

**UFRRJ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**DISSERTAÇÃO**

**SISTEMAS CARREADORES BASEADOS EM EMULSÕES ÁGUA EM  
ÓLEO EM ÁGUA ( $W_1/O/W_2$ ) EMPREGADOS NO ENCAPSULAMENTO  
DE FERRO**

**Bruno Sérgio Toledo Barbosa**

**2021**



**UFRRJ**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**SISTEMAS CARREADORES BASEADOS EM EMULSÕES ÁGUA EM  
ÓLEO EM ÁGUA ( $W_1/O/W_2$ ) EMPREGADOS NO ENCAPSULAMENTO  
DE FERRO**

**BRUNO SÉRGIO TOLEDO BARBOSA**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Prof. Dr. Edwin Elard Garcia Rojas**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** em Ciência e Tecnologia de Alimentos no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na área de concentração Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ

Novembro, 2021

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B238s      Barbosa, Bruno Sérgio Toledo, 1995-  
              SISTEMAS CARREADORES BASEADOS EM EMULSÕES ÁGUA EM  
              ÓLEO EM ÁGUA (W1/O/W2) EMPREGADOS NO ENCAPSULAMENTO DE  
              FERRO / Bruno Sérgio Toledo Barbosa. - Volta Redonda,  
              2021.  
              65 f.: il.

              Orientador: Edwin Elard Garcia Rojas.  
              Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
              do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência  
              e Tecnologia de alimentos, 2021.

              1. Emulsões duplas. 2. Microencapsulação. 3.  
              Sistemas Carreadores. 4. Bioacessibilidade. 5.  
              Minerais. I. Garcia Rojas, Edwin Elard, 1972-  
              orient. II Universidade Federal Rural do Rio de  
              Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
              Tecnologia de alimentos III. Título.

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



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS



TERMO Nº 1270 / 2021 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)

Nº do Protocolo: 23083.086646/2021-31

Seropédica-RJ, 02 de dezembro de 2021.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

BRUNO SÉRGIO TOLEDO BARBOSA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre, no Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.  
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 24/11/2021

\_\_\_\_\_  
Dr. EDWIN ELARD GARCIA ROJAS, UFF  
(orientador)

\_\_\_\_\_  
Dr. Abraham Damian Giraldo Zuniga, UFT

\_\_\_\_\_  
Dr. BERNARDO DE SA COSTA, UFF

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020

*(Assinado digitalmente em 02/12/2021 09:02 )*  
EDWIN ELARD GARCIA ROJAS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 014.548.996-54

*(Assinado digitalmente em 09/12/2021 09:40 )*  
ABRAHAM DAMIAN GIRALDO ZUNIGA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 012.766.516-19

*(Assinado digitalmente em 02/12/2021 16:02 )*  
BERNARDO DE SÁ COSTA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 044.521.337-03

Para verificar a autenticidade deste documento entre em  
<https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **1270**, ano:  
**2021**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **02/12/2021** e o código de verificação: **def6431720**

## RESUMO

BARBOSA, Bruno Sérgio Toledo. **Sistemas carreadores baseados em emulsões água em óleo em água ( $W_1/O/W_2$ ) empregados no encapsulamento de ferro.** 2021, 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

A anemia é uma condição clínica que afeta o desenvolvimento e a produtividade de mais de um terço da população mundial. Ela é causada principalmente pela deficiência do ferro na alimentação. Uma forma de aumentar a quantidade de ferro ingerida pela população é a adição desse ferro nos alimentos, a fortificação através da microencapsulação. Existem diversas técnicas utilizadas na microencapsulação do ferro, a emulsão dupla é uma de muitas dessas técnicas. Emulsões duplas água em óleo em água ( $W_1/O/W_2$ ) são pequenas gotas de água, dentro de gotas maiores de óleo que estão dispersas em água. O presente trabalho investigou emulsões  $W_1/O/W_2$  para o encapsulamento do ferro, tendo como objetivo caracterizar as emulsões e identificar a bioacessibilidade do ferro em simulações gastrointestinais *in vitro* para adultos e infantes. O estudo formou emulsões estáveis a partir de isolado proteico de soro e polirricinoleato de poliglicerol como agentes emulsificantes, goma tara como agente espessante e a sacarose como substância osmoticamente ativa. Emulsões duplas fabricadas a partir de 12 % de WPI, 0,8% de goma tara e 2 % de sacarose ficaram mais estáveis por 7 dias e com alta eficiência de encapsulação ( $96,95 \pm 1,00$  %), além de alta bioacessibilidade na simulação gastrointestinal para adultos ( $49,54 \pm 5,50$  %) e infantes ( $39,71 \pm 2,33$  %). Por fim, o estudo apresentou que as emulsões duplas podem formar sistemas estáveis com alta bioacessibilidade de ferro mesmo em sistemas gástricos infantis, indicando a possibilidade da utilização de emulsões duplas para a fortificação de alimentos com ferro.

**Palavras-chave:** goma tara, proteínas do soro, microencapsulação; minerais; bioacessibilidade

## ABSTRACT

BARBOSA, Bruno Sérgio Toledo. **Delivery systems based on water-in-oil-in-water emulsions (W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub>) used in iron encapsulation.** 2021, 61p. Dissertation (Master in Food Science and Technology). Instituto de Tecnologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

Anemia is a condition that affects the development and productivity of more than a third of the world's population. It is mainly caused by a deficiency of iron in the diet. One way to increase the amount of iron ingested by the population is the addition of this iron to food, fortification through microencapsulation. There are several techniques used in the microencapsulation of iron, double emulsion is one of many techniques. Double water-in-oil-in-water (W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub>) emulsions are small droplets of water, within larger oil droplets that are dispersed in water. The present work investigated W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> emulsions for iron encapsulation, aiming to characterize as emulsions and identify a bioaccessibility of iron in in vitro gastrointestinal simulations for adults and children. The study formed stable emulsions from whey protein isolation and polyglycerol polyricinoleate as emulsifying agents, tara gum as a thickening agent and sucrose as an osmotic active substance. Double emulsions made from 12% WPI, 0.8% tara gum and 2% sucrose considered more stable for 7 days and with high encapsulation efficiency ( $96.95 \pm 1.00\%$ ), in addition to high bioaccessibility in gastrointestinal simulation for adults ( $49.54 \pm 5.50\%$ ) and children ( $39.71 \pm 2.33\%$ ). Finally, the study showed that double emulsions can form stable systems with high iron bioaccessibility even in infant gastric systems, indicating the possibility of using double emulsions to fortify foods with iron.

**Keywords:** tara gum, whey protein, microencapsulation; minerals; bioaccessibility

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Diagrama de processos que causam instabilidade em emulsões.	7
<b>Figura 2</b>	Diagrama de mecanismos de instabilidade de emulsões duplas $W_1/O/W_2$ .	11
<b>Figura 3</b>	Esquema do método de prato de Wilhelmy.	15
<b>Figura 4</b>	Configuração de funcionamento de um tensiômetro de formato de gota.	16
<b>Figura 5</b>	Parâmetros da gota em um tensiômetro.	17
<b>Figura 6</b>	Estrutura geral de uma galactomanana.	18
<b>Figura 7</b>	Estrutura da goma tara.	19
<b>Figura 8</b>	Índice de cremeação (%) das amostras de emulsões duplas ( $W_1/O/W_2$ ) em função do tempo (dias). Em que (x) A1, (●) A4, (▲) A7, (◆) A10, (■) A13, (+) A16.	33
<b>Figura 9</b>	Índice de cremeação (%) das amostras de emulsões duplas ( $W_1/O/W_2$ ) em função do tempo (dias). Em que (x) A2, (●) A5, (▲) A8, (◆) A11, (■) A14, (+) A17.	34
<b>Figura 10</b>	Índice de cremeação (%) das amostras de emulsões duplas ( $W_1/O/W_2$ ) em função do tempo (dias). Em que (x) A3, (●) A6, (▲) A9, (◆) A12, (■) A15, (+) A18.	34
<b>Figura 11</b>	Imagem da microscopia óptica do sistema A17, emulsão dupla $W_1/O/W_2$ composta por 12% WPI, 0,8% de GT e 2% de sacarose na fase aquosa externa.	38
<b>Figura 12</b>	Tensão interfacial dinâmica das amostras da emulsão e seus respectivos modelos. Para ● sendo para a amostra A7, ■ para a amostra A8, ◆ para a amostra A16 e ▲ para a amostra A17.	39
<b>Figura 13</b>	Liberção do ferro nas simulações gastrintestinais da amostra A17 em função do tempo. Para ● sendo para a simulação de adultos e ■ para a simulação de infante.	42

## INDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Estudos sobre microencapsulação de ingredientes bioativos hidrofílicos através de emulsões duplas ( $W_1/O/W_2$ ).	8
<b>Tabela 2</b>	Estudos sobre a microencapsulação do ferro por diferentes técnicas.	24
<b>Tabela 3</b>	Teor dos componentes da fase aquosa externa ( $W_2$ ) das emulsões duplas ( $W_1/O/W_2$ ).	27
<b>Tabela 4</b>	Eficiência de encapsulação de diversas emulsões logo após formadas e no sétimo dia de armazenamento.	36
<b>Tabela 5</b>	Tamanho de partícula e potencial Zeta das diversas emulsões logo após formadas e no sétimo dia de armazenamento	38
<b>Tabela 6</b>	Parâmetros da tensão interfacial dinâmica entre a fase aquosa externa e a emulsão simples estimados a partir da Equação (13) para as diferentes amostras.	40



## SÍMBOLOS

$HLB$	Balanço hidrofílico-lipofílico
$HFI$	Grupos hidrofílicos
$HFO$	Grupos hidrofóbicos
$\Delta G$	Varição de energia
$\gamma$	Tensão interfacial
$\Delta A$	Varição de área
$F$	Força
$L$	Largura
$H$	Altura
$Bo$	Número de ligação
$\Delta\rho$	Varição de densidade
$g$	Aceleração da gravidade
$R_0$	Raio da gota
$\pi_o$	Varição de pressão osmótica
$C_{int}$	Concentração de soluto no interior da emulsão dupla
$C_{ext}$	Concentração de soluto no exterior da emulsão dupla
$R$	Constante ideal dos gases
$T$	Temperatura (K)
$BD$	Biodisponibilidade
$Q_i$	Quantidade ingerida do ingrediente ativo
$Q_{B^*}$	Porção bioacessível do ingrediente
$Q_{A^*}$	Porção absorvida do ingrediente no organismo
$Q_{T^*}$	Porção do ingrediente que é transformada
$rpm$	Rotações por minuto
$C_{sac}$	Concentração de sacarose
$C_{Fe}$	Concentração molar do ferro
$C_{SO_4}$	Concentração molar do sulfato
$IC$	Índice de cremeação
$H_c$	Altura da camada transparente
$H_t$	Altura total do sistema

$G$	Força centrífuga Relativa
$EE$	Viscosidade dinâmica da solução (g/s.cm)
$A_{max}$	Absorvância encontrada em emulsões com o máximo de ferro na fase externa
$A_{min}$	Absorvância encontrada em emulsões sem ferro
$A_x$	Absorvância medida
$\sigma(t)$	Tensão interfacial em função do tempo
$\sigma_f$	Tensão interfacial
$\sigma_1$	Parâmetro cinético de evolução da tensão interfacial
$\sigma_2$	Parâmetro cinético de evolução da tensão interfacial
$\tau_1$	Tempo de migração na interface
$\tau_2$	Tempo de reorganização na interface
$t$	Tempo
$B^*$	Bioacessibilidade
$C_{micela}$	Concentração de ferro na fração micelar
$\tilde{C}_{micela}$	Concentração de ferro na digesta
$DAM$	Desvio Absoluto Médio Desvio Padrão (%)
$DP$	Desvio Padrão (mN/m)
$\sigma_{exp}$	Valor experimental
$\sigma_{cal}$	Valor calculado
$m$	Número de pontos experimentais
$p$	Número de parâmetros ajustados

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1 Objetivo Geral	3
1.2 Objetivos Específicos	3
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>4</b>
2.1 Microencapsulação	4
2.2 Emulsões	5
2.2.1 Emulsões duplas	5
2.2.2 Estabilidade de emulsões	6
2.2.3 Agentes emulsificantes	12
2.2.4 Agentes espessantes	17
2.2.5 Substância osmoticamente ativa	19
2.3 Ingredientes Bioativos	20
2.3.1 Minerais	20
2.3.2 Biodisponibilidade	22
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>26</b>
3.1 Materiais	26
3.2 Formação da Emulsão Dupla ( $W_1/O/W_2$ )	26
3.2.1 Formação da emulsão $W_1/O$ interna	26
3.2.2 Formação da emulsão dupla $W_1/O/W_2$	27
3.3 Estabilidade Cinética das Emulsões Duplas	28
3.4 Eficiência de Encapsulação do Ferro na Emulsão Dupla	28
3.5 Microscopia	29
3.6 Tamanho de Partícula e Potencial Zeta	29
3.7 Tensão Interfacial	29
3.8 Simulação Gastrointestinal <i>in vitro</i> das Emulsões Duplas	30
3.8.1 Simulação da digestão <i>in vitro</i> em adultos	30
3.8.2 Simulação da digestão <i>in vitro</i> de infantes	31
3.8.3 Liberação <i>in vitro</i> do ferro.	31
3.9 Bioacessibilidade <i>in vitro</i> do Ferro.	32

3.10 Análise Estatística	32
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>33</b>
4.1 Estabilidade Cinética	33
4.2 Eficiência de Encapsulação	35
4.3 Tamanho de Partícula, Potencial Zeta e Microscopia	36
4.4 Tensão Interfacial	37
4.5 Digestão in vitro da Emulsão Dupla Contendo Ferro.	40
4.6 Bioacessibilidade	42
<b>5 CONCLUSÃO</b>	<b>43</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os micronutrientes, como os minerais e as vitaminas, são partes fundamentais no metabolismo humano, na imunidade e em outras funções do corpo humano, por isso, seu consumo é altamente relacionado à prevenção de doenças (BLACK, 2014; SHENKIN, 2006; SHERGILL-BONNER, 2017). Hoje, mais de dois bilhões de pessoas sofrem com a falta de algum micronutriente, a maior parte dessas pessoas vive em países de baixa renda. Dentre os micronutrientes mais deficientes estão a vitamina A, iodo, zinco e ferro (WHO, 2007).

A deficiência de ferro é uma das principais causas de anemia no mundo, cerca de 50% dos casos de anemia do mundo são causados por esta deficiência de ferro (BLACK, 2014; WHO 2017). A anemia é uma condição clínica onde a concentração de hemoglobinas no sangue é abaixo do normal, ela afeta mais de um terço da população mundial e pode ser associada a um baixo desenvolvimento cognitivo e motores em crianças, além de fadiga e baixa produtividade (WHO, 2017; JÁUREGUI-LOBERA, 2014). Essa condição afeta boa parte da população mundial, principalmente em crianças e mulheres, onde estima-se que cerca de 40% das crianças no mundo sofrem de anemia (WHO, 2017),

Existem duas formas principais para o combate da deficiência de ferro no corpo, uma delas é a utilização de suplementos alimentares, em que altas concentrações da substância alvo são colocadas em algum envoltório, esse suplemento deve ser consumido em pequenas quantidades todos os dias em adição a dieta normal. Já a fortificação é uma adição do nutriente na composição de um alimento (WHO, 2017; BRYSZEWSKA, 2019). A fortificação de um alimento pode ser uma alternativa com alto custo-benefício, e é uma opção viável para o combate da deficiência de ferro (BRYSZEWSKA, 2019; GERA; SACHDEV; BOY, 2012)).

A microencapsulação é uma alternativa para fortificar alimentos com o ferro, é uma técnica onde produto encapsulado é revestido por uma camada externa, uma cápsula (ESTEVINHO; ROCHA, 2017; SHAHIDI; HAN, 1993). Existem diversos estudos sobre encapsulamento de ferro, Shahid e Han (1993) datam um processo de encapsulamento de sulfato de ferro na década de setenta. Hoje, a microencapsulação do ferro é estudada pelo uso de técnicas como *o spray-drying* (BRYSZEWSKA, 2019), emulsões simples (PRICHAPAN; MCCLEMENTS; KLINKESORN, 2018) e emulsões duplas (DUQUE-ESTRADA et al., 2019).

As emulsões duplas podem ser água em óleo em água ( $W_1/O/W_2$ ) que são pequenas gotas de água, dentro de gotas maiores de óleo que estão dispersas em água (ARTIGA-ARTIGAS et al., 2019; DICKINSON, 2011; MCCLEMENTS, 2014). As emulsões duplas possuem diversas aplicações devido a sua estrutura, elas podem ser usadas para encapsular, proteger e possibilitar uma liberação controlada de ingredientes. É possível encapsular compostos solúveis de ferro na fase aquosa interior de uma emulsão dupla  $W_1/O/W_2$ , protegendo o ingrediente e mascarando seus efeitos indesejáveis no gosto (DUQUE-ESTRADA et al., 2019; ILYASOGLU BUYUKKESTELLI; EL, 2019a).

Emulsões duplas são sistemas termodinamicamente instáveis, tendendo a separar suas fases por diversos mecanismos físico-químicos, por isso é necessária a utilização de substâncias, que tem como objetivo aumentar sua estabilidade e impedir a separação de fase (HU et al., 2017). Emulsificantes tem o poder de se adsorver na interface óleo-água da emulsão e impedir a agregação das gotas, esses emulsificantes podem ser tanto hidrofóbicos ou hidrofílicos, dependendo da parte em que eles tem mais afinidade (MCCLEMENTS; JAFARI, 2018; METTU; WU; DAGASTINE, 2018). Emulsões duplas necessitam dos dois emulsificantes para uma maior estabilidade, sendo a fase interna, água em óleo, necessitando de um emulsificante hidrofóbico e a emulsão externa, água em óleo em água, de um emulsificante hidrofílico.

Além de emulsificantes, polissacarídeos podem ser usados como agentes espessantes, sendo eles agentes que aumentam a viscosidade da fase contínua de uma emulsão, dificultando a interação entre as gotas, galactomananas como a goma tara possuem características de agentes espessantes (DICKINSON, 2010).

Mesmo que estudos mostrem que é possível encapsular o ferro com boa eficiência e estabilidade, ainda são necessários trabalhos sobre o efeito da goma tara como espessante em uma emulsão dupla. Além disso, estudos sobre a bioacessibilidade ferro são escassos, e não foram encontrados trabalhos para identificar a bioacessibilidade do ferro em emulsões duplas em sistemas simulados gastrointestinais infantis. Assim, o presente trabalho visa propor uma cápsula de ferro com alta eficiência e bioacessibilidade visando uma possível aplicação em alimentos fortificados com ferro.

## 1.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo a encapsulação de ferro empregando a técnica de emulsão dupla água em óleo em água ( $W_1/O/W_2$ ) formada por biopolímeros (isolado proteico de soro de leite, goma tara) como sistema carreador.

## 1.2 Objetivos Específicos

- Estudo da formação da emulsão dupla  $W_1/O/W_2$  formada por biopolímeros (proteínas e goma tara) e açúcar como substância osmoticamente ativa.
- Caracterização da emulsão  $W_1/O/W_2$  cineticamente estável e mais eficiente no encapsulamento de ferro.
- Avaliar a bioacessibilidade do ferro encapsulado na emulsão  $W_1/O/W_2$  durante a simulação gastrointestinal *in vitro* de adultos e infantes.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Microencapsulação

A microencapsulação é uma técnica em que gotas, partículas ou gases são capturados em um agente encapsulante. Esses compostos são incorporados em um material de revestimento ou inseridos em uma matriz homogênea ou heterogênea para formar pequenas cápsulas (ESTEVINHO; ROCHA, 2017). Na microencapsulação há o material encapsulado e a substância que captura o material encapsulado, que é chamada de material de parede. O material de parede é normalmente insolúvel e não reage com o material encapsulado, ele também deve ser de baixo custo, não tóxico e biodegradável (YE; GEORGES; SELOMULYA, 2018), a massa da microcápsula é composta por 1 a 80% do material de parede e pode ser feito por diversos materiais como gomas, açúcares, proteínas e polissacarídeos (GAONKAR et al., 2014). Na microencapsulação, existem duas conformações possíveis para as cápsulas, as microcápsulas e as microesferas. As microcápsulas são estruturas em que o material de parede somente envolve o núcleo. As microesferas são estruturas que há a presença do núcleo no material de parede. Essas configurações podem impactar na estabilidade e na eficiência da encapsulação (CASTRO-ROSAS et al., 2017; GAONKAR et al., 2014).

A microencapsulação é uma técnica bastante utilizada em diversos tipos de indústria, seja ela a alimentícia, têxtil, farmacêutica, cosmética e agroquímica. Esse procedimento permitiu que se fosse utilizado, nessas indústrias, diversos tipos de substâncias que antes seriam inviáveis, como compostos sensíveis ao calor e ao pH (RIBEIRO; ESTEVINHO; ROCHA, 2019). A indústria alimentícia é uma das principais áreas em que a tecnologia de microencapsulação é utilizada, o que se deve a crescente demanda dos consumidores por alimentos funcionais (PAULO; SANTOS, 2017). Diversos tipos de ingredientes ativos foram adicionados aos alimentos utilizando técnicas de microencapsulação, como por exemplo: óleo de peixe (MORALES-MEDINA et al., 2016), vitaminas (CHALELLA MAZZOCATO; THOMAZINI; FAVARO-TRINDADE, 2019), minerais (BRYSEWSKA, 2019) e microrganismos (JANTARATHIN; BOROMPICHAICHARTKUL; SANGUANDEEKUL, 2017).

Um dos principais objetivos da microencapsulação na indústria de alimentos é a liberação dos ingredientes ativos de uma forma em que eles sejam absorvidos pelo sistema digestivo, por isso, as microcápsulas devem impedir a degradação desse ingrediente ativo na



digestão (YE; GEORGES; SELOMULYA, 2018). Outros objetivos da microencapsulação são a proteção dos ingredientes ativos contra luz, umidade, oxigênio, mascarar sabores e odores indesejáveis e aumentar a solubilidade desses ingredientes (PARTHASARATHI; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2016).

Existem diversos processos de microencapsulação, como o *spray-drying*, *spray cooling*, *spray chilling*, *freeze-drying*, extrusão, coaservação, extrusão centrífuga, inclusão molecular, além de técnicas utilizando emulsões, como emulsões água em óleo e emulsões duplas (ESTEVINHO; ROCHA, 2017).

## **2.2 Emulsões**

Uma emulsão consiste na mistura homogênea de dois líquidos imiscíveis, sendo um líquido está espalhado em forma de gotas (fase dispersa) no outro líquido (fase contínua). Em alimentos, normalmente as emulsões são formadas por óleo e água, alguns exemplos são a maionese, leite e a salsicha. (FREDRICK; WALSTRA; DEWETTINCK, 2010; ILYASOGLU BUYUKKESTELLI; EL, 2019a; MCCLEMENTS, 2014). A produção de uma emulsão é feito através do processo de homogeneização, um processo em que se aplica energia suficiente à interface da solução e quebra um líquido em partículas menores. No geral, quanto maior a energia aplicada no sistema, menor o tamanho da partícula (HU et al., 2017). Dependendo da concentração dos componentes, número de etapas da formação e da eficiência do equipamento homogeneizador para reduzir o tamanho da partícula, é possível obter emulsões simples água em óleo (W/O, do inglês *water in oil*), óleo em água (O/W, do inglês *oil in water*), nanoemulsões, emulsões de multicamada, emulsões duplas e outras (TAMILVANAN, 2004).

### **2.2.1 Emulsões duplas**

Uma emulsão dupla é uma emulsão, dentro de uma emulsão, é um sistema onde existem emulsões W/O e emulsões O/W ao mesmo tempo, ou seja, emulsões água em óleo em água, consistem em pequenas gotas de água, dentro de gotas maiores de óleo que estão dispersas em água. Ela pode ser tanto água em óleo em água (W/O/W) quanto óleo em água em óleo (O/W/O). Esse tipo de emulsão possui duas interfaces, a interna, no caso entre a água e o óleo, e a externa, entre o óleo e a água, isso, são necessários dois tipos de emulsificantes para

estabilizar a emulsão (ARTIGA-ARTIGAS et al., 2019; DICKINSON, 2011; MCCLEMENTS, 2014).

Uma das características desse sistema é que há a possibilidade de encapsular produtos lipofílicos e hidrofílicos no mesmo sistema, os ingredientes hidrofílicos são capturados pela fase interna e os ingredientes lipofílicos são capturados na fase externa. Sendo assim, as emulsões duplas são bastante utilizadas para encapsular nutrientes hidrofílicos, como minerais solúveis em água, além de evitar o *off-flavor*, já que os ingredientes na fase interna não são percebidos enquanto estão na boca. O ferro é um ingrediente que pode ser beneficiado com essa técnica (ILYASOGLU BUYUKKESTELLI; EL, 2019a; MCCLEMENTS, 2014). A Tabela 1 apresenta diversos estudos sobre microencapsulação através de emulsões duplas presentes na literatura.

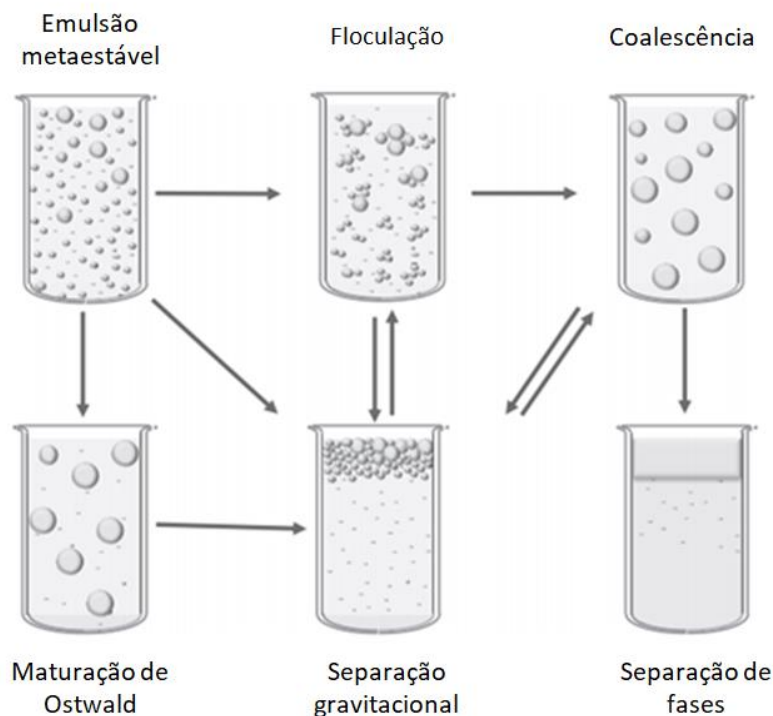
### **2.2.2 Estabilidade de emulsões**

As emulsões são sistemas instáveis, que tendem a separar suas fases com tempo devido a diversos processos de separação como a cremação, sedimentação, floculação, coalescência e a maturação de Ostwald. Esses processos ocorrem ao mesmo tempo em uma emulsão e, além disso, um mecanismo pode estimular outros mecanismos a ocorrer. A Figura 1 apresenta um diagrama dos processos que geram a separação de fases de uma emulsão (FREDRICK; WALSTRA; DEWETTINCK, 2010; HU et al., 2017; MCCLEMENTS, 2014).

A cremação e a sedimentação são processos de separação gravitacional que ocorre a partir da diferença de densidades da fase contínua e da fase dispersa. A fase dispersa tende a se mover para o topo do sistema quando tem uma densidade menor que a fase contínua, esse efeito é chamado de cremação, já a sedimentação ocorre quando a fase dispersa é mais densa que a fase contínua, movendo a fase dispersa para o fundo do sistema (FREDRICK; WALSTRA; DEWETTINCK, 2010; MCCLEMENTS, 2014).

Os processos de floculação e coalescência são processos de agregação, que ocorre quando as forças das interações atrativas são maiores que as forças de interações repulsivas, formando o agrupamento das gotas da fase dispersa. A floculação é a agregação de duas ou mais gotas que ainda mantém suas integridades individuais. Já a coalescência ocorre quando as gotas se unem e formam uma gota maior (FREDRICK; WALSTRA; DEWETTINCK, 2010; MCCLEMENTS, 2014).

Já o processo de maturação de Ostwald ocorre quando gotas maiores crescem a partir de gotas menores devido à difusão molecular da fase dispersa através da fase contínua (FREDRICK; WALSTRA; DEWETTINCK, 2010; MCCLEMENTS, 2014).



**Figura 1** Diagrama de processos que causam instabilidade em emulsões.  
Fonte: Adaptado de MCCLEMENTS, 2014

Além desses mecanismos de instabilidade, emulsões duplas podem ter mais dois tipos de instabilidade em função das suas duas interfaces, sendo elas o efeito da coalescência e o efeito da difusão. A Figura 2 apresenta esses mecanismos de instabilidade em emulsões duplas. A coalescência e a difusão podem ocorrer de três formas em uma emulsão dupla  $W_1/O/W_2$ , entre as fases internas  $W_1-W_1$ , entre as fases de óleo  $O-O$  e entre as fases internas e externas de água  $W_1-W_2$  (DICKINSON, 2010; LEISTER; KARBSTEIN, 2020). A coalescência das fases  $W_1-W_1$  e  $O-O$  ocorrem da mesma forma que a coalescência de emulsões simples, a coalescência da fase  $W_1-W_1$  não gera grande mudança no comportamento de uma emulsão dupla, porém, gotas maiores na fase interna de uma emulsão podem influenciar em interações de coalescência entre as fases  $W_1-W_2$  (DICKINSON, 2010; LEISTER; KARBSTEIN, 2020).

**Tabela 1** Estudos sobre microencapsulação de ingredientes bioativos hidrofílicos através de emulsões duplas (W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub>) (continua).

Emulsão W <sub>1</sub> /O interior	Emulsão W <sub>1</sub> /O/W <sub>2</sub>	Material encapsulado	Objetivos	Análises	Referência
Cloreto de Sódio Miglyol 812 PGPR	Tween 20 CMC Cloreto de Sódio	Resveratrol	Preparo de um produto com alto teor de resveratrol e uma alta taxa de eficiência de encapsulação utilizando emulsões duplas.	Caracterização da emulsão Estabilidade da emulsão Análises reológicas	Matos et al. 2018
Óleo de Canola PGPR	Tween 80 Rebaudiosídeo A	Vitamina C	Encapsulação da vitamina C em um modelo utilizando emulsões duplas.	Caracterização da emulsão Estabilidade da emulsão Comparação entre emulsões duplas e emulsões O/W Análise de tratamento com calor.	Kheynoor et al. 2018
FPH Cloreto de Sódio Óleo de peixe PGPR	WPC Inulina	Vitamina B12	Otimização de uma formulação de alta estabilidade de emulsões duplas usando metodologia de superfície de resposta. Fortificação de um iogurte com microcápsulas obtidas da formulação encontrada.	Avaliação de estabilidade; Avaliação sensorial; Design experimental.	Jamshidi et al. 2019
Solução tampão de fosfato Óleo de milho PGPR	Solução tampão de fosfato	Antocianina	Identificação da eficácia das emulsões duplas para encapsular, proteger e reter antocianina.	Análise de cor Determinação do tamanho da partícula e carga Análise microestrutural Análise reológica Medição de vazamento de antocianina	Liu et al. 2019

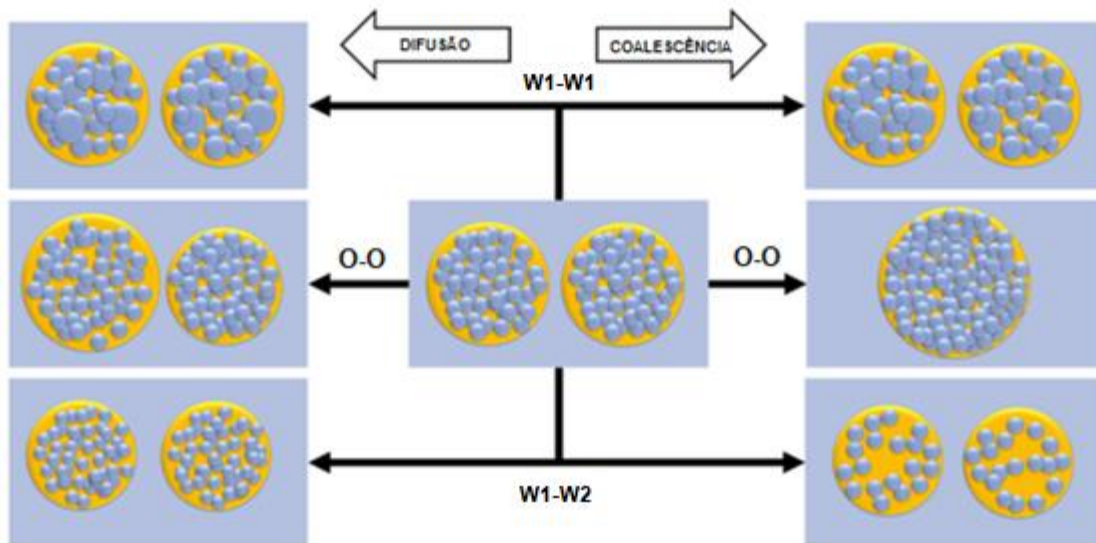
**Tabela 1 - Continuação**

Emulsão W <sub>1</sub> /O interior	Emulsão W <sub>1</sub> /O/W <sub>2</sub>	Material encapsulado	Objetivos	Análises	Referência
Óleo de girassol PGPR	Glicose Tween 20	Sulfato de ferro	Identificação da eficiência de emulsões duplas para encapsular ferro e a influência do PGPR na estabilidade dessas emulsões	Análise do tamanho da gota Morfologia Eficiência de encapsulação Estabilidade Oxidativa	Duque-Estrada et al. 2019
Propilparabeno Óleo de Soja Span 80	WPC Pectina	Oleuropeína	Encapsulação da oleuropeína por emulsões duplas estabilizadas por complexos de pectina-WPC e preparadas por sonificação.	Tamanho e potencial Zeta das partículas Conteúdo de Oleuropeína Eficiência de Encapsulação Análise de liberação Morfologia da emulsão	Gharehbeglou et al. 2019
Cloreto de Magnésio Caseinato de sódio PGPR Azeite	Caseinato de sódio	de Cloreto de sódio	de Formulação e caracterização de emulsões W/O e duplas, em que o sal se encontra na fase externa.	Estabilidade cinética Tamanho da gota Microscopia ótica Análise reológica Análise de digestão Análise sensorial	Ilyasoglu Buyukkestelli; El, 2019b
Cloreto de Sódio Óleo de milho PGPR	Cloreto de sódio Tween 20 Tween 80 ou Lecitina	Extrato de casca de manga	de Investigação da estabilidade do extrato de casca de manga encapsulado por emulsões duplas e o efeito dos surfactantes na estabilidade e propriedades de encapsulação da emulsão.	Tamanho da gota e sua distribuição Viscosidade e estabilidade da emulsão Eficiência e estabilidade da encapsulação CLSM	Velderrain-Rodríguez et al. 2019

**Tabela 1 - Continuação**

Emulsão W <sub>1</sub> /O interior	Emulsão W <sub>1</sub> /O/W <sub>2</sub>	Material encapsulado	Objetivos	Análises	Referência
Cloreto de sódio Óleo de canola PGPR Azida de Sódio	Tween 80	Peptídeo Bioativo	Formação de emulsões duplas que melhorem a estabilidade física e química de peptídeos bioativos	Tamanho e potencial Zeta das partículas Eficiência de Encapsulação Microscopia ótica	Choi et al. 2020
Óleo MCT Span 60 Lecitina PGPR	Amido Maltodextrina	Peptídeos de soja	Utilização de emulsões duplas para o desenvolvimento de microcápsulas contendo alto teor de peptídeos	Tamanho de partícula Morfologia Eficiência de encapsulação	Ying et al. 2021
Óleo de soja PGPR	Tween 80 Lecitina Pectina Proteína de feijão preto	Insulina Quercetina	Coencapsulação de ingredientes hidrofílicos e hidrofóbicos em uma emulsão dupla	Tamanho de partícula e potencial Zeta Estabilidade e atividade de emulsão Eficiência de encapsulação Propriedades reológicas Estabilidade oxidativa Bioacessibilidade	Han et al. 2022

**Legenda:** W/O - água em óleo; AOT – sal de sódio de Dioctilsulfossuccinato; CLSM - Microscopia confocal de varredura a laser (*Confocal Laser Scanning Microscopy*); - FPH - Hidrolisado de proteína de peixe (*Fish Protein Hydrolystate*); PGPR - Polirricinoleato de poliglicerol; O/W - óleo em água; WPC - Proteína do soro de leite concentrada (*Whey Protein Concentrate*).



**Figura 2** Diagrama de mecanismos de instabilidade de emulsões duplas W1/O/W2.  
 Fonte: Adaptado de LEISTER E KARBSTEIN (2020)

A coalescência das fases  $W_1-W_1$  e O-O ocorrem da mesma forma que a coalescência de emulsões simples, a coalescência da fase  $W_1-W_1$  não gera grande mudança no comportamento de uma emulsão dupla, porém, gotas maiores na fase interna de uma emulsão podem influenciar em interações de coalescência entre as fases  $W_1-W_2$  (DICKINSON, 2010; LEISTER; KARBSTEIN, 2020). A coalescência entre a fase O-O transforma a emulsão dupla por completo, maiores gotas de óleo tendem a cremear mais rápido, além disso, há uma mudança na viscosidade da emulsão como todo, facilitando mais os efeitos de separação gravitacional, levando eventualmente a uma separação de fases (DICKINSON, 2010; LEISTER, KARBSTEIN, 2020). Por último, a coalescência entre a fase  $W_1-W_2$  gera mudanças críticas na emulsão, por ser a coalescência das gotas da fase interna da emulsão na fase externa da emulsão ela gera a liberação da água, e por consequência do material encapsulado, gerando eventualmente uma quebra do sistema  $W_1/O/W_2$ , gerando emulsões simples O/W (DICKINSON, 2010; LEISTER, KARBSTEIN, 2020).

O fenômeno de difusão ocorre pela diferença de pressão capilar entre as gotas, essa diferença gera a maturação de Ostwald, onde gotas maiores tendem a crescer e gotas menores a diminuir. Esse fenômeno ocorre nas fases  $W_1-W_1$  e O-O da mesma forma que ocorreria em emulsões simples (DICKINSON, 2010; LEISTER, KARBSTEIN, 2020). A difusão entre fases  $W_1-W_2$  é um fator crucial em emulsões duplas, pois dependendo da diferença de pressão osmótica entre as fases, as gotas da fase interna podem inchar ou diminuir de tamanho, quando

são inchadas, há uma perda de água na fase externa, o que aumenta a fase de óleo na emulsão, aumentando a viscosidade do sistema e a instabilidade na fase interna da emulsão, quando as gotas da fase interna diminuem, há a perda do ingrediente ativo encapsulado e um aumento da fase aquosa externa, o que diminui a viscosidade do sistema e aumenta a instabilidade por separação gravitacional (DICKINSON, 2010; LEISTER; KARBSTEIN, 2020; MEZZENGA; FOLMER; HUGHES, 2004).

Fatores de instabilidade em uma emulsão dupla podem facilitar o surgimento de outros fatores de instabilidade e eles podem ocorrer simultaneamente, por isso, é necessário a utilização de substâncias que ajudem uma emulsão a se manter estável, impedindo esses fatores de ocorrer, para isso são utilizados em uma emulsão duplas diferentes agentes emulsificantes, agentes espessantes e substâncias osmoticamente ativas (LEISTER; KARBSTEIN, 2020; MUSCHIOLIK; DICKINSON, 2017; NEUMANN; VAN DER SCHAAF; KARBSTEIN, 2018).

### **2.2.3 Agentes emulsificantes**

Agentes emulsificantes são substâncias capazes de se adsorver em interfaces óleo- água e impedir a agregação das gotas da emulsão, por floculação ou coalescência. Os agentes emulsificantes mais comuns são os surfactantes e os biopolímeros anfipáticos (MCCLEMENTS, 2004, 2008; NGWULUKA et al., 2015; WU et al., 2015).

Surfactantes são pequenas moléculas que possuem uma parte hidrofóbica, com afinidade ao óleo, e uma parte hidrofílica, com afinidade à água. Essas moléculas se adsorvem na interface de uma emulsão pela conformação de suas partes, orientando-se para os pontos onde são encontrados a água ou o óleo. Uma vez adsorvida, o surfactante impede a agregação das gotas da emulsão, a partir de uma força de repulsão entre suas partes. Biopolímeros anfipáticos são cadeias monoméricas, como as proteínas e os polissacarídeos, que possuem uma parte hidrofílica e hidrofóbica. Quando esses biopolímeros estão dissolvidos em solução aquosa, essas partes hidrofílicas e hidrofóbicas são expostas, e a partir de interação hidrofóbicas, elas se conformam e adsorvem na superfície da emulsão (BOUYER et al., 2012; MCCLEMENTS, 2004; MCCLEMENTS; JAFARI, 2018).

Um emulsificante ideal deve rapidamente adsorver na superfície das gotas durante a homogeneização, formando uma camada nessa interface, protegendo as gotas contra agregação, essa superfície criada também deve diminuir a tensão interfacial do sistema. Diversos produtos



podem exibir essa característica e ser usado como agentes emulsificantes, os biopolímeros como as proteínas, polissacarídeos e complexos, e os surfactantes como *Tweens* e o PGPR (DICKINSON, 2010; MCCLEMENTS, 2008).

Proteínas são moléculas que rapidamente adsorvem a interface das gotas e formam finas camadas carregadas eletricamente, impedindo assim mecanismos de agregação. Elas podem adotar diferentes conformações dependendo da sua estrutura molecular. Diferentes proteínas podem ser utilizadas como emulsificantes, sendo as mais comuns as proteínas do leite (caseínas e soro), da soja e do ovo. Normalmente possuem características hidrofílicas, sendo mais utilizadas como emulsificantes em emulsões O/W (BURGER; ZHANG, 2019; OZTURK; MCCLEMENTS, 2016).

As proteínas do soro do leite (*Whey proteins*) são normalmente encontradas como um subproduto da produção de queijos, são proteínas globulares do leite que ainda se encontraram solúveis após a precipitação da caseína. Elas são importantes ingredientes devido à sua qualidade nutricional, baixo custo e grandes qualidade funcionais (ADJONU et al., 2014; BAI et al., 2019). O soro do leite pode ser dividido em duas categorias principais, dependendo de diversos fatores como tipo de queijo, tratamento térmico, armazenamento e outros, podendo ser um soro de leite ácido (pH <5,1) ou um soro de leite doce (pH >5,1), soro de leite ácidos tem maior concentração de cálcio e cinzas (SMITHERS, 2015; TEIXEIRA et al., 2019).

O soro do leite tem um conjunto de diferentes proteínas em sua composição, geralmente consistindo em  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbumina, albumina de soro bovino, lactoferrina e outras imunoglobulinas, sendo a mais abundante a  $\beta$ -lactoglobulina (MEHRA et al., 2021; SIMIQUELI et al., 2019). As proteínas do soro do leite também são comumente isoladas, formando substâncias mais concentradas em proteínas a partir de diferentes processos de filtração, podendo variar entre concentrado de proteína de leite (WPC), isolado de proteína de leite (WPI), além de outros produtos produzidos a partir de outras técnicas (TSERMOULA et al., 2021). O WPC possui níveis de proteína entre 65 e 70% da massa total da substância, enquanto o WPI pode possuir até mais que 90% de concentração de proteína, essa quantidade é alcançada a partir de diferentes técnicas de purificação para remoção da lactose e gordura, a composição do WPI tipicamente é de aproximadamente 70,2% de  $\beta$ -lactoglobulina, 14,3% de  $\alpha$ -lactalbumina, 8,6% de albumina e 6,9% de imunoglobulinas (MEHRA et al., 2021; TEIXEIRA et al., 2019).

O polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) é um emulsificante não-iônico vastamente usado em alimentos, possui um HLB entre 2 e 4, sendo assim um emulsificante lipofílico, mais

indicado para a formação de emulsões W/O. É formado pela esterificação do glicerol polimerizado com óleo de mamona condensado. O PGPR é geralmente reconhecido como seguro para alimentos, GRAS (*Generally Recognized As Safe*), porém, a legislação brasileira impõe um limite máximo de 0,1 g/100g (METTU; WU; DAGASTINE, 2018; OKURO et al., 2019; BRASIL, 2008).

### 2.2.3.1 Balanço hidrofílico-lipofílico dos emulsificantes

O balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) é um método semi-empírico de classificação de emulsificantes. O HLB é um número que indica a afinidade de um emulsificante para uma fase aquosa e uma fase de óleo (MCCLEMENTS, 2004; METTU; WU; DAGASTINE, 2018). Ele pode ser descrito pela Equação (1):

$$HLB = 7 + \sum HFI - \sum HFO \quad (1)$$

onde HFO são os grupos hidrofóbicos e HFI são os grupos hidrofílicos.

Sendo assim, o HLB é uma indicação da solubilidade do emulsificante em uma fase de água ou óleo, um alto valor de HLB (>10) é predominantemente hidrofílico, se dissolvendo preferencialmente em água e estabilizando emulsões onde a fase contínua contém água. Já um baixo HLB (<6), o emulsificante é hidrofóbico, solubiliza-se em óleo e estabiliza emulsões onde a fase contínua contém óleo. Valores intermediários de HLB apresentam emulsificantes sem preferências a óleo ou água. Normalmente, surfactantes alimentares têm o HLB variando de 1 a 20 (MCCLEMENTS, 2004; METTU; WU; DAGASTINE, 2018; ZAFEIRI et al., 2017).

### 2.2.3.2 Tensão interfacial

A tensão interfacial é uma importante propriedade no estudo de coloides, descrevendo fenômenos de formação, forma e estabilidade de líquidos, em emulsões é possível identificar interações entre moléculas e a interface (BERRY et al., 2015; MILLER; AKSENENKO; FAINERMAN, 2017). Sendo assim, tensão interfacial é a descrita como a medida de energia necessária para formar uma unidade de área de interface de dois líquidos imiscíveis, sendo sua unidade J/m<sup>2</sup>, porém, se é mais utilizado sua unidade equivalente N/m (BERRY et al., 2015).

Durante a formação de emulsões, há uma formação das gotas da fase dispersa na fase contínua, esse fenômeno é termodinamicamente desfavorável, portanto, a formação de gotas da emulsão resulta em uma energia livre no sistema, que é diretamente proporcional entre a energia

da interface da emulsão e a área superficial gerada pela interface (SCHROËN; DE RUITER; BERTON-CARABIN, 2020), como pode ser visto pela Equação (2):

$$\Delta G = \gamma \Delta A \quad (2)$$

onde  $\gamma$  é tensão interfacial e  $\Delta A$  é a variação da área superficial do sistema,  $\Delta G$  é a energia livre no sistema e em emulsões é sempre positiva, o que indica que a emulsão sempre é um sistema desfavorável e tende a separação de fases (MCCLEMENTS, 2004).

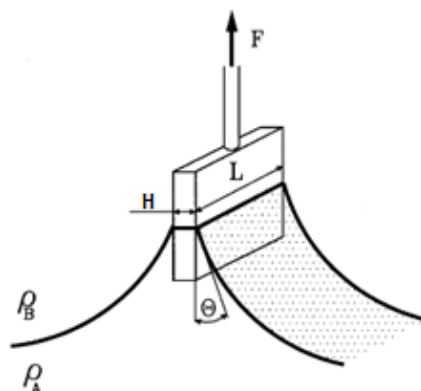
Assim, é vital o entendimento e o controle da tensão interfacial para a formação de emulsões mais estáveis, para isso são utilizados agentes emulsificantes, que por interagirem na interface, diminuem a tensão interfacial do sistema, pois interações emulsificante-água e emulsificante-óleo são mais favoráveis termodinamicamente (MCCLEMENTS, 2004; SCHROËN; DE RUITER; BERTON-CARABIN, 2020).

Para o determinar quantitativamente a tensão interfacial foram criados diferentes métodos, sendo os principais o prato de Wilhelmy e volume da gota (BERRY et al., 2015; SCHROËN; DE RUITER; BERTON-CARABIN, 2020)

A técnica de medição do prato de Wilhelmy se baseia na força gerada pelos líquidos, o prato é colocado no menisco do líquido. Pela força gerada no prato (DRELICH; FANG; WHITE, 2002), é possível obter a tensão interfacial pela Equação (3):

$$\gamma = \frac{F}{2(H+L)\cos\theta} \quad (3)$$

em que  $F$  é a força no prato,  $\theta$  o ângulo de contato do prato e  $L$  e  $H$  são as medidas do prato, como é descrito na Figura 3.

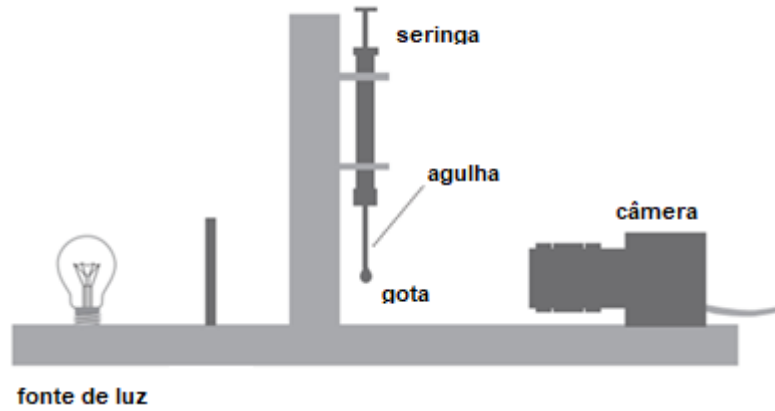


**Figura 3** Esquema do método de prato de Wilhelmy

Fonte: Adaptado de DRELICH, FANG, WHITE, 2002

A técnica de medição da tensão interfacial pela forma da gota se baseia na medição de um fator adimensional, número de ligação, que é obtido pelas medidas da gota. A técnica

depende apenas de uma agulha para a formação da gota, uma câmera e uma fonte de luz, a Figura 4 apresenta a configuração da técnica.



**Figura 4** Configuração de funcionamento de um tensiômetro de formato de gota

Fonte: Adaptado de BERRY et al., 2015

A Figura 5 apresenta um esquema da gota analisada pelo método, assim como seus parâmetros, que são necessários para obter o valor do número de ligação e da tensão interfacial. Na imagem é descrito o raio da gota ( $R_o$ ), a circunferência da gota ( $S$ ) o ângulo tangente a curvatura da gota ( $\varphi$ ), a densidade da gota ( $\rho_d$ ), a densidade do meio ( $\rho$ ) e os eixos  $z$  e  $r$ . O valor do número de ligação ( $Bo$ ) é obtido através dos parâmetros da gota pelas Equações (4), (5) e (6):

$$\frac{d\varphi}{d\bar{s}} = 2 - Bo\bar{z} - \frac{\sin \varphi}{\bar{r}} \quad (4)$$

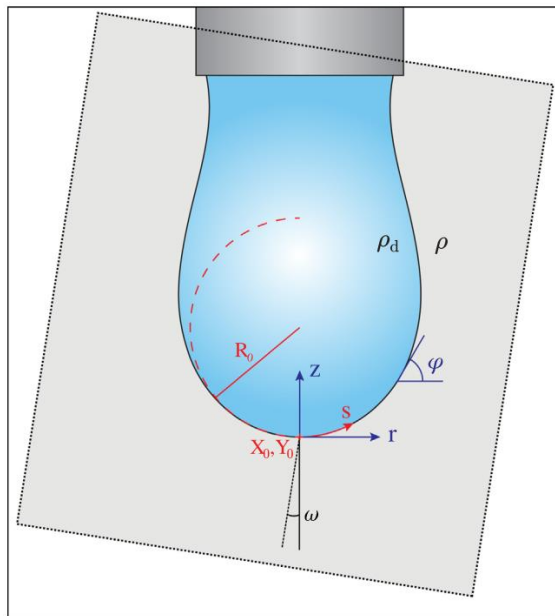
$$\frac{d\bar{r}}{d\bar{s}} = \cos \varphi \quad (5)$$

$$\frac{d\bar{z}}{d\bar{s}} = \sin \varphi \quad (6)$$

A tensão interfacial é diretamente proporcional ao número de ligação, ao raio da gota e da diferença de densidade entre os líquidos, como é apresentado na Equação (7):

$$Bo = \frac{\Delta\rho g R_o^2}{\gamma} \quad (7)$$

em que  $\Delta\rho$  é a diferença de densidade entre os líquidos,  $g$  é a aceleração da gravidade e  $\gamma$  a tensão interfacial.



**Figura 5** Parâmetros da gota em um tensiômetro

Fonte: Adaptado de BERRY et al., 2015

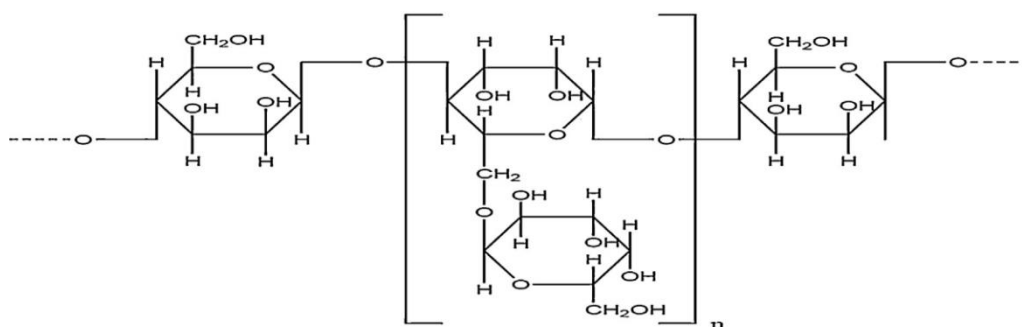
#### 2.2.4 Agentes espessantes

Agentes espessantes são produtos que tem como principal função o aumento da viscosidade da fase contínua da emulsão, reduzindo taxas de cremação e sedimentação, mantendo assim sua estrutura, logo aumentando sua estabilidade (ARANCIBIA et al., 2017; MCCLEMENTS, 2004). Polissacarídeos, como carragena, alginatos e gomas, e proteínas, como gelatinas e caseínas, são comumente utilizados como agentes espessantes (MCCLEMENTS, 2004), por terem massas molares mais altas e poucas propriedades hidrofóbicas, fazendo com que eles não adsorvam a interface de uma emulsão, mas sim se dispersando na fase contínua da emulsão, aumentando sua viscosidade e formando redes que se ligam as gotas, diminuindo seu movimento (MCCLEMENTS, 2000; SHAO et al., 2020).

López-Castejón et al. (2019) utilizaram inulina, um polissacarídeo natural, como agente espessante, observando uma melhora na consistência das emulsões O/W à medida que foi aumentando a concentração do polissacarídeo. Gomas também são utilizadas como agentes espessantes, Chivero et al. (2015) formaram emulsões O/W com uma melhor estabilidade cremação ao adicionar goma xantana e goma guar na fase contínua da emulsão, além dessas gomas, outras galactomananas podem ser utilizadas como agentes espessantes, como a goma alfarroba e a goma tara.

### 2.2.4.1 Goma tara

Galactomananas são polissacarídeos formados por um eixo estrutural de manose ligado a um grupo estrutural de galactose, a Figura 6 apresenta a estrutura geral das galactomananas. Esses polissacarídeos são obtidos a partir de sementes de dicotiledôneas e diferem entre si pela relação entre manose e galactose em sua estrutura, sendo as principais galactomananas a goma guar, alfarroba, feno grego e tara (PRAJAPATI et al., 2013; WU et al., 2009).



**Figura 6** Estrutura geral de uma galactomanana.

Fonte: Adaptado de PRAJAPATI et al., 2013.

A goma tara é uma galactomana extraída das árvores Tara (*caesalpinina spinos*) que pode ser encontrada em diversos países da América do Sul, porém tem o Peru como maior produtor. As árvores de Tara tem entre 3~10m de altura, e produz vagens indeiscentes de tamanho entre 6~10 cm (JEPSON;HICKMAN, 1993, PRAJAPATI et al., 2013).

A produção da goma tara é feita a partir da moagem do endosperma das vagens em uma espécie de farinha. Após a moagem, essa farinha passa por um processo de aquecimento em altas temperaturas por 45 segundos para se retirar a casca e o embrião da semente (cerca de 78% de toda a semente), após esse processo, a goma tara se encontra em um pó branco (MATHUR, 2012, WUESTENBERG, 2015). A composição da goma pode variar dependendo da manufatura da goma, Wu et al.(2009) a composição da goma tara em 12,37% de umidade, 0,71% de proteínas e 0,77% de cinzas.

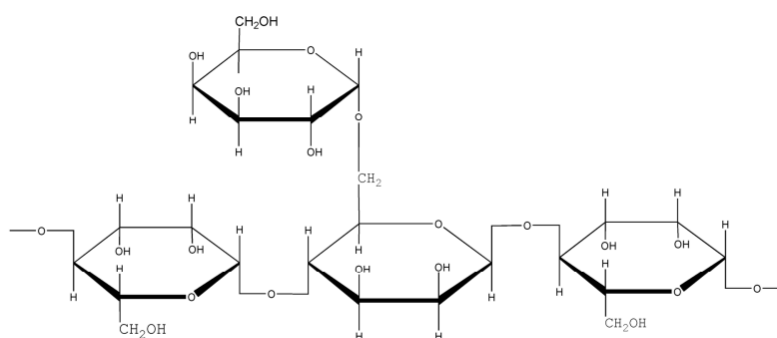
A proporção de manose e galactose da goma tara é de 3:1, a Figura 7 apresenta a estrutura da goma tara, consistindo em uma cadeia principal de manose ligado em  $\beta(1\rightarrow4)$  com cadeias laterais de galactose ligados em  $\alpha(1\rightarrow6)$  (WU et al. 2015, WUESTENBERG, 2015). A goma tara é apenas 80% solúvel em água a 25° C, sendo totalmente solúvel em água quente.

Sua solução é neutra e possui característica pseudoplástica, sua viscosidade se mantém constante por uma grande faixa de pH (PRAJAPATI et al., 2013, WUESTENBERG, 2015).

Devido a sua alta capacidade de se ligar a água, a goma tara pode formar soluções altamente viscosas mesmo em baixas concentrações sem formar géis, devido a essa propriedade a goma tara pode ser utilizada como um agente espessante (WU et al., 2009; WU; DING; HE, 2018; ZHANG et al., 2019). A goma tara não é digerida por enzimas no corpo e não possui efeitos negativos no corpo (WUESTENBERG, 2015, BORZELLECA et al., 1993), no Brasil, a goma tara é definida como aditivo alimentar pela ANVISA na categoria de espessante e estabilizante (BRASIL, 2010).

A principal galactomana utilizada em diversos trabalhos reportados na literatura é a goma guar, poucos estudos foram realizados com outras galactomanas, sendo assim, em razão de suas características funcionais e por ser um produto relativamente novo, a goma tara foi utilizada como agente espessante no presente estudo.

0



**Figura 7** Estrutura da goma tara

Fonte: Adaptado de MA et al., 2015.

### 2.2.5 Substância osmoticamente ativa

Para impedir fenômenos de difusão em emulsões duplas, é necessário um balanço da pressão osmótica entre as fases da emulsão, para isso, são utilizadas substâncias osmoticamente ativas (OAS, do inglês *Osmotic Active Substance*), para diminuir a diferença de pressão. Essas substâncias, como açúcares e sais, geram uma pressão osmótica em algumas das fases, por isso são utilizadas para gerar o equilíbrio (NEUMANN; VAN DER SCHAAF; KARBSTEIN, 2018; TAN; MCCLEMENTS, 2021).

A variação de pressão osmótica ( $\pi_o$ ) em uma emulsão dupla pode ser descrita pela lei de van't Hoff pela Equação (8), quanto mais próximo essa variação for de zero, menor são as chances de ocorrer fenômenos de difusão (HOU et al., 2017).

$$\pi_o = 2(C_{int} - C_{ext})RT \quad (8)$$

em que  $C_{int}$  é a concentração de soluto no interior da emulsão dupla,  $C_{ext}$  é a concentração de soluto na fase exterior da emulsão dupla, R é a constante ideal dos gases e T é a temperatura (K).

Diversos estudos foram feitos estudando o efeito da pressão osmótica em emulsões e o efeito de OAS nesses sistemas, Neumann, Van der Schaaf e Karbstein (2018) constataram que diferentes OAS e diferentes concentrações afetam a estabilidade de emulsões simples, apresentando que emulsões duplas formadas com NaCl apresentaram mais resistência a difusão que emulsões formadas por CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub> e glicose.

Açúcares como a lactose, e a glicose também são bastante utilizados para a o controle da pressão osmótica, ao balancear a pressão osmótica a partir da Equação (8), Bonnet et al. (2009), formaram emulsões duplas estáveis para encapsular cloreto de magnésio utilizando lactose, como OAS, e caseinato de sódio como emulsificante na fase exterior. Kaimainen et al. (2015) encontraram emulsões duplas com boa estabilidade e alta eficiência de encapsulação para betalaína (variando entre 87% e 91%) ao utilizar goma guar, como agente emulsificante, goma xantana, como agente espessante, e glicose, como OAS.

Muschiolik et al. (2006) observaram que com uma maior concentração de sacarose na fase externa, foi possível formar emulsões duplas com boa estabilidade e alta eficiência de encapsulação de vitamina B2. Nesse estudo, a pressão osmótica foi regulada a partir do gradiente osmótico do sistema, que variou de 180 a 200 mOsmol/kg.

## **2.3 Ingredientes Bioativos**

### **2.3.1 Minerais**

Os minerais representam apenas 0,2% a 0,3% da dieta diária, porém sem eles não seria possível absorver todo o restante do alimento adquirido. Os minerais alimentares como o ferro, zinco, cálcio, potássio e magnésio, são necessários para diversos processos bioquímicos e fisiológicos necessários para a saúde humana, por essa razão, esses componentes são visados como ingredientes ativos em alimentos (NABRZYSKI, 2002). Os minerais possuem diversos



desafios para serem incorporados em produtos alimentícios. Íons minerais podem modificar as alterações eletrostáticas dos componentes de um alimento, sendo assim, modificando sua aparência, textura, estabilidade. Além disso, os minerais solúveis possuem gosto indesejável pelo consumidor (MCCLEMENTS, 2014).

#### 2.3.1.1 Ferro

O ferro é um metal bivalente importante, já que é necessário em várias funções fisiológicas, como por exemplo, carregar o oxigênio para as células e catalisar reações enzimáticas. Sua deficiência causa a anemia, porém outros problemas como a baixa imunidade e baixo desenvolvimento mental também são atribuídos a deficiência do ferro (BHATIA; JAIN; SINGH, 2017; PRICHAPAN; MCCLEMENTS; KLINKESORN, 2018). A anemia causada pela falta de ferro na dieta é a mais comum, podendo afetar qualquer pessoa, independente de caráter socioeconômico. Dentre os diversos sintomas, a anemia pode causar cansaço, apatia, falta de apetite, palidez, palpitações até taquicardia. Em crianças, a anemia ferropriva pode afetar seu crescimento, aprendizagem e aumentar a predisposição a infecções (WHO, 2017; WHO, 2007).

Sendo assim, a fortificação de ferro na dieta é uma solução apropriada para o problema, entretanto, ainda é um grande desafio. A forma solúvel em água do ferro, como o sulfato de ferro ( $\text{FeSO}_4$ ), possui maior biodisponibilidade, mas com sua atividade pró-oxidante, ele rapidamente catalisa reações de oxidação, modificando as características sensoriais e nutricionais do produto e causando um gosto metálico indesejado nos alimentos (DUQUE-ESTRADA et al., 2019). Para adicionar o ferro nos produtos alimentícios com o mínimo de mudanças nas características sensoriais do produto é preciso de sistemas que carreguem o ferro de forma que mascare as características sensoriais indesejadas do produto. Assim, as emulsões duplas podem ser uma alternativa efetiva, já que as substâncias podem ser incorporadas na sua fase interna, externa e intermediária (DUQUE-ESTRADA et al., 2019; ILYASOGLU BUYUKKESTELLI; EL, 2019a).

A fortificação de ferro em alimentos é uma técnica já bastante utilizada, principalmente para o público-alvo infantil, onde a sua utilização em alimentos como farinhas, papinhas infantis, bebidas lácteas são comuns (HURRELL; COOK, 1990; LYNCH, 2005). Chang, Lee e Kwak (2016) utilizaram emulsões duplas para a fortificação de leite com sulfato de ferro.

No Brasil, para um alimento ser considerado fortificado, ele deve possuir pelo menos 15% do índice de ingestão diária (IDR) de ferro em 100 mL de um alimento líquido ou 30% do

IDR em 100 g de um alimento sólido (BRASIL, 1998). O IDR do ferro é de 14 mg em adultos e varia de 6 a 9 mg para crianças de 1 a 10 anos (BRASIL, 2005).

Na Tabela 2, observam-se diferentes técnicas para a microencapsulação do ferro. Pode-se notar que as emulsões duplas possuem alta eficiência de encapsulação em comparação com outras técnicas convencionais de microencapsulação para o ferro. É possível perceber também que o composto mais comum a ser microencapsulado é o sulfato de ferro ( $\text{FeSO}_4$ ), porém outros compostos podem ser usados como o cloreto de ferro ( $\text{FeCl}_3$ ).

### 2.3.2 Biodisponibilidade

A simples ingestão de uma quantidade adequada de um ingrediente bioativo não determina que esse ingrediente esteja sendo absorvido pelo corpo, e de fato, tenha algum valor nutricional (SILVA et al., 2013; FIORAVANTI et al., 2020). Por isso, o entendimento da biodisponibilidade de um ingrediente é uma importante etapa para determinar os benefícios de um produto para a saúde (DIMA et al., 2020).

A biodisponibilidade ( $BD$ ) pode ser definida como a porção do ingrediente ingerido que consegue chegar ao organismo participando de processos metabólicos do corpo. A biodisponibilidade é a combinação de três fatores principais, a bioacessibilidade, a absorção e a transformação, podendo ser expressa pela Equação (9) (DIMA et al., 2020; JOYE; DAVIDOV-PARDO; MCCLEMENTS, 2014; MCCLEMENTS; PENG, 2020):

$$BD = Q_i \times Q_{B^*} \times Q_{A^*} \times Q_{T^*} \quad (9)$$

onde  $Q_i$  é a quantidade ingerida do ingrediente ativo,  $Q_{B^*}$  é a porção bioacessível do ingrediente,  $Q_{A^*}$  é a porção absorvida do ingrediente no organismo e  $Q_{T^*}$  é a porção do ingrediente que é transformada.

Esses fatores são relacionados diretamente entre si, pois cada fator influencia o próximo. Podendo ser quantificados em modelos *in vivo*, *in vitro* e *ex vivo*, tais fatores apontam uma complexidade na apresentação da biodisponibilidade de um ingrediente, por isso, estudos dedicados a um desses fatores, como a bioacessibilidade, podem ser usados para estimar o comportamento de um ingrediente no corpo humano (DIMA et al., 2020; FIORAVANTI et al., 2020). Para que um ingrediente esteja bioacessível é necessário que ele esteja solúvel no organismo. A bioacessibilidade é obtida experimentalmente através de simulações *in vitro* de modelos gastrointestinais, quantificada através da porcentagem do ingrediente ativo solúvel em comparação a quantidade total de ingrediente na digesta (DIMA et al., 2020; MCCLEMENTS;

PENG, 2020). Diversos estudos sobre a bioacessibilidade de inúmeros ingredientes já foram feitos, Luo et al., (2020) encontraram a bioacessibilidade de diferentes ésteres carotenoides de uma planta goji encapsulados através de nanoemulsões variar entre 30% e 45% após a completa simulação gastrointestinal *in vitro*. Já Huang et al., (2021) observaram uma bioacessibilidade de quercetina de até 40% em emulsões Pickering.

O ferro é um produto que possui sua bioacessibilidade bastante estudada, por ser um ingrediente ativo que reage com diversos e possui baixa biodisponibilidade (CIAN et al., 2021; SAINI et al., 2014). Khoja et al., (2021) definiram a bioacessibilidade do ferro em modelos gastrointestinais *in vitro* de alguns vegetais em seu estudo, encontrando uma bioacessibilidade de até 99,7% em uma polpa de fruta de Baobá. Ilyasoglu Buyukkestelli; El, (2019a) definiram a bioacessibilidade do ferro em emulsões duplas após simulação gastrointestinais *in vitro* entre 40% e 50%.

**Tabela 2** Estudos sobre a microencapsulação do ferro por diferentes técnicas (continua).

Técnica de encapsulação	Eficiência de encapsulação	Composto do Ferro	Objetivos	Referência
<i>Spray-drying</i>	-	Sulfato de ferro	Formar e caracterizar diferentes micropartículas de ferro e maltodextrina	Churio; Valenzuela, 2018
Emulsão simples	89,78%	Sulfato de Ferro	Desenvolvimento de sistemas de transporte que podem ser incorporados em alimentos funcionais fortificados com ferro.	Prichapan; Mcclements; Klinkesorn, 2018
Emulsão dupla	81%	Sulfato de Ferro	Identificação da eficiência de emulsões duplas para encapsular ferro e a influência do PGPR na estabilidade dessas emulsões.	Duque-Estrada et al. 2019
<i>Spray-drying</i>	-	Sulfato de Ferro Lactato de Ferro	Comparar a bioacessibilidade do ferro em duas preparações que contenham sulfato de ferro ou lactato de ferro.	Bryszewska. 2019
Emulsão dupla	95,33%	Sulfato de Ferro	Avaliar os efeitos de tratamentos térmicos nas características físico-químicas, na bioacessibilidade e liberação do ferro em emulsões duplas.	Hosseini et al. 2019
Gelificação iônica	80%	Sulfato de Ferro	Investigar a atividade pró-oxidante das cápsulas de ferro em uma emulsão O/W.	Cengiz; Schroën; Berton-Carabin, 2019

**Tabela 2 – Continuação**

Técnica de encapsulação	Eficiência de encapsulação	Composto do Ferro	Objetivos	Referência
Emulsão dupla	97,5%	Sulfato de Ferro	Incorporação do ferro em diferentes concentrações e fases de uma emulsão dupla para identificar sua capacidade de mascarar o sabor do ferro	Simiqueli et al. 2019
Emulsão dupla	79,46%	Cloreto de Ferro	Formular emulsões $W_1/O/W_2$ estáveis com ferro.	Ilyasoglu Buyukkestelli; El, 2019a
Partículas lipídicas sólidas	92,3%	Sulfato de Ferro	Preparação de método de encapsulação de ferro por nanopartículas de lipídio sólido.	Hatefi, Farhadian. 2020
Emulsão dupla	83%	Sulfato de Ferro	Formular emulsões duplas com a utilização de saponina como agente emulsificante	Prichapan, McClements, Klinkesorn. 2020
Emulsão dupla multicamada	89,4%	Sulfato de Ferro	Investigar a capacidade das emulsões se manterem estáveis, reter o ferro e ser resistente ao stress osmótico.	Prichapan, McClements, Klinkesorn. 2021
<i>Hidrogel</i>	94,08	Sulfato de Ferro	Formação de um hidrogel de WPI- goma gelana para o encapsulamento de ferro	Kazemi-Taskooh, Varidi. 2021

**Legenda:**  $W_1/O/W_2$  - água em óleo em água; O/W - óleo em água; PGPR - polirricinoleato de poliglicer

## **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.1 Materiais**

Foram utilizados a goma tara obtida da El Sol S.A.C (Lima, Peru), o polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) foi obtido no mercado local (Sao Paulo, Brasil), o isolado proteico do soro do leite (WPI) obtido da Glanbia Nutritionals (Santa Catarina, Brasil), sulfato de ferro heptahidratado P.A.(215422), cloridrato de hidroxilamina, hidrato de sal monossódico de ácido 3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazina-p, p-dissulfônico (160601), Pepsina suína (P6887), Pancreatina do pâncreas suíno (P7545), extrato da bile suína (B8631) e azida de sódio foram obtidos da companhia Sigma-Aldrich® (St. Louis, USA). Água utilizada na formação das soluções será uma água ultrapura de condutividade de 0,05  $\mu\text{S}/\text{cm}$  do equipamento (Gehaka, Master- P&D, Brasil).

### **3.2 Formação da Emulsão Dupla ( $W_1/O/W_2$ )**

A emulsão dupla foi formada por um processo de duas etapas e adaptada aa metodologia proposta por Duque-Estrada et al. (2019) e Ilyasoglu Buyukkestelli; El (2019a)

#### **3.2.1 Formação da emulsão $W_1/O$ interna**

A fase aquosa interna ( $W_1$ ) contém 0,8% m/m de sulfato de ferro heptahidratado. A fase de óleo foi formada por óleo de soja (O) contendo 5,0 % m/m de PGPR, misturados a 200 rpm por 30 minutos na temperatura ambiente, seguidos por 30 minutos de descanso. A emulsão  $W_1/O$  interna foi preparada misturando a fase de óleo e a fase aquosa na proporção de 4:1 m/m empregando o homogeneizador UltraTurrax T25 (IKA, Alemanha) a 15.000 rpm por 4 minutos.

### 3.2.2 Formação da emulsão dupla $W_1/O/W_2$

A fase aquosa externa ( $W_2$ ) foi preparada com diferentes concentrações de WPI: 8, 12 e 16 % m/m, diferentes concentrações de goma tara: 0, 0,4 e 0,8% na presença ou não de sacarose (0 e 2%) como OAS. As diferentes amostras da fase aquosa externa são apresentadas na Tabela 3. As emulsões duplas foram formadas pela mistura da fase aquosa externa e da emulsão interna  $W_1/O$  na proporção 4:1 empregando o homogeneizador Turrax T25 a 14000 rpm por 3 minutos em temperatura ambiente. Também foi adicionado azida de sódio (0,01% m/m) como inibidor bacteriano em todas as formulações.

**Tabela 3** Teor dos componentes da fase aquosa externa ( $W_2$ ) das emulsões duplas ( $W_1/O/W_2$ ).

Amostra*	WPI (%)	Goma Tara (%)	Sacarose (%)
A1	8,0	0,0	0,0
A2	12,0	0,0	0,0
A3	16,0	0,0	0,0
A4	8,0	0,4	0,0
A5	12,0	0,4	0,0
A6	16,0	0,4	0,0
A7	8,0	0,8	0,0
A8	12,0	0,8	0,0
A9	16,0	0,8	0,0
A10	8,0	0,0	2,0
A11	12,0	0,0	2,0
A12	16,0	0,0	2,0
A13	8,0	0,4	2,0
A14	12,0	0,4	2,0
A15	16,0	0,4	2,0
A16	8,0	0,8	2,0
A17	12,0	0,8	2,0
A18	16,0	0,8	2,0

\*As emulsões contêm a mesma composição na fase interna  $W_1/O$

#### Substância osmoticamente ativa

A sacarose foi utilizada como substância osmoticamente ativa, sua concentração foi utilizada para igualar as pressões osmóticas entre as fases internas e externas de água na emulsão dupla, impedindo o transporte de água, e subsequente instabilidade, no

sistema. Para isso, a equação ideal dos gases é adotada para identificar a pressão osmótica de equilíbrio, de acordo com a metodologia de Simiqueli et. al (2019) e Bonnet (2009) pela Equação (10):

$$C_{sac} = C_{Fe} + C_{SO_4} \quad (10)$$

em que  $C_{sac}$  é a concentração de sacarose, e  $C_{Fe}$  e  $C_{SO_4}$  são as concentrações molares de sulfato de ferro.

### 3.3 Estabilidade Cinética das Emulsões Duplas

O método utilizado para verificar a estabilidade cinética das emulsões foi o método da observação visual de acordo com a metodologia de Ilyasoglu Buyukkestelli; El (2019a). As amostras das emulsões duplas com 10 mL foram colocadas em tubos transparentes e mantidos a 25 °C por 7 dias em uma incubadora Shaker SL222 (Solab, Brasil). A altura da camada transparente será observada no fundo do tubo durante os 7 dias e o índice de cremeação da emulsão será dado pela Equação (11)

$$IC(\%) = \left( \frac{H_c}{H_t} \right) \times 100 \quad (11)$$

onde  $IC(\%)$  é o índice de cremeação,  $H_c$  é a altura da camada transparente e  $H_t$  é a altura total do sistema.

### 3.4 Eficiência de Encapsulação do Ferro na Emulsão Dupla

A eficiência de encapsulação (EE) foi medida nas amostras que apresentaram a melhor estabilidade cinética durante os sete dias de armazenamento. E foi determinada a partir da quantidade de ferro na fase aquosa exterior ( $A_2$ ) onde a concentração de ferro foi calculada pelo método de quelção da ferrozina, adaptado de Choi, Decker e McClements (2009) e Prichapan, McClements e Klinkesorn (2021).

A emulsão dupla foi centrifugada a 4000 G pela centrífuga 80-2B (Centribio, Brasil) por 20 minutos, depois foi retirada uma alíquota de 0,5 mL da camada transparente do fundo da mistura. Essa alíquota foi reduzida com 0,5 mL por uma solução de 10 % m/m de cloridrato de hidroxilamina em 0,25 mol/L HCl por 15 minutos em temperatura ambiente, em seguida foi adicionada 0,5 mL de ferrozina (9 mmol/L). Após 10 minutos foi medida a absorvância em 562 nm utilizando o espectrofotômetro Biomate 3S (Thermo Fisher Scientific, EUA). A eficiência de encapsulação será encontrada pela Equação (12).



$$EE (\%) = \left( \frac{A_{max} - A_x}{A_{max} - A_{min}} \right) \times 100 \quad (12)$$

em que  $EE (\%)$  é a eficiência de encapsulação,  $A_{max}$  é a absorvância encontrada em emulsões com o máximo de ferro na fase  $W_2$ ,  $A_x$  é absorvância medida e  $A_{min}$  é absorvância medida quando não há ferro na emulsão.

### 3.5 Microscopia

Uma alíquota da emulsão dupla foi colocada entre as lâminas e observadas em um microscópio óptico (K220, Kasvi, Brasil) acoplado com uma câmera Moticam (5MP, Kasvi, Brasil) com ampliação de 40x com a utilização de óleo de imersão.

### 3.6 Tamanho de Partícula e Potencial Zeta

A caracterização do tamanho da partícula das emulsões foram obtidos a partir do diâmetro hidrodinâmico (d.nm) utilizando a técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) pelo Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Reino Unido) equipado com um laser He-NE. As configurações A7,A8,A16 e A17 foram diluídas em água ultrapura na proporção de 1:300 para serem analisadas. A análise foi feita após a formação das emulsões duplas e após o armazenamento das emulsões por uma semana a 25 °C, adaptando a metodologia de SIMIQUELI et al (2019).

O potencial zeta das emulsões duplas foram obtidas pelo Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Reino Unido) com o software Zetasizer 7.03 (2013). As configurações A7,A8,A16 e A17 foram diluídas em água ultrapura na proporção de 1:400 e depois filtradas para serem analisadas. A análise foi feita após a formação das emulsões duplas e após o armazenamento das emulsões por uma semana a 25 °C, adaptando a metodologia de SIMIQUELI et al (2019).

### 3.7 Tensão Interfacial

A tensão interfacial entre a fase aquosa contínua das amostras A7, A8, A16 e A17 e a fase de óleo dispersa na solução foram realizadas adaptando a metodologia reportada por Fernandes e Garcia-Rojas (2021). Foi utilizada a técnica da gota crescente no tensiômetro Easytrack (Teclis Scientific, França) com o software Easytrack® (Teclis

Instruments, França) a análise foi realizada durante 3000 segundos. A fase aquosa foi diluída em água ultrapura na proporção de 1:7 e as medidas foram realizadas a temperatura controlada de  $25 \pm 0.01$  °C por um banho termostático CD-BC4 (Julabo, Alemanha).

Um modelo proposto por Shi et al. (2004) foi ajustado aos dados obtidos da tensão interfacial entre os sistemas A7, A8, A16 e A17 e a fase de óleo dispersa, esse modelo é apresentado na Equação (13):

$$\sigma(t) = \sigma_f + (\sigma_1 - \sigma_f)e^{\frac{-t}{\tau_1}} + (\sigma_2 - \sigma_f)e^{\frac{-t}{\tau_2}} \quad (13)$$

em que  $\sigma_f$  é tensão interfacial assintótica (mN.m) para  $t \rightarrow \infty$ ,  $t$  é tempo em segundos,  $\sigma_1$  e  $\sigma_2$  são parâmetros cinéticos da tensão interfacial,  $\tau_1$  é o tempo (s) de migração do emulsificante na interface e  $\tau_2$  é o tempo (s) de reorganização e de eventuais mudanças nas macromoléculas na interface.

### 3.8 Simulação Gastrointestinal *in vitro* das Emulsões Duplas

#### 3.8.1 Simulação da digestão *in vitro* em adultos

Foram preparados os sistemas simulados de saliva (SSF), suco gástrico (SGF) e fluido intestinal (SIF) de acordo com a metodologia de INFOGEST 2.0 (Brodkorb et al., 2019).

A simulação da digestão de adultos começa na fase oral, onde 0,7 g da emulsão foram incubados com 0,56 mL de SSF, 3,5  $\mu$ L de 0,3 mol/L  $\text{CaCl}_2$ , 70  $\mu$ L de uma solução amilase (75 U/ml) e 67  $\mu$ L de água por 2 minutos a 37 °C em agitação de 90 RPM, com controle de temperatura e agitação pela incubadora TE-424 (Tecnal, Brasil).

Para a digestão gástrica foi adicionado ao simulado oral 1,12 mL de SGF, 0,14 mL de uma solução de pepsina (2000 U/mL) e 0,7  $\mu$ L de solução de 0,3 mol/L de  $\text{CaCl}_2$ , o pH da mistura foi ajustado para 3 por HCl e água foi adicionada até formar uma solução de 2,8 mL, a digestão gástrica ocorreu por 2 horas a 37 °C em agitação de 90 RPM em incubadora.

Por fim, o simulado intestinal foi misturado com 1,19 mL de SIF, 5,6  $\mu$ L de solução de 0,3 mol/L  $\text{CaCl}_2$ , 0,7 mL de solução de pancreatina 100 U/ml e 0,35 mL de solução de bile suíno 10 mmol/L, o pH foi ajustado até o 7 e foi adicionado água até

chegar a 5,6 mL de solução total. O sistema foi agitado por mais 2 horas a 37 °C agitação de 90 RPM em incubadora.

### **3.8.2 Simulação da digestão *in vitro* de infantes**

A simulação da digestão foi feita a partir do protocolo de Ménard et al. (2018), e os sistemas simulados de suco gástrico (SGF) e fluido intestinal (SIF) foram formados adaptando a metodologia INFOGET 2.0 (Brodkorb et al., 2019).

A simulação da digestão de infantes começa na fase gástrica, onde incubou-se 1,76 g de emulsão com 0,76 mL de SGF, 0,14 mL de uma solução de pepsina (268 U/mL), o pH da mistura será ajustado para 5,3 por HCl e água foi adicionada até formar uma solução de 2,8 mL, a digestão gástrica ocorrerá por 2 horas a 37 °C a 90 RPM na incubadora.

Por fim, o simulado intestinal foi misturado com 0,66 mL de SIF, 5 µL de CaCl<sub>2</sub> (0,3 mol/L), 0,510 mL de solução de pancreatina (90 U/mL) e 0,09 mL de bile suíno (3.1 mmol/L), o pH será ajustado até o 6,6 e foi adicionado água até chegar a 4,52 mL de solução total. O sistema será agitado por 2 horas a 37 °C a 90 RPM em incubadora.

### **3.8.3 Liberação *in vitro* do ferro.**

A liberação *in vitro* do ferro foi encontrada a partir da quantidade de ferro presente na camada exterior da emulsão dupla em pontos específicos das simulações gastrointestinais *in vitro* de infantes e adultos ( 2, 10, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos) adaptando o método de quelação da ferrozina, de Choi, Decker e McClements (2009) e Prichapan, McClements e Klinkesorn (2021). Alíquotas de 0,2 mL foram e foram centrifugadas a 8000 G por 5 minutos por uma centrífuga Digicen 21R (OrtoAlresa, Espanha) , dessa alíquota foi retirado 0,1 mL da camada transparente após a centrifugação . Em seguida, foi adicionada 0,4 µL de água ultrapura e 0,5 mL de uma solução de 10 % m/m de cloridrato de hidroxilamina e deixado reagir por 15 minutos em temperatura ambiente, em seguida foi adicionada 0,5 mL de ferrozina (9 mmol/L), após 10 minutos foi medida a absorvância da solução espectrofotômetro Biomate 3S (Thermo Fisher Scientific, EUA). A liberação foi definida pela Equação (14).

$$Liberação(\%) = \left( 1 - \left( \frac{A_{max} - A_x}{A_{max} - A_{min}} \right) \right) \times 100 \quad (14)$$

em que  $A_{max}$  é a absorvância encontrada em emulsões formadas com ferro na concentração máxima apenas na fase  $W_2$ ,  $A_x$  é absorvância medida e  $A_{min}$  é absorvância medida quando não há ferro na emulsão.

### 3.9 Bioacessibilidade *in vitro* do Ferro.

A análise de bioacessibilidade na digestão *in vitro* foi feita de acordo com a metodologia de Buyukkestelli e El (2019). Após a completa simulação da digestão, o simulado é centrifugado pela Digicen 21R a 8000 G por 5 minutos, após separação da fase aquosa e da fase oleosa da solução digesta, foi retirado uma alíquota de 0,5 mL da fase aquosa. A bioacessibilidade do ferro ( $B^*$ ) será obtida através da Equação (15) adaptada de Choi, Decker e McClements (2009) e Prichapan, McClements e Klinkesorn (2021).

$$B^* = \frac{C_{micela}}{C_{digesta}} \times 100 \quad (15)$$

onde  $C_{digesta}$  é a concentração de ferro na digesta e  $C_{micela}$  é a concentração de ferro na fração micelar após toda simulação gastrintestinal, a concentração de ferro foi obtida através do método da quelatação de ferrozina descrita no item 3.4.

### 3.10 Análise Estatística

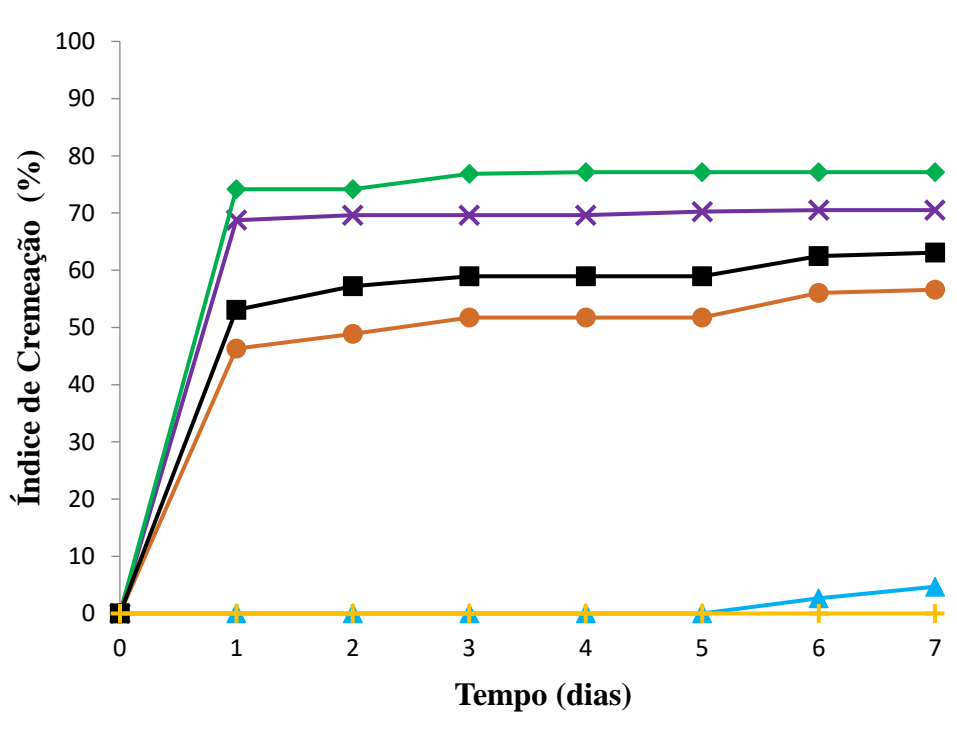
A análise de dados será feita por análise de variância para identificar efeitos significativos e análise de Tukey para identificar diferença entre médias. A diferença será considerada significativa quando o valor  $p$  for menor que 0,05. Os experimentos serão feitos em triplicatas sendo o resultado expresso pela média  $\pm$  desvio padrão.

Os parâmetros da Equação 13 foram obtidos através do ajuste de modelo de uma curva não-linear no programa OriginPro<sup>®</sup> 8,5 (OriginLab Corporation, USA).

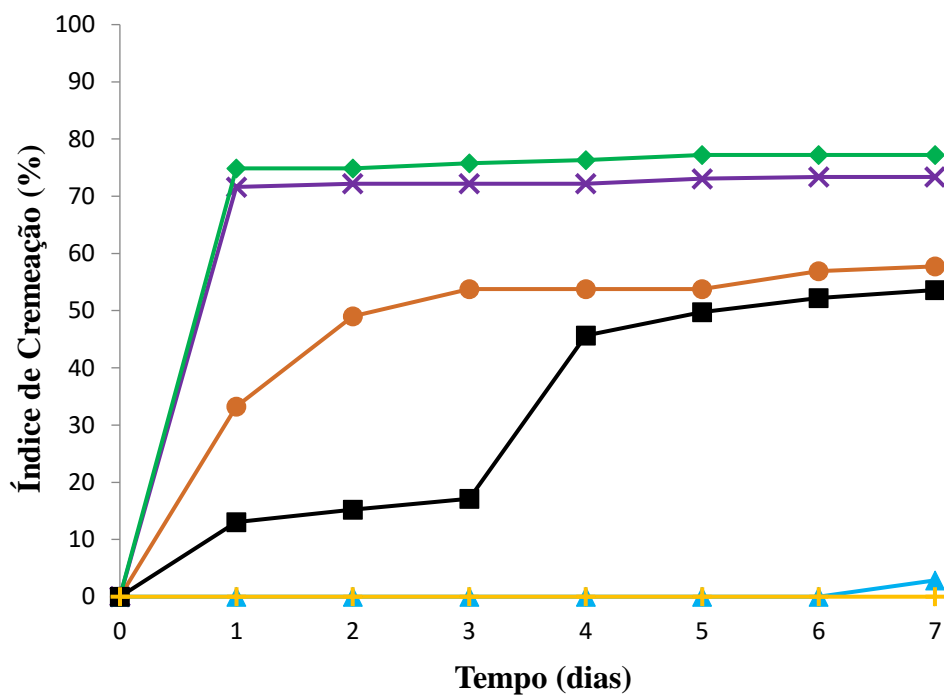
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estabilidade Cinética

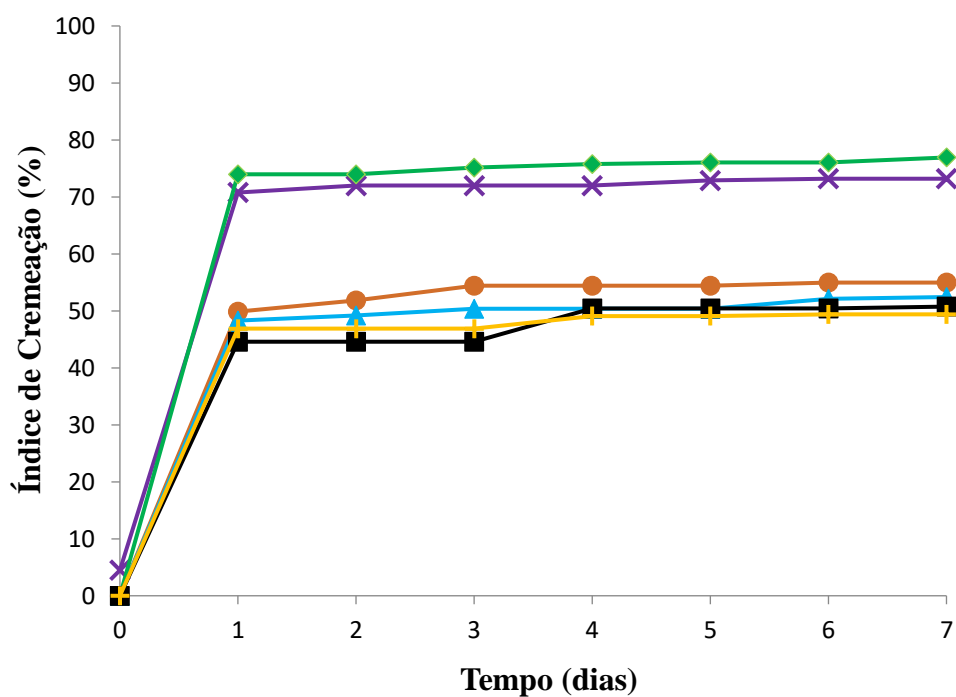
As Figura 8, 9 e 10 apresentam o índice de cremação de todas as amostras de emulsões duplas produzidas no período de 7 dias de armazenamento a 25 °C. Nesta figura pode se observar que as emulsões que possuíam a maior concentração de goma tara (A7, A8, A16 e A17) apresentaram a menor índice de cremação durante os sete dias avaliados. Sendo que não houve separação de fase nas amostras A7 por cinco dias, A8 por seis dias e as amostras A16 e A17 por sete dias. Este comportamento pode estar relacionado à ação da goma tara como agente espessante, já que todas essas amostras que possuíam uma maior concentração de goma tara apresentavam maior viscosidade, o que diminuiu os efeitos da instabilidade gravitacional, como a cremação (OPPERMANN et al., 2018; SAFFARIONPOUR; DIOSADY, 2021).



**Figura 8:** Índice de cremação (%) das amostras de emulsões duplas ( $W_1/O/W_2$ ) em função do tempo (dias). Em que (x) A1, (●) A4, (▲) A7, (◆) A10, (■) A13, (+) A16.



**Figura 9** Índice de cremeação (%) das amostras de emulsões duplas ( $W_1/O/W_2$ ) em função do tempo (dias). Em que (x) A2, (●) A5, (▲) A8, (◆) A11, (■) A14, (+) A17.



**Figura.10** Índice de cremeação (%) das amostras de emulsões duplas ( $W_1/O/W_2$ ) em função do tempo (dias). Em que (x) A3, (●) A6, (▲) A9, (◆) A12, (■) A15, (+) A18.

As emulsões A8 e A17 continham maior concentração de WPI, razão pela qual formaram emulsões mais estáveis provocado pela ação da proteína na interface. As amostras A16 e A17 não apresentaram separação de fase durante todo o experimento, sua diferença com as amostras A7 e A8 deve-se à presença da sacarose, uma OAS, que atuou na melhora do balanço osmótico da emulsão e impedindo mecanismos de separação como a maturação de Ostwald, o que aumentou a sua estabilidade (DICKINSON, 2011; KANOUNI; ROSANO; NAOULI, 2002; KLOJDOVÁ; ŠTĚTINA; HORÁČKOVÁ, 2019).

Emulsões que contêm apenas WPI e sacarose (A1, A2, A3, A10, A11 e A12) obtiveram índice os maiores índices de cremação do estudo, indicando rápida separação de fase. Perfis com valor médio de goma tara apresentaram todos menores valores de IC que os perfis sem goma tara, porém todos se separaram no primeiro dia. Ilyasoglu Buyukkestelli e El (2019a) não encontraram modificações no IC utilizando caseinato de sódio por três dias na mesma proporção de emulsão simples e fase aquosa externa do estudo. Simiqueli et al. (2019) não obteve um IC maior que zero durante todo o experimento por 31 dias com emulsões refrigeradas a 4 °C.

O estudo da estabilidade cinética apresentou que a concentração da goma tara é um fator importante para a estabilidade de emulsões duplas, as amostras A7, A8, A16 e A17 não tiveram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nos seus índices de cremação e por isso foram empregados nos estudos seguintes.

#### **4.2 Eficiência de Encapsulação**

As EE logo após a formação da emulsão e sete dias após a formação das emulsões duplas com diferentes concentrações de WPI e sacarose foram apresentadas na Tabela 2. As amostras utilizadas foram A7, A8, A16 e A17, sendo elas as que obtiveram resultados com menor índice de cremação no período de 7 dias.

Nesta tabela pode se observar que as emulsões que continham uma maior concentração de WPI em sua composição apresentaram uma maior EE. Assim como as emulsões com maior concentração de sacarose que também apresentaram maiores resultados de EE em comparação aos sistemas sem sacarose. Após o 7º dia, as emulsões perderam EE de forma significativa, o que significou um transporte de ferro da fase interna da emulsão dupla para a fase aquosa externa. A emulsão A17 apresentou uma maior EE nos sete dias de armazenamento em comparação com os outros sistemas, isso

pode ser devido a maior concentração de WPI e a presença de sacarose no sistema, o que diminui a tensão interfacial e melhorou o balanço osmótico da amostra, aumentando estabilidade, dificultando assim o transporte de ferro entre as fases da emulsão.

Esses resultados apresentam concordância com outros estudos de encapsulação de ferro reportados na literatura. Como os reportados por Duque Estrada et.al (2019) que observaram variação de 88% a 96% logo após a formação da emulsão em diferentes concentrações de PGPR, e após 7 dias, suas maiores amostras apresentavam cerca de 50% de eficiência. Chang, Lee e Kwak (2016) apresentaram uma eficiência de 93,63% para uma emulsão dupla formada com triglicerídeo de cadeia média (óleo MCT) e WPI logo após a formação da emulsão. Hosseini et al. (2019) obtiveram eficiência variando de 95,33% a 54,47% dependendo do tratamento térmico utilizado.

**Tabela 4** Eficiência de encapsulação de diversas emulsões logo após formadas e no sétimo dia de armazenamento.

Amostra	Dia 0 (EE%)	Dia 7 (EE%)
A7	91,9 ± 1,21 <sup>a</sup>	66,1 ± 0,71 <sup>a</sup>
A8	93,9 ± 0,56 <sup>ab</sup>	67,1 ± 0,61 <sup>a</sup>
A16	94,4 ± 0,90 <sup>bc</sup>	66,0 ± 0,99 <sup>a</sup>
A17	96,9 ± 1,00 <sup>c</sup>	70,7 ± 0,69 <sup>b</sup>

Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=3), valores das colunas seguidos pelas mesmas letras não apresentam diferença estatisticamente significante no teste de Tukey para o nível de significância de 5%.

### 4.3 Tamanho de Partícula, Potencial Zeta e Microscopia

A distribuição do tamanho de partícula é apresentada a partir do tamanho médio na Tabela 5, valores foram obtidos após a formação da emulsão e após 7 dias de armazenamento a 25 °C. As amostras com maior concentração de WPI obtiveram valores significativamente ( $p < 0,05$ ) menores ( $757,1 \pm 45,7$  nm para A17 e  $782,8 \pm 15,5$  nm para A8) do que amostras com menor concentração de WPI ( $842,9 \pm 2,1$  nm para A16 e  $876,7 \pm 116$  nm para A7), esse efeito também foi observado por Amine et al. (2014) nas proteínas de ervilha, batata e caseína, esse efeito ocorre devido a que uma maior concentração de proteína consegue se ligar a uma maior área superficial, sendo assim, diminuindo o diâmetro médio de uma partícula. Após 7 dias houve um crescimento



significativo ( $p < 0,05$ ) do diâmetro médio de todas as amostras, que variaram de  $845,2 \pm 7,0$  nm até  $922,1 \pm 55,5$  nm, demonstrando um início de processos de separação das fases acontecendo, como coalescência e floculação.

O potencial Zeta medido logo após a formação dos sistemas e após 7 dias de armazenamento a  $25^{\circ}\text{C}$  estão apresentados na Tabela 3, é possível identificar alta densidade de carga negativa nos sistemas, variando de  $-44,53 \pm 1,39$  mV até  $-49,67 \pm 0,15$  mV no primeiro dia. Altas densidades de carga demonstram uma alta estabilidade cinética da emulsão, isso se deve ao fato da repulsão entre as gotas de emulsão interna na emulsão dupla, esse fenômeno ocorre pelo fato de que as proteínas do soro de leite estarem carregadas negativamente, e ao se ligar a superfície de óleo formam estruturas que se repelem entre si (MCCLEMENTS, 2004). Altas cargas negativas em emulsões duplas também foram identificadas por Simiqueli et al. (2019), que, utilizando Tween 80 como emulsificante, encontraram o valor do potencial Zeta variando entre  $-20,9$  mV até  $-50,1$  mV em diferentes amostras. Prichapan, McClements e Klinkesorn (2021) encontrou um potencial Zeta de  $-46$  mV ao formar emulsões duplas utilizando saponina de quilaja. Após 7 dias o potencial Zeta das amostras variou de  $-42,73 \pm 0,86$  mV até  $41,3 \pm 0,61$  mV, essa queda significativa ( $p < 0,05$ ) caracteriza uma redução na estabilidade das amostras, evento também observado na distribuição do tamanho de partícula.

A Figura 11 apresenta a estrutura da emulsão dupla A17 recém-formada, onde pode ser observado o óleo, círculos escuros, disperso na fase aquosa, parte mais clara da figura, a fase aquosa interna é apresentada em pequenas manchas claras esféricas dentro da parte de óleo. Imagens com as mesmas características podem ser observadas nos trabalhos de Simiqueli et.al (2019) e Ilyasoglu Buyukkestelli e El (2019a).

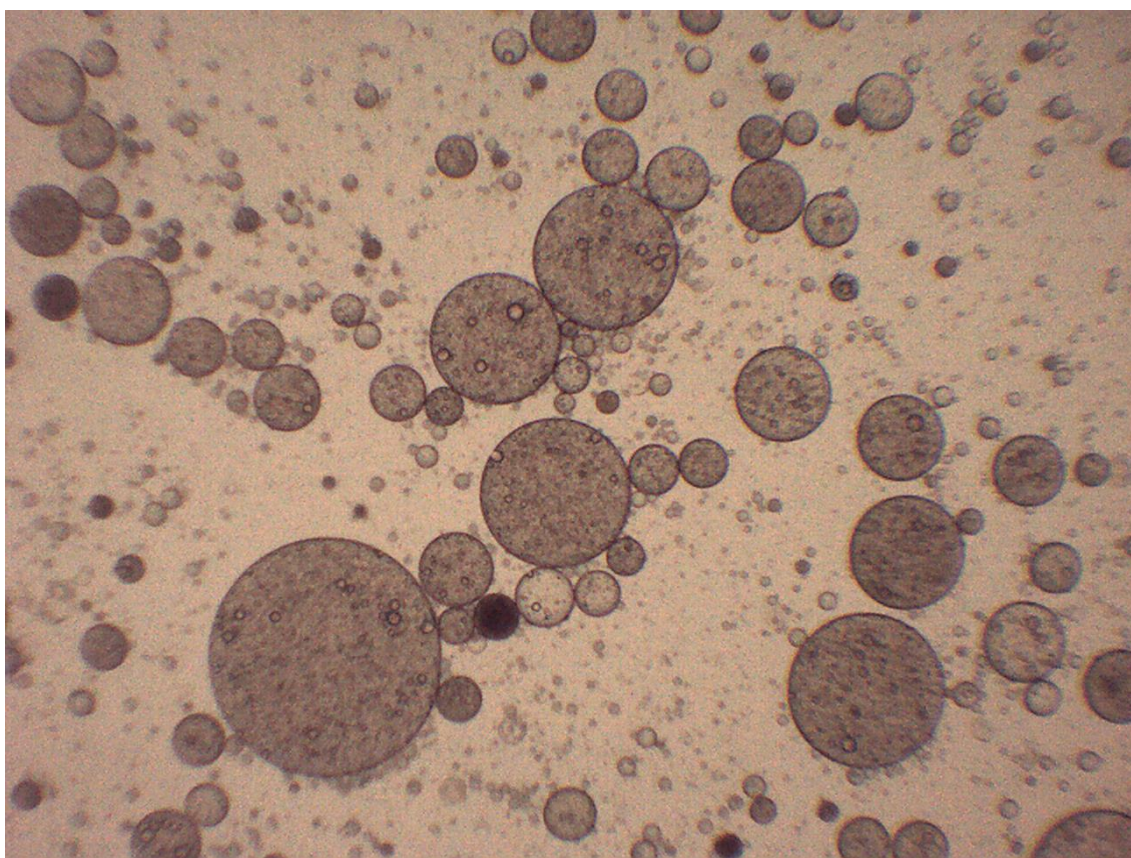
#### **4.4 Tensão Interfacial**

A Figura 12 apresenta a variação da tensão interfacial dinâmica entre a emulsão simples e as fases aquosas dos sistemas A7, A8, A16 e A17 em função do tempo com os modelos ajustados pela Equação (13), a Tabela 6 apresenta os valores quantitativos dos diferentes parâmetros de ajuste da Equação (13) nas diferentes amostras. O modelo estudado apresentou um bom ajuste aos dados experimentais das amostras avaliados com valores de  $R^2$  ajustado próximos de 1.0, assim como baixo desvio absoluto médio (DAM), sendo maior valor 0,53%, e um desvio padrão (DP) não maior que 0,04 mN/m.

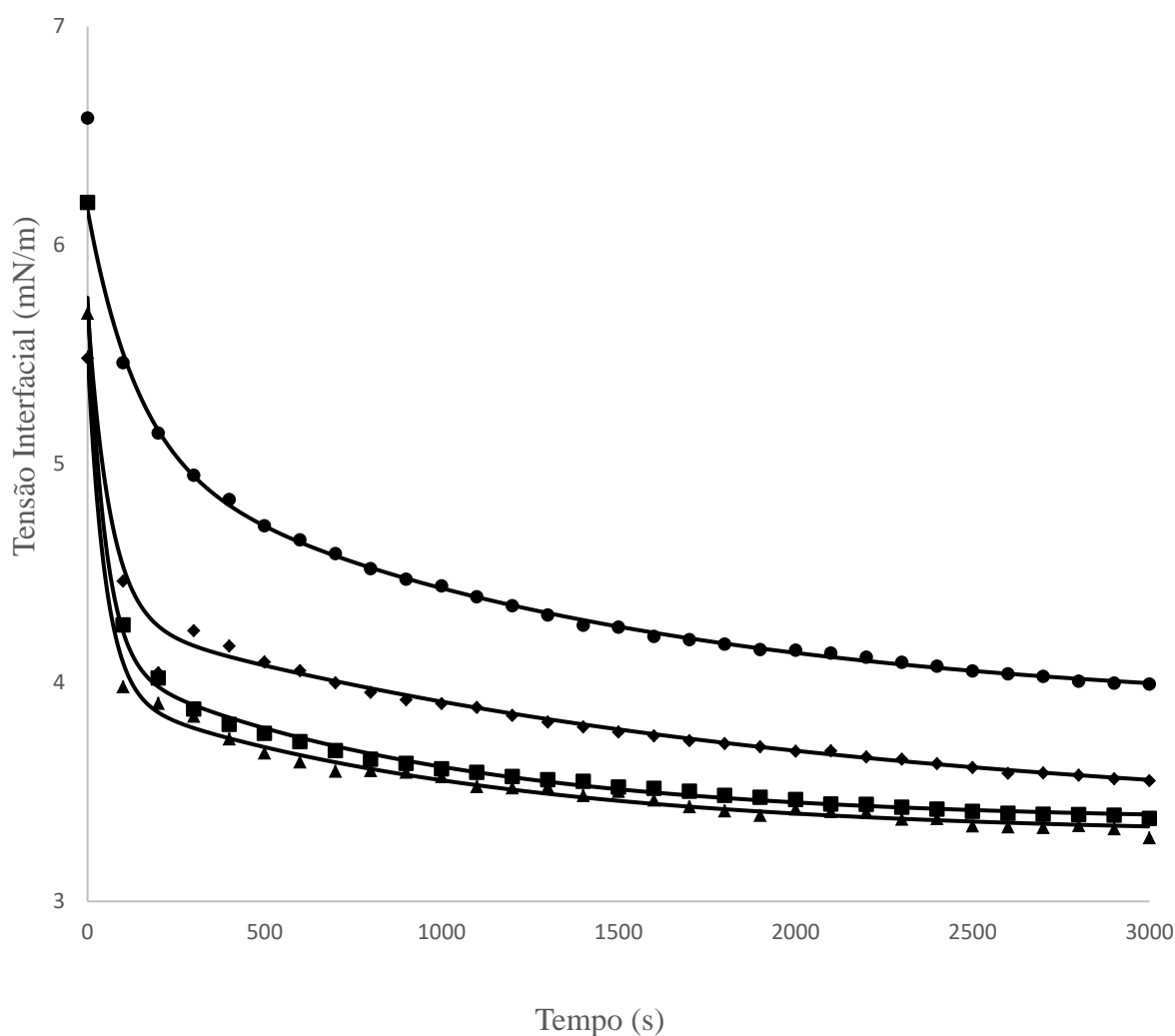
**Tabela 5** Tamanho de partícula e potencial Zeta das diversas emulsões logo após formadas e no sétimo dia de armazenamento.

Amostra	Tamanho de partícula (nm)		Potencial Zeta (mV)	
	Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia 7
A7	876,7 ± 11,6 <sup>ca</sup>	922,1 ± 55,5 <sup>ab</sup>	-44,53 ± 1,39 <sup>ca</sup>	-42,73 ± 0,86 <sup>ab</sup>
A8	782,8 ± 15,5 <sup>abA</sup>	845,2 ± 7,0 <sup>ab</sup>	-49,27 ± 0,35 <sup>aA</sup>	-42,23 ± 1,15 <sup>ab</sup>
A16	842,9 ± 2,1 <sup>bcA</sup>	891,2 ± 39,3 <sup>ab</sup>	-46,90 ± 0,75 <sup>bA</sup>	-42,83 ± 0,50 <sup>ab</sup>
A17	757,1 ± 45,7 <sup>aA</sup>	856,8 ± 11,6 <sup>ab</sup>	-49,67 ± 0,15 <sup>aA</sup>	-41,30 ± 0,61 <sup>ab</sup>

Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=3), valores seguidos pelas mesmas letras não apresentam diferença estatisticamente significativa no teste de Tukey para o nível de significância de 5%. Letras minúsculas comparam as amostras e letras maiúsculas comparam o tempo.



**Figura 11** Imagem da microscopia óptica do sistema A17, emulsão dupla  $W_1/O/W_2$  composta por 12% WPI, 0,8% de GT e 2% de sacarose na fase aquosa externa.



**Figura 12** Tensão interfacial dinâmica das emulsões e o modelo da Equação 13 (—). Amostra A7(●), amostra A8 (■), amostra A16(◆) e amostra A17 (▲).

O sistema A17, obteve um menor valor de tensão interfacial ( $\sigma_f$ ), sendo ele respectivamente  $3,31 \pm 0,01$  mN/m, isso se deve ao fato de que o sistema possui uma maior concentração de proteína, o que gera uma maior ação na interface óleo-água e assim, uma menor tensão interfacial, já que as interações proteína-água e proteína-óleo são mais favoráveis termodinamicamente, o que aumenta a estabilidade do sistema, dificultando mecanismos de separação, como maturação de Ostwald (MCCLEMENTS, 2004). Este aumento estabilidade foi observado no estudo, pois a emulsão A17 não apresentou separação de fase durante os 7 dias observados, enquanto a amostra 7, que possui uma tensão de  $3,88 \pm 0,01$  mN/m, apresentou uma separação de fase no seu 5º

dia. Amine Et al. (2014) também observou um decréscimo na tensão interfacial com o aumento da concentração de proteínas de ervilha, batata e do caseinato de sódio.

**Tabela 6** Parâmetros da tensão interfacial dinâmica entre a fase aquosa externa e a emulsão simples estimados a partir da Equação (13) para as diferentes amostras.

	A7	A8	A16	A17
$\sigma_f$ (mN/m)	3,88 ± 0,01	3,37 ± 0,01	3,36 ± 0,01	3,31 ± 0,01
$\sigma_1$ (mN/m)	4,98 ± 0,03	5,03 ± 0,03	4,78 ± 0,05	4,87 ± 0,04
$\sigma_2$ (mN/m)	5,05 ± 0,02	4,09 ± 0,01	4,29 ± 0,01	3,95 ± 0,01
$\tau_1$ (s)	138,37 ± 6,29	48,77 ± 1,53	62,86 ± 2,26	48,91 ± 1,47
$\tau_2$ (s)	1324,24 ± 33,46	927,76 ± 28,14	1915,20 ± 59,80	1050,11 ± 37,65
AAD* (%)	0,30	0,46	0,41	0,53
SD** (mN/m)	0,03	0,04	0,04	0,03

$$*DAM(\%) = \left(\frac{100}{m}\right) \left[ \sum_{i=1}^m \frac{\sigma_{exp,i} - \sigma_{cal,i}}{\sigma_{exp,i}} \right] ; **DP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (\sigma_{exp,i} - \sigma_{cal,i})^2}{m-p}}$$

$\sigma_{exp}$  é tensão interfacial experimental (mN.m),  $\sigma_{cal}$  é a tensão calculada pela Equação (13) (mN.m),  $m$  é o número de pontos experimentais e  $p$  é o número de parâmetros ajustados.

As amostras A8 e A17 possuem um menor tempo de migração do emulsificante para a interface ( $\tau_1$ ),  $48,77 \pm 1,53$  e  $48,91 \pm 1,47$  s respectivamente, e menor tempo de reorganização das macromoléculas ( $\tau_2$ ),  $927,76 \pm 28,14$  s para A8 e  $1050,11 \pm 37,65$  s para A17, o que é explicado pela maior concentração de proteína desses sistemas, esse comportamento também foi observado por Mahfoudhi et al. (2014), em que ao aumentar a concentração do emulsificante (goma de amêndoa), os parâmetros  $\tau_1$  e  $\tau_2$  diminuíram, esse fenômeno também é observado por Donsì, Sessa e Ferrari (2012) em que o aumento do emulsificante Tween 80 em certas concentrações diminuiu os valores dos parâmetros  $\tau_1$  e  $\tau_2$ .

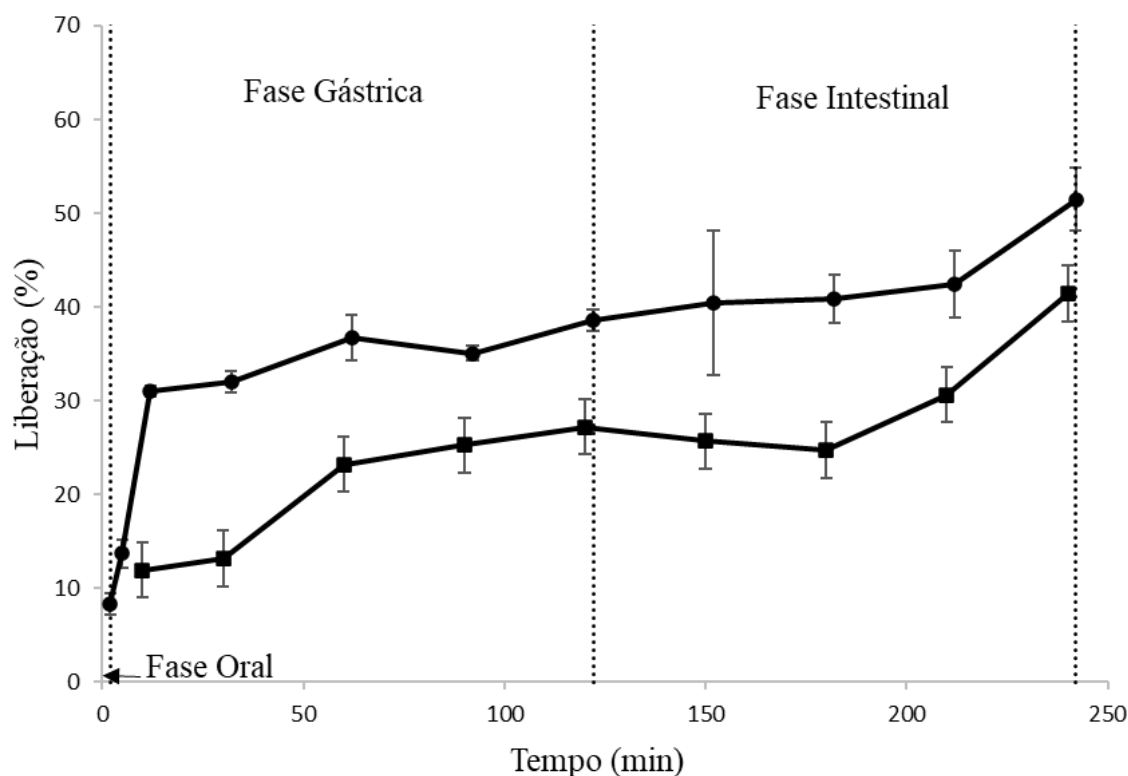
#### 4.5 Digestão *in vitro* da Emulsão Dupla Contendo Ferro.

O estudo da simulação da digestão *in vitro* foi feito utilizando a amostra A17 do estudo tanto para a digestão de adultos quanto para de infantes, pois essa emulsão foi o sistema que obteve um maior valor de eficiência de encapsulação e um menor valor de

IC no período de 7 dias. A Figura 13 apresenta a liberação de ferro nas diferentes etapas da simulação da digestão.

A digestão em adultos foi separada em três etapas, na primeira etapa ocorre a fase oral, onde é simulado a mastigação e o efeito da saliva, a segunda etapa sendo a fase gástrica, onde foi simulado a atuação do estômago na digestão e a última etapa é a fase intestinal, em que foi simulado a atuação do intestino na digestão. Na fase oral houve uma liberação de 8,36% do ferro encapsulado, o que pode ter ocorrido pela já diluição da emulsão em proporção 1:1. Na segunda etapa em que ocorre a simulação da fase gástrica é possível notar um aumento da liberação de ferro encapsulado, quando após todo o processo chega a 38,56%, isso se pode ter ocorrido devido a ação da pepsina, que afetou as moléculas de WPI que estavam ligadas a interface, diminuindo a repulsão entre as gotas da emulsão e causando processos de separação e liberando o ferro. Por fim, a fase intestinal termina com uma liberação total de 51,47% depois de 4 horas de experimento, essa liberação aumenta na fase intestinal na presença da lipase, que quebra moléculas de gordura, liberando assim o ferro. Hosseini et al. (2019) observaram uma liberação de 55,62% em emulsões sem tratamento térmico após a fase intestinal.

A digestão em infantes ocorre em duas etapas, a fase gástrica e intestinal, não é necessária a fase oral, por se tratar de uma simulação de infantes que ainda não possuem a capacidade de mastigar, e passam todo o alimento direto para o esôfago. Na fase gástrica, ocorre uma liberação total de 27,22% do ferro encapsulado, enquanto ao final da fase intestinal foi possível obter uma liberação de 41,45% do ferro encapsulado. Há uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nas duas simulações, em que a simulação de adultos ocorre uma maior liberação tanto na fase gástrica quanto na fase intestinal, isso se deve ao fato da digestão infantil ser um processo bem mais brando do que o processo da digestão em adultos, o processo infantil ocorre com menores atividade enzimáticas tanto da pepsina quanto da lipase, o pH da fase gástrica simulado infantil também é bem diferente da fase adulta, 5,3 e 3,0 respectivamente, o que diminui a eficácia da pepsina que funciona melhor em pH's mais ácidos. Liu et al. (2018), também observaram uma maior liberação em sistemas simulados para adultos que sistema simulados para infantes, utilizando lipossomos carregados com lactoferrina, eles observaram que após completa simulação, amostras de infantes obtiveram 20,1% de lipossomos ainda intactos, enquanto em amostras de adultos, esse número era menor que 20%.



**Figura 13** Liberação do ferro nas simulações gastrintestinais da amostra A17 em função do tempo. (●) simulação de adultos e (■) simulação de infante.

#### 4.6 Bioacessibilidade

A bioacessibilidade do ferro nos sistemas foi de  $49,54 \pm 5,50\%$  para a simulação em adultos e  $39,71 \pm 2,33\%$  para a simulação em infantes, mostrando que há uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na bioacessibilidade da simulação do infante para a simulação de adulto, cerca de 20% menor, isso acontece devido a grande diferença entre as simulações, com diferentes pH's, e atividade enzimática, essa diferença também é observada por Marques et. al (2021), em que a bioacessibilidade do ácido docosa-hexaenóico varia de 12% a 25% entre os tratamentos feitos a partir de simulações para adultos e a simulações para infantes, seguindo as mesmas metodologias de Ménard et al. (2018) e INFOGEST 2.0 (Brodkorb et al., 2019). Utilizando-se outras metodologias para a simulação gastrointestinal de adultos, Iyasoglu Buyukkestelli e El (2019a) obtiveram a bioacessibilidade do ferro variando entre 41,17% até 52,97% dependendo da razão entre de emulsão simples na emulsão dupla, Hosseini et al. (2019) observam a bioacessibilidade do ferro em emulsões duplas variando entre 37,28% até 42,94% dependendo do tratamento térmico utilizado.

## 5 CONCLUSÃO

Nesse estudo, foi possível obter emulsões duplas estáveis utilizando WPI e PGPR como agentes emulsificantes e goma tara como agente espessante. A presença da goma tara garantiu um aumento da estabilidade geral da emulsão, impedindo mecanismos de separação gravitacionais. A amostra A17 (12% WPI, 0,8% goma tara e 2% sacarose) formou emulsões duplas estáveis por sete dias, com alta eficiência de encapsulação de ferro. A amostra A17 também apresentou valores significativamente menores de tensão interfacial dinâmica ( $3,31 \pm 0,01$  mN/m), tamanho de partícula ( $757,1 \pm 45,7$  nm) e potencial zeta ( $49,67 \pm 0,15$  mV), o que confirma sua maior estabilidade durante os sete dias de experimento.

No estudo da digestão *in vitro*, observou-se que o sistema estudado apresentou uma alta bioacessibilidade do ferro, tanto em simulações gastrointestinais *in vitro* para adultos, quanto para simulações em infantes. Foi identificado que emulsões duplas podem se apresentar como soluções estáveis e com uma alta bioacessibilidade para o ferro, mesmo em sistemas digestivos brandos como o de infantes, sendo ela 49,54% para adultos e 39,71% para infantes.

Por fim, esse estudo indicou que as emulsões duplas  $W_1/O/W_2$  estudadas podem ser uma alternativa potencial para ser empregadas nas formulações de alimentos fortificados com ferro tanto para infantes quanto para adultos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADJONU, R. et al. Whey protein peptides as components of nanoemulsions: A review of emulsifying and biological functionalities. **Journal of Food Engineering**, v. 122, n. 1, p. 15–27, 2014.

AMINE, C. et al. Investigation of emulsifying properties and emulsion stability of plant and milk proteins using interfacial tension and interfacial elasticity. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 180–186, 2014.

ARANCIBIA, C. et al. Physical properties and lipid bioavailability of nanoemulsion-based matrices with different thickening agents. **Food Hydrocolloids**, v. 73, p. 243–254, 2017.

ARTIGA-ARTIGAS, M. et al. Formation of Double (W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub>) Emulsions as Carriers of Hydrophilic and Lipophilic Active Compounds. **Food and Bioprocess Technology**, v. 12, n. 3, p. 422–435, 2019.

BAI, L. T. et al. Emulsifying and physicochemical properties of lotus root amylopectin-whey protein isolate conjugates. **Lwt**, v. 111, n. May, p. 345–354, 2019.

BERRY, J. D. et al. Measurement of surface and interfacial tension using pendant drop tensiometry. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 454, p. 226–237, 2015.

BHATIA, P.; JAIN, R.; SINGH, A. A structured approach to iron refractory iron deficiency anemia (IRIDA) diagnosis (SAID): The more is “SAID” about iron, the less it is. **Pediatric Hematology Oncology Journal**, v. 2, n. 2, p. 48–53, 2017.

BLACK, R. E. Global distribution and disease burden related to micronutrient deficiencies. **Nestle Nutrition Institute Workshop Series**, v. 78, p. 21–28, 2014.

BONNET, M. et al. Release rate profiles of magnesium from multiple W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 1, p. 92–101, 2009.

BORZELLECA, Joseph F.; LADU, Bert N.; SENTI, Frederic R.; *et al.* Evaluation of the Safety of Tara Gum as a Food Ingredient: A Review of the Literature. **International Journal of Toxicology**, v. 12, n. 1, p. 81–89, 1993.

BOUYER, E. et al. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, n. 1–2, p. 359–378, 2012.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 31, 13/01/1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais, constante do anexo desta Portaria, 1998.



BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 64, 22/09/2005. Aprova Regulamento Técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais, 2005.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 64, 16/09/2008. Aprova Regulamento Técnico sobre Atribuição de aditivos e seus limites máximos para alimentos, 2008.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 45, 03/11/2010. Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), 2010.

BRODKORB, A. et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**, v. 14, n. 4, p. 991, 2019.

BRYSEWSKA, M. A. Comparison study of iron bioaccessibility from dietary supplements and microencapsulated preparations. **Nutrients**, v. 11, n. 2, 2019.

BURGER, T. G.; ZHANG, Y. Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, p. 25–33, 2019.

CASTRO-ROSAS, J. et al. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food - A review. **Food Research International**, n. September, p. 1–14, 2017.

CENGIZ, A.; SCHROËN, K.; BERTON-CARABIN, C. Lipid Oxidation in Emulsions Fortified with Iron-Loaded Alginate Beads. **Foods**, v. 8, n. 9, p. 361, 2019.

CHALELLA MAZZOCATO, M.; THOMAZINI, M.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Improving stability of vitamin B12 (Cyanocobalamin) using microencapsulation by spray chilling technique. **Food Research International**, v. 126, n. May, p. 108663, 2019.

CHANG, Y. H.; LEE, S. Y.; KWAK, H. S. Physicochemical and sensory properties of milk fortified with iron microcapsules prepared with water-in-oil-in-water emulsion during storage. **International Journal of Dairy Technology**, v. 69, n. 3, p. 452–459, 2016.

CHIVERO, P. et al. Effect of xanthan and guar gums on the formation and stability of soy soluble polysaccharide oil-in-water emulsions. **Food Research International**, v. 70, p. 7–14, 2015.

CHOI, M. J. et al. Encapsulation of a bioactive peptide in a formulation of W1/O/W2-type double emulsions: Formation and stability. **Food Structure**, v. 25, p. 100145, 2020.

CHOI, S. J.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of iron encapsulation within the interior aqueous phase of water-in-oil-in-water emulsions on lipid oxidation. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 271–276, 2009.

CHURIO, O.; VALENZUELA, C. Development and characterization of maltodextrin microparticles to encapsulate heme and non-heme iron. **Lwt**, v. 96, p. 568–575, 2018.

CIAN, R. E. et al. High iron bioaccessibility from co-microencapsulated iron/ascorbic acid using chelating polypeptides from brewers' spent grain protein as wall material. **Lwt**, v. 139, n. September, 2021.

DICKINSON, E. Food emulsions and foams: Stabilization by particles. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 15, n. 1–2, p. 40–49, 2010.

DICKINSON, E. Double Emulsions Stabilized by Food Biopolymers. **Food Biophysics**, v. 6, n. 1, p. 1–11, 2011.

DIMA, C. et al. Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by in vitro methods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 6, p. 2862–2884, 2020.

DONSÌ, F.; SESSA, M.; FERRARI, G. Effect of emulsifier type and disruption chamber geometry on the fabrication of food nanoemulsions by high pressure homogenization. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 51, n. 22, p. 7606–7618, 2012.

DRELICH, J.; FANG, C.; WHITE, C. L. Measurement of Interfacial Tension in Fluid-Fluid Systems. **Encyclopedia of Surface and Colloid Science**, p. 3152–3166, 2002.

DUQUE-ESTRADA, P. et al. Double emulsions for iron encapsulation: is a high concentration of lipophilic emulsifier ideal for physical and chemical stability? **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 10, p. 4540–4549, 2019.

ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. **A Key for the Future of the Flavors in Food Industry: Nanoencapsulation and Microencapsulation**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.

FERNANDES, R. A.; GARCIA-ROJAS, E. E. Effect of cosolutes on the rheological and thermal properties of Tara gum aqueous solutions. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 7, p. 2773–2782, 2021.

FIORAVANTI, M. I. A. et al. Influence of various ingredients on mineral bioaccessibility in infant formula and whole milk. **International Dairy Journal**, v. 110, 2020.

FREDRICK, E.; WALSTRA, P.; DEWETTINCK, K. Factors governing partial coalescence in oil-in-water emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 153, n. 1–2, p. 30–42, 2010.

GAONKAR, A. et al. **Microencapsulation in the food Industry: A Practical Implementation Guide**. San Diego: Academic Press, 2014.

GERA, T.; SACHDEV, H. S.; BOY, E. Effect of iron-fortified foods on hematologic and biological outcomes: systematic review of randomized controlled trials. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 96, p. 309–324, 2012.

GHAREHBEGLOU, P. et al. Fabrication of double W1/O/W2 nano-emulsions loaded with oleuropein in the internal phase (W1) and evaluation of their release rate. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 44–55, 2019.

HAN, L. et al. Co-delivery of insulin and quercetin in W1/O/W2 double emulsions stabilized by different hydrophilic emulsifiers. **Food Chemistry**, v. 369, n. May 2021, p. 130918, 2022.

HATEFI, L.; FARHADIAN, N. A safe and efficient method for encapsulation of ferrous sulfate in solid lipid nanoparticle for non-oxidation and sustained iron delivery. **Colloids and Interface Science Communications**, v. 34, n. December 2019, p. 100227, 2020.

HOSSEINI, S. M. H. et al. Effects of novel and conventional thermal treatments on the physicochemical properties of iron-loaded double emulsions. **Food Chemistry**, v. 270, p. 70–77, 2019.

HOU, L. et al. Osmolarity-controlled swelling behaviors of dual-cored double-emulsion drops. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 21, n. 4, p. 1–8, 2017.

HU, Y. T. et al. Techniques and methods to study functional characteristics of emulsion systems. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, n. 1, p. 16–26, 2017.

HUANG, M. et al. Fabrication of pickering high internal phase emulsions stabilized by pecan protein/xanthan gum for enhanced stability and bioaccessibility of quercetin. **Food Chemistry**, v. 357, n. March, p. 129732, 2021.

HURRELL, R. F.; COOK, J. D. Strategies for iron fortification of foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 1, n. C, p. 56–61, 1990.

ILYASOGLU BUYUKKESTELLI, H.; EL, S. N. Development and characterization of double emulsion to encapsulate iron. **Journal of Food Engineering**, v. 263, n. April, p. 446–453, 2019a.

ILYASOGLU BUYUKKESTELLI, H.; EL, S. N. Preparation and characterization of double emulsions for saltiness enhancement by inhomogeneous spatial distribution of sodium chloride. **Lwt**, v. 101, n. October 2018, p. 229–235, 2019b.

JAMSHIDI, A. et al. Optimization of encapsulation of fish protein hydrolysate and fish oil in W1/O/W2 double emulsion: Evaluation of sensory quality of fortified yogurt. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. May, p. 1–11, 2019.

JANTARATHIN, S.; BOROMPICHAICHARTKUL, C.; SANGUANDEEKUL, R. Microencapsulation of probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules and its effect on viability under heat process in shrimp feeding. **Materials Today: Proceedings**, v. 4, n. 5, p. 6166–6172, 2017.

JÁUREGUI-LOBERA, I. Iron deficiency and cognitive functions. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 10, p. 2087–2095, 2014.

JEPSON, Willis Linn; HICKMAN, James C. **The Jepson manual: higher plants of California**. Univ of California Press, 1993.

JOYE, I. J.; DAVIDOV-PARDO, G.; MCCLEMENTS, D. J. Nanotechnology for increased micronutrient bioavailability. **Trends in Food Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 168–182, 2014.

KAIMAINEN, M. et al. Encapsulation of betalain into W1/O/W2 double emulsion and release during invitro intestinal lipid digestion. **Lwt**, v. 60, n. 2, p. 899–904, 2015.

KANOUNI, M.; ROSANO, H. L.; NAOULI, N. Preparation of a stable double emulsion (W1/O/W2): Role of the interfacial films on the stability of the system. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 99, n. 3, p. 229–254, 2002.

KAZEMI-TASKOOH, Z.; VARIDI, M. Designation and characterization of cold-set whey protein-gellan gum hydrogel for iron entrapment. **Food Hydrocolloids**, v. 111, n. June 2020, p. 106205, 2021.

KHEYNOOR, N. et al. Encapsulation of vitamin C in a rebaudioside-sweetened model beverage using water in oil in water double emulsions. **Lwt**, v. 96, p. 419–425, 2018.

KHOJA, K. K. et al. In vitro bioaccessibility and bioavailability of iron from fenugreek, baobab and moringa. **Food Chemistry**, v. 335, n. July 2020, p. 127671, 2021.

KLOJDOVÁ, I.; ŠTĚTINA, J.; HORÁČKOVÁ, Š. W1/O/W2 Multiple Emulsions as the Functional Component of Dairy Products. **Chemical Engineering and Technology**, v. 42, n. 4, p. 715–727, 2019.

LEISTER, N.; KARBSTEIN, H. P. Evaluating the stability of double emulsions— A review of the measurement techniques for the systematic investigation of instability mechanisms. **Colloids and Interfaces**, v. 4, n. 1, p. 1–18, 2020.

LIU, J. et al. Protection of anthocyanin-rich extract from pH-induced color changes using water-in-oil-in-water emulsions. **Journal of Food Engineering**, v. 254, n. February, p. 1–9, 2019.

LIU, W. et al. Comparative performances of lactoferrin-loaded liposomes under in vitro adult and infant digestion models. **Food Chemistry**, v. 258, p. 366–373, 2018.

LÓPEZ-CASTEJÓN, M. L. et al. Characterization of prebiotic emulsions stabilized by inulin and  $\beta$ -lactoglobulin. **Food Hydrocolloids**, v. 87, n. August 2018, p. 382–393, 2019.

LUO, Y. et al. Evaluation of the bioaccessibility of carotenoid esters from *Lycium barbarum* L. in nano-emulsions: A kinetic approach. **Food Research International**, v. 136, n. 22, p. 109611, 2020.

LYNCH, Sean R. The impact of iron fortification on nutritional anaemia. **Best Practice and Research: Clinical Haematology**, v. 18, n. 2 SPEC. ISS., p. 333–346, 2005

MAHFOUDHI, N. et al. Assessment of emulsifying ability of almond gum in comparison with gum arabic using response surface methodology. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 49–59, 2014.

MARQUES, M. C. et al. DHA bioaccessibility in infant formulas and preschool children milks. **Food Research International**, v. 149, p. 110698, 2021.

MATHUR, N. K.. **Industrial Galactomannan Polysaccharides**. 1. Ed. Nova York: CRC Press (Taylor & Francis Group), 2012. 165 p.

MATOS, M. et al. Encapsulation of resveratrol using food-grade concentrated double emulsions: Emulsion characterization and rheological behaviour. **Journal of Food Engineering**, v. 226, p. 73–81, 2018.

MCCLEMENTS, D. J. Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 14, n. 2, p. 173–177, 2000.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques**, 2<sup>a</sup> edição. 2004.

MCCLEMENTS, D. J. Stability of Food Emulsions. **University of Massachusetts**, n. 1, p. 1–37, 2008.

MCCLEMENTS, D. J. **Nanoparticles and Microparticle Based Delivery Systems: Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds**, 2014.

MCCLEMENTS, D. J.; JAFARI, S. M. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 251, p. 55–79, 2018.

MCCLEMENTS, D. J.; PENG, S. F. Current status in our understanding of physicochemical basis of bioaccessibility. **Current Opinion in Food Science**, v. 31, p. 57–62, 2020.

MEHRA, R. et al. Whey proteins processing and emergent derivatives: An insight perspective from constituents, bioactivities, functionalities to therapeutic applications. v. 87, 2021.

MÉNARD, O. et al. A first step towards a consensus static in vitro model for simulating full-term infant digestion. **Food Chemistry**, v. 240, n. July 2017, p. 338–345, 2018.

METTU, S.; WU, C.; DAGASTINE, R. R. Dynamic forces between emulsified water drops coated with Poly-Glycerol-Poly-Ricinoleate (PGPR) in canola oil. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 517, p. 166–175, 2018.

MEZZENGA, R.; FOLMER, B. M.; HUGHES, E. Design of double emulsions by osmotic pressure tailoring. **Langmuir**, v. 20, n. 9, p. 3574–3582, 2004.

MILLER, R.; AKSENEKO, E. V.; FAINERMAN, V. B. Dynamic interfacial tension of surfactant solutions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 247, p. 115–129, 2017.

MORALES-MEDINA, R. et al. Functional and antioxidant properties of hydrolysates of sardine (*S. pilchardus*) and horse mackerel (*T. mediterraneus*) for the microencapsulation of fish oil by spray-drying. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1208–1216, 2016.

MUSCHIOLIK, G. et al. Multiple Emulsions - Preparation and Stability. p. 123–137, 2006.

MUSCHIOLIK, G.; DICKINSON, E. Double Emulsions Relevant to Food Systems: Preparation, Stability, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 3, p. 532–555, 2017.

NABRZYSKI, M. Mineral Components. In: SIKORSKI, Z. E. **Chemical and functional properties of food components**, 2002.cap.4, p.51-80.

NEUMANN, S. M.; VAN DER SCHAAF, U. S.; KARBSTEIN, H. P. Investigations on the relationship between interfacial and single droplet experiments to describe instability mechanisms in double emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 553, p. 464–471, 2018.

NGWULUKA, N. et al. Natural Polymer from *Sesamum radiatum* as an Emulsifier and Stabilizer in Fabrication of Macroemulsions. **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 4, p. 1–11, 2015.

OKURO, P. K. et al. Formation and stability of W/O-high internal phase emulsions (HIPEs) and derived O/W emulsions stabilized by PGPR and lecithin. **Food Research International**, v. 122, n. May 2018, p. 252–262, 2019.

OPPERMANN, A. K. L. et al. Effect of outer water phase composition on oil droplet size and yield of (w1/o/w2) double emulsions. **Food Research International**, v. 107, n. August 2017, p. 148–157, 2018.

OZTURK, B.; MCCLEMENTS, D. J. Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 1–6, 2016.

PARTHASARATHI, S.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Enhancement of oral bioavailability of vitamin E by spray-freeze drying of whey protein microcapsules. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 469–476, 2016.

PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 77, p. 1327–1340, 2017.

PRAJAPATI, V. D. et al. Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 60, p. 83–92, 2013.

PRICHAPAN, N.; MCCLEMENTS, D. J.; KLINKESORN, U. Iron Encapsulation in Water-in-Oil Emulsions: Effect of Ferrous Sulfate Concentration and Fat Crystal Formation on Oxidative Stability. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 2, p. 309–317, 2018.

PRICHAPAN, N.; MCCLEMENTS, D. J.; KLINKESORN, U. Encapsulation of Iron within W1/O/W2 Emulsions Formulated Using a Natural Hydrophilic Surfactant (Saponin): Impact of Surfactant Level and Oil Phase Crystallization. **Food Biophysics**, v. 15, n. 3, p. 346–354, 2020.

PRICHAPAN, N.; MCCLEMENTS, D. J.; KLINKESORN, U. Utilization of multilayer-technology to enhance encapsulation efficiency and osmotic gradient tolerance of iron-loaded W1/O/W2 emulsions: Saponin-chitosan coatings. **Food Hydrocolloids**, v. 112, n. September 2020, p. 106334, 2021.

RIBEIRO, A.M.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of polyphenols - The specific case of the microencapsulation of Sambucus Nigra L. extracts - A review. **Trends in Food Science and Technology**, 2019.

SAFFARIONPOUR, S.; DIOSADY, L. L. Multiple Emulsions for Enhanced Delivery of Vitamins and Iron Micronutrients and Their Application for Food Fortification. **Food and Bioprocess Technology**, v. 14, n. 4, p. 587–625, 2021.

SAINI, R. K. et al. Dietary iron supplements and Moringa oleifera leaves influence the liver hepcidin messenger RNA expression and biochemical indices of iron status in rats. **Nutrition Research**, v. 34, n. 7, p. 630–638, 2014.

SCHROËN, K.; DE RUITER, J.; BERTON-CARABIN, C. The importance of interfacial tension in emulsification: Connecting scaling relations used in large scale preparation with microfluidic measurement methods. **ChemEngineering**, v. 4, n. 4, p. 1–22, 2020.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of Food Ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501–547, 1993.

SHAO, P. et al. Recent advances in improving stability of food emulsion by plant polysaccharides. **Food Research International**, v. 137, n. January, p. 109376, 2020.

SHENKIN, A. The key role of micronutrients. **Clinical Nutrition**, v. 25, n. 1, p. 1–13, 2006.

SHERGILL-BONNER, R. Micronutrients. **Paediatrics and Child Health (United Kingdom)**, v. 27, n. 8, p. 357–362, 2017.

SHI, T. et al. Evolution of the Interfacial Tension between Polydisperse “Immiscible” Polymers in the Absence and in the Presence of a Compatibilizer. **Macromolecules**, v. 37, n. 4, p. 1591–1599, 2004.

SILVA, E. N. et al. Evaluation of the bioaccessible fractions of Fe, Zn, Cu and Mn in baby foods. **Talanta**, v. 117, p. 184–188, 2013.

- SIMIQUELI, A. A. et al. W1/O/W2 emulsions applied for conveying FeSO<sub>4</sub>: Physical characteristics and intensity of metallic taste perception. **Lwt**, v. 100, p. 278–286, 2019.
- SMITHERS, G. W. Whey-ing up the options - Yesterday, today and tomorrow. **International Dairy Journal**, v. 48, p. 2–14, 2015.
- TAMILVANAN, S. Oil-in-water lipid emulsions: Implications for parenteral and ocular delivering systems. **Progress in Lipid Research**, v. 43, n. 6, p. 489–533, 2004.
- TAN, C.; MCCLEMENTS, D. J. Application of advanced emulsion technology in the food industry: A review and critical evaluation. **Foods**, v. 10, n. 4, 2021.
- TEIXEIRA, F. J. et al. Whey protein in cancer therapy: A narrative review. **Pharmacological Research**, v. 144, n. February, p. 245–256, 2019.
- TSERMOULA, P. et al. WHEY - The waste-stream that became more valuable than the food product. **Trends in Food Science & Technology**, v. 118, p. 230–241, 2021.
- VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R. et al. Encapsulation and stability of a phenolic-rich extract from mango peel within water-in-oil-in-water emulsions. **Journal of Functional Foods**, v. 56, n. February, p. 65–73, 2019.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Nutritional Anaemias : Tools for Effective Prevention. **World Health Organization**, 2017.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Preventing and controlling micronutrient deficiencies in populations affected by an emergency. **World Health Organization**, 2007.
- WU, Y. et al. An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties. **Food Research International**, v. 42, n. 8, p. 1141–1146, 2009.
- WU, Y. et al. The rheological properties of tara gum (*Caesalpinia spinosa*). **Food Chemistry**, v. 168, p. 366–371, 2015.
- WU, Y.; DING, W.; HE, Q. The gelation properties of tara gum blended with  $\kappa$ -carrageenan or xanthan. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 764–771, 2018.
- WUESTENBERG, T.. **Cellulose and Cellulose Derivatives in the Food Industry: Fundamentals and Applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2015. 525 p.
- YE, Q.; GEORGES, N.; SELOMULYA, C. Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 78, p. 167–179, 2018.
- YING, X. et al. Preparation and drying of water-in-oil-in-water (W1/O/W2) double emulsion to encapsulate soy peptides. **Food Research International**, v. 141, n. September 2020, p. 110148, 2021.



ZAFEIRI, I. et al. Emulsions Co-Stabilised by Edible Pickering Particles and Surfactants: The Effect of HLB Value. **Colloids and Interface Science Communications**, v. 17, p. 5–9, 2017.

ZHANG, J. et al. Rheological and microstructural properties of gelatin B/tara gum hydrogels: Effect of protein/polysaccharide ratio, pH and salt addition. **Lwt**, v. 103, n. 5988, p. 108–115, 2019.