autoria).

É perceptível que as amostras com concentração de glicerol inferior a 20% (5, 10 e 15%) não puderam ser completamente homogeneizadas e as com concentração superior a 20% (30, 40 e 50%) de glicerol apresentaram separação de fases. Com relação às amostras

com 20% de glicerol, a melhor nanoemulsão gerada foi com SOR=1 e 1,25, pois a amostra com SOR= 0,75 apresentou separação de fase após 7 dias de armazenamento, como comprova a Figura 25.

Como citado anteriormente, o glicerol pode atuar na produção de emulsões: (i) alterando a solubilidade dos monômeros de tensoativo na fase aquosa; (ii) desidratando parcialmente a parte polar das moléculas de tensoativo, à medida que competem pela água; (iii) a penetrando na porção do grupo de cabeça hidrofílica das monocamadas de tensoativo. O que afeta o tensoativo em sua difusão por entre as fases, afetando o tempo em a mesma ocorre, e ainda, a ordenação do tensoativo na interface (SABERI; FANG; McCLEMENTS, 2013; PAL et al., 2010; ARAMAKI et al., 1999).

Devido aos resultados obtidos, a concentração específica de 20% de glicerol foi estudada por meio dos testes de densidade, tensão interfacial, tensão interfacial pelo tempo e reologia, a fim de tentar explicar a influência do cosolvente na estabilidade das nanoemulsões em função do tempo.

5.1.4 Estudo da Influência do Glicerol na Estabilidade das Nanoemulsões

As densidades das mistura dos componentes: água, óleo, tensoativo Tween 80 e tensoativo Tween 80 com diferentes concentrações de glicerol foram determinadas, e os resultados estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Resultados da densidade das misturas de água, óleo, tensoativo Tween 80, em diferentes concentrações de glicerol.

Amostra	Densidade (g/cm ³)
Água	0,997 ^A ± 0,001
Óleo	0,917 ^B ± 0,001
Água + Tensoativo Tween80	1,031 ^C ± 0,001
Água + Tensoativo Tween80+ 10% Glicerol	1,059 ^D ± 0,001
Água + Tensoativo Tween80+ 20% Glicerol	1,097 ^E ± 0,001
Água + Tensoativo Tween80+ 30% Glicerol	1,124 ^F ± 0,001
Água + Tensoativo Tween80+ 40% Glicerol	1,149 ^G ± 0,001

* A, B, a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

A densidade apresentou diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância, o que comprova que a densidade é alterada com a adição do tensoativo ou cosolvente glicerol em diferentes concentrações. Para embasar estes resultados, os valores de densidade obtidos foram utilizados como valores de entrada para o cálculo da tensão interfacial entre estes.

A tensão interfacial foi medida entre o óleo e misturas contendo somente água, água com tensoativo Tween 80 e água com tensoativo Tween 80 e diferentes concentrações de glicerol. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 13:

Tabela 13: Resultados da tensão interfacial entre óleo frente à água, água com tensoativo Tween 80 e ainda, com água tensoativo Tween 80 e diferentes concentrações de glicerol.

Amostra	Tensão Interfacial (mN/m)
Água/Óleo	14,45 ^A ± 1,6
Água + Tensoativo Tween 80/Óleo	1,70 ^{CD} ± 0,03
Água + Tensoativo Tween 80+ 10% Glicerol/Óleo	1,72 ^{CD} ± 0,02
Água + Tensoativo Tween 80+ 20% Glicerol/Óleo	1,74 ^{BC} ± 0,06
Água + Tensoativo Tween 80+ 30% Glicerol/Óleo	1,86 ^B ± 0,19
Água + Tensoativo Tween 80+ 40% Glicerol/Óleo	1,65 ^D ± 0,09

* A, B, a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

Segundo os resultados acima, a presença do glicerol influencia significativamente na redução da tensão interfacial entre a água e óleo de soja apenas na porcentagem de 30 e 40% como comprovado na Tabela 13. Possivelmente, o glicerol modifica a densidade e tensão interfacial porque altera a curvatura e solubilidade do tensoativo, afetando o transporte de massa do tensoativo na interface. O glicerol desidrata os grupos hidrofílicos do tensoativo, formando uma ótima curvatura do mesmo, por isso precisa estar em uma concentração em que não vá coalescer muito as gotículas e nem aumentar a tensão interfacial (SABERI; FANG; McCLEMENTS, 2013; ARAMAKI et al., 1999). Otimizando assim, a difusão do tensoativo para a interface durante a inversão de fases. A tensão interfacial em função do tempo foi avaliada pelo método da gota pendente. Os resultados estão apresentados na Figura 25.

Figura 25: Distribuição da variação da tensão interfacial em função do tempo pelo método da gota pendente; em (a) fases óleo e água; (b) óleo e água com tensoativo Tween 80, (c) óleo e água com tensoativo Tween 80 e 10% de glicerol; em (d) óleo e água com tensoativo Tween 80 e 20% de glicerol; em (e) óleo e água com tensoativo Tween 80 e 30% de glicerol.

Fonte: (Própria autoria)

Como apresentado na Figura 25 (a) a tensão interfacial caiu de 22,5 - 12,75 mN/m em um tempo de aproximadamente 900 segundos e após este tempo se manteve constante, comprovando que a tensão entre a água e óleo se mantém constantemente alta, por causa da diferença de composição entre estes. Na Figura 25 (b), a presença do tensoativo Tween 80 (SOR=1,25) reduziu a tensão interfacial de aproximadamente 4 - 1,85 mN/m em um tempo de 30 segundos. Na Figura 25 (c), a presença do tensoativo Tween 80 e 10% de glicerol a tensão diminuiu de 3,50 - 1,70 mN/m em um tempo de 13 segundos e após este tempo a gota se desprende. Na Figura 25 (d) a presença do tensoativo Tween 80 e 20% de glicerol a tensão diminuiu de 4 - 2 mN/m por um tempo aproximado de apenas 7 segundos e após este tempo a gota se desprende. Na Figura 25 (e) com a presença do tensoativo e 30% de glicerol, a tensão apresentou um comportamento diferenciado com queda de 37,40 - 2,60 mN/m em um tempo próximo de 9 segundos, o que provavelmente ocorreu por causa da dificuldade que houve de formar a gota nesta concentração de glicerol. Nas concentrações acima de 30% de glicerol (40 e 50%) não houve a formação da gota por um tempo mínimo em que fosse possível realizar a análise. Estes resultados mostram que na concentração de 20% de glicerol a tensão é reduzida próxima ao resultado que o tensoativo Tween 80 proporciona, porém, com 20% de glicerol o tempo de manutenção da estrutura da gota é bem menor. Assim, conclui-se que provavelmente o glicerol atua auxiliando o tensoativo a migrar para a interface em um tempo que favorece a inversão das fases.

Como visto, a tensão interfacial é maior conforme a diferença dos compostos e sabe-se que o glicerol e o tensoativo Tween 80 apresentam maior afinidade com a fase aquosa. Portanto, possivelmente o glicerol não consiga diminuir a tensão interfacial entre o óleo e água sozinho, necessitando da atuação do tensoativo Tween 80, para que este chegue a interface. Porém, pelos resultados apresentados quanto à estabilidade das nanoemulsões, conclui-se que o glicerol seja um facilitador da difusão do Tween 80 pela fase oleosa, ou seja, o ajuda a chegar na interface mais rapidamente e eficientemente, formando emulsões mais estáveis.

Testes reológicos foram realizados visando avaliar o comportamento da viscosidade das nanoemulsões na presença do tensoativo Tween 80 e diferentes concentrações de glicerol. A Figura 26 mostra este comportamento frente a taxas de deformação.

Figura 26: Viscosidade das nanoemulsões com tensoativo Tween 80 e com diferentes concentrações de cosolvente glicerol em função da taxa de cisalhamento, em (■) 5% de glicerol, (●) 10% de glicerol, (■) 20% de glicerol e (●) 30% de glicerol.

Fonte: (Própria autoria).

Por meio da Figura 28 é perceptível que a viscosidade é bem maior com as concentrações de 5 e 30% de glicerol, e apresentam uma maior queda com o aumento da taxa de cisalhamento. Com as concentrações de 10 e 20% de glicerol, as viscosidades estão mais baixas (sobretudo com 20% é menor) e com o aumento da taxa de cisalhamento esta viscosidade se mantém mais constante. O que comprova que na presença de glicerol a menor viscosidade pode modificar a solubilidade do meio. A Tabela 14 mostra a variação dos parâmetros reológicos K (índice de consistência) e n (índice de comportamento de fluxo). Segundo esta, é perceptível que o índice de consistência é menor com 20% de glicerol e o n é mais alto nesta concentração ($n=0,89$) e indica que nesta concentração o comportamento das nanoemulsões está mais próximo de um comportamento pseudoplástico. Este tipo de comportamento é desejado em emulsões, sendo importante que possuam fluxo livre quando agitados, apresentando baixa viscosidade frente a altas tensões de cisalhamento, retardando a coalescência ou a cremação por possuir menor número de gotículas agregadas (AULTON, 2005; McCLEMENTS, 2005).

Tabela 14: Variação dos parâmetros reológicos em função da variação da concentração de glicerol nas nanoemulsões produzidas com tensoativo Tween 80.

Glicerol (%)	Parâmetros	
	K (Pa.s)	n
5	1346,5 ^B ± 12,21	0,3078 ^D ± 0,001
10	682,6 ^C ± 94,04	0,5537 ^C ± 0,065
20	527,4 ^D ± 16,89	0,8941 ^A ± 0,008
30	1553,6 ^A ± 76,87	0,7438 ^B ± 0,007

* A, B: a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

Assim, com 20% de glicerol as nanoemulsões atingem um menor ponto de viscosidade, o que possivelmente facilita na difusão do tensoativo na interface das fases. Esta facilidade de difusão ocorre por meio do aumento da solubilidade, a qual o glicerol proporciona ao desidratar as cabeças polares do tensoativo Tween 80 (ARAMAKI et al., 1999).

O Tween 80 é polietoxilado e por isto sua solubilidade é menor na água com glicerol do que em água pura, ou seja, o glicerol diminui sua solubilidade na fase aquosa, visto que o glicerol compete com ele por moléculas de água, tornando o tensoativo mais desidratado e com moléculas mais hidrofóbicas, alterando assim o HLD do tensoativo (SABERI; FANG; McCLEMENTS, 2013; ARAMAKI et al., 1999; ERRICO, CICCARELLI; ORTONA, 2005).

Sabe-se que o tensoativo precisa se deslocar da fase oleosa para a aquosa, ou seja, ele precisa se difundir pelo óleo e chegar na interface das emulsões internas para que as emulsões múltiplas sejam formadas. Só que para o tensoativo chegar na emulsão interna existe uma competição entre a viscosidade e o efeito da desidratação que ele sofreu (solubilidade). O que provavelmente ocorre é que 20% de glicerol parece ser onde a viscosidade alcança um valor que a difusão ainda não é tão lenta, nem a desidratação que ele causa no tensoativo seja tão alta que impeça a colocação do tensoativo na interface.

O tensoativo Tween 80 é hidrofílico e inicialmente foi adicionado na fase oleosa, o qual é um ambiente desfavorável. Quando a fase aquosa foi adicionada, a tendência normal era das moléculas de Tween 80 migrarem para o ambiente rico em água e tentar acomodar-se na interface óleo-água. No entanto, essa migração deve ocorrer em uma taxa (tempo) ideal, se não, dois fenômenos podem ocorrer (I) a fase aquosa não ter volume suficiente para acomodar uma grande quantidade de moléculas de tensoativo migrantes; (II) as moléculas do tensoativo não conseguem se ordenar adequadamente na interface das emulsões internas que estão

sendo formadas (SABERI; FANG; McCLEMENTS, 2013; CHANASATTRU, DECKER; McCLEMENTS, 2007).

Concentrações muito altas de glicerol ($> 20\%$) desidratam muito o tensoativo e ele não tem como se colocar (ordenar) corretamente na interface, por este fator é que nestas concentrações não havia formação de gota nos testes de tensão interfacial x tempo. Nestas concentrações percebe-se também que a viscosidade é bem maior, o que dificulta esta ordenação e também difusão até a interface.

Assim, acredita-se que em 20% o glicerol esteja em uma concentração ótima, em que ele retarda a taxa de migração, visto que o tensoativo não pode migrar muito rapidamente da fase oleosa, ele precisa migrar em uma taxa que permita que suas moléculas formem a interface de forma ordenada e precisa estar desidratado ao ponto que esta ordenação seja facilitada, dando tempo para que as emulsões múltiplas sejam formadas e aumentem de volume até que a inversão de uma emulsão em outra ocorra. Estabelecendo o equilíbrio ideal entre a viscosidade da fase aquosa e taxa de desidratação suficientemente forte para evitar a transferência massiva do tensoativo (SABERI; FANG; McCLEMENTS, 2013; ERRICO, CICCARELLI; ORTONA, 2005).

Quando o glicerol está com baixas concentrações ($< 20\%$) a difusão do tensoativo é também impedida pela viscosidade, assim ele não consegue se ordenar adequadamente. Sem o glicerol (testes anteriores), a viscosidade não era adequada e possivelmente o tensoativo chegava na interface em um tempo muito rápido e não conseguia se ordenar adequadamente para manter a estabilidade das nanoemulsões, o que possibilitava a formação de resíduos de tensoativo. Outro fator, é que as concentrações baixas de glicerol podem não ser suficientes para desidratar as cabeças polares do Tween 80 de modo a controlar a "velocidade" da sua migração para a fase aquosa, resultando em separação de fases.

O que comprova que a solubilidade e curvatura do tensoativo tem papel muito importante na formação e estabilidade da nanoemulsão. O glicerol ajuda também na formação das emulsões múltiplas com o tensoativo, facilitando a formação das micelas, o que ajuda na chegada ao ponto de inversão de fases. Estudos anteriores mostram que o glicerol proporcionou menores diâmetros de gotículas e também uma maior estabilidade das nanoemulsões ao longo do tempo, como o caso do presente projeto (SABERI; FANG; McCLEMENTS, 2013; ERRICO, CICCARELLI; ORTONA, 2005; CHANASATTRU; DECKER; McCLEMENTS, 2007).

5.1.5 Determinação da Formulação Otimizada para Encapsulação de Curcumina nas Nanoemulsões

Com a definição dos parâmetros de produção das nanoemulsões pelo método EIP, os quais foram: impelidor do tipo âncora com velocidade de agitação de 300 rpm, bem como vazão de entrada da fase aquosa de 12 ml/min, concentração de óleo de soja de 20% e concentração de cosolvente de 20%. Novas nanoemulsões foram produzidas com estes parâmetros e com os melhores resultados obtidos anteriormente, ou seja, razão tensoativo Tween 80/óleo, $SOR = 1,0$ e $1,25$. A Figura 27 mostra a aparência destas nanoemulsões.

Figura 27: Aspecto visual das nanoemulsões produzidas com 20% de óleo de soja, tensoativo Tween 80 com $SOR = 1,0$ e $1,25$.

Fonte: (Própria autoria).

A estabilidade destas nanoemulsões foi acompanhada por 56 dias e os resultados estão apresentados nas Figuras 28 e Tabelas 15.

Figura 28: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das nanoemulsões produzidas com tensoativo Tween 80 (a) SOR =1 e (b) SOR=1,25 durante o período de 56 dias de armazenamento.

Fonte: (Própria autoria).

Por meio da Figura 28, é perceptível que as nanoemulsões produzidas com relação tensoativo/óleo SOR= 1,25 (b), apresentaram estabilidade quanto à distribuição do tamanho das gotículas durante o tempo de armazenamento de 56 dias. Segundo a Tabela 15, o diâmetro médio da formulação SOR=1,0 apresentou diferenciação significativa após 7 dias de armazenamento, e a com SOR=1,25 após 21 dias. Porém, todos os diâmetros obtidos no período foram considerados dentro de um valor aceitável (250 nm). Entretanto, ao avaliar a Figura 28 percebe-se que as amostras com relação tensoativo/óleo SOR=1 (a) não apresentaram estabilidade durante o período, por haver formação de novos picos acima de 800 nm.

Tabela 15: Diâmetro médio das nanoemulsões produzidas com tensoativo Tween 80 (SOR =1,25 e 1,0), 20% de óleo de soja, 20% de glicerol.

Período estocagem (dias)	Diâmetro médio (nm)	
	SOR = 1,0	SOR = 1,25
0	230,1 ^A ± 1,8	216,0 ^A ± 3,6
7	230,9 ^A ± 4,4	216,2 ^A ± 4,5
14	245,8 ^B ± 4,0	222,9 ^B ± 3,4
21	245,9 ^B ± 3,6	217,2 ^{AB} ± 3,2
56	248,7 ^B ± 6,6	252,4 ^C ± 5,5

* A, B, C: a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

Com base nestes resultados a razão SOR= 1,25 para o tensoativo Tween 80 com 20% de cosolvente glicerol e 20% de óleo de soja foi escolhida como a mais viável e estabelecida como a formulação ideal para a produção da nanoemulsão pelo método EIP visando a encapsulação do bioativo curcumina.

5.2 Determinação do Ponto de Inversão de Fases

Para tentar determinar o ponto em que ocorre a inversão das fases durante a produção das nanoemulsões pelo método EIP, foram feitos alguns testes reológicos e de condutividade para auxiliar o estudo do comportamento da viscosidade e da condutividade enquanto a fase aquosa é adicionada ao processo. A Figura 29 mostra a variação da condutividade elétrica e do G' (módulo de armazenamento) em função da adição da fase aquosa durante a produção das nanoemulsões.

Figura 29: Comportamento da condutividade ($\square$) e do módulo de armazenamento G' ($\blacksquare$), durante a adição da fase aquosa no processo de produção das nanoemulsões.

Fonte: (Própria autoria).

Por meio da Figura 29 pode se perceber que em 30% de adição de fase aquosa ocorre o pico de condutividade elétrica e do módulo de armazenamento G' , indicando que neste ponto a troca de energia era máxima, visto que o G' indica a energia armazenada na estrutura (elasticidade), assim, com aproximadamente 30% de fase aquosa a elasticidade foi maior, o que é característico de soluções concentradas (STEFFE, 1996).

A condutividade elétrica permaneceu baixa quando foram adicionadas pequenas quantidades de água, indicando que o óleo de soja ainda era a fase contínua (maior quantidade). A condutividade aumentou no intervalo de 10 a 30% de água, a qual parece ser a concentração crítica de água para a inversão de fase catastrófica. O valor de G' (módulo de armazenamento) atingiu seu valor máximo em cerca de 30% de teor de água, provavelmente devido ao aumento do volume de gotículas de água na emulsão A/O, o que aumentou a elasticidade (MAYER; WEISS; McCLEMENTS, 2013; PAL et al., 2011; JAHANZAD et al., 2009).

A Figura 30 mostra o comportamento das curvas de fluxo com a adição da fase aquosa durante a produção da nanoemulsão.

Figura 30: Comportamento reológico em função da adição da fase aquosa durante a produção das nanoemulsões, em (■) 10% de fase aquosa, (●) 20% de fase aquosa, (■) 30% de fase aquosa, (●) 40% de fase aquosa, (■) 50% de fase aquosa, (○) 55% de fase aquosa.

Fonte: (Própria autoria).

Nesta, é perceptível que com 30% de fase aquosa tanto a viscosidade é máxima, como a tensão de cisalhamento frente a taxas de cisalhamento. Segundo Jahanzad et al., 2009, imediatamente antes da inversão de fases ocorre um grande aumento da viscosidade, ocasionado por haver neste ponto, provavelmente, a maior concentração de emulsões múltiplas. A seguir, o aumento de volume das emulsões O/A/O atinge uma concentração crítica que leva à inversão de fases. O que indica que possivelmente seja este o ponto de inversão de fase ($\approx 30\%$ fase aquosa), transformando uma emulsão O/A em uma A/O.

Na Tabela 16 estão apresentados o comportamento dos parâmetros reológicos: índice de consistência (K) e índice de comportamento de fluxo (n) e nesta, também é perceptível que para 30% de fase aquosa o valor do índice de consistência é muito maior do que para as outras porcentagens estudadas, e o índice de comportamento (n) apresentou crescimento com o aumento da fração de água adicionada, mas prevalecendo o comportamento pseudoplástico, o que provavelmente ocorreu por causa da alta concentração de óleo e tensoativo na emulsão e por ser este o comportamento característico de emulsões (STEFFE, 1996; TAHERIAN et al., 2008; Mc CLEMENTS, 2005).

Tabela 16: Parâmetros reológicos obtidos com o aumento da fase aquosa durante o processo de produção das nanoemulsões.

Fase aquosa (%)	Parâmetros	
	K (Pa.s)	n
10	659 ^E ± 26,6	0,893 ^B ± 0,001
20	9471 ^C ± 151	0,732 ^C ± 0,018
30	110200 ^A ± 206	0,477 ^D ± 0,028
40	85050 ^B ± 224	0,465 ^D ± 0,002
50	965 ^D ± 60,1	0,940 ^A ± 0,002
55	309 ^F ± 50,0	0,980 ^A ± 0,026

* A, B, C: a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

5.3 Estabilidade das Nanoemulsões Contendo Curcumina Encapsulada

Com a formulação da nanoemulsão encapsulante pré-definida (item 5.1.5), as nanoemulsões foram produzidas encapsulando curcumina em 3 porcentagens (0,03; 0,07 e 0,10%) em massa (g/ g total da formulação). A Figura 31 mostra a aparência destas nanoemulsões.

Figura 31: Aspecto visual das nanoemulsões encapsulando curcumina produzidas.

Fonte: (Própria autoria).

A estabilidade físico-química das nanoemulsões encapsulando curcumina foi avaliada por 60 dias. A Figura 32 mostra as distribuições dos diâmetros hidrodinâmicos das nanoemulsões medidos durante o referido período e a Figura 33 mostra a variação dos diâmetros médios no mesmo período.

Figura 32: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico das nanoemulsões encapsulando curcumina, em (a) com 0,03% de curcumina, (b) 0,07% e (c) 0,10%.

Fonte: (Própria autoria).

Figura 33: Variação do diâmetro médio das nanoemulsões encapsulando (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e (■) 0,10% durante o período de 60 dias de estocagem.

Fonte: (Própria autoria).

A Figura 32 mostra que as distribuições de tamanho do diâmetro hidrodinâmico para todas as concentrações de curcumina apresentaram comportamento monomodal no dia 0. Este resultado é relevante visto que este método de produção de baixa energia não envolve o uso de quaisquer dispositivos de alta pressão, como homogeneizadores de alta pressão ou microfluidizadores. Ambas as nanoemulsões encapsulando 0,03 e 0,07% curcumina foram bastante estáveis em termos de distribuição de tamanho e os diâmetros médios durante o período (Tabela 17), sem apresentar variação significativa ao nível de 5% para este último. Sobretudo a amostra com 0,07% apresentou melhor distribuição, sem a formação de picos com maiores diâmetros, mas o mesmo não ocorreu para nanoemulsões encapsulando 0,03% e 0,10% curcumina. A nanoemulsão com 0,03% apresentou novos picos com diâmetros maiores durante o período (Figura 32), mesmo que seu diâmetro médio tenha se mantido constante durante o período, visto que este dado não pode ser avaliado sozinho (Tabela 17). As nanoemulsões com 0,10% apresentaram maiores picos com tamanhos acima de 400 nm e também diâmetros médios maiores durante o período (270 – 316 nm, segundo a Tabela 17), o que levou à variação significativa ao nível de 5% para estas.

A análise de oxidação lipídica foi feita durante este período para verificar possíveis oxidações do lipídio presente nas nanoemulsões e pode ser visualizado na Figura 34.

Figura 34: Variação da oxidação lipídica das nanoemulsões encapsulando (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e (■) 0,10% durante o período de 60 dias de estocagem.

Fonte: (Própria autoria).

Para oxidação lipídica, as amostras com 0,03 e 0,10% demonstraram diferença significativa ao nível de 5%, sendo apenas a amostra com 0,07% a que se manteve mais constante durante o período, como apresentado pela Tabela 17. A quantificação da quantidade de curcumina presente nas nanoemulsões durante o período foi feita por meio da quantificação por absorbância e colorimetria. Estes resultados podem ser visualizados nas Figuras 35 e 36. A Tabela 17 mostra os resultados para este período juntamente com a análise estatística ao nível de 5% de significância.

Figura 35: Quantificação da concentração de curcumina nas nanoemulsões encapsulando: (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e (■) 0,10% durante o período de 60 dias de estocagem.

Fonte: (Própria autoria).

Figura 36: Variação dos parâmetros colorimétricos das nanoemulsões encapsulando (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e (■) 0,10% durante o período de 60 dias de estocagem

Fonte: (Própria autoria).

Quanto à capacidade de preservação da curcumina encapsulada, as nanoemulsões com 0,03% e 0,07% de curcumina apresentaram características muito semelhantes, preservando cerca de 70-75% da quantidade inicial de curcuminóides (tomado dia 0 como 100%). As nanoemulsões contendo 0,10% curcumina apresentaram uma maior capacidade de preservar a curcumina encapsulada após 60 dias (cerca de 85%). Segundo a Tabela 17, todas apresentaram diferença significativa de absorvância (nível de 5%) ao final dos 60 dias, sendo a amostra com 0,10% a mais estável.

Tabela 17: Avaliação da estabilidade das nanoemulsões contendo curcumina encapsulada pelo período de estocagem de 60 dias.

Parâmetro	Formulação / Tempo								
	Nanoemulsão 0,03% curcumina			Nanoemulsão 0,07% curcumina			Nanoemulsão 0,10% curcumina		
	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 0	Dia 30	Dia 60
Diâmetro médio hidrodinâmico (nm)	197,50 ^A ± 12,81	193,30 ^A ± 28,21	197,13 ^A ± 17,32	198,60 ^A ± 10,39	206,53 ^A ± 10,53	215,80 ^A ± 30,82	271,47 ^A ± 11,90	280,20 ^{AB} ± 12,30	316,43 ^B ± 25,20
Curcumina (µg/ml)	1,20 ^A ± 0,11	1,09 ^{AB} ± 0,09	0,92 ^B ± 0,17	2,59 ^A ± 0,10	2,39 ^A ± 0,17	1,80 ^B ± 0,07	3,77 ^A ± 0,16	3,61 ^{AB} ± 0,28	3,25 ^B ± 0,19
Oxidação lipídica (mmol MDA/Kg)	0,28 ^A ± 0,04	0,27 ^A ± 0,06	0,44 ^B ± 0,01	0,24 ^A ± 0,02	0,25 ^A ± 0,01	0,30 ^A ± 0,04	0,21 ^A ± 0,02	0,28 ^A ± 0,02	0,63 ^B ± 0,01
a*	-12,58 ^A ± 0,38	-11,59 ^B ± 0,11	-11,07 ^B ± 0,16	-9,52 ^A ± 1,54	-8,63 ^B ± 0,60	-7,64 ^C ± 0,35	-6,02 ^A ± 0,26	-5,52 ^B ± 0,26	-5,72 ^{AB} ± 0,46
b*	69,52 ^A ± 0,60	67,50 ^B ± 0,93	64,42 ^C ± 1,64	71,50 ^B ± 1,57	75,38 ^A ± 1,30	74,13 ^A ± 0,94	80,65 ^A ± 0,44	78,75 ^B ± 1,02	77,22 ^B ± 0,88
L*	63,56 ^A ± 0,91	63,12 ^A ± 0,43	61,22 ^B ± 0,47	60,84 ^B ± 0,55	62,37 ^A ± 0,23	59,87 ^B ± 0,36	62,38 ^A ± 0,18	60,68 ^B ± 0,12	60,18 ^B ± 0,05
TCD	--	3,75 ^A ± 0,03	5,81 ^B ± 0,02	--	3,21 ^A ± 0,01	3,37 ^A ± 0,02	--	2,59 ^A ± 0,02	1,63 ^B ± 0,05
h°	80,95 ^A ± 0,31	80,25 ^A ± 0,36	78,95 ^B ± 0,35	82,42 ^B ± 0,35	83,47 ^A ± 0,23	84,11 ^A ± 0,32	86,09 ^A ± 0,34	85,63 ^A ± 0,41	85,76 ^A ± 0,19
C*ab	70,39 ^A ± 0,57	68,48 ^B ± 1,34	65,64 ^B ± 1,37	72,13 ^A ± 1,06	75,87 ^A ± 1,51	74,52 ^A ± 1,35	80,84 ^A ± 0,38	78,98 ^A ± 1,41	77,43 ^A ± 1,25

* A, B, C a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma linha para cada formulação não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

Os parâmetros colorimétricos estão diretamente relacionados com a presença de curcumina e de acordo com Hutchings (2002), valores de a^* variam da coloração verde para amarelo e b^* de azul para amarelo. L^* é um indicativo de intensidade da cor, como mostra a Figura 37. Assim, é necessário analisar os resultados dos parâmetros colorimétricos de forma conjunta, já que as coordenadas desses não são independentes. Com os resultados apresentados na Tabela 18, os valores de a^* são negativos (-5/-12), o que direciona a cor entre verde e amarelo. Os valores de b^* são positivos (64 – 77), o que consistentemente o caracteriza como amarelo. Os valores de L^* são positivos (59-63), o que direciona a uma intensidade considerada alta, porque quanto mais longe do eixo, maior é o índice de vivacidade da cor (HUTCHINGS, 2002). Os valores do ângulo Hue (h°) caracterizam a cor predominante como amarelo (78-86).

Sobretudo, ao avaliar os valores como um todo, percebe-se que as intensidades são maiores para as amostras com maior concentração de curcumina como era esperado. A amostra com 0,10% apresentou uma tendência maior para a coloração verde ($a^* \approx -5$). Os valores do TCD (diferença total de cor) não variam muito para as nanoemulsões com 0,07% de curcumina, indicando maior estabilidade para esta. O parâmetro Croma, que indica a manutenção da intensidade da cor, não foi alterado significativamente, reforçando a capacidade das nanoemulsões em preservar a cor (quantidade curcumina).

Figura 37: Variação da coloração obtida de acordo com os parâmetros colorimétricos.

Fonte: (adaptado de HANDPRINT. Color Wheels, 2009. Disponível em: <http://www.handprint.com/HP/WCL/color13.html>).

Estes resultados obtidos quanto à estabilidade das nanoemulsões encapsulando curcumina pelo método EIP foram comparados com estudos da Literatura, os quais não são muitos. Leung et al., 2008 produziu micelas de SDS (dodecilsulfato de sódio) que foram eficientes em proteger a curcumina por um período de apenas 20 horas, enquanto que os

lipossomas encapsulando curcuminóides durante cerca de 3 horas (Chen et al., 2009). Tikekar et al., 2013, produziram emulsões eficientes para proteger a curcumina contra degradação apesar do tempo de estabilidade ser pequeno (menos de 2 horas). No presente estudo, provavelmente devido a uma interface muito ordenada, a capacidade de proteger a curcumina foi consideravelmente mais elevada do que os estudos anteriores, mantendo cerca de 70% da quantidade inicial de curcumina após 60 dias de armazenamento.

O comportamento reológico das nanoemulsões encapsulando curcumina também foi avaliado tentando verificar se houve alteração da estrutura ou características do comportamento da nanoemulsão com a quantidade de curcumina adicionada. A Figura 38 mostra o comportamento das curvas de fluxo das nanoemulsões. A Tabela 18 mostra o comportamento dos parâmetros reológicos das nanoemulsões com as diferentes concentrações de curcumina.

Figura 38: Variação da viscosidade (a) e o comportamento das mesmas frente a tensão de cisalhamento (b) para as nanoemulsões contendo (■) 0,03% de curcumina, (■) 0,07% e (■) 0,10%.

Fonte: (Própria autoria).

Tabela 18: Comportamento dos parâmetros reológicos para nanoemulsões com diferentes porcentagens de curcumina.

Nanoemulsão	Parâmetros Reológicos	
	K (Pa.s)	n
0,03 % curcumina	338,5 ^A ± 2,95	0,88 ^B ± 0,08
0,07 % curcumina	333,2 ^A ± 8,20	0,94 ^A ± 0,01
0,10 % curcumina	319,8 ^B ± 1,55	0,93 ^A ± 0,01

* A, B a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

Tais resultados reológicos comprovam que não houve variação considerável estrutural contendo diferentes porcentagens de curcumina frente a taxas de deformação (Figura 38). Visto que os comportamentos das curvas de fluxo são muito semelhantes. A viscosidade pode indicar estabilidade por ser uma indicação da energia interna (McClements, 2005) e pela Figura 38 (a), verifica-se que a nanomeulsão que sofreu menor variação da viscosidade com taxas de cisalhamento foi aquela com 0,07% de curcumina encapsulada, e pela Tabela 18 verifica-se também que as nanoemulsões apresentaram comportamento pseudoplástico, pois o índice de comportamento (n) se manteve menor que 1.

É característico de emulsões possuírem comportamento pseudoplástico (não newtoniano), ou seja, apresentando diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento como apresentado na Figura 38. Segundo McClements, 2005, em baixas taxas de cisalhamento as forças hidrodinâmicas não são suficientes para romper as ligações que mantêm as gotículas próximas, resultando em uma viscosidade maior. À medida que a taxa de cisalhamento aumenta, as forças hidrodinâmicas se tornam suficientemente grandes para fazer com que as gotículas se separem e possivelmente, se deformem, o que causa a diminuição da viscosidade. A viscosidade atinge um valor constante em altas taxas de cisalhamento, já que todas as gotículas provavelmente estão separadas, permanecendo apenas gotas individuais ou ainda, porque o número de gotículas juntas (floculadas) permanece constante, uma vez que a taxa de formação de gotículas é a mesma que a de deformação das mesmas. Pela Figura 38 (a), verifica-se que a nanomeulsão que sofreu menor variação da viscosidade com taxas de cisalhamento foi aquela com 0,07% de curcumina encapsulada, possivelmente por esta apresentar as gotículas mais separadas e menor floculação.

Assim, levando em conta todos os resultados apresentados para as nanoemulsões encapsulando curcumina em diferentes concentrações (0,03; 0,07 e 0,10%), verifica-se que a

nanomulsão com 0,07% apresentou melhor estabilidade quanto ao tamanho de gotículas (sem formação de picos com maiores diâmetros), variação não significativa de oxidação lipídica, boa manutenção da curcumina encapsulada (70%) e consequentemente da cor, visto que os valores de Croma e TCD se mantiveram mais estáveis durante o período e, portanto, foi escolhida como a mais viável para aplicação em sorvete de massa sabor abacaxi.

5.4 Aplicação da Nanoemulsão encapsulando Curcumina em Sorvete de Abacaxi

A nanoemulsão contendo 0,07% de curcumina encapsulada foi aplicada em sorvete de massa sabor abacaxi. O processamento e as formulações foram apresentados no item 4.2.14. Tais sorvetes foram caracterizados quanto à sua composição centesimal, pH, °Brix e *overrun* e sua estabilidade foi avaliada por um período de 60 dias por meio das análises sensorial e de colorimetria. As formulações de sorvete de abacaxi produzidas podem ser visualizadas na Figura 39.

Figura 39: Formulações de sorvete de abacaxi produzidas com nanoemulsões encapsulando curcumina, em (a) sorvete utilizando 100% mix comercial, (b) sorvete com substituição de 50% do mix comercial por nanoemulsão com curcumina, (c) sorvete com substituição de 100% do mix comercial por nanoemulsão com curcumina e em (d) sorvete com adição de curcumina sem estar encapsulada (curcumina livre).

Fonte: (Própria autoria).

Por sua vez, a caracterização dos sorvetes quanto à composição centesimal, pH, °Brix e *overrun* pode ser visualizada na Tabela 19.

Tabela 19: Caracterização dos sorvetes produzidos com nanoemulsão contendo curcumina encapsulada.

Sorvete	Gordura (%)	Proteína (%)	Umidade (%)	Cinzas (%)	Carboidrato (%)	pH	Overrun (%)	°Brix
A	3,30 ^A ±0,01	2,80 ^A ±0,01	67,8 ^A ±0,60	0,68 ^A ±0,01	24,5 ^A ±0,02	5,95 ^A ±0,07	132 ^B ±0,02	37,8 ^A ±0,01
B	3,45 ^A ±0,35	2,84 ^A ± 0,02	67,0 ^A ±0,20	0,68 ^A ±0,02	26,0 ^A ±0,02	4,83 ^B ±0,03	129 ^B ±0,01	32,9 ^B ±0,02
C	4,20 ^B ±0,22	2,76 ^A ±0,02	66,6 ^B ±0,07	0,70 ^A ±0,02	25,7 ^A ±0,02	4,27 ^C ±0,03	144 ^A ±0,01	30,2 ^C ±0,01
D	3,35 ^A ±0,21	2,79 ^A ±0,01	68,4 ^A ±1,11	0,61 ^B ±0,04	24,8 ^A ±0,02	4,27 ^C ±0,04	144 ^A ±0,01	33,2 ^B ±0,02

* A, B a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

Quanto à caracterização dos sorvetes é perceptível por meio da Tabela 19 que as formulações apresentaram valores próximos quanto à composição centesimal. Nesta, as formulações A e B não apresentaram diferenciação significativa ao nível de 5%; a formulação C apresentou diferença significativa apenas para a porcentagem de gordura, o que pode ter ocorrido pela adição de 1% da nanoemulsão em sua formulação, e a formulação D apenas para a porcentagem de cinzas.

Quanto ao pH a formulação A apresentou o maior valor, sendo diferente significativamente das demais; as formulações C e D não apresentaram diferença significativa entre si. Os resultados apresentados estão dentro do esperado, por conta da adição do ácido cítrico nas formulações B, C e D.

Para o *overrun* as formulações A e B não apresentaram diferença significativa para a porcentagem de ar adicionada, mas apresentaram diferença para as formulações C e D, em que nestas últimas a porcentagem de ar adicionada foi maior, mas não apresentaram diferença significativa entre si. A quantificação de sólidos solúveis apresentou diferença significativa para as formulações A e C, em que na primeira, o valor obtido foi maior e na última foi menor.

A colorimetria foi avaliada para verificar a manutenção da cor gerada pela adição da nanoemulsão contendo curcumina em função do tempo de estocagem. Os resultados podem ser visualizados Figura 40 e Tabela 20.

Figura 40: Parâmetros colorimétricos obtidos para os sorvetes contendo curcumina encapsulada A (■), (■) B, (■) C e (■) D durante o período de estocagem de 60 dias, em (a) ângulo de hue, em (b) croma e em (c) os parâmetros L^* e TCD.

Fonte: (Própria autoria).

Tabela 20: Resultados análise de colorimetria para os sorvetes com nanoemulsões contendo curcumina encapsulada durante o período de estocagem de 60 dias.

Parâmetro Colorimétrico	Formulação / Tempo											
	A			B			C			Curcumina livre		
	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 0	Dia 30	Dia 60
a*	-4,42 ^A ± 0,08	-5,26 ^B ± 0,05	-5,15 ^C ± 0,02	-4,72 ^C ± 0,04	-5,54 ^B ± 0,08	-6,09 ^A ± 0,06	-8,44 ^B ± 0,26	-8,96 ^A ± 0,18	-8,93 ^A ± 0,19	-6,01 ^C ± 0,02	-6,38 ^B ± 0,55	-6,48 ^A ± 0,36
b*	12,66 ^A ± 0,64	11,51 ^B ± 0,89	11,51 ^B ± 0,75	13,67 ^B ± 0,37	14,02 ^A ± 0,59	13,59 ^B ± 0,62	18,18 ^A ± 0,26	17,50 ^B ± 0,18	17,27 ^C ± 0,19	13,59 ^A ± 0,18	10,72 ^B ± 0,15	9,07 ^C ± 0,16
L*	56,29 ^A ± 0,47	52,68 ^C ± 0,44	52,93 ^B ± 0,31	63,41 ^A ± 0,55	58,92 ^B ± 0,56	57,63 ^C ± 0,30	64,37 ^A ± 0,12	59,49 ^C ± 0,06	60,11 ^B ± 0,16	66,90 ^A ± 0,12	59,74 ^B ± 0,16	56,54 ^C ±0,15
TCD	-- 0,02	3,88 ^A ± 0,02	3,62 ^B ± 0,06	-- 0,01	4,95 ^A ± 0,01	4,38 ^B ± 0,02	-- 0,03	4,57 ^A ± 0,03	5,94 ^B ± 0,01	-- 0,04	7,72 ^A ± 0,04	11,31 ^B ± 0,01
h °	70,75 ^A ± 0,32	65,43 ^B ± 1,94	65,89 ^B ± 1,75	70,95 ^A ± 1,82	68,43 ^B ± 1,54	65,86 ^C ± 1,77	65,09 ^A ± 0,16	62,88 ^B ± 1,34	62,65 ^B ± 1,56	66,14 ^A ± 1,38	59,24 ^B ± 1,87	54,45 ^C ± 1,88
C*ab	13,40 ^A ± 0,03	12,65 ^B ± 0,45	12,60 ^B ± 0,27	14,46 ^A ± 0,13	15,07 ^A ± 0,31	14,89 ^A ± 0,43	20,04 ^A ± 0,15	19,66 ^A ± 0,30	19,45 ^A ± 0,27	14,86 ^A ± 0,93	12,47 ^B ± 1,88	11,15 ^B ± 1,68

* A, B, C a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma linha para cada formulação não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

Por meio dos resultados de colorimetria apresentados, pode-se perceber que os valores de a^* são negativos, o que define a cor entre verde e amarelo, sobretudo a formulação C apresentou maior tendência para a coloração verde do que as demais, o que é aceitável por nesta formulação a nanoemulsão com curcumina ser unicamente responsável por sua coloração. Os valores de b^* são positivos, o que caracteriza a cor dos sorvetes como amarelo. Os valores de L^* são positivos, o que direciona a uma intensidade consistente, porque quanto mais longe do eixo, maior é o índice de vivacidade da cor (HUTCHINGS, 2002), porém as formulações C e D apresentaram maior intensidade de coloração. Os valores do ângulo de Hue (h°) caracterizam a cor predominante como amarelo (54-70).

Os valores do TCD (diferença total de cor) variaram em função do tempo de estocagem para todas as formulações, porém a formulação B apresentou menor variação e a formulação D apresentou maior variação. O parâmetro Croma, que indica a manutenção da intensidade da cor foi alterado significativamente para as formulações A e D, o que indica que para estas a manutenção da cor em função do tempo de armazenamento foi menor, e em D esta a variação foi a maior entre todas as formulações. O que comprova que a aplicação das nanoemulsões contendo curcumina encapsulada foi eficaz, visto que na formulação D foi utilizada a curcumina adicionada livremente (sem estar encapsulada) e A era a formulação de sorvete comercial, a qual utiliza corantes artificiais. Em contraste, as formulações B e C (contendo nanoemulsão com curcumina encapsulada) não apresentaram diferença significativa do parâmetro Croma, indicando assim a manutenção da cor e consequentemente estabilidade da curcumina encapsulada durante o período de estocagem de 60 dias.

A análise sensorial foi realizada nos dias 0, 30 e 60 e os atributos sabor, aroma, cor e aceitação global foram avaliados. As notas para cada atributo era de 0 - 9 em escala hedônica. A média dos resultados e a análise de estatística ao nível de 5% de significância estão apresentadas na Figura 41.

Figura 41: Resultados da análise sensorial para os sorvetes contendo nanoemulsão com curcumina encapsulada (■) A, (■) B, (■) C e (■) D, durante o período de estocagem de 60 dias, em (a) atributo sabor, em (b) aroma, em (c) cor e em (d) aceitação global.

Fonte: (Própria autoria).

Os sorvetes com formulações A e B apresentaram o mesmo grau de aceitação, como as suas pontuações não foram significativamente diferentes para qualquer um dos quatro atributos. Os sorvetes produzidos com nanoemulsões contendo curcumina encapsulada, substituindo em 100% os corantes artificiais (formulação C) receberam notas mais baixas ($N \approx 5$), o que possivelmente ocorreu devido à presença do ácido cítrico e do sabor abacaxi artificial, visto que a mistura comercial (presente nas formulações A e B) se mostrou mais adequada para ser incorporado em sorvetes de abacaxi, apresentando quantidades "equilibradas" de sabor e aroma de abacaxi.

Os resultados indicaram que a substituição de pelo menos 50% dos corantes artificiais por nanoemulsões contendo curcumina encapsulada é altamente viável, como comprova as notas para a qualidade global da formulação B, a qual foi ligeiramente maior do que 7, o que significa que os avaliadores "gostaram moderadamente", o que foi muito semelhante à formulação A (comercial).

Considera-se que melhores resultados sensoriais poderiam ser alcançados para a formulação C (substituição total da mistura comercial) ao desenvolver uma melhor formulação de sorvete de abacaxi, testando melhor os aromas e sabores de abacaxi.

Finalmente, as curvas de fluxo e viscosidades dos sorvetes foram avaliados e os resultados estão apresentados na Figura 42 e Tabela 21.

Figura 42: Variação da viscosidade (a) e o comportamento dos sorvetes frente a tensão de cisalhamento (b) para os sorvetes contendo nanoemulsões com curcumina encapsulada (■ A, (■) B, (■) C e (■) D).

Fonte: (Própria autoria).

Tabela 21: Parâmetros reológicos dos sorvetes contendo nanoemulsão com curcumina encapsulada.

Sorvetes	Parâmetros Reológicos	
	K (Pa.s)	n
A	202,4 ^B ± 17,01	0,814 ^A ± 0,022
B	529,17 ^A ± 60,38	0,784 ^B ± 0,063
C	286,26 ^B ± 60,41	0,701 ^{BC} ± 0,015
D	498,70 ^A ± 93,67	0,664 ^C ± 0,039

* A, B, C a média das amostras seguida pelas mesmas letras na mesma linha para cada formulação não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: (Própria autoria).

Segundo Oliveira, Souza e Monteiro (2008), conforme aumenta a viscosidade do sorvete, aumenta a resistência do produto ao derretimento e, também sua cremosidade. Por meio da Figura 42 é perceptível que a viscosidade dos sorvetes A e C se apresentaram menores que a dos sorvetes B e D, o que pode indicar uma maior cremosidade destes últimos.

A partir do comportamento reológico apresentado na Tabela 21, infere-se que todas as amostras de sorvete apresentaram uma relação não linear entre a viscosidade e tensão de cisalhamento sobre taxas de deformação, ocorrendo uma diminuição da viscosidade com a taxa de deformação, logo, os sorvetes comportaram-se como fluido pseudoplástico (não newtoniano) na temperatura estudada (5°C), visto que os valores do índice de comportamento (n) máximo é $n=0,81$.

As propriedades reológicas de sorvetes têm sido caracterizadas como pseudoplásticas (GOFF; DAVIDSON, 1992; COTRELL; GEOFFREY; PHILIPS, 1980; OLIVEIRA; SOUZA; MONTEIRO, 2008). Sendo assim os valores de índice de comportamento (n) observados são coerentes com esta caracterização. Rossa et al. (2011) sugerem que esta diminuição da viscosidade deve-se a agregação dos glóbulos de gordura, que reduzem de tamanho durante o cisalhamento, onde então a viscosidade é reduzida.

A variação da viscosidade dos sorvetes pode ser influenciada por fatores como composição, incorporação de ar e agregação dos cristais de gelo no congelamento (KUS; ALTAN; KAIA, 2005; SOFJAN; HARTEL, 2004) gerando variações entre as formulações, conforme observado neste trabalho. Possivelmente a maior causa tenha sido a variação de agregação dos cristais durante o congelamento, visto que não houve relação da variação das propriedades como porcentagem de carboidratos, gordura, ° Brix e *overrun* com a variação da viscosidade segundo os resultados da Tabela 19 e da Figura 42.

Assim, o comportamento apresentado, possivelmente é função da estrutura do sorvete que, quando congelado apresenta diferença na formação de cristais de gelo (SMITH; BAKSHI; LOMAURO, 1984).

Corroborar-se então, que a incorporação da nanoemulsão contendo curcumina não influenciou o comportamento reológico dos sorvetes, visto que a formulação C (substituição de 100% do corante por nanoemulsão contendo curcumina) e A (comercial) apresentaram comportamento semelhante, sem diferença significativa ao nível de 5%.

Estes resultados comprovam que as nanoemulsões contendo curcumina encapsulada podem ser utilizadas como aditivos na matriz alimentícia sorvete de massa sabor abacaxi.

6. CONCLUSÕES

Diante dos resultados experimentais obtidos no seguinte trabalho de Mestrado, foi possível concluir que:

- Foi possível produzir nanoemulsões pelo método EIP, permitindo a encapsulação e estabilidade do bioativo curcumina por um período de 60 dias.
- Os melhores parâmetros de produção obtidos foram: a utilização de impelidor tipo âncora com uma vazão de adição de fase aquoisa de 12 ml / min, e da intensidade de agitação (300 rpm), com 20% glicerol como cosolvente, 20% de óleo de soja e o agente tensoativo Tween 80 na razão SOR = 1,25.
- Dentre as porcentagens de curcumina encapsuladas nas nanoemulsões, a formulação com 0,07% apresentou melhor distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos, preservação da curcumina encapsulada em 70%, maior estabilidade quanto à oxidação lipídica e também da manutenção da cor por meio do parâmetro TCD.
- As nanoemulsões contendo curcumina encapsulada se mostraram eficazes na aplicação em sorvete de massa sabor abacaxi, apresentando viabilidade na substituição de corantes artificiais.
- Dentre os sorvetes produzidos, a formulação A (comercial) e B (substituição de 50% do mix comercial por nanoemulsões contendo curcumina), apresentaram maior aceitação para os atributos avaliados (cor, sabor, aroma e aceitação global) e, a formulação B juntamente com a formulação C (substituição em 100% do mix comercial por nanoemulsão contendo curcumina encapsulada) apresentaram maior estabilidade da cor durante o período do estudo.

Assim, a produção de nanoemulsão pelo método EIP com o uso dos parâmetros apresentados no presente projeto, pode ser considerada promissora para encapsulação de bioativos e também para aplicação em matrizes alimentícias.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudo da encapsulação de outros bioativos nas nanoemulsões obtidas pelo presente método;
- Produção das nanoemulsões com os parâmetros obtidos em escala industrial;
- Modificação e aperfeiçoamento da formulação dos sorvetes de abacaxi com aplicação da nanoemulsão contendo curcumina encapsulada;
- Aplicação das nanoemulsões contendo curcumina encapsulada em outras matrizes alimentícias.

8. REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, B. B. et al. Curcumin derived from turmeric (*Curcuma longa*): a spice for all seasons. In: BAGCHI, D.; PREUSS, H. G. **Phytopharmaceuticals in cancer chemoprevention**. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2005. cap. 23, p. 350-364.
- AHMED, K. et al. Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems of curcumin: encapsulation and release properties. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 132, n. 2, p. 799-807, 2012.
- ANTON, N.; VANDAMME T. F. The University of low-energy nano-emulsification. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 377, p. 142-147, 2009.
- ANUCHAPREEDA, S. et al. Preparation of lipid nanoemulsions incorporating curcumin for cancer therapy. **Journal of Nanotechnology**, New York, v. 2012, art. 270383, 2012.
- ARAMAKI, K. et al. Effect of water-soluble alcohols on surfactant aggregation in the C₁₂E₅ system. **Langmuir**, Washington, v. 15, n. 19, p. 6226-6232, 1999.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS E DO SETOR DE SORVETE. **Estatística da produção e do consumo de sorvetes no Brasil**. São Paulo: ABIS, 2014. Disponível em: <http://www.abis.com.br/estatistica_producaoconsumodesorvetesnobrasil.html>. Acesso em: 17 mar. 2015.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16nd ed. Arlington: AOAC, 1995. v. 2.
- AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677 p.
- AZZINI, R. G. **Desenvolvimento e avaliação in vitro e in vivo de emulsões contendo óleo de canola e ácidos carboxílicos**. 1999. 169 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- BARUI, S. et al. Simultaneous delivery of doxorubicin and curcumin encapsulated in liposomes of pegylated RGDK-lipopeptide to tumor vasculature. **Biomaterials**, Amsterdam, v. 35, n. 5, p. 1643-1656, 2014.
- BASNET, P.; SKALKO-BASNET, N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. **Molecules**, Basel, v. 16, n. 6, p. 4567-4598, 2011.
- BERNEWITZ, R. et al. Structure of and diffusion in O/W/O double emulsions by CLSM and NMR-comparison with W/O/W. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 458, p. 10-18, 2014.
- BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada n. 266, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para gelados comestíveis e preparados para gelados comestíveis**. Diário Oficial da União, Brasília, 22 set. 2005. Disponível em:

http://www.suvisa.rn.gov.br/contentproducao/aplicacao/sesap_suvisa/arquivos/gerados/resol_266_set_2005.pdf. Acesso em: 17 mar. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos**. Instrução Normativa 68, 12/12/06. Brasília: MAPA, 2006.

BRITO, F. E. et al. On the effect of shear-thinning behaviour on mixing with a helical ribbon impeller. **AI Ch E Symposium Series**, New York, v. 286, n. 88, p. 28-32, 1992.

BROOKS, B. W.; RICHMOND, H. N. Phase inversion in non-ionic surfactant-oil-water systems – II. Drop size studies in catastrophic inversion with turbulent mixing. **Chemical Engineering Science**, Kidlington, v. 49, n. 7, p. 1065-1075, 1994a.

BROOKS, B. W.; RICHMOND, H. N. Phase Inversion in non-ionic surfactant-oil-water system. 1- The effect of transitional inversion on emulsion drop sizes. **Chemical Engineering Science**, Kidlington, v. 49, n. 7, p. 1053-1064, 1994b.

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

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003.

CHANASATTRU, W.; DECKER, E. A.; McCLEMENTS, D. J. Modulation of thermal stability and heat-induced gelation of beta-lactoglobulin by high glycerol and sorbitol levels, **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 103, n. 2, p. 512-520, 2007.

CHEN, C. et al. An in vitro study of liposomal curcumin: stability, toxicity and biological activity in human lymphocytes and Epstein-Barr virus-transformed human B-cells. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 366, n. 1-2, p. 133-139, 2009.

CHIGNELL, C. F. et al. Spectral and photochemical properties of curcumin. **Photochemistry and Photobiology**, Hoboken, v. 59, p. 295-302, 1994.

CIAGRI USP. **Plantas medicinais: açafrão, cúrcuma ou zedoária**. 2015. Disponível em: <http://www.ci-67.ciagri.usp.br/pm/ver_1pl.asp?_cod=144>. Acesso em: 15 mar. 2015.

CLARKE, C. The physics of ice cream. **Physics Education**, Bristol, v. 38, p. 248-253, 2003.

COSGROVE, T. **Colloid Science: principles, methods and applications**. Bristol: Department of Chemistry University of Bristol, 2005.

COTRELL, J. I. L.; GEOFREY, P.; PHILIPS, G. O. The effect of stabilizers on the viscosity of an ice-cream mix. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 31, p. 1066-1070, 1980.

CRUZ, A. G. et al. Ice cream as a probiotic food carrier. **Food Research International**, Kidlington, v. 42, p. 1233-123, 2009.

DESAI, K. G. H.; PARK, J. H. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, New York, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

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

EISNER, M. D.; WILDMOSER, H.; WINDHAB, E. J. Air cell microstructuring in a high viscous ice cream matrix. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 263, n. 1-3, p. 390-399, 2005.

ERRICO, G.; CICCARELLI, D.; ORTONA, O. Effect of glycerol on micelle formation by ionic and nonionic surfactants at 25°C. **Journal of Colloid and Interface Science**, Maryland Heights, v. 286, p. 747-754, 2005.

FERNANDEZ, P. et al. A. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 251, p. 53-58, 2004.

FERRARI, M. **Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleo de andiroba e copaíba**. 1998. 147 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends Food Science and Technology**, Kidlington, v. 15, n. 7-8, p. 330-347, 2004.

GOFF, H. D. Structure of the ice-cream. **Food Science**, Ontario, 2005. Disponível em: <<http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/icstructure.html>>. Acesso em: 31 jan. 2015.

GOFF, H. D.; HARTELL, R. W. **Ice cream**. 7. ed. New York, Springer, 2013. 462 p.

GOFF, H. D. Structure of the ice-cream. **Food Science**, Ontario, 2005. Disponível em: <<http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/icstructure.html>>. Acesso em: 17 mar. 2015.

GOFF, H. D. Colloidal aspects of ice cream-a review. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 7, p. 363-373, 1997.

GOFF, H. D.; DAVIDSON, V. J. Flow characteristics and holding time calculations of ice cream mixes in HTST holding tubes. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 55, p. 34-37, 1992.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends Food Science and Technology**, Kidlington, v. 15, n. 7-8, p. 330-347, 2004.

GUPTA, S. C. et al. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. **Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology**, Oxford, v. 39, n. 3, p. 283-299, 2012.

HANDPRINT. **Color wheels**. 2009. Disponível em: <<http://www.handprint.com/HP/WCL/color13.html>>. Acesso em: 20 maio 2015.

HANNUKSELA, M.; HAAHTELA, R. Hypersensitivity reactions to food additives. **Allergy**, Chichester, v. 42, n. 8, p. 561-575, 1987.

HARTEL, R. W. Ice crystallization during the manufacture of ice cream. **Trends in Food Science and Technology**, Kidlington, v. 7, p. 315-321, 1996.

HATANAKA, J. et al. Physicochemical and pharmacological characterization of alpha-tocopherol-inaded nanoemulsion system. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 396, n. 1, p. 188-193, 2010.

HIEMENZ, P. C.; RAJAGOPALAN, R. **Principles of colloid and surface chemistry**. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1997.

HUNTER, R. J. **Foundations of colloid science**. Oxford: Oxford University Press, 2001.

HUTCHINGS, J. B. **The perception and sensory assessment of colour: colour in food**. England: Woodhead Publishing Limited, 2002. p. 9-32.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - (IAL). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018 p.

JAFARI, S. M. et al. Recoalescence of emulsion droplets during high- energy emulsification. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 22, n. 7, p. 1191-1202, 2008.

JAHAZAD, F. et al. Catastrophic phase inversion via formation of multiple emulsions: a prerequisite for formation of fine emulsions. **Chemical Engineering Research and Design**, London, v. 87, p. 492-498, 2009.

JEONG, S. H.; PARK, J. H.; PARK, K. **Formulation issues around lipid-based oral and parenteral delivery systems: role of lipid excipients in modifying oral and parenteral drug delivery**. Hoboken: Wiley-Interscience, 2007.

KARADAG, A. et al. Optimization of preparation conditions for quercetin nanoemulsions using response surface methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 61, p. 2130-2139, 2013.

KAREWICZ, A. et al. Curcumin-containing liposomes stabilized by thin layers of chitosan derivatives. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 109, p. 307-316, 2013.

KRALOVA, I.; SJOBLUM, J. Surfactants used in food industry: a review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, New York, v. 30, p. 1363-1383, 2009.

LEAL-CALDERON, F.; SCHNITT, V.; BIBETTE, J. **Emulsion science: basic principles**. Berlin, Germany: Springer Verlag, 2007.

LEE, S. J. et al. Stabilized nanoemulsions and emulsions: comparison of physicochemical stability, lipid oxidation, and lipase digestibility. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 1, p. 415-427, 2011.

LEONG, T. et al. Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 16, n. 6, p. 721-727, 2009.

LEUNG, M. H. M.; COLANGELO, H.; KEE, T. W. Encapsulation of curcumin in cationic micelles suppresses alkaline hydrolysis. **Langmuir**, Washington, v. 24, n. 11, p. 5672-5675, 2008.

MAYER, S.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. Vitamin-E enriched nanoemulsions formed by emulsion phase inversion: factors influencing droplet size and stability. **Journal of Colloid and Interface Science**, Maryland Heights, v. 402, p. 122-130, 2013.

MARSHALL, R. T.; GOFF, H. D.; HARTEL, R. W. **Composition and properties in ice cream**. 6. ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003. p. 11- 54.

MARTINI, T. L. **Influência dos impelidores e condições de mistura na produção de insumos químicos para o setor coureiro**. Porto Alegre: Editora da UFRS, 2010.

MASON, T. G. et al. Nanoemulsions: formation, structure and physical properties. **Journal of Physics: Condensed Matter**, Bristol, v. 18, n. 41, p. 635-666, 2006.

McCLEMENTS, D. J. **Food emulsions: principles, practices and techniques**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2005.

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, n. 4, p. 285-330, 2011.

McCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences and similarities. **Soft Matter**, Cambridge, v. 8, p. 1719-1729, 2012.

McCLEMENTS, D. J.; WEISS, J. **Lipid emulsions: Bailey's industrial oil and fat products**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, 2005.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 2. ed. Boca Raton, EUA: CRC Press, 1991. 464 p.

MIRRO, R.; VOLL, K. Which impeller is right for your cell line. **BioProcess International**, Westborough, 2009. Disponível em: <<http://www.bioprocessintl.com/analytical/cell-line-development/which-impeller-is-right-for-your-cell-line-183538/>>. Acesso em: 19 mar. 2015.

MOSQUIM, M. C. A. **Fabricando sorvetes com qualidade**. São Paulo: Fonte comunicações e Editora, 1999. 120 p.

MOUTINHO, I. L. D.; BERTGES, L. C.; ASSIS, R. V. C. Prolonged use of the food dye tartrazine (FD&C Yellow No 5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 67, n. 1, p. 141-145, 2007.

MUSE, M. R.; HARTEL, R. W. Ice cream structural elements the effect melting rate and hardness. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 87, p. 1-10, 2004.

NAKSURIYA, O. et al. Curcumin nanoformulations: a review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. **Biomaterials, Amsterdam**, v. 35, n. 10, p. 3365-3383, 2014.

OLDSHUE, J. M. **Fluid mixing technology**. New York: McGraw-Hill Publications, 1983.

OLIVEIRA, K. H.; SOUZA, J. A. R.; MONTEIRO, A. R. Caracterização reológica de sorvetes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 592-598, 2008.

OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. **Journal of Colloid and Interface Science**, Maryland Heights, v. 388, p. 95-102, 2012.

PAL, P. Rheology of simple and multiple emulsions. **Current Opinion in Colloid e Interface Science**, Kidlington, v. 16, n. 1, p. 41-60, 2011.

PEREDA, J. A. O. et al. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Artmed, 2005. v. 2.

PEREIRA, A. S.; STRINGHETA, P. C. Considerações sobre a cultura e processamento do açafraão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 102-105, 1998.

PORTER, C. J. H.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, W. N. Lipids and lipid-based formulations: Optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, London, v. 6, n. 3, p. 231-248, 2007.

RAHMAN, M. H.; RAMANATHAN, M.; SANKAR, V. Preparation, characterization and in vitro cytotoxicity assay of curcumin loaded solid lipid nanoparticle in IMR32 neuroblastoma cell line. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Hoboken, v. 27, p. 1281-1285, 2014.

ROSSA, P. N. et al. Optimization of microbial transglutaminase activity in ice cream using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 44, p. 29-34, 2011.

SABERI, A.; FANG, Y.; MCCLEMENTS, D. J. Effect of glycerol on formation, stability and properties of vitamin E enriched nanoemulsions produced using spontaneous emulsification. **Journal of Colloid and Interface Science**, Maryland Heights, v. 411, p. 105-113, 2013.

SAJJADI, S.; JAHANZAD, F.; YIANNESKIS, M. Catastrophic phase inversion of abnormal emulsions in the vicinity of the locus of transitional inversion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 240, p. 149-155, 2004.

SALAGER, J. L. et al. Using emulsion inversion in industrial processes. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 108-109, p. 259-272, 2004.

SALAGER, J. L. et al. Partitioning of ethoxylated octylphenol surfactants in microemulsion-oil-water systems: influence of temperature and relation between partitioning coefficient and physicochemical formulation. **American Quemical Society**, v. 16, p. 5534-5539, 2000.

SANCHEZ, M. C et al. Evolution of the microstructure and rheology of o/w emulsions during the emulsification process. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, Hoboken, v. 76, p. 479-485, 1998.

SÁNCHEZ, M. C. et al. Evolución de la cinética de emulsificación y de las propiedades reológicas de emulsiones aceite vegetal en agua preparadas con dos tipos de agitadores. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 52, n. 3-4, p. 222-228, 2001

SANGHOON, K. et al. pH-controlled delivery of curcumin from a compartmentalized solid lipid nanoparticle mesostructured silica matrix. **Journal of Materials Chemistry B**, Cambridge, v. 2, p. 7910-7917, 2014.

SANTANA, R. C.; PERRECHIL, F. A.; CUNHA, R. L. High and low energy emulsifications for food applications: a focus on process parameters. **Food Engineering**, Troy, v. 5, n. 2, p. 107-122, 2013.

SARI, T. P. et al. Preparation and characterization of nanoemulsions encapsulating curcumin. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 43, p. 540-546, 2015.

SCHUBERT, H.; AX, K.; BENHREND, O. Product engineering of dispersed systems. **Trends in Food Science and Technology**, Kidlington, v. 14, n. 1, p. 9-16, 2003.

SCHUBERT, H.; ENGEL, R. Product and formulation engineering of emulsions. **Chemical Engineering Research and Design**, London, v. 82, n. A9, p. 1137-1143, 2004.

SEETTHACHEEWAKUL, S. et al. Development and evaluation of self-microemulsifying liquid and pellet formulations of curcumin and absorption studies in rats. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Amsterdam, v. 76, p. 475-485, 2010.

SILVA, L. G. J. **Análise crítica das correlações e parâmetros fundamentais em sistemas de agitação**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2002.

SMITH, D. E.; BAKSHI, A. S.; LOMAURO, C. J. Changes in freezing point and rheological properties of ice cream mix as a function of sweetener system and whey substitution. **Milchwissenschaft**, Kempten, v. 39, p. 455, 1984.

SOFJAN, R. P.; HARTEL, R. W. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 14, p. 255-262, 2004.

SOLANS, C. et al. Nanoemulsions. **Current opinion in Colloid e Interface Science**, Kidlington, v. 10, p. 102-110, 2005.

SOLANS, C.; SOLÉ, I. Nano-emulsions: formation by low energy methods. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, Kidlington, v. 17, p. 246-254, 2012.

SOLER, M. P.; VEIGA, P. G. **Sorvetes**. Campinas: ITAL/CIAL, 2001. 68 p.

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

STANKOVIC, I. Chemical and technical assessment. In: JOINT FAO/WHO, 61., 2004, Rome. **Curcumin**. Rome: FAO, 2004. Disponível em: <
<http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/61/Curcumin.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2015.

- STRIMPAKOS, A. S.; SHARMA, R. A. Curcumin: preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. **Antioxidants & Redox Signal**, New Rochelle, v. 10, p. 511-545, 2008.
- SUN, M. et al. in Nanotechnology- based delivery systems of curcumin. **Nanomedicine**, London, v. 7, p. 1085-1100, 2012.
- TADROS, T. et al. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 108-109, p. 303-318, 2004.
- TAHERIAN, A. R. et al. Rheology and stability of beverage emulsions in the presence and absence of weighting agents: a review. **Food Biophysics**, New York, v. 3, p. 279-286, 2008.
- TAKAHASHI, M. et al. Evaluation of an oral carrier system in rats: bioavailability and antioxidant properties of liposome-encapsulated curcumin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 57, p. 9141-9146, 2008.
- TAN, C. T. **Beverage emulsions in food emulsions**. 4th ed. New York: Friberg, S. E. & Larsson, K., 2004.
- TATTERSON, G. B. **Fluid mixing and gas dispersion in agitated tanks**. New York: McGrawHill, 1991.
- TIKEKAR, R.; PAN, Y.; NITIN, N. Fate of curcumin encapsulated in silica nanoparticle stabilized Pickering emulsion during storage and simulated digestion. **Food Research International**, Kidlington, v. 51, n. 1, p. 370-377, 2013.
- TRUJILLO, T. S. et al. Modulating β -carotene bioaccessibility by controlling oil composition and concentration in edible nanoemulsions. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 139, p. 878-884, 2013.
- UPADYAHY, S. N. et al. Particle suspension and liquid-solid mass transfer in mechanically agitated vessel. **Review in Chemical Engineering**, Berlin, v. 10, n. 1, p. 1-130, 1994.
- WALSTRA, P. **Physical Chemistry of Foods**. New York: Marcel Dekker, 2003.
- WANG, K. G.; GLICKSMAN, M. E. **Ostwald ripening in materials processing**. London: LLC, 2007.
- WANG, X. Y. et al. Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsions. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 108, n. 2, p. 419-424, 2008.
- WITTHAYAPANYANON, A.; HARWELL, J. H.; SABATINI, D. A. Hydrophilic-lipophilic deviation (HLD) method for characterizing conventional and extended surfactants. **Journal of Colloid and Interface Science**, Maryland Heights, v. 325, p. 259-266, 2008.
- WOOSTER, T. J.; GOLDING, M.; SANGUANSRI, P. Impact of oil type on nanoemulsion formation and Ostwald ripening stability. **Langmuir**, Washington, v. 24, n. 22, p. 12758-12765, 2008.

XIA, X. et al. Behavioral, neurochemical and neuroendocrine effects of the ethanolic extract from *Curcuma longa* L. in the mouse forced swimming test. **Journal of Ethnopharmacology**, Shannon, v. 110, p. 356-363, 2007.

YAN, Y. D. et al. Enhanced oral bioavailability of curcumin via a solid lipid-based self-emulsifying drug delivery system using a spray-drying technique. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 34, n. 8, p. 1179- 1186, 2011.

YANG, Y. et al. Fabrication of ultrafine edible emulsions: comparison of high-energy and low-energy homogenization methods. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 29, p. 398- 406, 2012.

APÊNDICE A – Curva de Calibração da Bomba Peristáltica

Figura 43: Curva de calibração da bomba peristáltica.

Fonte: (Própria autoria).

APÊNDICE B – Curva Padrão para Quantificação de Curcumina em Dimeltilsulfóxido (DMSO)

Figura 44: Curva de calibração quantificação curcumina em DMSO.

Fonte: (Própria autoria).

APÊNDICE C – Curva Padrão para Quantificação da Oxidação Lipídica

Figura 45: Curva padrão para quantificação oxidação lipídica.

APÊNDICE D - Modelo da Ficha de avaliação sensorial do sorvete de abacaxi.

Nome: _____ **Data:** _____ **Ficha:** _____

Você está recebendo uma amostra de sorvete de abacaxi. Por favor, avalie o produto e marque na escala o quanto você gostou ou desgostou das seguintes características:

NÚMERO DA AMOSTRA: _____

Escala 1-Detestei 2-Desgostei muito 3-Desgostei moderadamente 4-Desgostei ligeiramente 5-Nem gostei/Nem desgostei 6-Gostei ligeiramente 7-Gostei moderadamente 8-Gostei muito 9-Adorei	Aroma		Comentários:
	Cor		Comentários:
	Sabor		Comentários:
	Qualidade global		Comentários:
	Você compraria este produto? () sim () não		

APÊNDICE E: Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Termo de consentimento livre e esclarecido

Consentimento formal de participação no projeto de pesquisa: **“AVALIAÇÃO SENSORIAL DE SORVETE DE ABACAXI COM APLICAÇÃO DE NANOEMULSÕES CONTENDO CURCUMINA ENCAPSULADA”**.

Nome: _____
 Endereço: _____
 Cidade: _____ CEP: _____ Fone: _____

Justificativa: A curcumina, também chamada de açafrão ou *curry*, é uma substância lipofílica com benefícios para a saúde humana, mas sua baixa solubilidade em água e, portanto, baixa biodisponibilidade no trato gastrointestinal, torna difícil a sua absorção e também sua incorporação direta em alimentos. As nanoemulsões são uma via de aplicação deste bioativo em alimentos, o encapsulando, protegendo e distribuindo. Neste contexto, nanoemulsões produzidas com curcumina encapsulada foram produzidas visando fornecer os benefícios da curcumina de maneira eficiente para o consumo humano por meio da aplicação em sorvete de abacaxi.

Objetivos do projeto: Avaliar a aceitação sensorial do sorvete de abacaxi com aplicação de nanoemulsão contendo curcumina encapsulada.

Procedimentos: A análise onde seres humanos avaliam diversos atributos de qualidade de alimentos é chamada de ANÁLISE SENSORIAL. Os procedimentos para execução da análise sensorial nesta pesquisa serão os seguintes:

- Sessenta provadores farão a avaliação sensorial dos produtos.
- Serão testadas formulações de sorvete com diferentes concentrações de curcumina encapsulada.
- O provador deverá avaliar (olhar, cheirar, provar) os produtos e responder às perguntas solicitadas na Ficha de Avaliação.
- A duração do teste para cada pessoa será de aproximadamente 5 minutos. Outras informações:
- O provador pode se recusar a continuar com a avaliação sensorial a qualquer momento, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.
- Os provadores não terão qualquer tipo de despesas em decorrência da participação na pesquisa.
- Não há possibilidade de risco ou qualquer tipo de desconforto em função da participação nesta pesquisa, uma vez que todos os ingredientes utilizados nos produtos são inteiramente seguros e serão de boa qualidade e procedência e o processo de fabricação será realizado de acordo com as normas de Boas Práticas de Fabricação. Além disso, a matéria-prima (sorvete) será pasteurizada e armazenada sob congelamento (-4/-7°C) até o momento da realização das análises.
- Em função do exposto no item anterior, não há previsão de indenização em decorrência da participação neste projeto.
- Os testes para avaliação sensorial do sorvete, nos quais os provadores experimentarão os produtos desenvolvidos serão acompanhados pela aluna proponente (Thais Ribeiro Borrin).
- Quaisquer outros esclarecimentos poderão ser solicitados antes, durante e após a pesquisa.

Eu, _____, RG _____

CPF _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo **“AVALIAÇÃO SENSORIAL DE SORVETE DE ABACAXI COM APLICAÇÃO DE NANOEMULSÕES CONTENDO CURCUMINA ENCAPSULADA”**. Tenho pleno conhecimento da justificativa, objetivos, benefícios esperados e dos procedimentos a serem executados, bem como da possibilidade de receber esclarecimentos sempre que considerar necessário. Será mantido sigilo quanto à identificação de minha pessoa e zelo a minha privacidade. Ao mesmo tempo assumo o compromisso de seguir as recomendações estabelecidas pelos pesquisadores. Eu li e entendi todas as informações contidas neste documento.

Aluna responsável: Thais Ribeiro Borrin – Eng. de Alimentos.

Contato: thaisribeiro@usp.br

Pirassununga, _____ de _____ de _____.

Assinatura: _____