



MATEUS VINÍCIUS CARVALHO SIMÕES

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EMULSÕES COM
ÓLEO DE PEQUI ESTABILIZADAS POR PROTEÍNA DE
ERVILHA E CARBOXIMETILCELULOSE**

LAVRAS – MG

2026

MATEUS VINÍCIUS CARVALHO SIMÕES

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EMULSÕES COM ÓLEO DE PEQUI
ESTABILIZADAS POR PROTEÍNA DE ERVILHA E CARBOXIMETILCELULOSE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras - UFLA, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dra. Fabiana Queiroz

Orientadora

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel

Prof. Dra. Clara Suprani Marques

Coorientadores

LAVRAS – MG

2026

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Simões, Mateus Vinícius Carvalho.

Elaboração e caracterização de emulsões com óleo de pequi estabilizadas por
proteína de ervilha e carboximetilcelulose / Mateus Vinícius Carvalho Simões. - 2026.
136 p.

Orientadora: Fabiana Queiroz

Coorientador: Diego Alvarenga Botrel

Coorientadora: Clara Suprani Marques

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2026.
Bibliografia.

1. Emulsões. 2. Sustentabilidade. 3. Óleo de pequi. 4. Compostos bioativos. 5.
Proteínas. I. Queiroz, Fabiana. II. Alvarenga Botrel, Diego. III. Suprani Marques,
Clara. IV. Universidade Federal de Lavras. V. Título.

MATEUS VINÍCIUS CARVALHO SIMÕES

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EMULSÕES COM ÓLEO DE PEQUI
ESTABILIZADAS POR PROTEÍNA DE ERVILHA E CARBOXIMETILCELULOSE**

**DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF EMULSIONS WITH PEQUI OIL
STABILIZED BY PEA PROTEIN AND CARBOXYMETHYLCELLULOSE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras - UFLA, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Alimentos, para a obtenção do título em Mestre.

APROVADA em 30 de janeiro de 2026.

Dr. Lucas de Souza Soares UFV – Campus Rio Paranaíba

Dra. Thais Lomonaco Teodoro da Silva - UFLA

Prof. Dra. Fabiana Queiroz

Orientadora

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel

Prof. Dra. Clara Suprani Marques

Coorientadores

LAVRAS – MG

2026

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por me guiar, fortalecer e permitir a concretização desta etapa tão importante da minha vida acadêmica.

Aos meus pais, em especial à minha mãe, que mesmo não estando mais aqui permanece em meu coração, e ao meu padrasto, expresso meu sincero agradecimento pelo amor, apoio incondicional e incentivo em todos os momentos, especialmente nos desafios enfrentados.

A minha orientadora, Fabiana Queiroz, agradeço profundamente pela paciência, orientação ao longo de toda a minha trajetória. Seu incentivo constante e suas valiosas contribuições foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus coorientadores, Diego Alvarenga Botrel e Clara Suprani Marques, agradeço pelo suporte técnico e científico, pelas discussões enriquecedoras e pelo comprometimento com o aprimoramento deste estudo.

Agradeço ao Laboratório de Embalagens e Encapsulação de Alimentos, à Central de Análises e Prospecção Química (CAPQ), ao Laboratório de Encapsulamento Molecular e Biomateriais (LEMB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e ao Laboratório de Engenharia de Biomateriais da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

A todos os meus amigos, especialmente aos que fiz em Lavras, em especial ao Altieres, deixo meu sincero agradecimento por tornarem essa jornada mais leve, divertida e significativa. A amizade de cada um de vocês foi uma fonte constante de apoio e motivação.

Agradeço à CAPES e FAPEMIG (APQ-00149-22) pelo apoio financeiro que tornou possível a realização deste trabalho. A todos que, de alguma forma, contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade, meu muito obrigado.

RESUMO GERAL

As emulsões à base de proteínas têm se destacado como alternativas promissoras aos sistemas convencionais estabilizados por surfactantes artificiais, especialmente diante da crescente demanda da indústria alimentícia por ingredientes naturais e rótulos limpos. O óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*), abundante no Cerrado brasileiro, é rico em compostos bioativos, como carotenoides, ácidos graxos insaturados e compostos fenólicos, os quais conferem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar emulsões do tipo óleo em água (O/A) para a encapsulação do óleo de pequi, visando à proteção de seus compostos bioativos. Para a estabilização dos sistemas, foram empregadas a proteína isolada de ervilha (PE) e o complexo proteína-carboximetilcelulose (PE-CMC). O estudo foi conduzido em duas etapas. Inicialmente, as emulsões foram otimizadas por meio de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR 2²), considerando as concentrações de PE e de CMC como variáveis independentes, e a estabilidade centrífuga (EC), o índice de atividade e estabilidade emulsificante (EAI), o ângulo de contato (AC) e a qualidade da homogeneização como variáveis resposta, com o objetivo de maximizar a estabilidade do sistema. Na etapa seguinte, foi aplicado um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial 5 × 2, avaliando-se o efeito do pH (3, 4, 5, 6 e 7) e do tipo de estabilizante (PE e PE-CMC) sobre o comportamento das emulsões. Na primeira etapa, as formulações ótimas corresponderam a emulsões contendo 3,41% de PE e 3,41% de PE combinada com 0,5% de CMC. Na etapa seguinte, os resultados evidenciaram uma interação significativa entre o pH e o tipo de estabilizante, influenciando diretamente a estabilidade do sistema. As emulsões estabilizadas apenas com PE apresentaram elevada instabilidade física, caracterizada por floculação acentuada e separação de fases, especialmente nos pHs 4, 5 e 6, em decorrência da baixa solubilidade da proteína nessas condições. Em contraste, as emulsões PE-CMC apresentaram maior estabilidade ao longo da faixa de pH avaliada, com manutenção da integridade do sistema, embora tenha sido observada separação de fases nos pHs 3 e 4, atribuída à formação de complexos insolúveis. Esse desempenho superior foi associado à combinação dos mecanismos de estabilização eletrostática e estérica promovidos pela CMC, resultando em uma barreira interfacial mais robusta. As emulsões PE-CMC também demonstraram maior eficiência na retenção dos compostos bioativos do óleo de pequi, embora essa eficiência tenha sido afetada pelo pH, de forma semelhante aos demais sistemas. O ciclo de congelamento e descongelamento foi a única condição de estresse na qual as emulsões PE-CMC não apresentaram desempenho satisfatório. Conclui-se que os sistemas estabilizados com PE e PE-CMC constituem estratégias eficazes para melhorar a estabilidade e a funcionalidade de emulsões contendo óleo de pequi, com comportamento dependente do pH, promovendo a proteção dos compostos bioativos frente a estresses ambientais e de processamento.

Palavras-chave: emulsões; óleo de pequi; complexo proteína-polissacarídeo; compostos bioativos; estabilidade físico-química.

GENERAL ABSTRACT

Protein-based emulsions have emerged as promising alternatives to conventional systems stabilized by artificial surfactants, especially given the growing demand from the food industry for natural ingredients and clean labels. Pequi oil (*Caryocar brasiliense*), abundant in the Brazilian Cerrado, is rich in bioactive compounds such as carotenoids, unsaturated fatty acids, and phenolic compounds, which confer antioxidant and anti-inflammatory properties. In this context, the present work aimed to develop and characterize oil-in-water (O/W) emulsions for the encapsulation of pequi oil, aiming at the protection of its bioactive compounds. Pea protein isolate (PE) and the protein-carboxymethylcellulose complex (PE-CMC) were used to stabilize the systems. The study was conducted in two stages. Initially, the emulsions were optimized using a Central Composite Rotational Design (CCRD 2²), considering the concentrations of PE and CMC as independent variables, and centrifugal stability (CS), emulsifier activity and stability index (EAI), contact angle (CA), and homogenization quality as response variables, with the aim of maximizing system stability. In the next step, a Completely Randomized Design (CRD) in a 5 × 2 factorial scheme was applied, evaluating the effect of pH (3, 4, 5, 6, and 7) and the type of stabilizer (PE and PE-CMC) on the behavior of the emulsions. In the first step, the optimal formulations corresponded to emulsions containing 3.41% PE and 3.41% PE combined with 0.5% CMC. In the next step, the results showed a significant interaction between pH and the type of stabilizer, directly influencing the stability of the system. Emulsions stabilized solely with PE exhibited high physical instability, characterized by pronounced flocculation and phase separation, especially at pH 4, 5, and 6, due to the low solubility of the protein under these conditions. In contrast, PE-CMC emulsions showed greater stability across the evaluated pH range, maintaining system integrity, although phase separation was observed at pH 3 and 4, attributed to the formation of insoluble complexes. This superior performance was associated with the combination of electrostatic and steric stabilization mechanisms promoted by CMC, resulting in a more robust interfacial barrier. PE-CMC emulsions also demonstrated greater efficiency in retaining the bioactive compounds of pequi oil, although this efficiency was affected by pH, similarly to the other systems. The freeze-thaw cycle was the only stress condition in which PE-CMC emulsions did not perform satisfactorily. It is concluded that systems stabilized with PE and PE-CMC constitute effective strategies to improve the stability and functionality of emulsions containing pequi oil, with pH-dependent behavior, promoting the protection of bioactive compounds against environmental and processing stresses.

Keywords: emulsions; pequi oil; protein-polysaccharide complex; bioactive compounds; physicochemical stability.

INDICADORES DE IMPACTO

Este estudo demonstra a viabilidade da utilização de proteínas vegetais e polissacarídeos para a elaboração de emulsões com óleo de pequi, sendo uma alternativa viável e alinhada aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), especialmente aqueles relacionados à produção e consumo responsáveis (ODS 12), à segurança alimentar e nutricional (ODS 2) e à promoção de inovações sustentáveis na indústria de alimentos (ODS 9).

Além disso, o uso de ingredientes de origem vegetal contribui para a redução da dependência de emulsificantes sintéticos e de origem animal, favorecendo o desenvolvimento de produtos com apelo *clean label* e menor impacto ambiental. A valorização do óleo de pequi, um recurso regional do Cerrado brasileiro, também reforça a importância da biodiversidade e do fortalecimento de cadeias produtivas locais, promovendo desenvolvimento socioeconômico e incentivo à agricultura regional.

Do ponto de vista tecnológico, os resultados obtidos evidenciam o potencial de aplicação desses sistemas em produtos alimentícios funcionais, com maior estabilidade físico-química e capacidade de proteção de compostos bioativos, como carotenoides. Dessa forma, o estudo contribui para o avanço científico na área de emulsões alimentícias e para o desenvolvimento de soluções mais sustentáveis e inovadoras na indústria de alimentos.

IMPACT INDICATORS

This study demonstrates the feasibility of using plant proteins and polysaccharides to develop emulsions containing pequi oil, representing a viable alternative aligned with the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), particularly those related to responsible consumption and production (SDG 12), food security and nutrition (SDG 2), and the promotion of sustainable innovations in the food industry (SDG 9).

Furthermore, the use of plant-based ingredients contributes to reducing reliance on synthetic and animal-derived emulsifiers, supporting the development of clean-label products with lower environmental impact. The valorization of pequi oil, a regional resource from the Brazilian Cerrado, also highlights the importance of biodiversity and the strengthening of local production chains, promoting socioeconomic development and encouraging regional agriculture.

From a technological perspective, the results obtained demonstrate the potential application of these systems in functional food products, with enhanced physicochemical stability and improved protection of bioactive compounds, such as carotenoids. Therefore, this study contributes to the scientific advancement in the field of food emulsions and to the development of more sustainable and innovative solutions for the food industry.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	11
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Emulsões convencionais.....	12
2.2 Emulsões <i>Pickering</i>.....	15
2.2.1 Reologia das emulsões.....	19
2.2.2 Aplicações das emulsões <i>Pickering</i> em alimentos	20
2.3 Partículas sólidas como estabilizantes de emulsões <i>Pickering</i>.....	22
2.3.1 Partículas estabilizadoras à base de polissacarídeos.....	22
2.3.1.1 Carboximetilcelulose.....	24
2.3.2 Partículas estabilizadoras à base de proteínas.....	26
2.3.2.1 Proteína de ervilha	29
2.3.3 Partículas estabilizadoras à base de complexo proteína-polissacarídeo	31
2.4 Óleo de pequi	33
2.5 Carotenoides	34
3 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	37
REFÊRENCIAS	38
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	47
ARTIGO 1 - OTIMIZAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA DE ERVILHA E CARBOXIMETILCELULOSE EM EMULSÕES COM ÓLEO DE PEQUI.....	47
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4 CONCLUSÃO	76
REFERÊNCIAS	78
ARTIGO 2 - EFEITO DO PH NA ESTABILIDADE DE EMULSÕES COM ÓLEO DE PEQUI ESTABILIZADAS POR PROTEÍNA DE ERVILHA E COMPLEXO PROTEÍNA-CARBOXIMETILCELULOSE.....	81
1 INTRODUÇÃO	83
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	84
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	92
4 CONCLUSÃO	130
REFERÊNCIAS	132

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

As emulsões são sistemas coloidais que podem desempenhar um papel significativo na capacidade de incorporar e estabilizar ingredientes bioativos. Tradicionalmente, são estabilizadas por surfactantes sintéticos, que reduzem a tensão interfacial entre fases imiscíveis (óleo e água), facilitando a formação e manutenção das emulsões. No entanto, a crescente preocupação com a sustentabilidade e a demanda por produtos de “rótulo limpo” tem pressionado a indústria de alimentos a reformular seus produtos, impulsionando a busca por alternativas inovadoras (He; Lu, 2024; McClements, 2011). Nesse contexto, as emulsões *Pickering*, estabilizadas por partículas sólidas surgem como uma solução promissora, oferecendo vantagens como maior estabilidade para encapsulação de compostos bioativos. As partículas sólidas de origem orgânica utilizadas para estabilizar emulsões podem ser derivadas de diferentes fontes, incluindo polissacarídeos, proteínas e seus complexos. Essas partículas formam uma barreira rígida na interface óleo-água, retardando ou impedindo os fatores de instabilidade do sistema, o que garante uma estabilidade mais prolongada (Comunian *et al.* 2020). A proteína de ervilha (PE) (*Pisum sativum*) tem se destacado como uma alternativa sustentável e funcional para a estabilização de emulsões, devido à sua natureza anfifílica principalmente na formação de emulsões do tipo O/A, nas quais regiões hidrofílicas interagem melhor com a fase aquosa (Yi *et al.* 2021). Quando combinada com polissacarídeos, como por exemplo, a carboximetilcelulose (CMC), um agente espessante utilizado na indústria de alimentos, sua funcionalidade pode ser ainda mais aprimorada. Essa combinação permite modificações estruturais nos sistemas, promovendo maior estabilidade das emulsões (Yue *et al.* 2021).

O óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*), um recurso abundante no cerrado brasileiro, destaca-se por sua composição rica em compostos bioativos, como os carotenoides, ácidos graxos insaturados e compostos fenólicos, o que lhe confere propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, tornando um ingrediente atrativo para aplicações na indústria alimentícia (Miranda-Vilela *et al.* 2014). Entretanto, sua alta suscetibilidade à oxidação representa um desafio para sua preservação e para o uso eficiente. A encapsulação desse óleo em emulsões é uma estratégia viável para proteger seus compostos bioativos, ampliando seu potencial de aplicação industrial e atendendo à crescente demanda por produtos naturais, funcionais e

sustentáveis no mercado (Comunian *et al.* 2020). Dada a relevância do óleo de pequi como recurso natural do cerrado e o potencial das emulsões para superar os desafios e limitações relacionados à estabilidade de óleos ricos em compostos bioativos, este estudo propõe investigar o uso de PE isolada e complexo PE-CMC como estabilizantes de emulsões para formação de emulsões do tipo O/A encapsulando óleo de pequi, buscando contribuir para o desenvolvimento de soluções inovadoras que atendam às demandas de um mercado por produtos de rótulo limpo e sustentáveis.

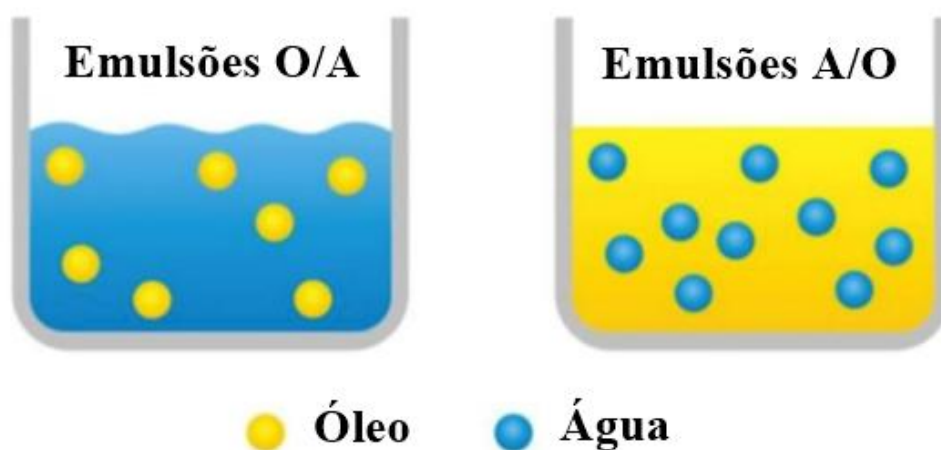
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Emulsões convencionais

Uma emulsão é um sistema coloidal amplamente utilizado nas indústrias alimentícias, farmacêuticas, cosméticas e petrolíferas. Consiste de uma mistura heterogênea, dispersão ou suspensão de dois ou mais líquidos imiscíveis, como óleo e água, que são termodinamicamente instáveis. O sistema apresenta uma fase dispersa (em menor proporção), em forma de gotículas pequenas e esféricas, e uma fase contínua (abundante) que a envolve as gotículas (Kale; Deore, 2017).

As emulsões podem ser classificadas de acordo com a natureza das fases (Figura 1) e a relação entre fase dispersa e contínua, como óleo/água (O/A), em que a mistura é formada por gotículas de óleo dispersas em uma fase aquosa (por exemplo, leite e molhos), ou água em óleo (A/O), em que a mistura é formada por gotículas de água dispersas em uma fase oleosa (por exemplo, margarina e manteiga) (McClements, 2011).

Figura 1 - Representação de emulsões óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O).

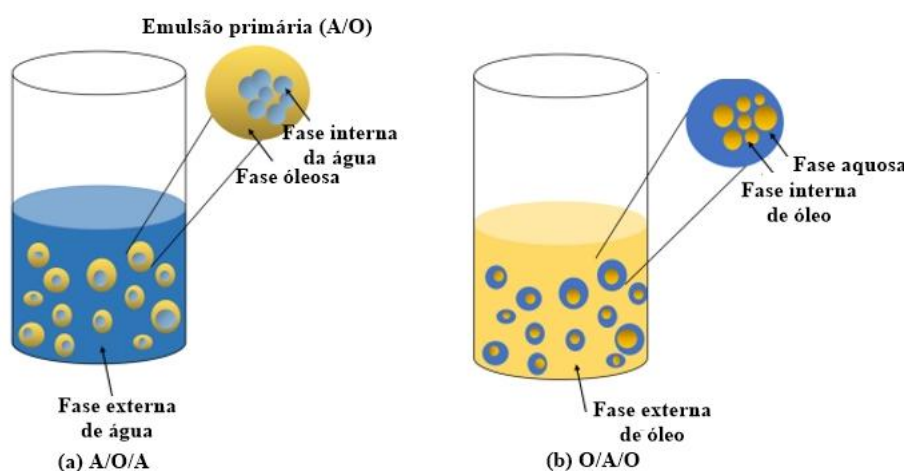


Fonte: Adaptado de O'Lenick (2021).

Emulsões múltiplas são sistemas complexos que consistem em uma emulsão dentro de outra emulsão (Figura 2). Elas podem ser divididas em dois tipos: água em óleo em água (A/O/A) e óleo em água em óleo (O/A/O). No tipo A/O/A, gotículas de água estão dispersas em uma fase contínua de óleo (fase intermediária), que por sua vez está dispersa em outra fase contínua de água, sendo frequentemente usado em produtos cosméticos, farmacêuticos e alimentícios, como cremes e loções. (Kale; Deodore, 2017; Tiang *et al.* 2024).

Em uma emulsão (O/A/O), gotículas de óleo estão dispersas dentro de uma fase contínua de água (fase intermediária), que está dispersa em uma fase contínua de óleo. Esse tipo é comum em processos industriais e na fabricação de alimentos, como em produtos de panificação e molhos. As emulsões múltiplas oferecem vantagens como maior estabilidade devido à estrutura de múltiplas camadas, que pode impedir a coalescência das gotículas e proporcionar um controle mais preciso sobre a liberação de ingredientes ativos (Asl-Ghanbarnezhad *et al.* 2024; Tiang *et al.* 2024).

Figura 2 - Representação de emulsões múltiplas (a) A/O/A, (b) O/A/O.



Fonte: Adaptado de Mudric (2019).

O processo de formação de uma emulsão cineticamente estável por um determinado período de tempo envolve a dispersão de uma fase em outra, sendo necessário fornecer uma quantidade substancial de energia para formar e dispersar as gotículas. A aplicação de energia mecânica por meio da agitação é o método mais comum para a formação de emulsões (Niu *et al.* 2023).

A adição de substâncias estabilizadoras ao sistema favorece a formação de emulsões, reduzindo a velocidade das alterações do sistema. Essas substâncias, conhecidas como emulsificantes ou surfactantes, têm como função de reduzir a tensão interfacial entre as fases imiscíveis e facilitar a interação de substâncias insolúveis entre si (Han *et al.* 2023).

A característica fundamental de um surfactante é que sua estrutura contém uma parte hidrofílica, que interage com a fase aquosa, e outra lipofílica, que interage com a fase oleosa. Logo, esta estrutura permite a atuação do surfactante na interface entre duas fases imiscíveis, sendo imprescindível que o composto tenha um equilíbrio adequado entre hidrofiliicidade e lipofiliicidade (McClements, 2011).

Os surfactantes alimentares podem ser classificados de acordo com sua carga, sendo eles aniônicos, catiônicos, não iônicos ou anfóteros. Os aniônicos, como a lecitina de soja e os caseinatos, são utilizados na estabilização de chocolates, margarinas e emulsões lácteas. Os catiônicos, embora pouco utilizados, interagem com proteínas e polissacarídeos carregados negativamente. Os não iônicos, amplamente empregados, incluem mono e diglicerídeos, que melhoram a textura de pães e sorvetes, e os ésteres de sacarose, comuns em produtos de baixo teor de gordura. Os anfóteros, como proteínas modificadas e fosfolipídeos, ajustam sua carga conforme o pH do meio (Jayasankar; Karthyayaniamma, 2024; Kaur *et al.* 2024; Saini *et al.* 2024).

Diversos estudos têm sido realizados para investigar os fatores que influenciam a estabilidade de emulsões e desenvolver estratégias para melhorá-la ao longo do tempo. A compreensão dos fenômenos de instabilidade (Figura 3) das emulsões é essencial para o desenvolvimento de formulações estáveis por períodos mais longos de tempo (Kim *et al.* 2024).

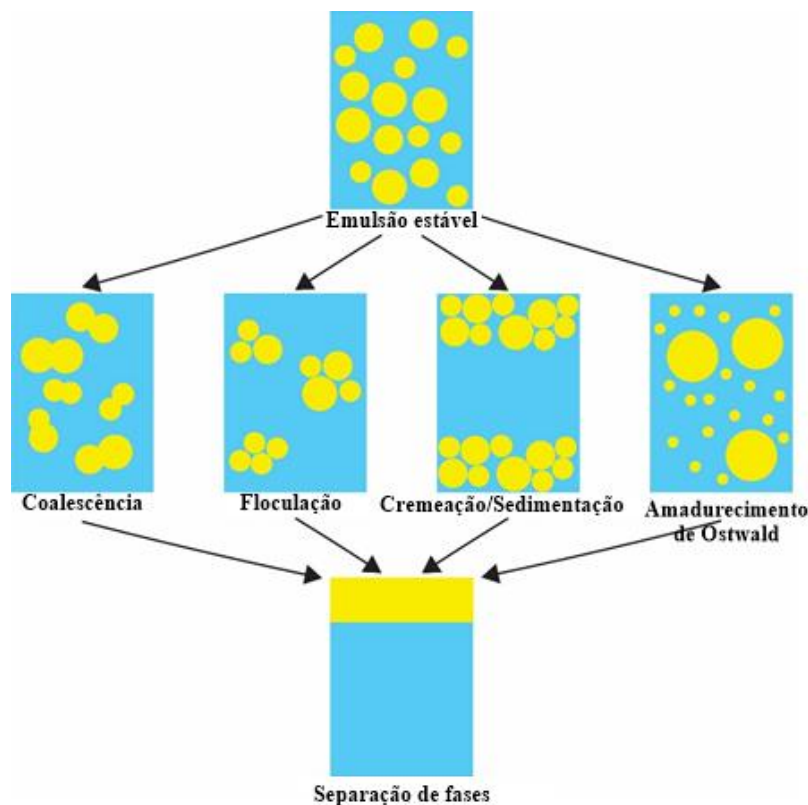
Os principais fenômenos de instabilidade que podem ocorrer em emulsões são:

- 1) Coalescência: caracterizada por um fenômeno em que as gotículas da fase dispersa da emulsão se fundem e formam gotículas maiores, levando à separação das fases. É causada pela redução da tensão interfacial entre as fases, que pode ser provocada por fatores como choques mecânicos, agitação ou mudanças no pH (Langevin, 2023).
- 2) Sedimentação: caracterizada pela aglutinação de gotículas da fase mais densa que se acumulam no fundo do recipiente, devido à diferença de densidade entre as fases, que leva à separação por gravidade (Plassard *et al.* 2024).
- 3) Cremeação: é a aglutinação de gotículas, na qual as gotículas da fase dispersa são menos densas que a fase contínua e se acumulam na superfície da emulsão. Esse fenômeno ocorre devido à diferença de densidade entre as fases, que leva à separação por gravidade. A cremeação é considerada um processo reversível, o que significa que, após a agitação, a emulsão pode retornar à sua forma original (Huyst *et al.* 2023).
- 4) Flocculação: é a formação de agregados de gotículas na fase dispersa, que podem levar à separação das fases. Esse fenômeno ocorre devido à interação entre as gotículas, influenciada por fatores como mudanças no pH ou na temperatura, e é causado por forças de

atração de *van der Waals*. A floculação é uma forma de instabilidade reversível sendo considerada a primeira manifestação do processo de separação (Lamanna *et al.* 2023; Scharnberg *et al.* 2023).

5) Amadurecimento de *Ostwald*: é um mecanismo que ocorre devido à difusão de moléculas da fase dispersa de gotículas menores para gotículas maiores, impulsionado pela diferença de pressão capilar entre elas. Com o tempo, as gotas menores desaparecem, que leva ao aumento do diâmetro médio das gotículas e à perda de estabilidade do sistema coloidal (Kim *et al.* 2024).

Figura 3 - Representação esquemática dos mecanismos de desestabilização das emulsões.



Fonte: Adaptado de Wilson *et al.* (2022).

2.2 Emulsões *Pickering*

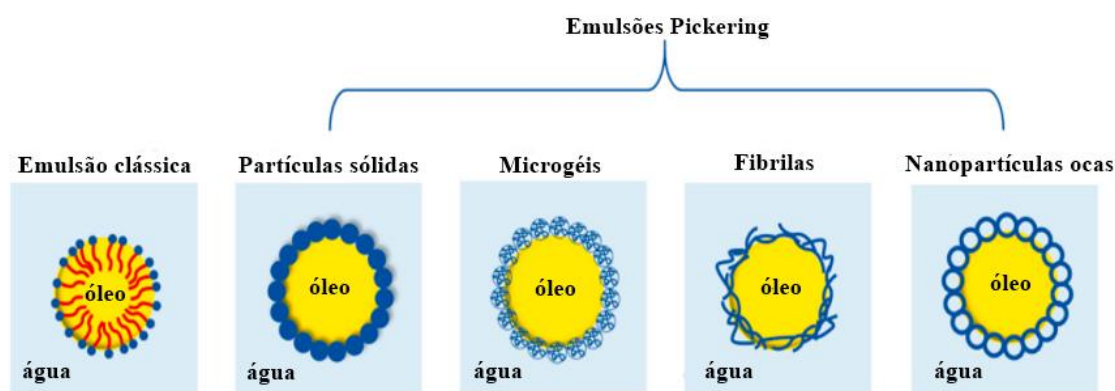
As emulsões *Pickering* são sistemas em que a estabilização da interface óleo-água é realizada por meio de partículas coloidais sólidas, formando uma camada interfacial densa. Nas emulsões clássicas, o surfactante reduz a tensão interfacial entre o óleo e a água, facilitando a quebra das gotículas durante a emulsificação, diminuindo a energia livre de *Gibbs*. Nas

emulsões *Pickering*, as partículas sólidas são adsorvidas e ancoradas quase irreversivelmente na interface dos líquidos, formando uma barreira física rígida, que também reduz a energia livre de Gibbs garantindo uma elevada estabilidade cinética da emulsão (Almeida *et al.* 2024; Yin; Wang; Zeng, 2019).

Para que as partículas estabilizadoras sejam eficazes em emulsões, devem apresentar certo grau de molhabilidade, ou seja, as partículas devem ser molháveis tanto pela fase oleosa quanto pela fase aquosa. Essas emulsões têm despertado notável interesse de pesquisa na comunidade científica nos últimos anos devido à sua elevada estabilidade contra a coalescência e amadurecimento de *Ostwald*, além da sua capacidade de alterar a cinética de digestão lipídica das emulsões após o consumo (Lamanna *et al.* 2023; Tang, 2019).

No setor alimentício, as emulsões *Pickering* têm se destacado como alternativa aos sistemas que contêm estabilizadores tradicionais, atendendo à crescente demanda por ingredientes com rótulo limpo (*clean label*). A flexibilidade na escolha e na modificação das partículas permite a personalização das propriedades da emulsão, como a viscosidade e a aparência, além de contribuir para uma abordagem mais sustentável, já que muitas partículas são derivadas de fontes naturais ou renováveis (Ribeiro *et al.* 2021; Zhu, 2019). Entre as partículas sólidas mais promissoras estão as à base de proteínas (ervilha, soja, whey e outros), microgéis, fribilas (β -lactoglobulina) e nanopartículas ocas (zeína, albumina) (Figura 4). Essas partículas são favorecidas por serem naturais, biodegradáveis e aplicáveis a uma variedade de produtos alimentícios, incluindo molhos, cremes e bebidas, proporcionando estabilidade a longo prazo e textura desejável (Ribeiro *et al.* 2021; Yan *et al.* 2020).

Figura 4 – Comparação entre emulsões clássicas e classes de emulsões *Pickering*.



Fonte: Adaptado de Yan *et al.* (2020).

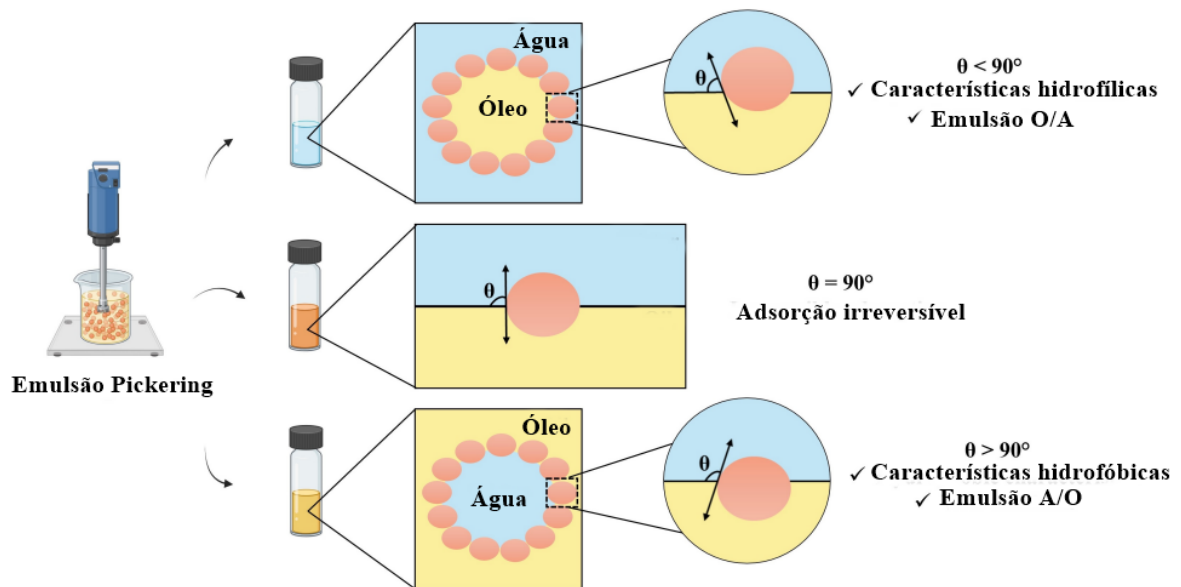
Para que uma partícula seja utilizada como estabilizador em emulsões *Pickering*, é essencial que apresente molhabilidade parcial adequada, é determinada pelo ângulo de contato (AC) trifásica partícula/óleo/água (p/o/a) (θ). O ângulo θ indica a afinidade relativa das partículas pelo óleo e pela água e é calculado pela Lei de *Young*, representado pela Equação (1) (Albert *et al.* 2019; Calabrese *et al.* 2018):

$$\cos \theta = \frac{(\gamma_{pa} - \gamma_{po})}{\gamma_{oa}} \quad (1)$$

Onde γ_{pa} , γ_{po} e γ_{oa} , são respectivamente, as tensões interfaciais partícula-água, partícula-óleo e óleo-água.

Para que uma partícula seja eficaz na estabilização de uma emulsão, o AC trifásico deve ser moderado, geralmente entre 30° e 150° (Figura 5). Partículas com AC próximo de 90° são ideais, devido à sua afinidade similar por ambas as fases, formando uma camada estérica que impede a coalescência do sistema, garantindo um sistema de máxima estabilidade. Sendo assim, partículas mais hidrofílicas ($\theta < 90^\circ$) formarão preferencialmente emulsões O/A e as partículas mais hidrofóbicas ($\theta > 90^\circ$) formarão emulsões A/O (Xiao; Li; Huang, 2016).

Figura 5 - O AC de partículas esféricas na interface óleo e água e o tipo de emulsão formada.



Fonte: Adaptado de Cassani e Gomez-Zavaglia (2024).

A fase em que as partículas são dispersas antes da emulsificação também desempenha um papel no tipo de emulsão formada. Partículas inicialmente dispersas na fase aquosa tendem a formar emulsões do tipo O/A, enquanto dispersas inicialmente na fase oleosa tendem a formar emulsões do tipo A/O (De Carvalho-Guimarães *et al.* 2022).

As propriedades físicas e mecânicas das interfaces estabilizadas por partículas sólidas em emulsões *Pickering* diferem das interfaces estabilizadas por surfactantes tradicionais. Nas emulsões *Pickering*, as partículas sólidas formam uma camada rígida e tridimensional na interface óleo-água, resultando em maior espessura, enquanto os surfactantes tradicionais formam apenas uma fina monocamada (Berton-Carabin; Schroen, 2015).

A concentração de partículas sólidas utilizadas exerce um impacto nas propriedades da emulsão resultante. Em concentrações baixas, apenas uma pequena área da interface óleo-água é estabilizada, o que pode levar à instabilidade do sistema e à formação de gotículas maiores. Em concentrações intermediárias, a área interfacial disponível é ligeiramente superior à capacidade de cobertura das gotículas, o que permite o processo de coalescência das gotículas até que a interface esteja totalmente recoberta. Em concentrações elevadas de partículas, é possível formar emulsões com gotículas muito pequenas, devido à maior cobertura da interface. No entanto, é necessário garantir que todas as partículas sejam eficientemente adsorvidas para evitar a presença de partículas livres na fase contínua, pois podem sedimentar na fase contínua ao longo do tempo, levando à separação de fases (Albert *et al.* 2019; Winuprasith; Supphantharika, 2015). O tamanho das partículas é um fator importante para a estabilidade das emulsões, variando significativamente e influenciando diretamente as propriedades e comportamento da emulsão. Desta forma, partículas menores são mais eficazes na estabilização de emulsões com gotículas menores, pois oferecem maior área superficial específica (m^2/g), permitindo uma cobertura mais eficiente da interface óleo/água. (Almeida, 2024; Seo *et al.* 2012).

O tamanho das gotículas na emulsão tende a diminuir à medida que a concentração de partículas no sistema aumenta, o que permite controlar o tamanho das gotículas. Este fenômeno é conhecido como "coalescência limitada", e resulta em uma distribuição homogênea do tamanho das gotículas diretamente proporcional à quantidade de partículas presentes e à sua capacidade de cobrir as gotículas (Schmitt; Destribats; Backov, 2014). Esse comportamento pode ser descrito pela Equação (2):

$$\frac{1}{D} = \frac{m_p}{6.C.\rho.V_p} \cdot \frac{a_p}{v_p} \quad (2)$$

Em que, D representa o diâmetro final da gota, m_p é a massa das partículas, ρ é a densidade das partículas, V_p é o volume da fase dispersa, C é a cobertura da superfície (fração da área interfacial da gota coberta pelas partículas), a_p é a área da partícula projetada na interface, e v_p é o volume da partícula.

2.2.1 Reologia das emulsões

A reologia das emulsões está diretamente relacionada à organização das partículas na interface das gotículas, influenciando a estabilidade cinética e o comportamento mecânico. Diferentemente das emulsões estabilizadas por surfactantes de baixa massa molecular, que apresentam comportamento predominantemente viscoso, emulsões estabilizadas por partículas ou biopolímeros frequentemente exibem características elásticas, associadas à formação de camadas interfaciais mais rígidas na interface fluido–fluido (Qian *et al.* 2020; Sharma, Kumar e Sangwai, 2015).

Do ponto de vista reológico, esses sistemas apresentam comportamento não newtoniano do tipo pseudoplástico, descrito adequadamente pelo modelo da Lei de Potência. Os valores do índice de comportamento de fluxo (n) são inferiores a 1, indicando redução da viscosidade aparente com o aumento da taxa de cisalhamento. O índice de consistência (K) é influenciado pela concentração proteica e pela presença de polissacarídeos, refletindo a formação de diferentes níveis de estruturação da fase contínua e das interações entre gotículas e biopolímeros (Yue *et al.* 2021; Xu *et al.* 2024).

Os parâmetros reológicos n e K também são fortemente afetados pelas condições de processamento, como tratamento por ultrassom de alta intensidade e variações de pH. Essas estratégias promovem a desnaturação controlada da PE, aumentam a exposição de grupos hidrofóbicos e favorecem a formação de partículas e complexos mais eficientes na estabilização interfacial. Como consequência, obtêm-se emulsões com gotículas menores, distribuição de tamanho mais homogênea e redes estruturais mais coesas, refletidas em valores mais elevados de K e em comportamento de fluxo com maior pseudoplasticidade (Xu *et al.* 2024; Zhang *et al.* 2021).

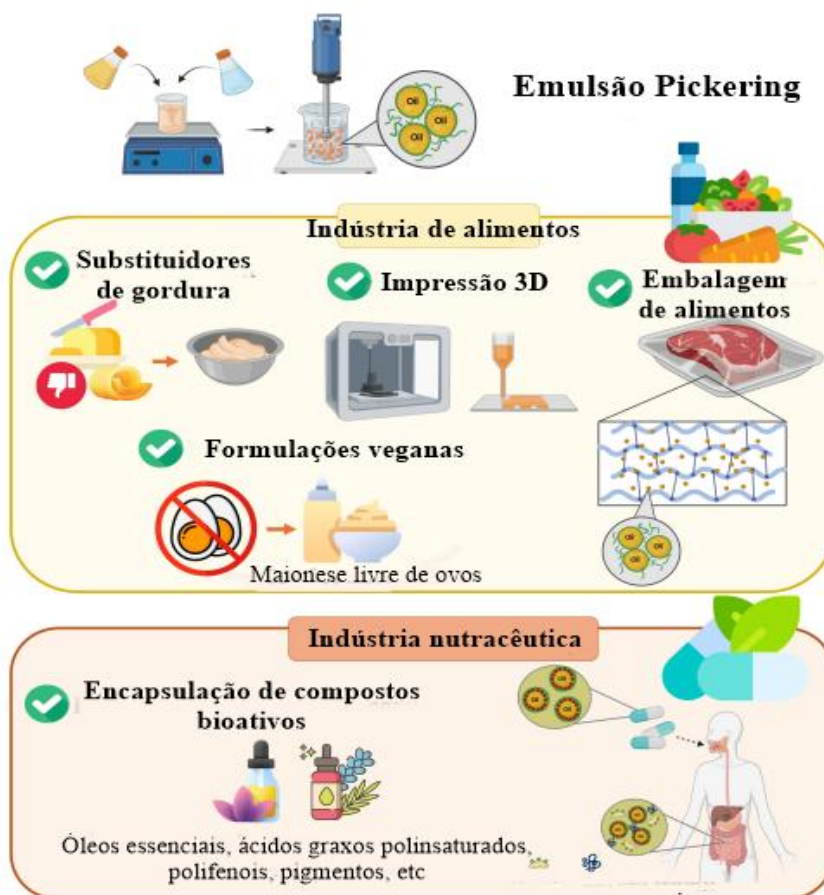
Do ponto de vista tecnológico, sistemas que combinam altos valores de K e baixos valores de n apresentam potencial para aplicações como impressão 3D de alimentos, nas quais são simultaneamente exigidas elevada extrudabilidade e rápida recuperação estrutural após o cisalhamento. Além disso, emulsões baseadas em complexos proteína–polissacarídeo podem atuar como substitutos de gordura, ao mimetizar a plasticidade e a espalhabilidade de gorduras saturadas utilizando óleos líquidos mais saudáveis. A elevada viscosidade da fase contínua e a robusta estabilização interfacial também favorecem a encapsulação e a proteção de compostos bioativos lipofílicos, permitindo a liberação controlada e maior estabilidade oxidativa (Comunian *et al.* 2020; Salehi, Inanloodoghouz e Karami, 2023; Xu *et al.* 2024).

2.2.2 Aplicações das emulsões *Pickering* em alimentos

Diversas aplicações das emulsões *Pickering* são citadas na literatura (Figura 6), incluindo a encapsulação de compostos bioativos, a formulação de produtos com baixo teor de gordura, impressão 3D, desenvolvimento de novas embalagens alimentícias, entre outras. No desenvolvimento de novos produtos, as partículas sólidas utilizadas na estabilização das emulsões podem contribuir para a criação de sensações de cremosidade e textura, mesmo em formulações com menor teor de gordura. Isso permite a produção de alimentos mais saudáveis sem comprometer a qualidade sensorial (Gao *et al.* 2023).

Os avanços na aplicação de emulsões *Pickering* na impressão 3D de alimentos, por meio da manufatura aditiva, têm sido amplamente estudados, devido à capacidade dessas emulsões de formar sistemas altamente estáveis. Essas características permitem manipulações específicas para criar texturas, encapsular compostos bioativos e controlar o comportamento mecânico e sensorial das matrizes alimentícias impressas. A estabilização por partículas sólidas de origem orgânica (proteínas, polissacarídeos, fibras e outras) oferece uma abordagem segura e sustentável para o desenvolvimento de produtos personalizados. Além disso, suas propriedades reológicas podem ser ajustadas para atender às exigências dos processos de impressão (He; Lu, 2024; Tracey *et al.* 2022).

Figura 6 – Principais aplicações das emulsões *Pickering*.



Fonte: Adaptado de Cassani e Gomez-Zavaglia (2024).

Alimentos ricos em lipídios, especialmente os que contêm ácidos graxos insaturados, são suscetíveis à oxidação lipídica durante o processamento e armazenamento. O processo de oxidação de lipídios resulta na formação de compostos voláteis e de componentes potencialmente tóxicos, comprometendo a qualidade sensorial e nutricional dos alimentos (Geng; Liu; Zhang, 2023).

Em alimentos à base de emulsões, a principal causa da oxidação é a interação entre hidroperóxidos lipídicos e íons metálicos de transição localizados próximos às superfícies das gotículas. No caso das emulsões *Pickering* estabilizadas por partículas de proteína, a camada de proteína atua como uma barreira física, impedindo o contato entre os hidroperóxidos lipídicos nas gotículas e os íons metálicos na fase aquosa, retardando, assim, a oxidação lipídica (Berton-Carabin; Schroen, 2015).

Estudos demonstram que as partículas proteicas adsorvidas na interface óleo-água são inicialmente oxidadas em emulsões *Pickering*, e a capacidade antioxidante dessa camada proteica está diretamente relacionada ao tipo e à distribuição dos aminoácidos presentes. Altos

níveis de metionina e cisteína no sistema aumentam a capacidade de eliminação de radicais livres e de quelação de íons metálicos, retardando o processo de oxidação (Berton-Carabin; Schroen, 2015; Ribeiro *et al.* 2021). Além disso, a carga superficial das gotículas também influencia a taxa de oxidação lipídica, sugerindo que o controle do potencial zeta da camada proteica pode ser uma estratégia eficaz para reduzir a oxidação em emulsões (Kargar *et al.* 2012).

Essa modificação pode ser alcançada pela seleção do tipo de proteína utilizada ou do ajuste do pH e da composição iônica da fase aquosa. Por exemplo, emulsões estabilizadas por nanopartículas de gliadina/quitosana exibiram maior estabilidade à oxidação em pH inferiores do ponto isoelétrico da gliadina, devido à carga positiva das nanopartículas que repelia os íons metálicos (Li *et al.* 2019).

2.3 Partículas sólidas como estabilizantes de emulsões *Pickering*

As emulsões *Pickering* são estabilizadas por partículas sólidas que se adsorvem na interface água-óleo, formando uma camada protetora que retarda os fenômenos de instabilidade do sistema. Essas partículas podem ser de origem inorgânicas (como sílica, alumina) ou orgânicas (como polissacarídeos, proteínas e outros) (Tang, 2019; Wang *et al.* 2015).

2.3.1 Partículas estabilizadoras à base de polissacarídeos

Os polissacarídeos são macromoléculas constituídas por longas cadeias de monossacarídeos unidas por ligações glicosídicas. Em sistemas emulsionados, podem atuar na estabilização principalmente por meio do aumento da viscosidade da fase contínua, reduzindo a mobilidade das gotículas. Além disso, em alguns casos, podem interagir com a interface óleo-água, especialmente quando formam complexos com proteínas, contribuindo para a formação de uma barreira física que dificulta a coalescência e promove a estabilidade do sistema (Xu *et al.*, 2024).

A celulose nativa é um polissacarídeo hidrofílico com baixa capacidade emulsificante. No entanto, diversos estudos demonstraram que emulsões estáveis podem ser formadas utilizando cristais de celulose, produzidos ao isolar as regiões cristalinas (responsáveis pela rigidez, densidade e resistência à tração) por meio de técnicas químicas, mecânicas ou biológicas. Dependendo do método e da fonte de preparação, os exemplos incluem, celulose microfibrilada, celulose regenerada, celulose nanocristalina, celulose microcristalina, celulose nanofibrilada e celulose bacteriana (Liu *et al.* 2023; Meng *et al.* 2023a).

Dentre os polissacarídeos utilizados na elaboração de emulsões *Pickering*, os derivados de celulose, como a celulose microcristalina e os nanocristais de celulose, são conhecidos por suas propriedades estruturais, que auxiliam na formação de uma rede estabilizadora ao longo da interface. Os derivados da celulose modificada, como a CMC e a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), embora apresentem caráter anfifílico, atuam predominantemente na fase contínua, contribuindo para a estabilização do sistema por meio do aumento da viscosidade e, em alguns casos, pela formação de estruturas ou complexos que podem auxiliar na estabilização interfacial (Chen *et al.* 2023; Dai *et al.* 2020).

Os amidos modificados são amplamente utilizados devido às suas propriedades adaptadas, que atendem às necessidades específicas, e são obtidos por meio de modificações físicas, químicas ou enzimáticas, oferecendo vantagens significativas em comparação com o amido nativo (Ribeiro *et al.* 2021). Como essas partículas são geralmente hidrofílicas, sendo necessárias modificações estruturais para torná-las mais hidrofóbicas, e com molhabilidade adequada pelas fases aquosa e oleosa. A modificação mais amplamente utilizada é a esterificação do amido com anidrido octenil succínico (OSA), que consiste na substituição parcial dos grupos hidroxila por substituintes hidrofóbicos, conferindo natureza anfifílica. Outras modificações utilizadas para aumentar a hidrofobicidade dos grânulos de amido, como a modificação com anidrido acético e anidrido ftálico, que podem não ser atraentes para os consumidores devido ao crescente mercado de ingredientes de rótulo limpo (Zhu, 2019).

Muitos estudos demonstram que os complexos polissacarídeo-polissacarídeo têm ganhado destaque nos últimos anos, especialmente no desenvolvimento de microcápsulas, géis, fibras e filmes. Esses complexos são formados principalmente por interações eletrostáticas entre polissacarídeos com cargas opostas. A quitosana é o único polissacarídeo catiônico natural encontrado em abundância na natureza. Por outro lado, polissacarídeos catiônicos semissintéticos podem ser obtidos por modificação química de polissacarídeos naturais, como a goma guar catiônica ou a hidroximetilcelulose. Em contraste, diversos polissacarídeos aniônicos naturais, como goma xantana, pectina, alginato, goma arábica, carragena, ácido hialurônico, sulfato de condroitina e polissacarídeos de soja, são amplamente disponíveis. Além disso, polissacarídeos aniônicos semissintéticos, como a CMC ou o octilsuccinato-amido, também podem ser produzidos (Cui *et al.* 2021; Ribeiro *et al.* 2021; Zhu, 2019). As partículas baseadas em complexos de polissacarídeos oferecem vantagens em relação às partículas de polissacarídeos simples na formação de emulsões devido a alterações na molhabilidade (Cui *et al.* 2021). O estudo de Sharkawy, Barreiro e Rodrigues (2019), avaliou o AC com a interface O/A utilizando quitosana e quitosana:goma arábica (1:1). Constatou-se um aumento do ângulo

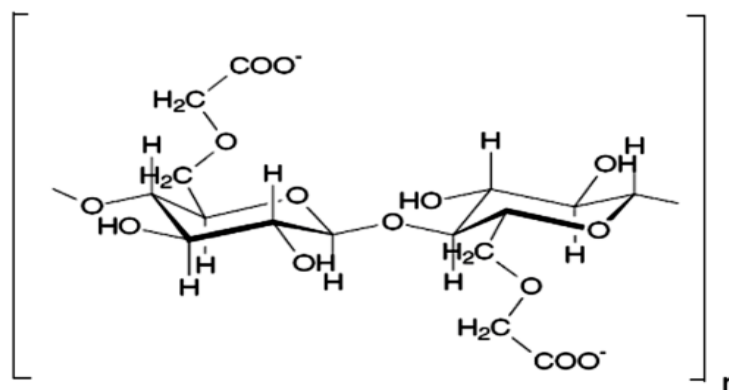
de 42,5° para 89,2°, respectivamente. Em outro estudo, o AC com a interface O/A, utilizando amido modificado (OSA) e amido modificado-quitosana (2,5:1) aumentou de 36,8° para 74,2°, respectivamente. Esses resultados demonstram que a molhabilidade das partículas pode ser ajustada para otimizar a adsorção por meio da proporção de polissacarídeos (Yan *et al.* 2020).

As características de carga superficial e a morfologia das partículas em complexos polissacarídeo-polissacarídeo são importantes para a formação e estabilização de emulsões (Ribeiro *et al.* 2021). Complexos com cargas adequadas geram uma forte repulsão eletrostática entre as gotículas de óleo. Por exemplo, nanopartículas de quitosana e goma arábica apresentaram um potencial zeta (ζ) superior a +30 mV em pH entre 3 e 5, indicando a predominância da carga positiva da quitosana e excelente estabilidade (Tan *et al.* 2016). Além disso, a morfologia das partículas desempenha um papel importante. A nanocelulose cristalina fosforilada, por exemplo, exibe uma forma alongada, mas, quando combinada com quitosana modificada, assume uma morfologia esférica, o que pode melhorar tanto a adsorção quanto a estabilidade da emulsão (Baek *et al.* 2019; Yan *et al.* 2020).

2.3.1.1 Carboximetilcelulose

A CMC é um derivado da celulose amplamente utilizado na indústria alimentícia devido às suas propriedades funcionais únicas, como solubilidade em água, capacidade de formar soluções viscosas e estabilidade em uma ampla faixa de pH e de temperatura. Sua estrutura química (Figura 7), na qual os grupos hidroxila (-OH) da celulose são substituídos por grupos carboximetil (-CH₂-COOH), aumenta a interação com moléculas de água e outras substâncias. Essas interações de hidrogênio intra e intercadeias contribuem para uma maior flexibilidade estrutural e melhoram sua solubilidade em água (Akhlaq *et al.* 2023).

Figura 7 – Estrutura química da CMC.



Fonte: Beghetto *et al.* (2016).

Na área de alimentos, a CMC é empregada como espessante, estabilizante, agente de suspensão e modificador de textura. Em produtos líquidos, como bebidas lácteas ou sucos, A CMC atua prevenindo a sedimentação de partículas sólidas, garantindo uniformidade e estabilidade (Rahman *et al.* 2021). Em molhos e sopas, melhora a viscosidade, e a textura e evita a separação de fases. Em produtos congelados, como sorvetes, minimiza a formação de cristais de gelo, preservando uma textura cremosa durante o armazenamento (Chumlert *et al.* 2024). Já em confeitos, como gomas e balas, auxilia na formação de gel e no controle de consistência. Sua estrutura é adequada e ideal para produtos dietéticos e funcionais, devido à sua baixa caloria e ao papel de fibra solúvel, contribuindo para a saúde intestinal (Keller, 2020).

A eficácia da CMC em alimentos depende de seu grau de pureza e do grau de substituição (DS), que influencia sua solubilidade, viscosidade e interação com outros ingredientes. Para aplicações industriais, o DS geralmente varia entre 0,4 e 0,9 (Saberri Riseh *et al.* 2023).

Recentemente, a CMC tem sido investigada para novas aplicações, como estabilizante de emulsões *Pickering*, devido à sua versatilidade química. Essas características tornam a CMC uma escolha ideal para iniciativas voltadas à redução do impacto ambiental da indústria alimentícia, aprimorando a funcionalidade dos produtos, dando ênfase no desenvolvimento de novos alimentos mais sustentáveis (Akhlaq *et al.* 2023).

A CMC atua como estabilizante eficaz em emulsões O/A, ao aumentar a viscosidade da fase contínua (aquosa), reduzindo a coalescência das gotículas de óleo. Os grupos carboxila da molécula contribuem com carga negativa ao sistema coloidal, promovendo maior repulsão

eletrostática e evitando floculação, especialmente em pH ácidos, em que, proteínas isoladas seriam insuficientes como estabilizantes (Keller, 2020).

Mensah *et al.* (2024) investigou a utilização de CMC e quitosana para estabilizar emulsões do tipo O/A, encapsulando piperina. Resultados mostraram que as partículas formaram uma camada interfacial resistente, conferindo alta estabilidade às emulsões frente a variações de pH, temperatura e força iônica.

No estudo de Wang, Ji e Xia (2024), foi elaborado um complexo entre proteína de amendoim e quatro tipos de CMC comerciais (concentração de CMC fixa em 1% (m/v)) para aplicação em emulsões *Pickering* do tipo O/A encapsulando curcumina. O AC da proteína de amendoim foi de 84,0°, enquanto o complexo proteína de amendoim e CMC apresentou valores variando entre 91,5° e 113,7°. Resultados indicaram que a CMC com grau de substituição (DS) de 0.9 e peso molecular de 250 kDa, proporcionou um AC mais próximo de 90°, sugerindo excelente molhabilidade bifásica e capacidade emulsificante.

2.3.2 Partículas estabilizadoras à base de proteínas

As proteínas possuem propriedades interfaciais e emulsificantes devido à presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos em sua estrutura. Essas características permitem que retenham água, formem espumas e géis, liguem-se à gordura, e estabilizem emulsões através de sua adsorção na interface óleo-água, processo que impede a agregação das gotículas e a coalescência, devido à repulsão eletrostática e/ou forças repulsivas estéricas (Ribeiro *et al.* 2021; Tang, 2019). Em comparação com emulsificantes de baixa massa molar, como monoglicerídeos e polissorbatos, as proteínas são reconhecidas como seguras para o consumo (GRAS) e podem ser usadas sem limitações (Deng *et al.* 2022).

As nanopartículas de proteína são compostas por partículas esféricas formadas por moléculas de proteínas entrelaçadas fisicamente ou quimicamente (Joye; McClements, 2014). Estas partículas são utilizadas na estabilização de emulsões *Pickering*, e sua eficácia depende de fatores como o tamanho, concentração e características interfaciais. A elaboração dessas nanopartículas pode ser feita a partir de proteínas de origem animal, vegetal ou microbiana (Ribeiro *et al.* 2021). No entanto, o uso de proteínas vegetais tem ganhado destaque devido aos benefícios de saúde, às tendências alimentares e à sustentabilidade ambiental (Dai *et al.* 2018).

O desempenho das proteínas como emulsificantes depende de sua estrutura e de sua capacidade de interagir com outros ingredientes alimentícios. A eficácia na estabilização de interface varia de acordo com o tipo de proteína, fatores intrínsecos à molécula, condições

ambientais (pH, temperatura, força iônica) e com os diferentes métodos são aplicados para realizar modificações, conferindo características importantes (Tabela 1). Existe uma forte demanda na indústria de alimentos por estabilizadores de emulsões *Pickering* à base de proteínas vegetais que sejam mais econômicos e com menor potencial alergênico, em comparação com as proteínas animais, como as do leite, e outras vegetais, como as de soja (Lima *et al.* 2023; Meng *et al.* 2023b).

Tabela 1 – Métodos de modificação de proteína e suas características.

Modificação física	Características modificadas	Referências
Tratamento de alta pressão	Alterações estruturais, estabilidade de formação de espuma	Chao; Jung; Aluko (2018)
Tratamento térmico com cisalhamento	Melhoria da textura da proteína	Akharume; Aluko; Adedeji (2021)
Tratamento de plasma de pressão atmosférica fria	Melhorias na solubilidade, capacidade de emulsificação e retenção de água	Zhang <i>et al.</i> (2021)
Tratamento ultrassônico	Melhoria das propriedades de gelificação e aumento de solubilidade	Xiong <i>et al.</i> (2018)
Modificação Químicas		
Glicação (Maillard)	Auxilia na redução do sabor residual de proteína (ex: feijão)	Nasrabadi; Goli; Nasirpour (2015)
Acilação	Ajuda a melhorar a solubilidade, estabilidade da emulsão, capacidade de retenção de água e propriedades de formação de espuma	Fang <i>et al.</i> (2020)
Desamidação	Melhoria da solubilidade, e redução sabor desagradável residual, amargor e grumos	Nasrabadi; Doost; Mezzenga (2021)
Succinilação	Alteração de cargas e solubilidade de proteínas	Basak; Singhal, 2022
Modificação Biológica		
Fermentação	Melhoria da digestibilidade da proteína	Ge <i>et al.</i> (2020)
Enzimática	Melhoria da solubilidade da proteína, hidrofobicidade, propriedades emulsificantes e de formação de espuma	Ahmadifard <i>et al.</i> (2016)

Fonte: Adaptado de Shanthakumar *et al.* (2022).

Entre as proteínas vegetais, as prolaminas, como zeína, kafirina e gliadina, destacam-se por suas características anfífilas e alta hidrofobicidade superficial, tornando-as excelentes estabilizadoras de emulsões (Hu *et al.* 2016). Essas proteínas são insolúveis em água e óleo, mas solúveis em soluções alcoólicas aquosas, o que permite sua reorganização em nanopartículas esféricas. Métodos como precipitação antissolvente e evaporação de solventes são utilizados para induzir a formação dessas nanopartículas, que permanecem intactas durante o ciclo de vida das emulsões (Dai *et al.* 2018; Folter *et al.* 2012).

Contudo, algumas nanopartículas altamente hidrofóbicas, como a sílica podem formar aglomerados insolúveis, o que reduz sua eficácia como estabilizadoras de emulsões (Binks; Isa; Yyowua, 2013; Wang *et al.* 2015). Para melhorar a estabilidade dessas nanopartículas, têm sido exploradas combinações com moléculas mais hidrofílicas, como polissacarídeos, proteínas hidrofílicas ou polifenóis. Essas modificações aumentam a dispersibilidade das nanopartículas em água e otimizam sua adsorção na interface óleo-água, evitando a autoagregação (Feng; Lee, 2016).

Adicionalmente, a modificação do pH e da força iônica também tem mostrado ser uma estratégia eficaz para melhorar a funcionalidade das nanopartículas (Dai *et al.* 2018). Por exemplo, nanopartículas de zeína modificadas com ácido tânico resultaram em emulsões com boa dispersão em água e estabilidade a longo prazo (Zou *et al.* 2015).

O estudo de Comunian *et al.* (2020) investigou a encapsulação do óleo de pequi e a co-encapsulação dos óleos de pequi e buriti, ambos ricos em carotenoides, em emulsões O/A, utilizando isolado proteico de soro de leite (WPI) como surfactante em sua forma natural e aquecida. As emulsões foram submetidas a diferentes condições de estresse para análise de estabilidade e, em seguida, liofilizadas criando um pó que fosse mais adequado para aplicações na indústria alimentícia. Os resultados indicaram que as emulsões contendo WPI com tratamento térmico apresentaram menor índice de instabilidade e melhor retenção de carotenoides ao longo do armazenamento de 30 dias a 37°C, com valores de retenção de carotenoides de até 50%. Além disso, a co-encapsulação de óleos de pequi e buriti resultou em uma maior estabilidade oxidativa em comparação com os óleos livres.

2.3.2.1 Proteína de ervilha

A PE (*Pisum sativum*) tem ganhado destaque como alternativa vegetal à soja, devido às suas qualidades funcionais, ao alto valor nutricional e baixo custo. É composta principalmente por globulinas, como a vicilina e a legumina, que representam a maior parte das proteínas

presentes na ervilha. A vicilina é uma proteína globular com massa molecular de 40 a 70 kDa e rica em aminoácidos como glutamina e ácido aspártico, enquanto a legumina, possui massa molar entre 300 a 400 kDa (Cabrilo *et al.* 2010). A solubilidade e as propriedades funcionais da PE, como a capacidade de formar géis e emulsões, são influenciadas por condições de pH e pelos métodos de extração, sendo valiosas em aplicações alimentícias, especialmente em produtos alternativos à carne e *plant-based* (Yi *et al.* 2021).

A PE tem despertado interesse como estabilizante em emulsões *Pickering*, devido às suas propriedades funcionais, que permitem a formação de emulsões cineticamente estáveis do tipo O/A. Essa estabilidade é alcançada pela capacidade da proteína de adsorver-se às interfaces óleo-água, possuindo melhor afinidade pela fase aquosa devido às suas regiões hidrofílicas, formando filmes protetores ao redor das gotículas de óleo e conferindo maior estabilidade às emulsões (Shanthakumar *et al.* 2022). Os estudos indicam que emulsões estabilizadas por proteínas isoladas de ervilha tratadas termicamente exibem maior estabilidade em relação à cremosidade quando comparadas com emulsões formadas por proteínas isoladas de ervilha não modificadas (Shen; Hong; Li, 2022). Quando submetida a modificações térmicas ou ultrassônicas, a PE pode apresentar propriedades interfaciais e emulsificantes aprimoradas, essenciais para a estabilização de emulsões *Pickering*. O tratamento térmico em altas temperaturas causa o desdobramento das estruturas proteicas, alterando as interações hidrofóbicas e eletrostáticas e as ligações de dissulfeto. Já o tratamento ultrassônico modifica a conformação da proteína por meio da quebra de ligações não covalentes, melhorando a solubilidade da proteína isolada de ervilha e sua capacidade de adsorção na interface óleo-água (Khan *et al.* 2023; Silva; Chandrapalapa, 2023).

A estabilidade física e solubilidade da PE são altamente dependentes do pH. Dispersões de PE são preparadas em condições acima do seu ponto isoelétrico (4,6), utilizando sistemas tamponantes, uma vez que a solubilidade é reduzida quando o pH se aproxima do seu ponto isoelétrico. Em pH acima do ponto isoelétrico, a maior carga superficial da proteína reduz a agregação, favorecendo a formação de dispersões mais estáveis e a adsorção controlada da proteína na interface óleo/água, com formação de camadas interfaciais mais eficientes (Liang; Tang, 2014).

Existe uma crescente demanda pelo uso da PE em aplicações alimentícias. No entanto, a utilização da PE como ingrediente em produtos como bebidas lácteas acidificadas (pH variando entre 4-4,5) representa um grande desafio tecnológico para a indústria de alimentos (Yi *et al.* 2021).

2.3.3 Partículas estabilizadoras à base de complexo proteína-polissacarídeo

Partículas à base de complexos proteína-polissacarídeo combinadas têm sido atualmente aplicadas como sistemas de encapsulamento e entrega, agentes texturizantes, substitutos de gordura e estruturas formadoras de fibras ou filmes (Deng *et al.* 2022). A adição de polissacarídeos aniônicos em emulsões estabilizadas por proteínas pode influenciar significativamente a sua estabilidade. Dependendo do tipo de polissacarídeo utilizado, este pode se ligar às proteínas na interface óleo-água, alterando totalmente a reologia do sistema (Albano; Cavallieri; Nicoletti, 2019). Por exemplo, a incorporação de goma arábica em uma emulsão estabilizada por proteínas do ovo pode modificar seu comportamento reológico, de fluido newtoniano para um de plástico de Bingham. Em contraste, o uso de outros polissacarídeos, como goma de alfarroba, goma guar, CMC e goma xantana, resulta em comportamento pseudoplástico (Lam; Nickerson, 2013).

O nível de interação entre proteínas e polissacarídeos depende de diversos fatores, incluindo as características do biopolímero (massa molecular, conformação, proporção da mistura, tipo de biopolímero e distribuição de sítios reativos), as condições do solvente (pH, concentração salina e temperatura), a concentração total do biopolímero e o método de formação da emulsão. A utilização de métodos combinados para a produção da emulsão *Pickering* como aquecimento, agitação mecânica e homogeneização em alta pressão pode influenciar a composição, a estrutura e o comportamento dinâmico dos biopolímeros na interface. (Guo *et al.* 2016; Lam; Nickerson, 2013; Ribeiro *et al.* 2021). A preparação de complexos entre proteínas e polissacarídeos pode ser realizada por métodos físicos, químicos e enzimáticos, dependendo das características específicas dos biopolímeros e das propriedades desejadas do complexo (Baek *et al.* 2019). A reação de *Maillard* é um método químico amplamente utilizado, no qual grupos aminos das proteínas reagem com grupos carbonila de açúcares redutores. Esse processo é realizado após a secagem das partículas de biopolímeros, como pulverização ou liofilização, seguida de aquecimento seco para promover a reação. Esse método é eficaz na formação de complexos estáveis, melhorando a estabilidade e a funcionalidade das emulsões (Chen *et al.* 2018; Murata, 2021).

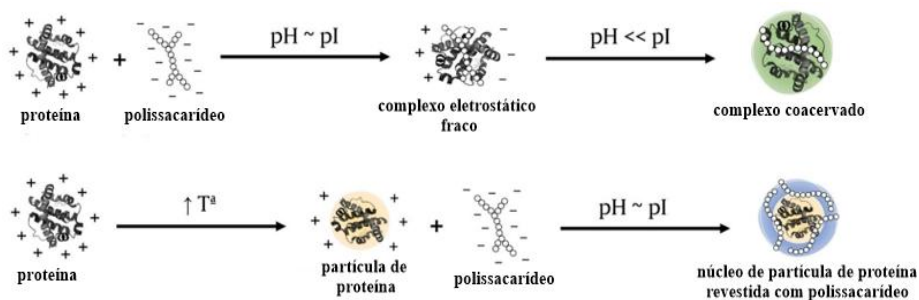
Na abordagem enzimática, utiliza-se a enzima lacase, que catalisa a oxidação de fenóis e de outros substratos, facilitando a formação de ligações covalentes entre proteínas e polissacarídeos. A utilização de lacase para reticular proteínas e polissacarídeos é considerada uma alternativa ecológica e econômica, demonstrando grande potencial para melhorar a

estabilidade de partículas, como as de gelatina-pectina e aumentar a funcionalidade de sistemas coloidais (Zeeb; McClements, 2017).

Os métodos físicos baseiam-se na secagem e na homogeneização, e são utilizados para preparar partículas de biopolímeros, que podem ser posteriormente reticuladas pelos processos químicos ou enzimáticos. Esses complexos podem ser aplicados na estabilização de emulsões e na melhoria da liberação controlada de compostos bioativos encapsulado (Chen *et al.* 2018).

Um mecanismo alternativo para a formação de complexos entre polissacarídeos e proteínas envolve o aquecimento controlado de proteínas isoladas ou de misturas de proteínas e polissacarídeos. Esse processo ocorre porque as proteínas globulares, em complexos proteína-polissacarídeo, tendem a desnaturar-se e a se agregarem por um mecanismo semelhante ao das proteínas globulares isoladas em temperaturas mais altas. Para este procedimento, é necessário ajustar o pH para revestir as partículas de proteína com polissacarídeos (Figura 8). Assim, partículas de biopolímeros formam-se quando a proteína é aquecida acima de sua temperatura de desnaturação térmica e interage eletrostaticamente com um polissacarídeo em pH próximo ao ponto isoelétrico da proteína (Guo *et al.* 2016; Ribeiro *et al.* 2021).

Figura 8 – Representação esquemática das interações proteína-polissacarídeo por coacervação complexa e revestimento.



Fonte: Adaptado de Ribeiro *et al.* (2021).

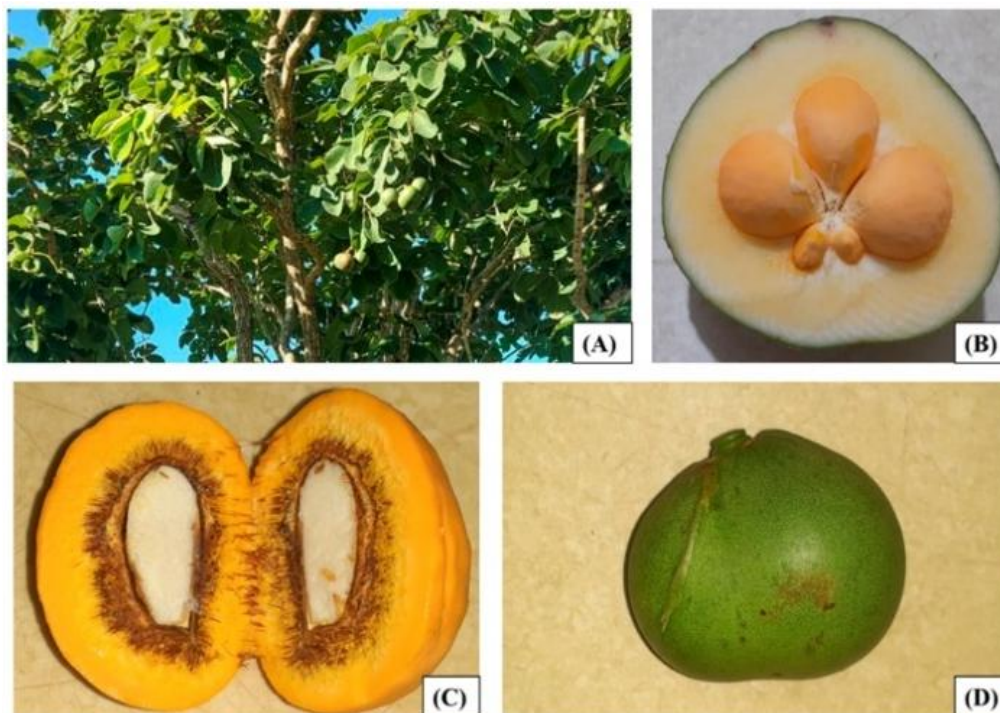
O estudo de Yi *et al.* (2021) revelou que a complexação da PE com pectina de alto teor de metoxilação (HMP) melhorou significativamente as propriedades funcionais da proteína. A formação de complexos PE-HMP resultou em maior hidrofobicidade e estabilidade da PE diante de estresses ambientais, características não observadas quando a PE foi utilizada isoladamente. A complexação também aumentou a atividade emulsificante e a estabilidade das emulsões encapsulando β -caroteno, tornando esses complexos mais eficazes como estabilizadores em emulsões de alta fase interna (HIPPEs) em comparação à PE isolada.

Qi, Ibrahim e Hasim (2019) investigaram a interação entre o isolado de PE, CMC e pectina em emulsões do tipo O/A, com foco nas suas propriedades físicas e químicas e atividade antioxidante. Foi utilizado um planejamento de mistura, para avaliar como diferentes proporções dos polímeros influenciam as características das emulsões. A emulsão com a combinação de PE e CMC apresentou menor diâmetro médio de gotículas (10,56 μm) e combinada com pectina, a melhor atividade antioxidante pelo ensaio do radical cátion DPPH na proporção (1/3 PE, 1/3 CMC e 1/3 pectina).

2.4 Óleo de pequi

O pequi (*Caryocar brasiliense*), uma árvore nativa do cerrado brasileiro, é um fruto de grande importância nutricional e cultural, representando um papel fundamental na biodiversidade e na economia das regiões onde é cultivado. O pequi, pertence à família *Caryocaraceae*, sendo uma espécie arbórea (Figura 9) que pode atingir alturas superiores a 10 metros e está adaptada às condições específicas do cerrado, um bioma caracterizado por seu clima sazonalmente seco e solo pobre em nutrientes (Comunian *et al.* 2020; Gomes *et al.* 2025). Apesar de seu valor nutricional e econômico, para as famílias que trabalham com o fruto, o cultivo, a coleta e o processamento nas áreas de Cerrado ainda são pouco explorados, dificultando a agregação de valor à cadeia produtiva do pequi. O óleo da polpa de pequi é uma fonte rica em carotenoides, compostos fenólicos e ácidos graxos insaturados, o que o torna uma fonte potencial de corantes naturais e outras substâncias bioativas, com uso principal na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (Miranda-Vilela *et al.* 2014). Contudo, um dos principais desafios dessa cadeia produtiva do pequi é a logística de transporte e a conservação dos frutos e derivados, essencial para manter seu valor nutricional e econômico (Alves *et al.* 2017).

Figura 9 – Aspecto visual do fruto de pequi e de seus componentes internos. (A) pequizeiro; (B) Fruto cortado com exocarpo (casca) mesocarpo externo espesso e cinco pirênios; (C) Corte longitudinal de um pireno de pequi mostrando o mesocarpo interno (polpa amarela) e a amêndoa; (D) Fruto globoso.



Fonte: Vieira *et al.* (2024).

De acordo com Miranda-Vilela *et al.* (2014), o óleo de pequi pode ser obtido a partir do mesocarpo (polpa) ou das amêndoas, e os teores de óleo presente na polpa e nas amêndoas são aproximadamente 33,4% e 51,5% em base seca, respectivamente. O óleo da polpa de pequi apresenta cor alaranjada, aroma suave e o sabor característico, sua alta qualidade nutricional deve-se ao elevado teor de carotenoides, vitamina C, compostos fenólicos e ácidos graxos insaturados, principalmente os ácidos oleico e palmítico. Além de seu uso tradicional na culinária e na medicina (Alves *et al.* 2017) estudos sugerem que a ingestão regular de óleo de pequi oferece benefícios à saúde, como proteção contra danos oxidativo e efeitos anti-inflamatórios (Comunian *et al.* 2020).

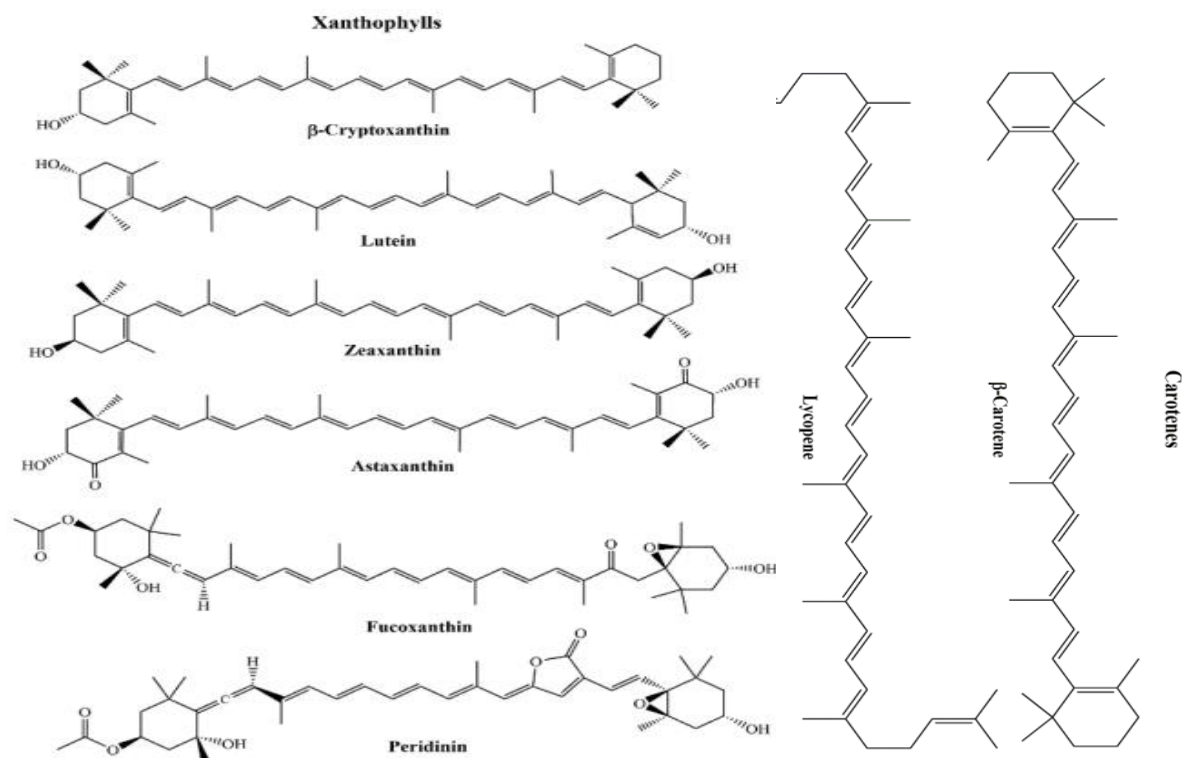
2.5 Carotenoides

Os carotenoides são compostos naturais presentes em vegetais, algas e microrganismos, desempenhando papéis fisiológicos nas plantas e benefícios à saúde humana. São pigmentos naturais que conferem cor aos vegetais e atuam como antioxidantes, capturando radicais livres

como o oxigênio singlete e os radicais peroxila, e possuem natureza lipofílica, o que lhes permite atuar como antioxidantes nas lipoproteínas LDL e HDL (Boon *et al.* 2010).

Os carotenoides são divididos em dois grupos principais com base em suas estruturas: carotenos, que são hidrocarbonetos puros, como licopeno, α -caroteno e β -caroteno e xantófilas, carotenoides oxigenados, como astaxantina, luteína, neoxantina, violaxantina e zeaxantina (Figura 10) (Genç *et al.* 2020).

Figura 10 – Estrutura química dos carotenos e das xantófilas.



Fonte: Adaptado de Genç *et al.* (2020).

Por muitos anos, a indústria de alimentos tem utilizado corantes artificiais para intensificar a cor de produtos processados, visando melhorar a aparência. No entanto, a ingestão dessas substâncias tem sido associada a potenciais efeitos adversos à saúde, o que, tem impulsionado o mercado consumidor a preferir produtos com corantes naturais, que apesar de serem mais caros, são considerados mais seguros e muitas vezes possuem propriedades funcionais (Comunian *et al.* 2020). Exemplos desses corantes incluem betalaínas, antocianinas e carotenoides, que podem proteger o DNA e atuar como agentes hipoglicemiantes e antioxidantes. O extrato de urucum, curcumina, carmim de cochonilha, antocianinas e

betalaínas são amplamente utilizados na indústria alimentícia. No grupo dos carotenoides, os mais usados para colorir alimentos são astaxantina, cantaxantina, β -caroteno, licopeno, bixina e norbixina (Codevilla *et al.* 2015; Nabi *et al.* 2023).

No pequi, os principais carotenoides incluem violaxantina, luteína e zeaxantina, embora sua eficácia como pró-vitamina A varie (Azevedo-Meleiro e Rodriguez-Amaya, 2004). No entanto, a eficácia dos carotenoides do pequi em termos de atividade pró-vitamina A tem sido objeto de debate na literatura científica.

Apesar dos seus benefícios, os carotenoides são suscetíveis à degradação por luz, oxigênio, calor e pH, o que desencadeia reações oxidativas que resultam na perda da cor e da atividade antioxidante, comprometendo sua funcionalidade. A presença de duplas ligações conjugadas na estrutura química, os torna vulneráveis à oxidação. (Boon *et al.* 2010).

A luz é um dos principais agentes que contribuem para a degradação dos carotenoides. Quando expostos à luz, podem sofrer isomerização, alterando sua estrutura molecular, ou fotoxidação, que resulta na quebra das moléculas. A concentração de β -caroteno, por exemplo, pode ser reduzida em 50% em uma amostra exposta à luz por apenas 30 minutos (Alves *et al.* 2017). O oxigênio leva à formação de epóxidos e peróxidos, que são menos eficazes como antioxidantes (Boon *et al.* 2010).

O aquecimento pode levar à degradação térmica dos carotenoides, resultando na formação de produtos de degradação, e na quebra das duplas ligações conjugadas, o que diminui a eficácia dos carotenoides como antioxidantes e sua capacidade de conferir cor vibrante aos alimentos (Wang *et al.* 2024).

Em ambientes altamente ácidos ou alcalinos, os carotenoides podem sofrer degradação química, resultando na perda de suas propriedades benéficas. O controle do pH é, portanto, uma consideração importante ao formular produtos que contenham carotenoides (Wijesekara; Xu, 2024).

O uso de métodos como *spray-drying*, coacervação complexa e emulsões, protege os compostos bioativos de fatores ambientais adversos, aumentando sua estabilidade (Alexandre *et al.* 2019; Comunian *et al.* 2020). Em especial, as emulsões têm demonstrado eficiência na preservação de carotenoides e ácidos graxos, oferecendo maior resistência à oxidação e estabilidade em produtos alimentícios (Gomez-Estaca *et al.* 2018).

A encapsulação do óleo de pequi utilizando métodos como *spray-drying*, coacervação complexa, gelificação iônica, nanotecnologia, emulsões e outros, protege seus compostos bioativos de fatores ambientais adversos, aumentando sua estabilidade (Alves *et al.* 2017; Comunian *et al.* 2020). Tais métodos envolvem a criação de uma matriz protetora ao redor do

composto bioativo, isolando-o do ambiente externo e reduzindo sua exposição ao oxigênio, à luz e ao calor, o que contribui para a estabilidade (Comunian *et al.* 2020).

Desta forma, a utilização de emulsões *Pickering* para encapsulação do óleo de pequi tem demonstrado ser uma ótima técnica para preservar a integridade dos carotenoides e dos ácidos graxos do óleo. Estudos indicam que a estabilização com partículas sólidas aumenta a resistência do óleo de pequi a condições ambientais adversas e reduz o índice de oxidação (Comunian *et al.* 2020), sendo particularmente vantajoso em produtos alimentícios, em que se busca maior estabilidade de ingredientes bioativos e o uso de alternativas naturais aos surfactantes convencionais (Gomez-Estaca *et al.* 2018).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Apesar do avanço no desenvolvimento de emulsões estabilizadas por biopolímeros, a literatura ainda apresenta estudos limitados e pouco aprofundados sobre a estabilidade físico-química e oxidativa de emulsões contendo óleo de pequi, especialmente no que se refere à influência do pH, às interações proteína–polissacarídeo e ao comportamento desses sistemas ao longo do armazenamento. Essa lacuna evidencia a necessidade de investigações que elucidem os mecanismos de estabilização e de proteção oxidativa desse óleo em matrizes emulsificadas. Dessa forma, o desenvolvimento de emulsões estabilizadas por PE e CMC configura-se como uma abordagem promissora para a encapsulação e proteção do óleo de pequi, contribuindo tanto para a valorização de um recurso nativo brasileiro quanto para o avanço científico em uma área ainda incipiente. Ademais, essa estratégia atende à crescente demanda por produtos de rótulo limpo (*clean label*), permitindo a substituição de aditivos sintéticos por soluções naturais, sustentáveis e tecnologicamente eficientes na indústria de alimentos.

REFÊRENCIAS

- AHMADIFARD, Nasrollah *et al.* Comparison the effect of three commercial enzymes for enzymatic hydrolysis of two substrates (rice bran protein concentrate and soy-been protein) with SDS-PAGE. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 1279-1284, 2016.
- AKHARUME, Felix U.; ALUKO, Rotimi E.; ADEDEJI, Akinbode A. Modification of plant proteins for improved functionality: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 20, n. 1, p. 198-224, 2021.
- AKHLAQ, M. *et al.* Carboxymethyl cellulose-based materials as an alternative source for sustainable electrochemical devices: a review. **RSC advances**, v. 13, n. 9, p. 5723-5743, 2023.
- ALBANO, K.; CAVALLIERI, Â. L. F; NICOLETTI, V. R. Electrostatic interaction between proteins and polysaccharides: Physicochemical aspects and applications in emulsion stabilization. **Food Reviews International**, v. 35, n. 1, p. 54-89, 2019.
- ALBERT, C. *et al.* emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 309, p. 302-332, 2019.
- ALEXANDRE, Joana de Barros *et al.* Cross-linked coacervates of cashew gum and gelatin in the encapsulation of pequi oil. **Ciência Rural**, v. 49, n. 12, p. e20190079, 2019.
- ALMEIDA, R. L.J. *et al.* Starch modification and its application in Pickering emulsion stabilization: a review. **Journal of Food Measurement and Characterization**, p. 1-20, 2024.
- ALVES, A. I. *et al.* Morphological characterization of pequi extract microencapsulated through spray drying. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n.2, p. 1298-1305, 2017.
- ASL-GHANBARNEZHAD, G. *et al.* Enhancing stability and environmental sustainability: Microfluidic production of water-in-soybean oil emulsion for risograph printing ink. **Progress in Organic Coatings**, v. 194, p. 108, 2024.
- AZEVEDO-MELEIRO, C H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of food Composition and Analysis**, v. 17, n. 3-4, p. 385-396, 2004.
- BAEK, J.*et al.* Phosphorylated-CNC/modified-chitosan nanocomplexes for the stabilization of Pickering emulsions. **Carbohydrate polymers**, v. 206, p. 520-527, 2019.
- BASAK, Somnath; SINGHAL, Rekha S. Succinylation of food proteins-a concise review. **Lwt**, v. 154, p. 112866, 2022.
- BEGHETTO, V. *et al.* Innovative Technology for Sustainable New Materials. **European Journal of Sustainable Development**, v. 5, n. 4, p. 353-353, 2016.
- BERTON-CARABIN, C. C.; SCHROËN, K. emulsions for food applications: background, trends, and challenges. **Annual review of food science and technology**, v. 6, n. 1, p. 263-297, 2015.

BINKS, Bernard Paul; ISA, Lucio; TYOWUA, Andrew Terhemen. Direct measurement of contact angles of silica particles in relation to double inversion of *Pickering* emulsions. **Langmuir**, v. 29, n. 16, p. 4923-4927, 2013.

BOON, Caitlin S. *et al.* Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 50, n. 6, p. 515-532, 2010.

CABRILO, S. *et al.* Profile and Functional Properties of Seed Proteins from Six Pea (*Pisum sativum*) Genotypes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 12, p. 4973-4990, 2010.

CALABRESE, V. *et al.* emulsions stabilized by naturally derived or biodegradable particles. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 12, p. 83-90, 2018.

CASSANI, L. V.; GOMEZ ZAVAGLIA, A. emulsions in food and nutraceutical technology: from delivering hydrophobic compounds to cutting-edge food applications. **Explor Foods Foodmics**, v.2, p. 408-442, 2024.

CHAO, D.; JUNG, S.; ALUKO, R. Physicochemical and functional properties of high pressure-treated isolated pea protein. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 45, p. 179-185, 2018.

CHEN, H. *et al.* Covalent conjugation of bovine serum album and sugar beet pectin through Maillard reaction/laccase catalysis to improve the emulsifying properties. **Food Hydrocolloids**, v. 76, p. 173-183, 2018.

CHEN, Z. *et al.* Advanced flexible materials from nanocellulose. **Advanced Functional Materials**, v. 33, n. 18, p. 221-242, 2023.

CHUMLERT, K. *et al.* Production of instant mixed-vegetables soup using foam mat drying: impact of various additives on foam properties and physicochemical aspects. **Food Agricultural Sciences and Technology**, v. 10, n. 1, p. 90-110, 2024.

CODEVILLA, C. F. *et al.* Incorporação da curcumina em sistemas nanoestruturados: Revisão. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 5, p. 152-163, 2015.

COMUNIAN, T. A. *et al.* Reducing carotenoid loss during storage by co-encapsulation of pequi and buriti oils in oil-in-water emulsions followed by freeze-drying: Use of heated and unheated whey protein isolates as emulsifiers. **Food research international**, v. 130, p. 108901, 2020.

CUI, F. *et al.* Polysaccharide-based Pickering emulsions: Formation, stabilization and applications. **Food Hydrocolloids**, v. 119, p. 106, 2021.

DAI, H. *et al.* Myofibrillar protein microgels stabilized high internal phase Pickering emulsions with heat-promoted stability. **Food Hydrocolloids**, v. 138, p. 108, 2023.

DAI, H. *et al.* Recent advances on cellulose nanocrystals for Pickering emulsions: Development and challenge. **Trends in Food Science & Technology**, v. 102, p. 16-29, 2020.

DAI, L. *et al.* Formation and characterization of zein-propylene glycol alginate-surfactant ternary complexes: Effect of surfactant type. **Food chemistry**, v. 258, p. 321-330, 2018.

DE CARVALHO-GUIMARÃES, F. B. *et al.* A review of Pickering emulsions: perspectives and applications. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 11, p. 1413, 2022.

DENG, W. *et al.* emulsions stabilized by polysaccharides particles and their applications: a review. **Food Science and Technology**, v. 42, p. 247, 2022.

FANG, L. *et al.* Enhancing the usability of pea protein isolate in food applications through modifying its structural and sensory properties via deamidation by glutaminase. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 68, n. 6, p. 1691-1697, 2020.

FENG, T. *et al.* High internal phase Pickering emulsions stabilized by pea protein isolate-high methoxyl pectin-EGCG complex: Interfacial properties and microstructure. **Food chemistry**, v. 350, p. 129, 2021.

FENG, Y.; LEE, Y.. Surface modification of zein colloidal particles with sodium caseinate to stabilize oil-in-water Pickering emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 292-302, 2016.

FOLTER, J. *et al.* Oil-in-water Pickering emulsions stabilized by colloidal particles from the water-insoluble protein zein. **Soft Matter**, v. 8, n. 25, p. 6807-6815, 2012.

GAO, Y. *et al.* Low oil Pickering emulsion gels stabilized by bacterial cellulose nanofiber/soybean protein isolate: An excellent fat replacer for ice cream. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 247, p. 125, 2023.

GE, J. *et al.* The health benefits, functional properties, modifications, and applications of pea (*Pisum sativum L.*) protein: Current status, challenges, and perspectives. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 4, p. 1835-1876, 2020.

GENÇ, Y. *et al.* Oxidative stress and marine carotenoids: Application by using nanoformulations. **Marine drugs**, v. 18, n. 8, p. 423, 2020.

GENG, L.; LIU, K.; ZHANG, H. Lipid oxidation in foods and its implications on proteins. **Frontiers in Nutrition**, v. 10, p. 119, 2023.

GOMES, B. *et al.* Genetic Diversity of Pequi Fruits (*Caryocar brasiliense*) and Sustainable Utilization. **Genetic Diversity of Fruits and Nuts**. p. 240-250.

GOMEZ-ESTACA, J.; COMUNIAN, T. A.; MONTERO, P. Physico-chemical properties, stability, and potential food applications of shrimp lipid extract encapsulated by complex coacervation. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, p. 1596–1604, 2018.

GUO, J. *et al.* Preparation of soy protein-based microgel particles using a hydrogel homogenizing strategy and their interfacial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 58, p. 324-334, 2016.

GUO, Z. *et al.* 4D printing of Pickering emulsion: Temperature-driven color changes. **Journal of Food Engineering**, v. 386, p. 112, 2025.

HAN, D. *et al.* Effect of surfactant hydrophobic chain equivalence on the oil-water interface and emulsion stability: A dissipative particle dynamics and experimental study. **Journal of Molecular Liquids**, v. 382, p. 121, 2023.

- HE, X.; LU, Q. A review of high internal phase Pickering emulsions: Stabilization, rheology, and 3D printing application. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 103086, 2024.
- HU, Siqu et al. Development of tannic acid cross-linked hollow zein nanoparticles as potential oral delivery vehicles for curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 821-831, 2016.
- HUYST, A.M. R *et al.* Improved coalescence and creaming stability of structured oil-in-water emulsions and emulsion gels containing ovalbumin amyloid-like fibrils produced by heat and enzymatic treatments. **Food Hydrocolloids**, v. 145, p. 109, 2023.
- JAYASANKAR, Parvathi; KARTHYAYANIAMMA, Rajasree. Surfactants-surface active agents behind sustainable living. **Physical Sciences Reviews**, v. 9, n. 2, p. 555-565, 2024.
- JOYE, I. J.; MCCLEMENTS, D. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. **Current opinion in colloid & interface science**, v. 19, n. 5, p. 417-427, 2014.
- KALE, S. N.; DEORE, S. L. Emulsion micro emulsion and nano emulsion: a review. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 8, n. 1, p. 39, 2017.
- KARGAR, M. *et al.* Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. **Journal of colloid and interface science**, v. 366, n. 1, p. 209-215, 2012.
- KAUR, Jaswinder *et al.* Overview of Surfactants, Properties, Types, and Role in Chemistry. In: **Advances in Surfactant Biosensor and Sensor Technologies**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2024. p. 1-23.
- KELLER, J. D. Sodium carboxymethylcellulose (CMC). **Food hydrocolloids**, v. 32, p. 43-109, 2020.
- KHAN, Z. S. *et al.* Seabuckthorn seed protein concentrate: a novel seed protein; emulsifying properties as affected by ultrasonication and enzymatic hydrolysis. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 58, n. 3, p. 1621-1630, 2023.
- KIM, J. *et al.* Impact of hydrophilic substances on Ostwald ripening in emulsions stabilized by varied hydrophilic group surfactants. **Science of Food**, v. 8, n. 1, p. 76, 2024.
- LAM, R.S.H.; NICKERSON, M.T. Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure-function approach. **Foods Chemistry**, v.141, n.2, p.975-984, 2013.
- LAMANNA, L. *et al.* Oil–Water Emulsion Flocculation through Chitosan Desolubilization Driven by pH Variation. **ACS omega**, v. 8, n. 23, p. 20708-20713, 2023.
- LANGEVIN, D. Recent advances on emulsion and foam stability. **Langmuir**, v. 39, n. 11, p. 3821-3828, 2023.
- LI, D.; JIANG, Y.; SHI, J. Novel *Pickering* emulsion stabilized by glycosylated whey protein isolate: Characterization, stability, and curcumin bioaccessibility. **Food Chemistry: X**, v. 21, p. 101-112, 2024.

- LI, M.F. *et al.* The formation and characterization of antioxidant *Pickering* emulsions: Effect of the interactions between gliadin and chitosan. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 482-489, 2019.
- LI, Y. *et al.* Protein-stabilized *Pickering* emulsion interacting with inulin, xanthan gum and chitosan: Rheological behavior and 3D printing. **Carbohydrate Polymers**, v. 326, p. 121, 2024.
- LIANG, H.N; TANG, C. Pea protein exhibits a novel Pickering stabilization for oil-in-water emulsions at pH 3.0. **LWT-Food Science and Technology**, v. 58, n. 2, p. 463-469, 2014.
- LIANG, Wei *et al.* Interfacial behavior and micro-rheological performance of *Pickering* emulsions co-stabilized by β -cyclodextrin and xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, v. 149, p. 109, 2024.
- LIMA, R.R *et al.* Plant-based proteins: a review of factors modifying the protein structure and affecting emulsifying properties. **Food Chemistry Advances**, p. 100397, 2023.
- LIU, L. *et al.* Cellulose: A promising and versatile Pickering emulsifier for healthy foods. **Food Reviews International**, v. 39, n. 9, p. 7081-7111, 2023.
- LIU, S. *et al.* Hydrophobic modification of regenerated cellulose microparticles with enhanced emulsifying capacity for O/W Pickering emulsion. **Cellulose**, v. 26, p. 6215-6228, 2019.
- LIU, Y. *et al.* Food emulsions stabilized by proteins and emulsifiers: A review of the mechanistic explorations. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 129, 2024.
- MCCLEMENTS, D. J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. **Soft matter**, v. 7, n. 6, p. 2297-2316, 2011.
- MENG, Q. *et al.* Smart antimicrobial Pickering emulsion stabilized by pH-responsive cellulose-based nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 233, p. 123, 2023a.
- MENG, W. *et al.* Chitosan-based Pickering emulsion: A comprehensive review on their stabilizers, bioavailability, applications and regulations. **Carbohydrate Polymers**, v. 304, p. 120, 2023b.
- MENSAH, E. O. *et al.* Effective emulsifiers based on submicron carboxymethyl cellulose/chitosan polymer particles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 236, p. 113827, 2024.
- MIRANDA-VILELA, A. *et al.* Oil rich in carotenoids instead of vitamins C and E as a better option to reduce doxorubicin-induced damage to normal cells of Ehrlich tumor-bearing mice: hematological, toxicological and histopathological evaluations. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 25, n. 11, p. 1161-1176, 2014.
- MUDRIC, J. *et al.* Double emulsions (W/O/W emulsions): Encapsulation of plant bioactives. **Lekovite sirovine**, n. 39, p. 76-83, 2019.

MURATA, M. Browning and pigmentation in food through the Maillard reaction. **Glycoconjugate Journal**, v. 38, p. 283-292, 2021.

NABI, B. G. *et al.* Natural pigments: Anthocyanins, carotenoids, chlorophylls, and betalains as colorants in food products. **Food Bioscience**, v. 52, p. 102, 2023.

NASRABADI, M.N; DOOST, A. S.; MEZZENGA, R. Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. **Food Hydrocolloids**, v. 118, p. 106789, 2021.

NASRABADI, M.N; GOLI, S. A. H.; NASIRPOUR, A. Evaluation of biopolymer-based emulsion for delivering conjugated linoleic acid (CLA) as a functional ingredient in beverages. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 36, n. 6, p. 778-788, 2015.

NIU, H *et al.* Multiscale combined techniques for evaluating emulsion stability: A critical review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 311, p. 102, 2023.

O'LENICK, T. Comparatively Speaking: O/W, W/O, Micro, and Suspo Emulsions. **Cosmetic & Toiletries**, [S.l.], 14/03/2021, Literature Data.

PLASSARD, L. *et al.* Comparison of Methods Used to Investigate Coalescence in Emulsions. **Langmuir**, v. 40, n. 21, p. 10847-10855, 2024.

QI, N. P.; IBRAHIM, N. H.; HASIM, A. S. Effect of Pea Protein Isolate, Carboxymethyl Cellulose, Pectin and Their Interaction on Physicochemical and Oxidative Stability of Oil-in-Water Emulsions. **Universiti Malaysia Terengganu Journal of Undergraduate Research**, v. 1, n. 2, p. 8-18, 2019.

QIAN, Xiaoli *et al.* Viscoelasticity of olive oil/water Pickering emulsions stabilized with starch nanocrystals. **Carbohydrate polymers**, v. 230, p. 115575, 2020.

RAHMAN, M.S *et al.* Recent developments of carboxymethyl cellulose. **Polymers**, v. 13, n. 8, p. 1345, 2021.

RAMOS, G. V.C *et al.* Impact of Emulsification Time and Concentration of Modified Starch Nanoparticles on Stability. **Chemical Engineering Transactions**, v. 102, p. 247-252, 2023.

RAWAL, K. *et al.* Engineering plant-based Pickering emulsions as highly stable dairy cream alternatives using a binary mixture of particle stabilisers. **Food Hydrocolloids**, v. 159, p. 110, 2025.

RIBEIRO, E. F. *et al.* Protein-and polysaccharide-based particles used for Pickering emulsion stabilisation. **Food Hydrocolloids**, v. 119, p. 106839, 2021.

SABERI RISEH, R. *et al.* Micro-/nano-carboxymethyl cellulose as a promising biopolymer with prospects in the agriculture sector: a review. **Polymers**, v. 15, n. 2, p. 440, 2023.

SAINI, S. M. *et al.* Brief overview of surfactants, properties, classification, passivation, and role in chemistry. **Surfactant Based Electrochemical Sensors and Biosensors**, p. 3-20, 2024.

SALEHI, Fakhreddin; INANLOODOGHOUS, Moein; KARAMI, Mostafa. Rheological properties of carboxymethyl cellulose (CMC) solution: Impact of high intensity ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 101, p. 106655, 2023.

SCHARNBERG, A. R. A. *et al.* Flocculation of emulsified oil-in-water with dodecylbenzene sulfonate and polyacrylamide and floc separation by dissolved air flotation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 669, p. 131, 2023.

SCHMITT, V.; DESTRIKATS, M.; BACKOV, R. Colloidal particles as liquid dispersion stabilizer: emulsions and materials thereof. **Comptes Rendus. Physique**, v. 15, n. 8-9, p. 761-774, 2014.

SEO, S. *et al.* Preparation and pharmacokinetic evaluation of curcumin solid dispersion using Solutol® HS15 as a carrier. **International journal of pharmaceutics**, v. 424, n. 1-2, p. 18-25, 2012.

SHANTHAKUMAR, P. *et al.* The current situation of pea protein and its application in the food industry. **Molecules**, v. 27, n. 16, p. 53-54, 2022.

SHARKAWY, A.; BARREIRO, M. F.; RODRIGUES, A. E. Preparation of chitosan/gum Arabic nanoparticles and their use as novel stabilizers in oil/water Pickering emulsions. **Carbohydrate Polymers**, v. 224, p. 115, 2019.

SHARMA, Tushar; KUMAR, G. Suresh; SANGWAI, Jitendra S. Comparative effectiveness of production performance of Pickering emulsion stabilized by nanoparticle–surfactant–polymer over surfactant–polymer (SP) flooding for enhanced oil recovery for Brownfield reservoir. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 129, p. 221-232, 2015.

SHEN, Y.; HONG, S.; LI, Y. Pea protein composition, functionality, modification, and food applications: A review. **Advances in food and nutrition research**, v. 101, p. 71-127, 2022.

SILVA, Jéssica Thaís *et al.* Whey protein isolate microgel properties tuned by crosslinking with organic acids to achieve stabilization of *Pickering* emulsions. **Foods**, v. 10, n. 6, p. 1296, 2021.

SILVA, M.; CHANDRAPALA, J.. Ultrasonic emulsification of milk proteins stabilized primary and double emulsions: a review. **Food Reviews International**, v. 39, n. 3, p. 1462-1484, 2023.

SINGH, C. K. S. *et al.* Effects of high-energy emulsification methods and environmental stresses on emulsion stability and retention of tocotrienols encapsulated in Pickering emulsions. **Journal of Food Engineering**, v. 327, p. 111, 2022.

TAN, C. *et al.* Polysaccharide-based nanoparticles by chitosan and gum arabic polyelectrolyte complexation as carriers for curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 236-245, 2016.

TANG, C.H. Nanostructured soy proteins: Fabrication and applications as delivery systems for bioactives (a review). **Food Hydrocolloids**, v. 91, p. 92-116, 2019.

TIANG, Shirley Soon Lee *et al.* Recent advances in ultrasonic cavitation technologies for emulsion preparation: a mini review. **Current Opinion in Chemical Engineering**, v. 45, p. 101, 2024.

TRACEY, C. T. *et al.* A 3D printing approach to intelligent food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 127, p. 87-98, 2022.

TYOWUA, A. T.; HARBOTTLE, D.; BINKS, B. P. 3D printing of *Pickering* emulsions, *Pickering* foams and capillary suspensions—A review of stabilization, rheology and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 103274, 2024.

VIEIRA, R. S. *et al.* Larvicidal Potential of Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess) in *Aedes Aegypti* (*Diptera: Culicidae*): An Ecological Alternative. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 12, n.3, p.160-167, 2024.

WANG, L.J *et al.* Fabrication and characterization of antioxidant Pickering emulsions stabilized by zein/chitosan complex particles (ZCPs). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 2514-2524, 2015.

WANG, W.; JI, S.; XIA, Q. Influence of carboxymethyl cellulose on the stability, rheology, and curcumin bioaccessibility of high internal phase *Pickering* emulsions. **Carbohydrate Polymers**, v. 334, p. 122041, 2024.

WANG, Y. *et al.* Carotenoid fates in plant foods: Chemical changes from farm to table and nutrition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 64, n. 5, p. 1237-1255, 2024.

WIJESEKARA, T.; XU, B. A critical review on the stability of natural food pigments and stabilization techniques. **Food Research International**, p. 114, 2024.

WILSON, R. J. *et al.* Nanoemulsions for drug delivery. **Particuology**, v. 64, p. 85-97, 2022.

WINUPRASITH, T.; SUPHANTHARIKA, M. Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by microfibrillated cellulose from mangosteen rind. **Food Hydrocolloids**, v.43, p. 690-699, 2015.

XIAO, J.; LI, Y.; HUANG, Q. Recent advances on food-grade particles stabilized Pickering emulsions: Fabrication, characterization and research trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 55, p. 48-60, 2016.

XIONG, Ting *et al.* Effect of high intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate. **Food Research International**, v. 109, p. 260-267, 2018.

XU, L. *et al.* Pea protein/carboxymethyl cellulose complexes prepared using a pH cycle strategy as stabilizers of high internal phase emulsions for 3D printing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 269, p. 131967, 2024.

XU, Y. *et al.* Interfacial mechanisms, environmental influences, and applications of polysaccharide-based emulsions: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 139, 2024.

YAN, X. *et al.* Protein-stabilized Pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 103, p. 293-303, 2020.

YI, J. *et al.* Development of pea protein and high methoxyl pectin colloidal particles stabilized high internal phase Pickering emulsions for β -carotene protection and delivery. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106, 2021.

YIN, Z.; WANG, M.; ZENG, M. Novel Pickering emulsion stabilized by natural fiber polysaccharide-protein extracted from *Haematococcus pluvialis* residues. **Food Hydrocolloids**, v. 134, p. 108, 2023.

YUE, Y. *et al.* Interactions between pea protein isolate and carboxymethylcellulose in neutral and acid aqueous systems. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1560, 2021.

ZEEB, B.; MCCLEMENTS, D. J.; WEISS, J. Enzyme-based strategies for structuring foods for improved functionality. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 8, n. 1, p. 21-34, 2017.

ZHAN, Y. *et al.* Gelatinization, rheological and retrogradation behaviors of waxy rice starch affected by gelatin emulsion and regulation mechanism. **Food Hydrocolloids**, v. 159, p. 110, 2025.

ZHANG, R. *et al.* Fabrication and characterization of fat crystal-stabilized W/O high internal phase Pickering emulsions (HIPPEs) as a low-fat alternative margarine. **LWT**, v. 196, p. 115, 2024.

ZHANG, S. *et al.* Improvement of pea protein gelation at reduced temperature by atmospheric cold plasma and the gelling mechanism study. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 67, p. 102567, 2021.

ZHU, F. Starch based Pickering emulsions: Fabrication, properties, and applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 85, p. 129-137, 2019.

ZOU, Y. *et al.* emulsion gels prepared by hydrogen-bonded zein/tannic acid complex colloidal particles. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 33, p. 7405-7414, 2015.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 - OTIMIZAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA DE ERVILHA E CARBOXIMETILCELULOSE EM EMULSÕES COM ÓLEO DE PEQUI

Mateus Vinícius Carvalho Simões

OTIMIZAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA DE ERVILHA E CARBOXIMETILCELULOSE EM EMULSÕES COM ÓLEO DE PEQUI

RESUMO

As emulsões à base de proteínas têm se destacado como alternativas promissoras aos sistemas convencionais estabilizados por surfactantes sintéticos, atendendo à crescente demanda da indústria alimentícia por rótulos limpos (*clean label*) e ingredientes naturais. Nesse contexto, proteínas e polissacarídeos de origem vegetal vêm ganhando destaque como estabilizantes sustentáveis e funcionalmente eficientes. O óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*), abundante no Cerrado brasileiro, destaca-se pelo elevado teor de ácidos graxos insaturados e de compostos bioativos, como carotenoides e compostos fenólicos, que conferem elevado potencial antioxidante. No entanto, esses compostos são altamente suscetíveis à degradação oxidativa quando expostos à luz, ao oxigênio e a variações de pH, tornando necessária a utilização de sistemas de encapsulação eficientes que promovam proteção e estabilidade durante o processamento e o armazenamento. O presente trabalho teve como objetivo otimizar emulsões do tipo óleo em água (O/A) utilizando proteína isolada de ervilha (PE) e o complexo proteína-carboximetilcelulose (PE-CMC) como estabilizantes. A otimização das emulsões foi conduzida por meio de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR 2²), considerando como variáveis independentes as concentrações de PE e de CMC na fase aquosa. As variáveis dependentes foram estabilidade centrífuga (EC), índice de atividade emulsificante (EAI), estabilidade emulsificante (ESI), ângulo de contato (AC) e qualidade de homogeneização, parâmetros fundamentais para a avaliação do desempenho das emulsões. Os resultados evidenciaram interação significativa entre PE e CMC em todas as respostas, exceto no ângulo de contato, indicando que o equilíbrio entre esses biopolímeros é essencial para a formação eficiente das emulsões. As condições ótimas foram definidas em 3,41% de PE e em 3,41% de PE com 0,5% de CMC, com valores de EC de 100% e 95,1 %, valores de EAI de 33,2 e 40,0 m²/g, ESI de 161,0 e 171,5 minutos e AC de 57,0° e 72,8°, respectivamente, indicando a formação de uma interface bem estruturada, com aumento da hidrofobicidade interfacial e ótima qualidade de homogeneização. A análise de turbidez demonstrou a formação de complexos eletrostáticos entre os polímeros, evidenciada pelo deslocamento do ponto de solubilidade mínima de pH 4,60 (PE) para pH 2,65 (PE-CMC). A microscopia óptica confirmou que, em emulsões PE poucas proteínas estavam livres na fase contínua, enquanto em emulsões PE-CMC observa-se a presença significativa de proteínas associadas à formação de complexos na fase contínua, contribuindo para a estabilização da emulsão pela formação de barreira estérica. Conclui-se que sistemas de PE e PE-CMC são eficazes em pH neutro para a produção de emulsões de óleo de pequi estáveis, homogêneas e com potencial de aplicação na indústria de alimentos, especialmente em formulações que priorizam ingredientes naturais e estratégias de *clean label*.

Palavras-chave: emulsões; óleo de pequi; proteína de ervilha; sustentabilidade; propriedades interfaciais.

1 INTRODUÇÃO

O pequi (*Caryocar brasiliense*) é um fruto nativo do Cerrado brasileiro amplamente reconhecido por sua relevância nutricional, econômica e cultural. O óleo extraído de sua polpa apresenta elevada concentração de compostos bioativos, especialmente carotenoides, compostos fenólicos e ácidos graxos insaturados, associados a propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. No entanto, essa composição altamente insaturada torna o óleo de pequi particularmente suscetível à oxidação lipídica e à degradação induzida por fatores ambientais, como luz e temperatura, o que limita sua estabilidade, vida de prateleira e aplicação em sistemas alimentícios e industriais (Comunian *et al.* 2020).

Nesse contexto, estratégias tecnológicas capazes de proteger o óleo de pequi contra processos de degradação tornam-se essenciais. A encapsulação em emulsões à base de proteínas destaca-se como uma abordagem promissora, pois utiliza partículas sólidas como agentes estabilizantes em substituição aos surfactantes convencionais. Essas partículas adsorvem-se de forma irreversível na interface óleo-água, formando uma barreira física rígida que confere maior resistência à coalescência e ao amadurecimento de *Ostwald*, além de reduzir a exposição do óleo a agentes pró-oxidantes, como oxigênio, íons metálicos, luz e outros. Como resultado, as emulsões apresentam elevada estabilidade físico-química e potencial para proteger compostos lipofílicos sensíveis (He; Lu, 2024; McClements, 2011).

Em condições adequadas, a formação de complexos proteína-polissacarídeo promove rearranjos estruturais na interface óleo-água, resultando em camadas interfaciais mais espessas, densas e mecanicamente resistentes, além de melhorias nas propriedades reológicas e na estabilidade cinética do sistema, especialmente em pH neutro. Entretanto, nem todas as associações entre proteínas e polissacarídeos são termodinamicamente favoráveis. A proteína de ervilha (PE) e a carboximetilcelulose (CMC), apesar de individualmente eficientes como agentes estabilizantes, apresentam incompatibilidade termodinâmica quando dispersas simultaneamente em solução aquosa em pH neutro. Essa incompatibilidade está associada às diferenças na natureza molecular, na conformação e nas interações intermoleculares entre a PE, um biopolímero anfifílico com carga dependente do pH, e a CMC, um polissacarídeo aniônico altamente hidrofílico, podendo impactar diretamente a estabilidade cinética das emulsões (Yue *et al.* 2021; Xu *et al.* 2024; Liu *et al.* 2018).

Diante desse cenário, o objetivo deste trabalho é otimizar emulsões do tipo O/A encapsulando os compostos bioativos do óleo de pequi, estabilizadas por PE isolada e complexo

PE-CMC em pH 7, avaliando o potencial dessas emulsões quanto à estabilidade físico-química, interfacial e funcional dos sistemas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material

Para a elaboração das emulsões, utilizou-se a PE (0,8% de carboidrato, 80% de proteína, 1,5% de gordura total, 0,5% de fibra alimentar, em base seca), adquirida da Wenuutri, São Paulo. A CMC com 0,9 grau de substituição e viscosidade de 3500 cP adquirida da Adicel, Minas Gerais. O óleo de pequi foi adquirido da Aroma D'Minas, Minas Gerais. Os demais reagentes utilizados no estudo foram citados ao longo do trabalho.

2.2 Métodos

2.2.1 Planejamento experimental

O estudo consistiu na otimização de emulsões com óleo de pequi utilizando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR 2²), considerando como variáveis independentes as concentrações de PE e CMC. As variáveis resposta avaliadas foram: estabilidade centrífuga (EC, %), índice de atividade emulsificante (EAI, m²/g), índice de estabilidade emulsificante (ESI, min), ângulo de contato (AC, °) e qualidade de homogeneização (ruim, boa ou ótima).

A determinação das condições ótimas foi realizada por meio de otimização multirresposta, utilizando a função de desejabilidade. Posteriormente, foram realizadas análises de microscopia óptica e turbidez dos biopolímeros nas condições otimizadas.

2.3 Planejamento experimental das emulsões

As emulsões foram formuladas com base nas condições estabelecidas no planejamento experimental, variando-se as concentrações de PE e CMC na fase aquosa conforme o delineamento DCCR 2². As concentrações empregadas estão descritas na Tabela 1, na qual os níveis codificados -1 e +1 para a PE correspondem a 1,00% e 3,00% (m/v), respectivamente, enquanto, para a CMC, correspondem a 0,10% e 0,60% (m/v).

2.3.1 Otimização pela função de desejabilidade

As condições ótimas das emulsões foram determinadas por meio da função de desejabilidade, aplicada à otimização multirresposta. Inicialmente, cada variável-resposta (Y_i) foi transformada em uma função de desejabilidade individual (d_i), com valores variando de 0 (condição indesejável) a 1 (condição desejável).

Para as respostas quantitativas, adotou-se o critério de maximização, atribuindo-se valores de desejabilidade de acordo com a classificação (condição indesejável = 0; condição desejável = 1). A desejabilidade global (D) foi obtida a partir da média geométrica das desejabilidades individuais, conforme a Equação 1:

$$D = \sqrt[n]{d_1 \cdot d_2 \cdot d_3 \dots d_n} \quad (1)$$

em que n corresponde ao número de respostas avaliadas. As condições ótimas foram definidas como as que maximizaram o valor de D para emulsões de PE e de PE-CMC.

2.4 Elaboração dos biopolímeros (fase aquosa)

Para o preparo dos biopolímeros foi utilizada a metodologia modificada de Xu *et al.* (2024). A PE foi dispersa em 100 mL de água destilada à temperatura ambiente (25 °C), sob agitação magnética (500 rpm) por 3 horas, para garantir a hidratação completa da proteína. Em seguida, o pH da solução foi ajustado de 7 para 12 com NaOH 4M, seguido de 1 hora de agitação. Posteriormente, o pH foi neutralizado para 7 com HCl 1M. Em seguida, a solução foi submetida a um tratamento térmico (85 °C/30 min) em banho maria para promover a desnaturação proteica, e resfriada até a temperatura ambiente. Simultaneamente, a CMC foi dispersa em 100 mL de água destilada sob agitação magnética (500 rpm) a 25 °C por 3 horas. Ambas as dispersões (PE e CMC) foram então incubadas a 4 °C por 12 horas, para garantir a hidratação completa dos polímeros. Após a hidratação, as soluções de PE e CMC foram misturadas na proporção de massa final conforme os ensaios da Tabela 1 e mantidas sob agitação magnética (500 rpm) por 30 minutos.

2.5 Elaboração das emulsões

As emulsões foram elaboradas utilizando óleo de pequi (10% m/v: fixo) como fase oleosa e uma fase aquosa composta por biopolímeros (90% m/v) em pH 7. A pré-homogeneização das emulsões foi realizada em homogeneizador do tipo hélice (Ika Rw 20, Brasil) a 2500 rpm por 10 minutos, seguida de homogeneização com ultrassom de ponteira (Branson, México) por 3 minutos, empregando amplitude de 60% e potência de 240 W.

2.5.1 Estabilidade centrífuga

A estabilidade das emulsões foi avaliada por centrifugação, segundo a metodologia adaptada de Xu *et al.* (2024), determinando-se a tendência de separação acelerada de fases. As emulsões foram transferidas para tubos de ensaio de 15 mL e centrifugadas em centrífuga (Fanen, Brasil) a 3600 rpm por 15 min e sua estabilidade foi calculada a partir da Equação 2:

$$\text{Estabilidade centrífuga (\%)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1} * 100 \quad (2)$$

Em que, m_1 é a massa total da emulsão antes da centrifugação, e m_2 é a massa da remoção de água e óleo por centrifugação (fase aquosa separada).

2.5.2 Índice de atividade emulsificante (EAI) e Índice de estabilidade emulsificante (ESI)

Uma alíquota de 50 μL foi retirada da parte inferior da emulsão utilizando uma pipeta e diluída 200 vezes em uma solução de SDS a 0,1% (m/v). Após 60 minutos, uma segunda alíquota da emulsão foi coletada, seguindo o mesmo procedimento. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 600 nm, utilizando o branco como referência (adaptado de Huang *et al.* 2024). O índice de atividade emulsificante (EAI) e o índice de estabilidade emulsificante (ESI) foram calculados de acordo com as Equações 3 e 4, respectivamente:

$$EAI \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{2.2,303.A_0.N}{C.\theta. 10^4} \quad (3)$$

$$ESI (min) = \frac{A_0}{A_0 - A_{60}} . 60 \quad (4)$$

Em que, A_0 e A_{60} correspondem às absorvâncias medidas nos tempos de 0 e 60 minutos, respectivamente; N representa o fator de diluição da amostra em solução de SDS a 0,1% (m/v); c é a concentração de proteína ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) antes da emulsificação; e θ corresponde à fração volumétrica de óleo de pequi na emulsão.

2.5.3 Qualidade visual de homogeneização

Para a avaliação da qualidade visual da homogeneização das emulsões, adotou-se uma escala de três níveis: ruim, quando a emulsão apresenta gotículas visíveis devido ao não encapsulamento; boa, quando há regiões com diferenças perceptíveis na densidade de cor; e ótima, quando a emulsão apresenta homogeneização completa e uniforme (adaptado de Wang *et al.* 2025 e Bouchoud *et al.* 2013).

2.5.4 Ângulo de contato

As dispersões de biopolímeros (5 mL) foram cuidadosamente pipetadas sobre lâminas de vidro para microscopia e deixadas secar à temperatura ambiente, em dessecador, até a formação completa do filme. O filme seco foi então posicionado na plataforma do medidor de ângulo de contato óptico (OCA Plus, Alemanha). Em seguida, 2 μL de água destilada foram depositados sobre a superfície do filme. As imagens das gotículas formadas foram registradas por uma câmera digital acoplada ao equipamento, e as medições dos ângulos de contato foram obtidas automaticamente pelo software do sistema, que ajusta o perfil das gotas à equação de *Young-Laplace* (adaptado de Silva *et al.* 2021).

2.6 Microscopia óptica

As emulsões foram caracterizadas por microscopia óptica (Olen, Brasil) com o objetivo de observar suas microestruturas. As amostras foram previamente diluídas na proporção de 1:3 (v/v) em solução de azul de Coomassie, corante que evidencia a presença de proteínas no sistema (Adaptado de Cao; Zhao; Xiong, 2016). As observações foram realizadas com uma lente objetiva de 40 $\times$ e suas microestruturas foram registradas pelo software *S-eye*.

2.7 Efeito do pH na turbidez

Para o cálculo da turbidez, a transmitância das soluções de PE e PE-CMC, em diferentes valores de pH (2 a 7), foi determinada em espectrofotômetro UV-Vis (Shanghai Spectrum 2000, China) a 600 nm. A turbidez foi expressa pela Equação 5, com o objetivo de identificar o ponto de mínima solubilidade dos complexos formados (adaptado de Yi *et al.* 2021).

$$Turbidez = \frac{1}{Transmitância (\%)} \quad (5)$$

2.8 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados utilizando o *software* Statistica, versão 8.0 (StatSoft Inc., EUA), para a análise do Delineamento Composto Central Rotacional, adotando-se nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Elaboração e otimização das emulsões

As emulsões foram avaliadas quanto às suas propriedades em função das concentrações de PE e CMC, conforme o delineamento experimental previamente descrito. Foram analisadas as variáveis resposta: EC, EAI, ESI, AC e qualidade de homogeneização visando encontrar condições ótimas para emulsões de PE e de PE-CMC.

Na Tabela 1 são apresentados os resultados experimentais das emulsões, incluindo os níveis codificados e decodificados das variáveis independentes do planejamento DCCR. A Tabela 2 apresenta os resultados da análise estatística referentes à estimativa do coeficiente de regressão e seus respectivos valores de p-valores para as variáveis dependentes.

Tabela 1 - Resultados das emulsões com as variáveis respostas: EC, EAI, ESI, AC e qualidade visual de homogeneização.

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis descodificadas		Variáveis resposta												
					EC (%)			EAI (m^2/g)			ESI (min)			AC			HG
	X1	X2	PE (%)	CMC (%)	Obs.	Pred.	Res.	Obs.	Pred.	Res.	Obs.	Pred.	Res.	Obs.	Pred.	Res.	Qualidade
1	-1	-1	1,00	0,10	91,70	93,60	-1,90	31,04	32,25	-1,21	142,00	145,27	-3,27	59,21	57,45	1,76	Ruim
2	-1	+1	1,00	0,60	62,50	63,50	-1,00	25,28	24,90	0,38	98,72	87,38	11,34	72,21	73,81	-1,61	Boa
3	+1	-1	3,00	0,10	83,30	86,30	-3,00	29,57	30,11	-0,54	135,00	136,84	-1,84	60,21	57,45	2,75	Ótima
4	+1	+1	3,00	0,60	95,80	97,10	-1,30	34,07	33,01	1,06	155,60	142,83	12,77	79,34	73,82	5,53	Boa
5	0	0	2,00	0,35	83,30	82,20	1,10	29,70	30,05	-0,35	124,60	128,07	-3,47	64,78	65,63	-0,85	Ótima
6	0	0	2,00	0,35	84,50	82,20	2,30	30,01	30,05	-0,04	132,40	128,07	4,33	67,15	65,63	1,52	Ótima
7	0	0	2,00	0,35	85,20	82,20	3,00	30,43	30,05	0,38	127,40	128,07	-0,67	68,43	65,63	2,80	Ótima
8	-1,41	0	0,58	0,35	70,80	72,50	-1,70	26,06	25,51	0,55	106,25	109,98	-3,73	60,21	65,63	-5,42	Ótima
9	+1,41	0	3,41	0,35	91,70	89,30	-2,40	29,36	29,76	-0,40	137,50	143,27	-5,77	63,10	65,63	-2,53	Boa
10	0	-1,41	2,00	0,00	100,0	97,10	2,90	35,22	34,00	1,22	153,20	147,61	5,59	52,00	54,17	-2,18	Ruim
11	0	+1,41	2,00	0,70	83,30	82,10	1,20	29,83	30,89	-1,06	96,00	111,28	-15,28	75,34	77,10	-1,75	Ótima

Legenda: Variáveis codificadas: X₁ = concentração de PE (% m/v), X₂ = concentração de CMC (% m/v). Variáveis respostas (EC: estabilidade centrífuga; EAI: índice de atividade emulsificante, ESI: índice de estabilidade emulsificante, AC: ângulo de contato; HG: homogeneização). Fonte: Autor (2026).

Tabela 2 – Estimativa do coeficiente de regressão (CR) e p-valor para as variáveis respostas, EC, EAI, ESI e AC.

	Variáveis respostas							
	EC (%)		EAI (m^2/g)		ESI (min)		AC (°)	
	CR	p-valor	CR	p-valor	CR	p-valor	CR	p-valor
Média	84,372	0,000*	30,045	0,000*	128,068	0,000*	66,751	0,000*
X_1	6,792	0,001*	1,492	0,013*	11,758	0,033*	1,523	0,271
X_1^2	-2,339	0,075	-1,200	0,052	-0,690	0,891	-1,278	0,422
X_2	-5,051	0,002*	-1,112	0,039*	-12,975	0,024*	8,183	0,001*
X_2^2	2,893	0,042*	1,224	0,052	0,704	0,891	-0,256	0,870
$X_1 X_2$	10,417	0,000*	2,565	0,006*	15,970	0,038*	1,533	0,420

Legenda: Variáveis codificadas: X_1 = concentração de PE (% m/v), X_2 = concentração de CMC (% m/v). * Indica efeito significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Variáveis respostas (EC: estabilidade centrífuga; EAI: índice de atividade emulsificante, ESI: índice de estabilidade emulsificante, AC: ângulo de contato). Fonte: Autor (2026).

Com base na Tabela 2, foram modeladas as equações correspondentes a cada variável resposta, sendo representadas pela Equação 6 para a EC, Equação 7 para o EAI, Equação 8 para o ESI e Equação 9 para o AC, com os termos significativos em negrito:

$$Y_{EC} = \mathbf{84,372} + \mathbf{6,792X_1} - 2,339X_1^2 - \mathbf{5,051X_2} + \mathbf{2,893X_2^2} + \mathbf{10,417X_1X_2} \quad (6)$$

$$Y_{EAI} = \mathbf{30,045} + \mathbf{1,492X_1} - 1,200X_1^2 - \mathbf{1,112X_2} + 1,224X_2^2 + \mathbf{2,565X_1X_2} \quad (7)$$

$$Y_{ESI} = \mathbf{128,068} + \mathbf{11,758X_1} - 0,690X_1^2 - \mathbf{12,975X_2} + 0,704X_2^2 + \mathbf{15,970X_1X_2} \quad (8)$$

$$Y_{AC} = \mathbf{66,751} + 1,523X_1 - 1,278X_1^2 + \mathbf{8,183X_2} - 0,256X_2^2 + 1,533X_1X_2 \quad (9)$$

Na Tabela 3 apresenta os parâmetros de qualidade de ajuste dos modelos quadráticos. Observou-se que os modelos apresentaram coeficientes de determinação (R^2) de 0,97, 0,92, 0,84 e 0,91 para EC, EAI, ESI e AC, respectivamente, indicando ótimo ajuste aos dados experimentais. O teste de falta de ajuste não foi significativo ($p > 0,05$) para todas as variáveis resposta, indicando que os modelos foram adequados para descrever o sistema.

Tabela 3 – Parâmetros de qualidade de ajuste dos modelos quadráticos obtidos pelo DCCR para as variáveis resposta.

Variáveis respostas	Parâmetros de qualidade do ajuste do modelo			
	R ²	R ² adj	Falta de ajuste (p-valor)	CV (%)
EC (%)	0,97	0,95	0,08	2,93
EAI (m^2/g)	0,92	0,85	0,06	3,75
ESI (min)	0,84	0,68	0,07	8,89
AC (°)	0,91	0,81	0,16	5,31

Legenda: R² - coeficiente de determinação; R² adj – coeficiente de determinação ajustado; CV – coeficiente de variação. Variáveis respostas (EC: estabilidade centrífuga; EAI: índice de atividade emulsificante, ESI: índice de estabilidade emulsificante, AC: ângulo de contato). Fonte: Autor (2026).

3.1.1 Estabilidade centrífuga

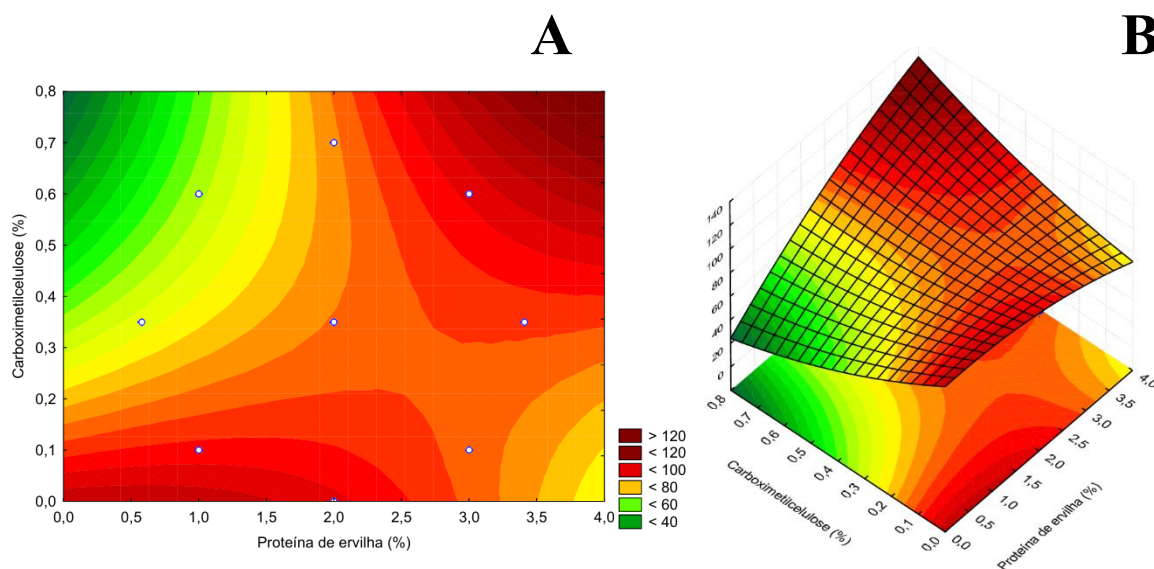
Na Tabela 1 são apresentados os resultados da EC (%) das emulsões em função das concentrações PE e de CMC. Observou-se que a estabilidade variou de 62,50 % a 100,0 %, sendo influenciada pelas concentrações dos biopolímeros.

A formulação contendo 2,0% de PE e ausência de CMC (Ensaio 10) apresentou a estabilidade máxima (100,0 %), evidenciando que, nessa condição, a proteína foi suficiente para manter as emulsões visualmente homogêneas sob força centrífuga. Em contrapartida, a menor estabilidade foi observada na emulsão com 1,0% de PE e 0,6% de CMC (62,50%), sugerindo que, em baixa concentração proteica, o excesso de CMC pode prejudicar a estabilidade. Emulsões com baixa concentração de CMC (0,10%) associadas a 1,0% ou 3,0% de PE apresentaram estabilidade de 91,70% e 83,30% respectivamente. Nos pontos centrais (2,0% de PE e 0,35% de CMC), a estabilidade permaneceu entre 83,30% e 85,20 %, respectivamente. A CMC em nível elevado (0,60%) mostrou-se benéfica quando combinada com maior teor de proteína (3,0%), resultando em estabilidade de 95,80 %.

A interação entre a PE e CMC (X_1X_2) foi significativa (Tabela 2) na EC, indicando que a sinergia entre esses biopolímeros exerce papel fundamental na formação de estruturas interfaciais mais estáveis. Esse resultado sugere que a combinação equilibrada entre proteína e polissacarídeo favorece maior resistência à separação de fases durante a centrifugação. Na

Figura 1 são apresentados, respectivamente, a curva de contorno e a superfície de resposta para a EC.

Figura 1 – Curva de contorno (A) e superfície de resposta (B) para a estabilidade centrífuga das emulsões, em função da concentração de PE (%m/v) e de CMC (%m/v).



Fonte: Autor (2026).

Várias hipóteses podem ser utilizadas para explicar o fenômeno de separação de fase das emulsões avaliadas, desde a incompatibilidade termodinâmica à fenômenos conhecidos como floculação por depleção (Qi, Ibrahim e Hasim, 2019; Yue *et al.* 2021). Em concentrações mais altas de proteína, o aumento da CMC no sistema, tende a uma melhor estabilização da emulsão.

Nesse contexto, quando a concentração de polissacarídeo na fase contínua ultrapassa um determinado limite, pode ocorrer o fenômeno de floculação por depleção. Esse efeito manifesta-se quando moléculas de polissacarídeo, em elevadas concentrações, não conseguem se aproximar das superfícies das gotículas de óleo. Como consequência, essas moléculas são excluídas da região estreita entre gotículas adjacentes, gerando um desequilíbrio de concentração entre essa região e o restante da fase contínua. Esse desequilíbrio resulta em um gradiente de pressão osmótica que promove uma força atrativa entre as gotículas, favorecendo sua floculação e podendo, em casos mais intensos, levar à separação de fases do sistema. A estabilidade coloidal depende de uma formulação balanceada, pois tanto o excesso de polissacarídeo quanto a deficiência de proteína comprometem as interações na interface. A estequiometria adequada entre os componentes é essencial para garantir o efeito estabilizador

(Hou *et al.* 2022; Qi, Ibrahim e Hasim, 2019).

Polissacarídeos não adsorventes, como a CMC podem aumentar a estabilidade das emulsões em altas concentrações, devido a elevação da viscosidade da fase contínua. Entretanto, em concentrações intermediárias de polissacarídeo e dependendo da quantidade de proteína no sistema, podem promover instabilidade por floculação por depleção, uma vez que há polímero suficiente para gerar gradiente osmótico entre gotículas (Dickinson, 1994). De forma semelhante, Cai *et al.* (2021) demonstraram que, em emulsões estabilizadas com 1% de proteína de okara, o aumento da concentração de CMC de 0 a 0,5% resultou em evidências de floculação por depleção, atribuídas ao acúmulo de CMC na fase contínua. Esses resultados também estão de acordo com os dados obtidos neste estudo, nos quais a EC reduziu de 91,7% (1% de PE e 0,1% de CMC) para 62,5% (1% de PE e 0,6% de CMC).

Compreender e ajustar com precisão as concentrações de PE e CMC é fundamental para elaborar emulsões cineticamente estáveis. Estudos como o de Yue *et al.* (2021) demonstraram que pequenas adições de CMC (0–0,3%) em soluções de PE (3,0% m/v) em pH 7,0 provocam separação de fases, devido a incompatibilidade termodinâmica entre os biopolímeros, já que ambos apresentam carga negativa em pH neutro. Por outro lado, concentrações mais elevadas de CMC (0,4–0,5%) inibiram a separação de fases, devido ao aumento da viscosidade do meio, que impede fisicamente a desestabilização do sistema.

Wei *et al.* (2020) observaram baixa EC em soluções de polímeros contendo 1% de PE e 0,6% de CMC em pH 7,0. Esses resultados reforçam que o equilíbrio entre proteína e polissacarídeo é determinante para a estabilidade do sistema, evidenciando que variações na concentração de CMC podem influenciar significativamente o comportamento das emulsões. De forma semelhante, no Ensaio 2 do presente estudo, emulsões formuladas com essa mesma proporção apresentou separação de fases após a centrifugação (62,5%).

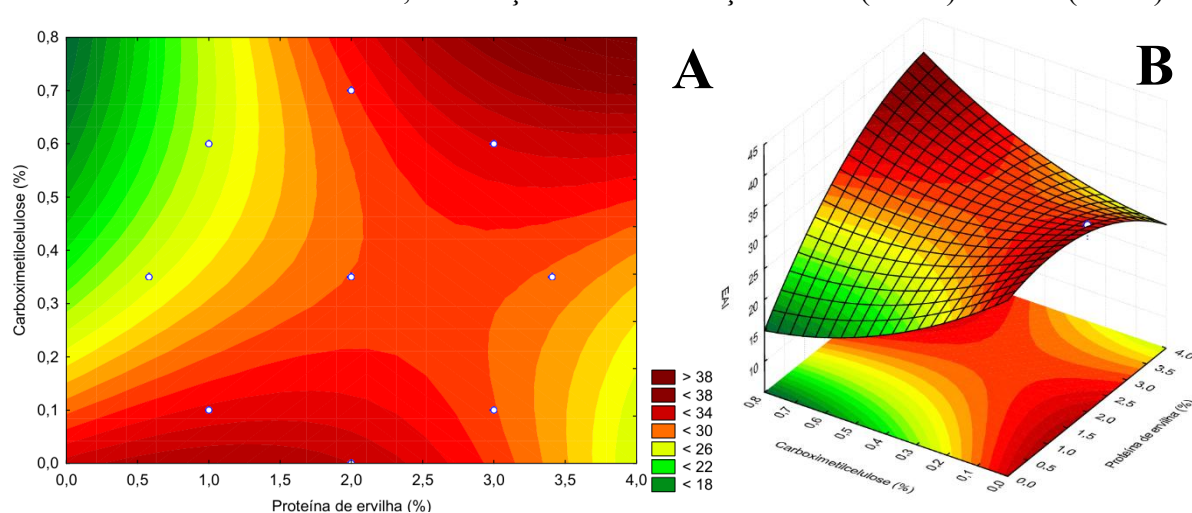
3.1.2 Índice de Atividade Emulsificante (EAI)

Os resultados de EAI variaram de 25,28 a 35,22 m²/g (Tabela 1). Observa-se que as emulsões contendo 2% de PE apresentaram o maior valor de EAI (35,22 m²/g), indicando maior cobertura interfacial da emulsão. Em contraste, as emulsões contendo 1% de PE e 0,6% de CMC exibiram o menor EAI (25,28 m²/g), sugerindo que baixos teores de proteína aliados a elevadas concentrações de CMC podem comprometer a formação de interface. As formulações com maior concentração de PE (2% e 3%) demonstraram melhor desempenho de atividade emulsificante, enquanto concentrações elevadas de CMC, especialmente em sistemas com

baixo teor proteico, tendem a reduzir o EAI.

A análise estatística confirmou esse comportamento. O efeito de interação entre PE e CMC (X_1X_2) foi significativo (Tabela 2), indicando que o equilíbrio entre ambos é essencial para a formação eficiente da emulsão. Em baixas concentrações de PE, o aumento de CMC tende a dificultar a formação da interface, enquanto em concentrações mais elevadas de PE, a presença adicional de CMC favorece a estabilização interfacial e a formação da emulsão. A Figura 2 apresenta a curva de contorno e superfície de resposta para o índice de atividade emulsificante.

Figura 2 – Curva de contorno (A) e superfície de resposta (B) do índice de atividade emulsificante das emulsões, em função da concentração de PE (%m/v) e CMC (%m/v).



Fonte: Autor (2026).

A literatura apresenta escassez de dados específicos sobre o EAI em sistemas com PE e CMC e em emulsões com óleo de pequi. Portanto, a discussão pode ser fundamentada em estudos que utilizam PE ou outras proteínas com a CMC.

A proporção de mistura entre os biopolímeros influencia diretamente o EAI, já que desequilíbrios podem levar ao aumento excessivo da viscosidade da fase contínua, dificultando a migração das proteínas até a interface óleo-água ou concentração insuficiente de proteína durante a emulsificação que pode ou não ser melhorada com adição de um polissacarídeo (Marangon *et al.* 2021; Nooshkam *et al.* 2023; Zhang, Liang e Li, 2022).

Yang *et al.* (2023) observaram que, ao avaliar emulsões com 10% de óleo de linhaça, 1% de PE e 0,16% de goma de linhaça, obtiveram EAI de 29,85 m²/g para a proteína isolada e 32,10 m²/g para o complexo proteína-goma. O pequeno aumento na atividade emulsificante com a adição da goma deve-se à formação de complexos fracos entre os biopolímeros em pH

7, onde ambos apresentam sinais de cargas iguais. Tang, Roos e Miao (2023) avaliaram o EAI de emulsão com óleo de soja (25%) utilizando PE (1%) em pH 7 e obtiveram 21 m²/g.

O estudo de Chen *et al.* (2022), a PE apresentou um EAI de 58,3 m²/g em emulsões com óleo de soja (25 %). No entanto, o desempenho foi significativamente melhorado pela adição de maltodextrina, um polímero com carga neutra (5:1, proteína:maltodextrina, pH 7), resultando em um EAI de 75,6 m²/g. No estudo de Tang *et al.* (2023), a PE (1%) apresentou um EAI inicial de 63,40 m²/g em emulsões com proporção óleo:água de 6:4, indicando boa capacidade de formação de interface.

3.1.3 Índice de Estabilidade Emulsificante (ESI)

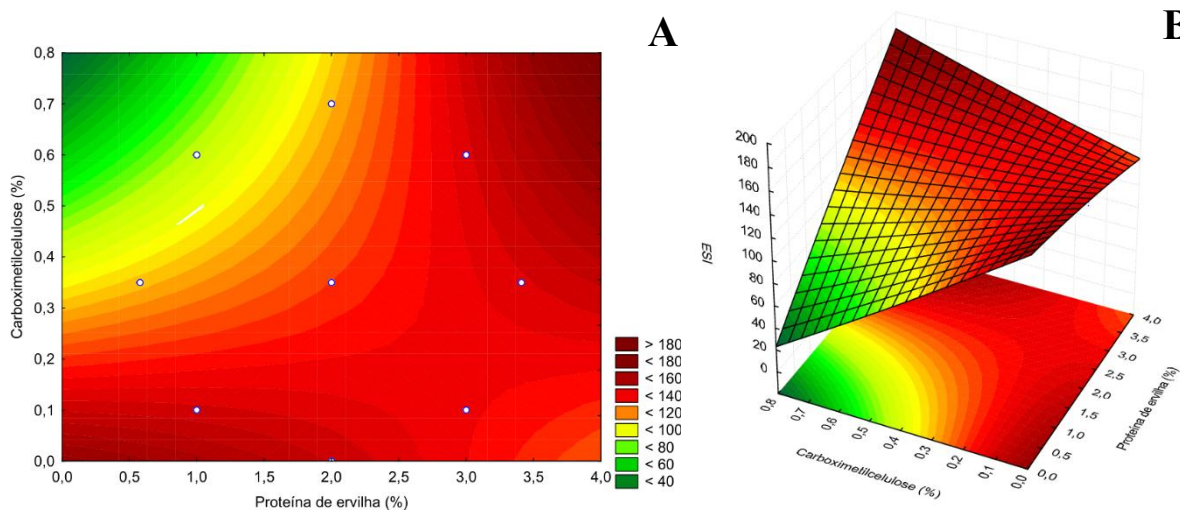
A Tabela 1 apresenta os resultados do ESI (minutos) das emulsões em função das concentrações de PE e CMC. Observou-se que o índice variou de 96 a 155,6 minutos.

Para emulsões com 1% de PE, a elevação da CMC de 0,1% para 0,6% reduziu o ESI de 142 para 98,72 minutos. Esse comportamento sugere que o excesso de CMC pode modificar a estrutura da interface, tornando-a menos eficiente na retenção da fase dispersa ao longo do tempo. Por outro lado, com 3% de PE, o aumento de CMC resultou em um aumento do ESI, de 135 para 155,6 minutos, evidenciando que o efeito da CMC pode ser dependente da quantidade de proteína disponível para interagir nas interfaces.

As formulações com 2% de PE e 0,35% de CMC apresentaram valores de ESI intermediários, entre 124,6 e 132,4 minutos. Esses resultados indicam que a combinação entre 2% de PE e concentrações moderadas de CMC favorece a formação de emulsões cineticamente estáveis. Notavelmente, a formulação com 2% de PE e ausência de CMC atingiu um ESI de 153,2 minutos, demonstrando que a proteína isolada é capaz de garantir boa estabilidade. A formulação com 2% de PE e 0,7% de CMC apresentou o menor ESI de 96 minutos, confirmando que concentrações muito altas de CMC podem comprometer a estabilidade a longo prazo.

A análise estatística (Tabela 2) demonstrou que a interação entre PE e CMC (X_1X_2) foi significativa, indicando que a resposta depende da combinação simultânea dos dois fatores. Em concentrações mais baixas de PE, a adição de CMC tende a diminuir o tempo de estabilidade, enquanto em concentrações mais altas de proteína, a adição de CMC sobre a estabilidade mostra-se menos pronunciado. A Figura 3 apresenta a superfície e curva de contorno para o índice de estabilidade emulsificante.

Figura 3 – Curva de contorno (A) e superfície de resposta (B) para o ESI das emulsões, em função da concentração de PE (%m/v) e CMC (%m/v).



Fonte: Autor (2026).

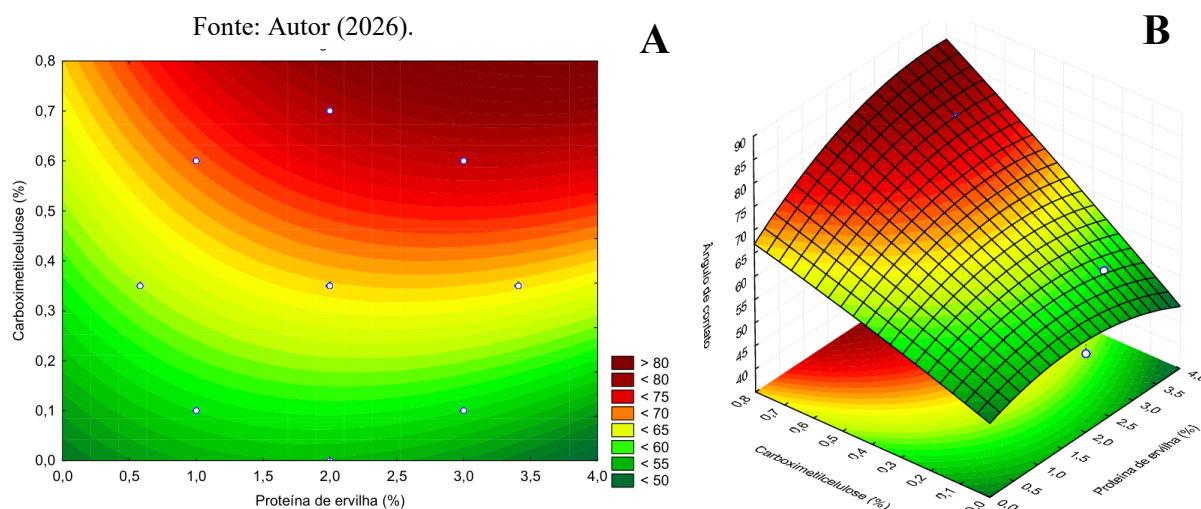
Estudos como o de Shevkani *et al.* (2015) mensuraram o ESI de emulsões estabilizadas por 7 diferentes genótipos isolados de PE (1%) em pH 7, com valores entre 52,6 e 94,4 minutos, mostrando que a espécie influencia na formação da emulsão. Tang *et al.* (2025) desenvolveram emulsões utilizando PE e óleo de girassol na proporção 1:9 (óleo:solução de proteína a 10%, pH 7), obtiveram um ESI de 68,58 minutos.

3.1.4 Ângulo de contato

A mensuração do ângulo de contato (AC) dos biopolímeros foi utilizada como parâmetro complementar para a previsão da estabilidade das emulsões, por refletir as características hidrofílicas ou hidrofóbicas do sistema, permitindo uma análise integrada dos fatores que influenciam a estabilidade das emulsões.

Pela análise estatística (Tabela 2), a concentração linear de CMC (X_2) exerceu um efeito positivo significativo e promoveu um incremento no AC (Figura 4). Para a concentração de 1% de PE, o aumento de CMC de 0,10% para 0,60% resultou em um aumento do AC de 59,21° para 72,21°, indicando uma maior hidrofobicidade do sistema. Nas formulações com 3% de PE, o AC passou de 60,21° (0,10% de CMC) para 79,34° (0,60% de CMC). O ponto central do delineamento (2% de PE e 0,35% de CMC), apresentou AC entre 64,78° e 68,43°. A formulação sem CMC (2% de PE e 0% de CMC) apresentou o menor AC (52°), sugerindo que a ausência do polissacarídeo resulta em um sistema predominantemente hidrofílico.

Figura 4 - Curva de contorno (A) e superfície de resposta (B) para o AC dos biopolímeros, em função da concentração de PE (%m/v) e de CMC (%m/v).

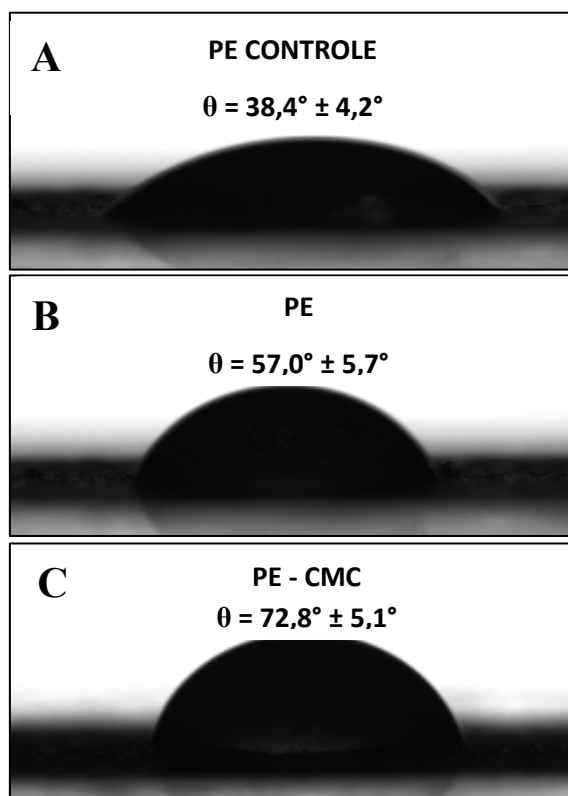


Embora o AC seja amplamente utilizado como parâmetro para inferir o caráter hidrofílico ou hidrofóbico de partículas em sistemas emulsionado, sua aplicação como única preditora da estabilidade apresenta limitações importantes. Diante disso, é essencial que o AC seja interpretado em conjunto com outras variáveis de interesse, como o tamanho médio de gotículas, estabilidade centrifuga, potencial zeta, índice de cremeação, propriedades reológicas e entre outros, permitindo uma avaliação mais abrangente e realista da estabilidade das emulsões (Marangon *et al.* 2021; Schroen *et al.* 2024).

É importante destacar que o valor exato do AC da água medido em uma única partícula de biopolímero na interface O/A, difere daquele obtido em uma superfície de filme seco. Essa divergência ocorre principalmente, por duas razões: (i) a diferença na fase ambiente em que a medida é realizada e (ii) a distinção entre o contato microscópico de uma partícula individual (em estado inchado) e o AC macroscópico determinado em um filme contínuo de biopolímero. No entanto, embora o AC macroscópico medido no ar não reflita exatamente o comportamento de uma única partícula na interface, ocorre uma correlação significativa com o ângulo microscópico, permitindo a identificação de tendências relacionadas à molhabilidade das partículas (Nimaming *et al.* 2023; Paunov *et al.* 2007).

Na Figura 5 tem-se as fotos dos AC dos biopolímeros determinados utilizando as concentrações otimizadas de 3,41% PE sem modificação (controle: sem aplicação de ajuste de pH e tratamento térmico) para fins de comparação, 3,41% PE e 3,41 % PE + 0,5 % CMC (ver seção 3.1.7).

Figura 5 – Mensuração do AC dos biopolímeros: PE controle (A), PE (B), PE-CMC (C).



Legenda: PE – proteína de ervilha; PE-CMC – complexo proteína de ervilha e carboximetilcelulose; n=5. Fonte: Autor (2026).

Com base na Figura 5, observa-se que o AC da PE isolada foi de $57,0^\circ$, enquanto o complexo PE-CMC apresentou valor de $72,8^\circ$, indicando que a adição do polissacarídeo aumentou a hidrofobicidade do sistema. A amostra controle de PE apresentou AC de $38,4^\circ$, caracterizando uma superfície mais hidrofílica. O aumento do AC da PE controle para a PE pode ser atribuído a modificações estruturais promovidas pelo ajuste de pH e tratamento térmico, que expõem regiões mais hidrofóbicas da molécula (Butt *et al.* 2022).

Gao *et al.* (2023) relataram um AC de $56,48^\circ$ para filmes de PE (10%) com glicerol sem modificação. Jiang *et al.* (2024) observaram um AC de $47,38^\circ$ em filmes de PE (10%), porém, a adição de 0,4% de CMC, o ângulo aumentou para $55,76^\circ$, indicando maior hidrofobicidade. A variação no AC dos filmes pode ser influenciada por propriedades intrínsecas da proteína (pureza, desnaturação, pH), características da superfície (homogeneidade, rugosidade), condições de processamento e armazenamento, além de parâmetros específicos da medição (volume de gota e tempo) (Galani, 2024; Hadidi *et al.* 2022).

O estudo de Xiao, Li e Huang (2016) ressaltou que partículas com AC situados na faixa de 30° a 150° apresentam energias de desorção (ΔE) de várias ordens de magnitude sendo

superiores à energia térmica associada ao movimento browniano. Tal comportamento evidencia uma adsorção praticamente irreversível das partículas na interface óleo-água, indicando alta estabilidade, o que reforça o potencial dos biopolímeros avaliados como estabilizantes eficazes em emulsões.

3.1.5 Função desejabilidade

Com base na análise das superfícies de resposta e curvas de contorno, observou-se comportamento não linear dos modelos, os quais apresentaram bom ajuste aos dados experimentais dentro da faixa estudada. No entanto, a avaliação individual das superfícies indicou que, em baixas concentrações de PE isolada, as variáveis EC, EAI e ESI tenderam a apresentar melhores respostas, evidenciando que diferentes respostas possuem regiões ótimas distintas no domínio experimental.

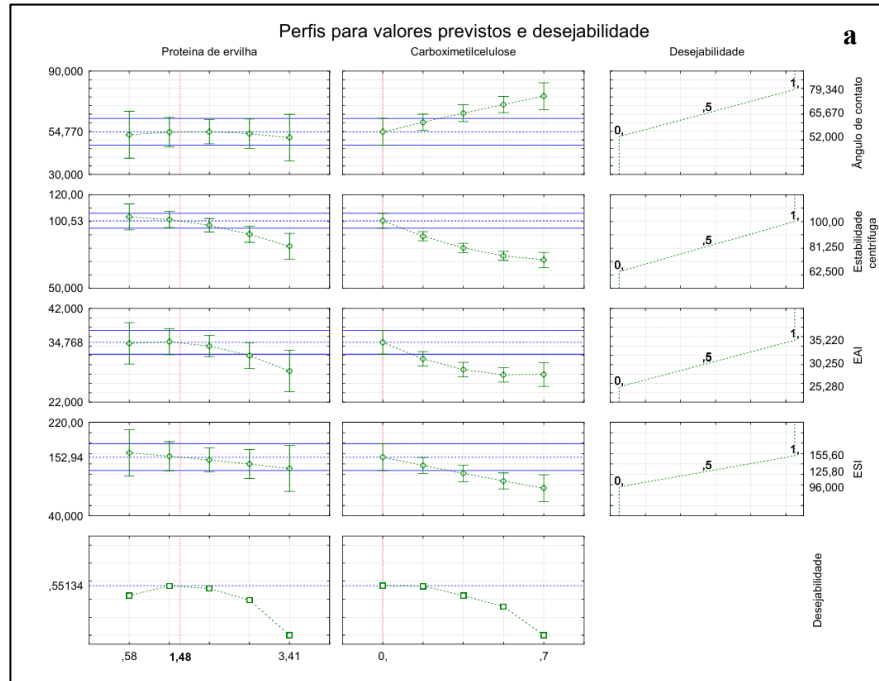
Além disso, em baixas concentrações de PE, a quantidade de biopolímero pode ser insuficiente para o completo recobrimento da interface óleo/água, resultando em uma camada interfacial menos densa e menos estável (Cai et al., 2023). Nessas condições, o aumento da concentração de CMC pode intensificar efeitos de segregação ou competição interfacial, reduzindo a estabilidade do sistema e explicando a predição do modelo de melhor desempenho na ausência de polissacarídeo.

Diante dessas limitações na análise isolada das variáveis, foi aplicada a função de desejabilidade, permitindo a otimização simultânea das respostas e a determinação das condições ótimas do sistema por meio de um índice global de desempenho. A função de desejabilidade converte cada variável resposta em uma escala adimensional de 0 a 1, em que valores próximos de 0 indicam condições indesejáveis e valores próximos de 1 indicam condições desejáveis. Para sua aplicação, foram utilizados os intervalos experimentais observados para cada variável: AC (0–79,34°), EC (62,5–100%), EAI (25,28–35,22 m²/g) e ESI (96,2–155,6 min). Em todos os casos, valores mais altos foram considerados desejáveis, refletindo melhor desempenho das emulsões.

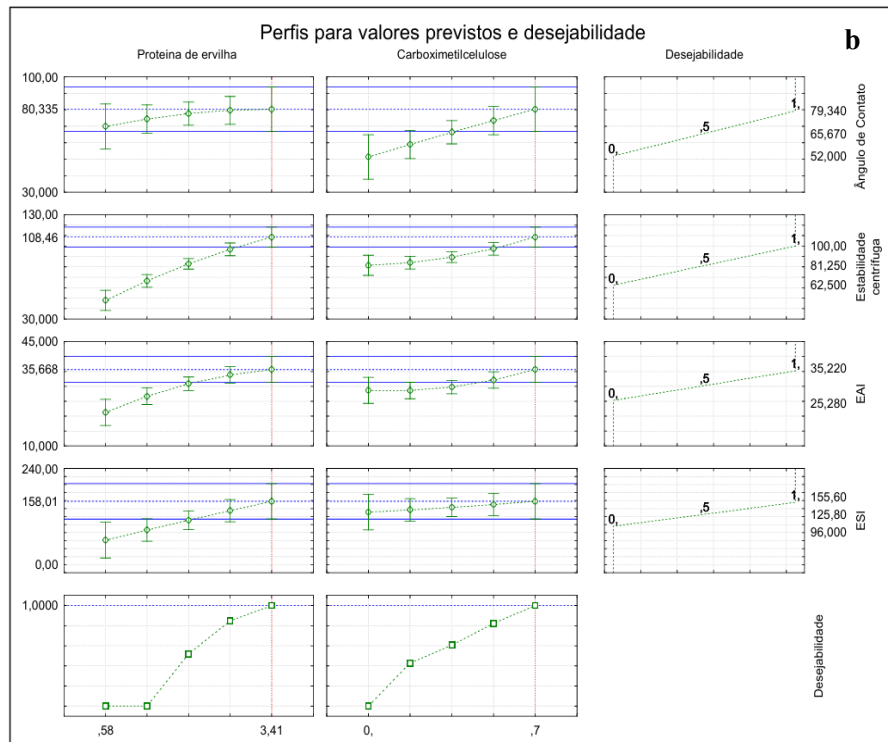
A Figura 6 apresenta os perfis de otimização, incluindo a função de desejabilidade com as variáveis concentração de PE e de CMC e as quatro variáveis resposta e a Figura 7, com a curva de contorno (a) e superfície de resposta (b), para as emulsões de PE e de PE-CMC.

Figura 6 – Perfil para valores previstos e desejabilidade das emulsões PE e PE-CMC.

Emulsões PE

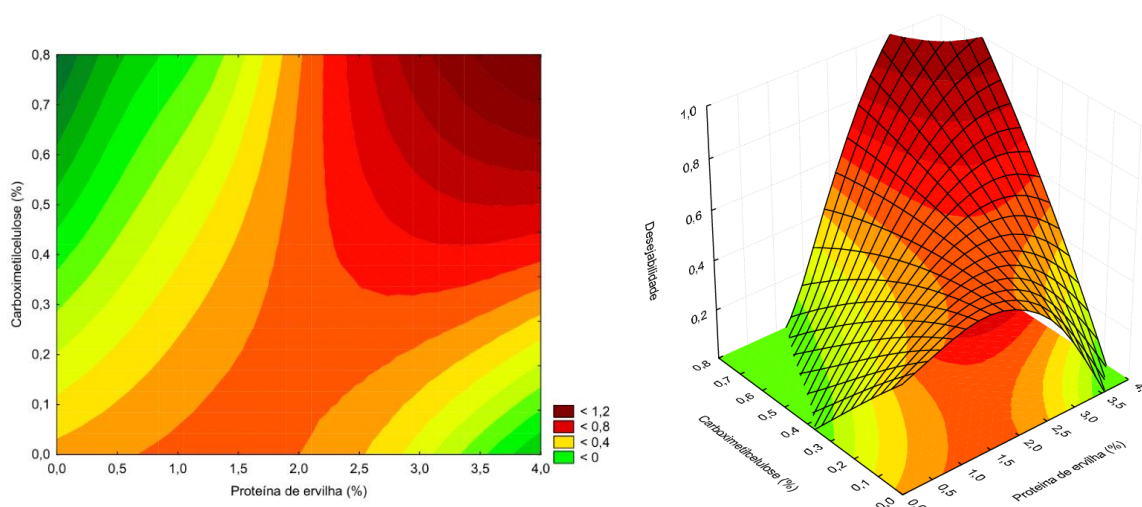


Emulsões PE + CMC



Fonte: Autor (2026).

Figura 7 - Curva de contorno (A) e superfície de resposta (B) para a função desejabilidade em função da concentração de PE (%m/v) e de CMC (%m/v).



Fonte: Autor (2026).

De acordo com a Figura 6, a otimização pela função de desejabilidade indicou como condição ótima para emulsões de PE a concentração de 1,48 %, com valores previstos de 54,77° para o AC, 100,53 % para a EC (efeito teto), 34,77 m²/g para o EAI e 152,94 min para o ESI, resultando em desejabilidade global de aproximadamente 0,55. Para emulsões de PE-CMC, a condição ótima foi de 3,41 % de PE com 0,7 % de CMC, com valores previstos de 80,34° para o AC, 108,46 % para a EC (efeito teto), 35,67 m²/g para o EAI e 158,01 min para o ESI, resultando em desejabilidade global de 1,0. Esses resultados evidenciam que nas condições estudadas, concentrações mais elevadas de PE e CMC favorecem simultaneamente múltiplas propriedades, devido ao aumento da cobertura interfacial promovida pela proteína e às interações sinérgicas entre proteína e polissacarídeo, promovendo maior estabilidade global das emulsões.

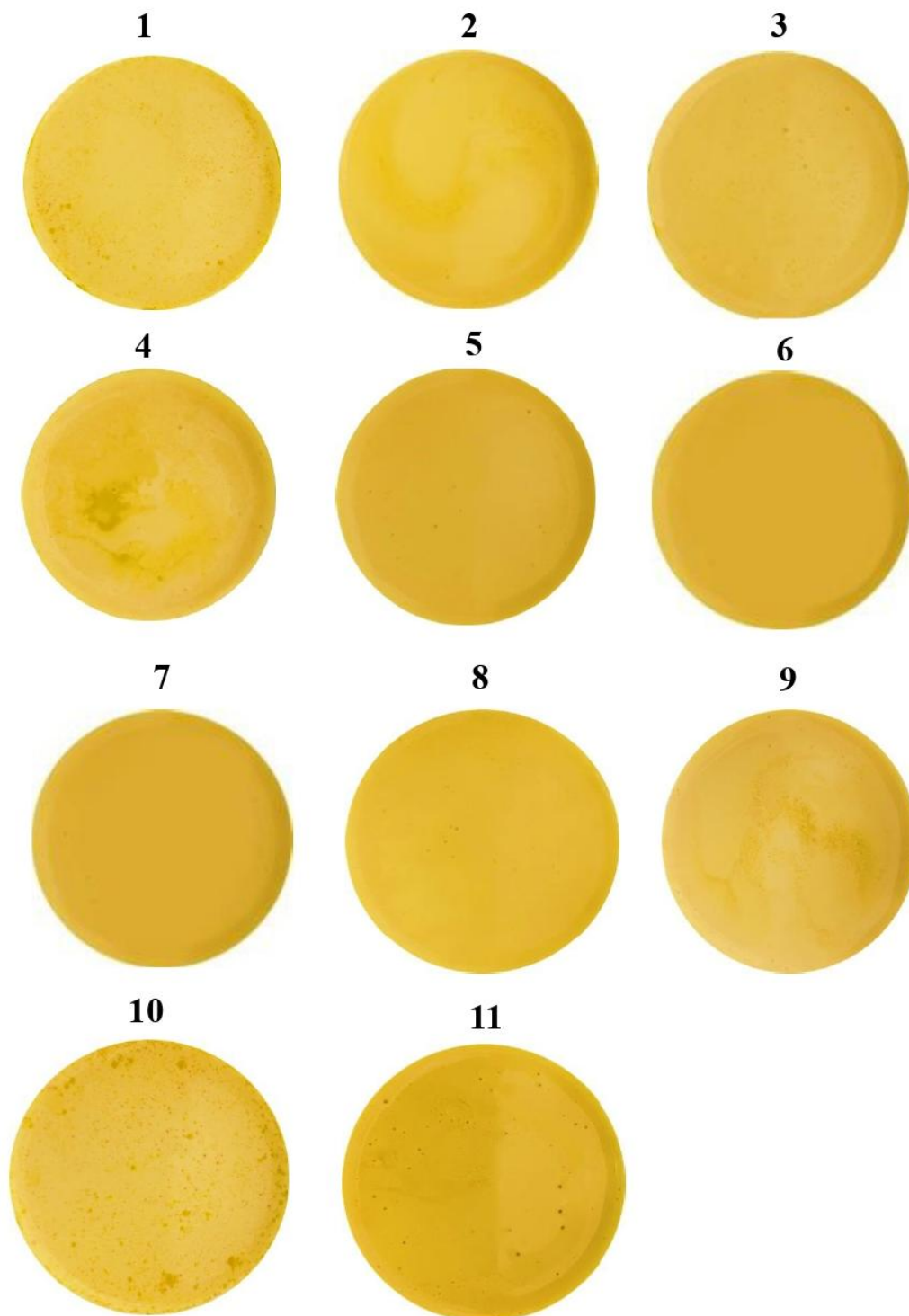
Embora a função de desejabilidade tenha sido o critério principal para a seleção das condições ótimas, as concentrações previstas pelo modelo também foram avaliadas com base em critérios complementares relacionados à homogeneização do sistema. A discussão considerou a avaliação visual da qualidade de homogeneização das emulsões obtidas nos ensaios do DCCR, complementada por testes em pontos externos ao delineamento experimental, com imagens registradas imediatamente após a preparação sob condições padronizadas de iluminação para garantir comparabilidade entre amostras.

3.1.6 Qualidade visual de homogeneização

A qualidade visual da homogeneização foi avaliada por meio de uma escala de três pontos: ruim, caracterizada pela presença de gotículas não encapsuladas no sistema; boa, definida por uma homogeneização ainda acompanhada de diferenças de densidade de coloração; e ótima, correspondente a uma homogeneização completamente uniforme.

A Figura 8 apresenta as formulações dos ensaios do DCCR descritos na Tabela 1, nas quais foi avaliada a qualidade visual da homogeneização das emulsões. Observa-se que a homogeneidade melhorou do Ensaio 1 (com presença de gotículas visíveis) para o Ensaio 2, como resultado do aumento da concentração de CMC de 0,1% para 0,6%, mesmo na presença de baixa concentração de PE (1%). Entre os Ensaios 3 e 4, observou-se uma variação na qualidade visual de ótima para boa. Nesse intervalo, a concentração de CMC aumentou de 0,1% para 0,6%, indicando que, na presença de 3% de PE, a variação da concentração de CMC exerceu efeito positivo sobre a qualidade visual do sistema. Os Ensaios 5, 6 e 7, que correspondem ao ponto central do DCCR (2% PE + 0,35% CMC), apresentaram ótima homogeneização. Os Ensaios 8 e 9, com concentrações de PE de 0,58% e 3,41%, respectivamente, e CMC fixa de 0,35%, mostraram homogeneização ótima e boa. No Ensaio 10, com 2% de PE e sem CMC, observou-se menor homogeneização, com presença visível de gotículas de óleo de pequi. O Ensaio 11 (2% PE + 0,7% CMC) apresentou ótima homogeneização.

Figura 8 – Qualidade da homogeneização das emulsões com óleo de pequi (variável resposta) no DCCR.



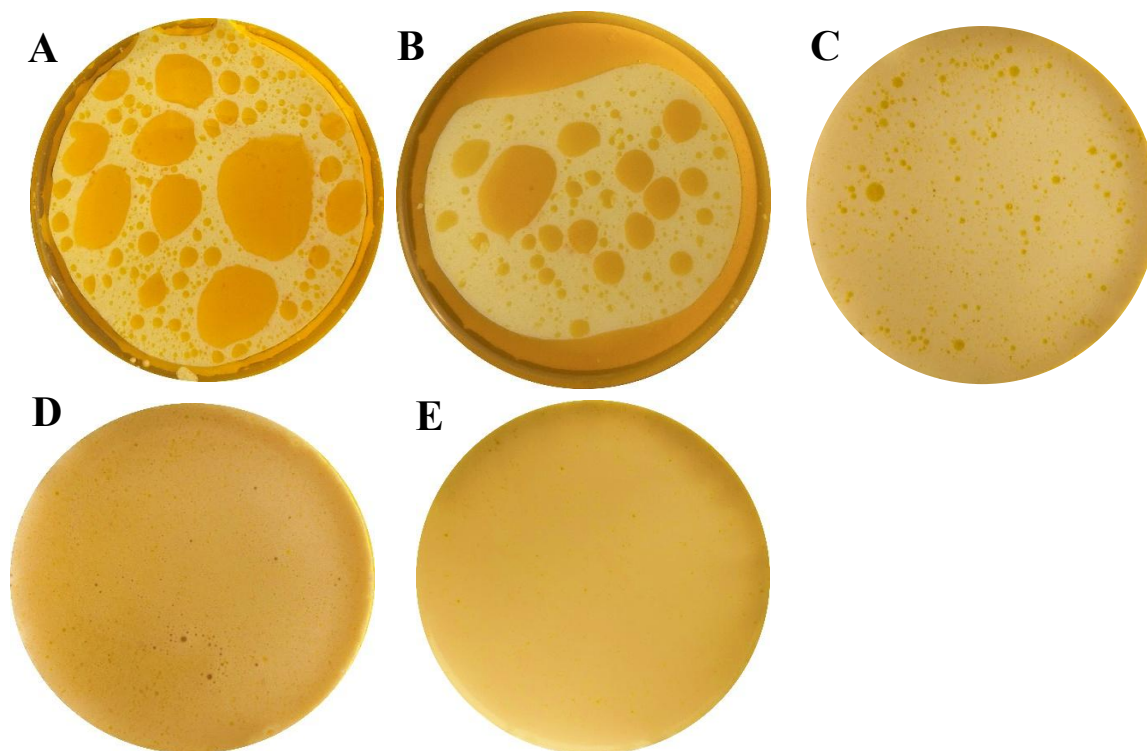
Fonte: Autor (2026).

Como nesta etapa não foram realizadas medições instrumentais de cor, a avaliação baseou-se na análise visual das imagens registradas. Observou-se que, dependendo das

concentrações de PE e de CMC, ocorreu agregação de pigmentos, resultando em distribuição heterogênea na emulsão. Esse fenômeno pode levar à formação de regiões com coloração mais intensa, tornando-as visualmente mais escuras, como evidenciado nos Ensaios 2, 4 e 9.

Na Figura 9 são apresentadas as emulsões preparadas com diferentes concentrações de PE, na ausência de CMC, incluindo pontos fora do modelo do DCCR: 0,58% (m/v) (A), 1% (m/v) (B), 1,48% (m/v): condição ótima obtida da função desejabilidade (C), 3% (m/v) (D) e 3,41% (m/v) (E). O objetivo foi de avaliar a influência da concentração de PE sobre a qualidade da homogeneização.

Figura 9 – Aspecto visual da qualidade de homogeneização das emulsões com PE isolada.



Fonte: Autor (2026).

Conforme observado na Figura 9, as formulações contendo concentrações de PE de 0,58% (A) e 1% (B) de PE não apresentaram concentração suficiente de partículas para a formação adequada das emulsões. A concentração de 1,48% de PE (C), a emulsão apresentou qualidade ruim de homogeneização, com presença visível de gotículas de óleo. Visualmente, observou-se que a emulsão com formulação de 3,41% de PE (E: ótima) apresentou melhor homogeneização do que a formulação de 3% (D: boa), com presença de pequenas gotículas de óleo.

Para concentrações de 0,58 % e 1,0 % de PE, os valores de EAI, ESI e EC não foram determinados, pois não ocorreu formação adequada da emulsão. Embora a função de desejabilidade tenha indicado 1,48 % de PE como condição otimizada, observou-se que, na concentração de 2 % (Ensaio 10 – DCCR), ainda havia presença de várias gotículas visíveis devido ao não encapsulamento do óleo. Considerando que 1,0 % de PE (sem CMC) não resultou na formação da emulsão, esses resultados indicam que a concentração intermediária não garantiria condição de homogeneização, corroborando a necessidade de maiores concentrações para a formação de emulsões mais homogêneas. Nessa concentração de 1,48% de PE, obteve-se valores de EAI ($29,8 \pm 1,3 \text{ m}^2/\text{g}$ (n=3)), ESI ($117,2 \pm 3,8$ minutos (n=3)), EC ($95,2 \pm 1,4 \%$ (n=3)) para a emulsão.

Em contraste, na concentração de 3,0% de PE, a emulsão foi formada de maneira satisfatória, apresentando valores de EAI ($33,4 \pm 2,1 \text{ m}^2/\text{g}$ (n=3)), ESI ($140 \pm 3,9$ minutos (n=3)) e estabilidade centrífuga ($100,0 \pm 0,0 \%$ (n=3)). A concentração de 3,41% de PE, observaram-se valores de EAI ($34,2 \pm 1,9 \text{ m}^2/\text{g}$ (n=3)), ESI de ($145,0 \pm 5,4$ minutos (n=3)) e de estabilidade centrífuga ($100,0 \pm 0,0 \%$ (n=3)), sendo o maior de todos em função da concentração de PE isolada.

3.1.7 Seleção das concentrações das emulsões

De acordo com a análise da superfície de resposta do DCCR, considerando também, os pontos analisados fora do modelo e a função desejabilidade, revelou que a concentração de 3,41% de PE, para emulsões sem CMC e a combinação de 3,41% de PE com 0,7% de CMC, foram responsáveis pela maximização das respostas avaliadas. A concentração de 0,5% de CMC com base nos critérios estabelecidos pela ANVISA (IN nº 286/2024), que recomenda o uso no máximo de 0,5% de CMC como limite prático para aplicações alimentícias, optou-se por selecionar essa concentração de CMC. Os valores das variáveis-resposta apresentados na Tabela 4 foram obtidos a partir das concentrações otimizada das emulsões PE e PE-CMC (0,5%) com valores experimentais e preditos.

Tabela 4 – Variáveis respostas das emulsões de PE e de PE-CMC com valores experimentais e preditos pelo modelo.

Variáveis respostas	Valores experimentais		Valores preditos	
	Tipo de estabilizante		Tipo de estabilizante	
	PE (3,41%)	PE (3,41%) + CMC (0,5%)	PE (3,41%)	PE (3,41%) + CMC (0,5%)
EC (%)	100,0 ± 0,0	95,1 ± 1,5	81,50	96,10
EAI (m^2/g)	34,2 ± 1,9	40,0 ± 2,2	28,65	31,70
ESI (min)	145,0 ± 5,4	171,5 ± 6,5	131,30	149,25
Qualidade de homogeneização	Ótima	Ótima	*	*
AC	57,0 ± 5,7	72,8 ± 5,1	51,40	72,50

Legenda: Média ± desvio-padrão; n=3 (Valores experimentais). * Qualidade de homogeneização avaliada apenas por inspeção visual. Variáveis respostas (EC: estabilidade centrífuga; EAI: índice de atividade emulsificante, ESI: índice de estabilidade emulsificante, AC: ângulo de contato) Fonte: Autor (2026).

Observa-se que os valores preditos das emulsões de PE e de PE-CMC são, em geral, próximos aos valores experimentais. No entanto, os resultados experimentais tenderam a apresentar valores superiores aos preditos, indicando tendência de subestimação do modelo.

Para a EC, as emulsões de PE obtiveram previsão de 81,50 % (Intervalo de Predição (95%): 69,87 – 93,08 %) e experimental de 100,0 % e emulsões PE-CMC 96,10% (Intervalo de Predição (95%): 87,47 – 104,76 %: efeito teto) e experimental de 95,1 %.

Para o EAI, as emulsões de PE obtiveram previsão de 28,65 m^2/g (Intervalo de Predição (95%): 23,40 – 33,91 m^2/g) e experimental de 34,2 m^2/g , e emulsões de PE-CMC obtiveram previsão de 31,70 m^2/g (Intervalo de Predição (95%): 27,78 – 35,62 m^2/g) e experimental de 40,0 m^2/g .

Para o ESI, as emulsões de PE obtiveram previsão de 131,30 minutos (Intervalo de Predição (95%): 78,18 – 184,40 minutos) e experimental de 145 minutos, e emulsões de PE-CMC obtiveram previsão de 149,25 (Intervalo de Predição (95%): 109,70 – 188,80 minutos) e experimental de 171,5 minutos.

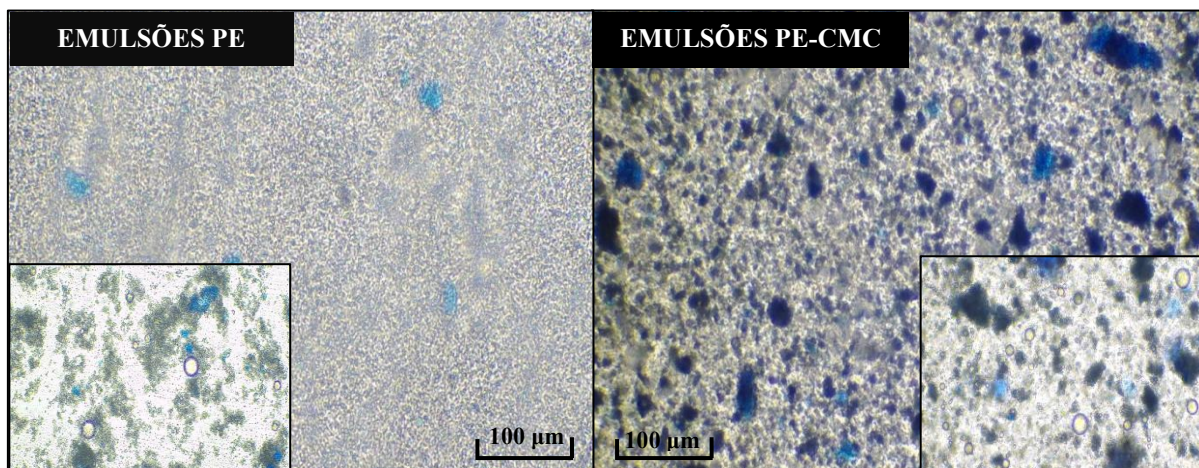
Para o AC, os biopolímeros de PE obtiveram previsão de 51,40° (Intervalo de Predição (95%): 35,12 – 67,62) e experimental de 57,0°. Biopolímeros de PE-CMC obtiveram previsão de 72,50° (Intervalo de Predição (95%): 60,36 - 84,57°) e experimental de 72,8°.

De modo geral, os resultados indicam que o modelo foi capaz de descrever adequadamente o comportamento do sistema, com melhor desempenho para as emulsões de PE-CMC. Assim, o delineamento experimental adotado mostrou-se eficaz na identificação de condições otimizadas, evidenciando que a associação entre PE e CMC promove melhoria nas propriedades interfaciais e na estabilidade global das emulsões.

3.2 Microscopia óptica

As imagens de microscopia óptica das emulsões em pH 7 foram obtidas com o objetivo de analisar a microestrutura do sistema, com foco na avaliação da distribuição da fase contínua e na presença de proteínas livres ou agregadas (Figura 10). Para a coloração das proteínas, utilizou-se o corante Azul de Coomassie Brilliant Blue G-250, que se liga preferencialmente a resíduos básicos (Lys, Arg e His) e as regiões hidrofóbicas acessíveis das cadeias proteicas, permitindo a visualização de proteínas agregadas na fase aquosa (Chaiwong *et al.* 2025). Dessa forma, a coloração com Azul de Coomassie foi empregada como uma ferramenta qualitativa para inferir indiretamente a localização das proteínas livres no sistema, em concordância com abordagens descritas de Cao, Zhao e Xiong (2016), permitindo correlacionar com outras análises do presente estudo.

Figura 10 – Microscopia óptica das emulsões PE e PE-CMC coradas com azul de Coomassie obtidas com objetiva de 10 x (imagem principal) e 40 x (imagem ampliada), visando observação das proteínas no sistema.



Fonte: Autores (2026).

Nas emulsões de PE, observou-se a presença de poucas proteínas livres na fase contínua, o que sugere uma maior associação das proteínas com as gotículas de óleo, possivelmente relacionada à sua atuação na interface. Esse comportamento indica que, na ausência do polissacarídeo, a proteína atua como principal agente emulsificante e estabilizante.

Por outro lado, nas emulsões PE-CMC, verificou-se maior coloração azul dispersa na fase aquosa, indicando uma quantidade mais elevada de proteínas livres ou parcialmente complexadas, que permanecem predominantemente na fase contínua. Esse comportamento indica a formação de complexos proteína-polissacarídeo, resultantes de interações eletrostáticas e hidrofóbicas entre as cadeias de PE e CMC, os quais reduzem a fração de proteína associada às gotículas de óleo.

A interação entre a PE e o CMC promove modificações conformacionais que resultam em uma estrutura interfacial mais flexível e heterogênea, favorecendo rearranjos que expõem regiões anteriormente ocultas da proteína. Consequentemente, a estrutura proteica torna-se mais aberta e acessível, o que facilita a ligação do Azul de Coomassie às regiões hidrofóbicas expostas (Cao, Zhao e Xiong, 2016). Esse comportamento corrobora com as observações de Yu *et al.* (2023), que relataram que as interações entre a PE e a CMC podem promover alterações conformacionais significativas, aumentando a exposição de resíduos hidrofóbicos e influenciando as propriedades emulsificantes dos sistemas.

A estabilidade de emulsões estabilizadas por proteínas pode ser modulada pela presença de polissacarídeos, dependendo da cooperação ou da competição interfacial entre esses biopolímeros. Em sistemas mistos, a proteína geralmente forma a camada primária na interface

óleo-água, enquanto o polissacarídeo pode se associar como camada secundária hidrofílica, promovendo estabilização estérica. Essa estabilização pode ocorrer mesmo quando ambos os biopolímeros apresentam carga líquida negativa, em função da interação do polissacarídeo com domínios de carga oposta presentes na superfície proteica, resultando em aumento da viscosidade do sistema e, conseqüentemente, maior estabilidade da emulsão (Dickinson, 2003; Chaiwong *et al.* 2025).

Esse equilíbrio explica o fato de os valores de EAI e ESI do estudo apresentarem apenas pequeno aumento em relação à PE isolada. A maior exposição de regiões hidrofóbicas favoreceu a emulsificação (com aumento do AC), enquanto a menor fração de proteína efetivamente adsorvida limitou o ganho nesses parâmetros. Esse comportamento evidencia que o tipo de polissacarídeo, interação proteína-polissacarídeo, a proporção de mistura e o pH influenciam diretamente os resultados obtidos.

3.3 Efeito do pH na turbidez

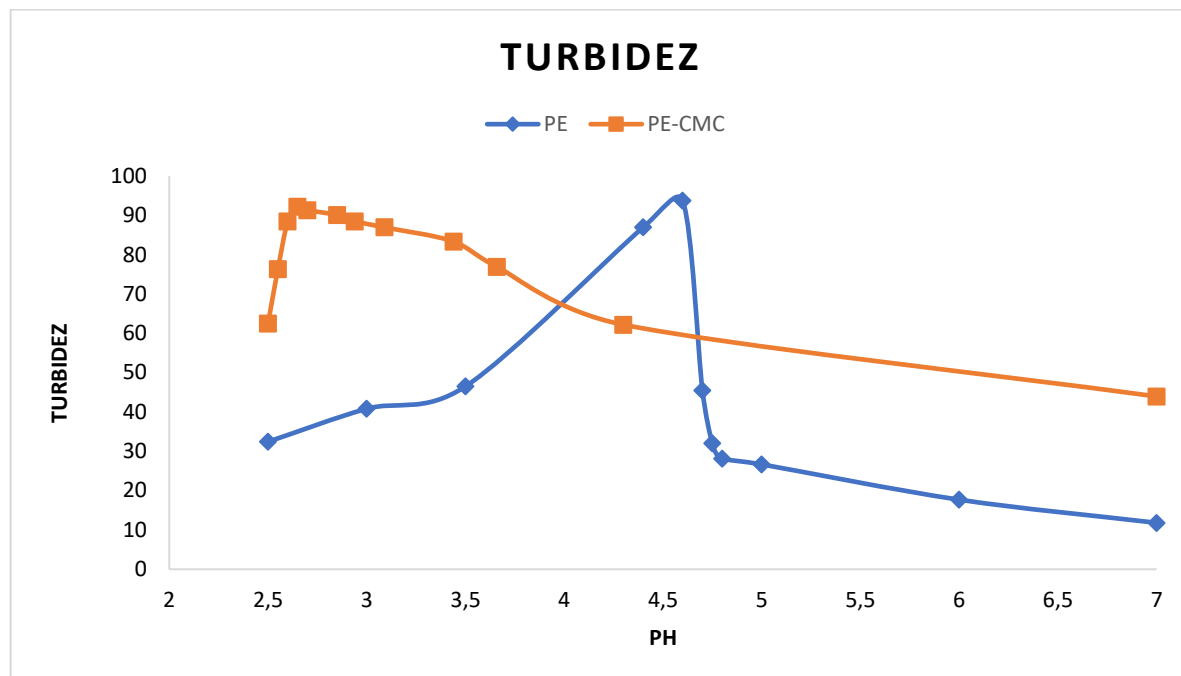
A turbidez dos biopolímeros PE (3,41%) e PE-CMC (3,41% + 0,5%) foi avaliada em função do pH, com o objetivo de identificar o ponto de mínima solubilidade dos sistemas (Figura 11).

A PE isolada apresentou ponto de mínima solubilidade em pH 4,60, corroborando dados reportados na literatura (Yue *et al.* 2021). O complexo PE-CMC apresentou um ponto de mínima solubilidade em cerca de pH 2,65. O comportamento pode ser explicado pelas interações eletrostáticas e pela formação de complexos entre a proteína e o polissacarídeo. Em pHs próximos ao ponto isoelétrico da proteína, sua carga líquida é reduzida, favorecendo agregação e precipitação. Entretanto, a CMC, sendo um polissacarídeo aniônico, aumenta a repulsão eletrostática no complexo, deslocando o ponto de mínima solubilidade para pHs mais ácidos (Zhou *et al.* 2023; Xu *et al.* 2024).

Yue *et al.* (2021), ao estudarem concentrações de PE (3%) e de complexo PE-CMC (3%+0,4%), observaram um potencial zeta correspondentes ao ponto de carga zero em pH 4,80 e pH 2,30, respectivamente. Silva *et al.* (2023), ao testarem diversas proporções de PE e CMC (1:1, 1:2, 1:5 e 2:1, proteína:polissacarídeo) encontraram um potencial zeta de carga zero em pH 4,82 para PE e pH 2 para PE-CMC para todas as proporções. Esses resultados estão diretamente relacionados à turbidez dos sistemas dispersos, uma vez que a técnica permite identificar o grau de agregação das partículas. De modo geral, esses achados evidenciam que essa característica depende da carga líquida da proteína, das interações eletrostáticas com o

polissacarídeo, de possíveis modificações estruturais da proteína e da concentração relativa de cada componente.

Figura 11 – Análise da turbidez dos biopolímeros, PE e PE-CMC em função do pH.



Fonte: Autor (2026).

4 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou a viabilidade da elaboração de emulsões com interface bem formada com óleo de pequi utilizando PE e o complexo PE-CMC como estabilizantes naturais em pH neutro. A aplicação do DCCR evidenciou que a estabilidade do sistema é fortemente dependente da interação entre os biopolímeros, sendo que concentrações mais elevadas de PE e de PE-CMC resultaram em emulsões com propriedades mais adequadas, especialmente em emulsões de 3,41% de PE e 0,5% de CMC.

As análises de turbidez e microscopia óptica indicaram que os mecanismos de estabilização diferem entre os sistemas avaliados, sendo que o sistema PE-CMC apresenta contribuição adicional à fase contínua, favorecendo a manutenção da estabilidade física com deslocamento do ponto isoelétrico da proteína.

Dessa forma, emulsões PE e PE-CMC apresenta elevado potencial para aplicação na indústria de alimentos em pH neutro, especialmente no desenvolvimento de produtos com ingredientes de origem vegetal, rótulos limpos, reforçando o uso de biopolímeros naturais como alternativa sustentável aos surfactantes sintéticos. Além disso, a metodologia adotada fornece

parâmetros precisos para a otimização de sistemas emulsificados à base de proteína vegetal, podendo orientar futuras pesquisas e aplicações industriais.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. *Instrução Normativa n.º 286, de 8 de março de 2024. Altera a Instrução Normativa n.º 211, de 1º de março de 2023*. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 12 mar. 2024.
- BOUCHOUD, Lucie et al. Compatibility of intravenous medications with parenteral nutrition: in vitro evaluation. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 37, n. 3, p. 416-424, 2013.
- BUTT, Hans-Jürgen et al. Contact angle hysteresis. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 59, p. 101574, 2022.
- CAI, Yongjian et al. Enhanced acidic stability of O/W emulsions by synergistic interactions between okara protein and carboxymethyl cellulose. **LWT**, v. 146, p. 111439, 2021.
- CAI, Zhixiang et al. Correlation between interfacial layer properties and physical stability of food emulsions: Current trends, challenges, strategies, and further perspectives. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 313, p. 102863, 2023.
- CAO, Yungang; ZHAO, Jing; XIONG, Youling L. Coomassie Brilliant Blue-binding: a simple and effective method for the determination of water-insoluble protein surface hydrophobicity. **Analytical Methods**, v. 8, n. 4, p. 790-795, 2016.
- CHAIWONG, Nareekan et al. Enhancing solubility, emulsion properties, and antioxidant activity of whey protein powder via wet-heating conjugated with galactooligosaccharides. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 19, p. 101666, 2025.
- CHEN, Hai-Hua et al. A pH-controlled curcumin-loaded emulsion stabilized by pea protein isolate-maltodextrin-epigallocatechin-3-gallate. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 646, p. 129003, 2022.
- COMUNIAN, T. A. et al. Reducing carotenoid loss during storage by co-encapsulation of pequi and buriti oils in oil-in-water emulsions followed by freeze-drying: Use of heated and unheated whey protein isolates as emulsifiers. **Food Research International**, v. 130, p. 108901, 2020.
- DICKINSON, Eric. Protein-stabilized emulsions. In: **Water in foods**. Pergamon, 1994.
- DICKINSON, Eric. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 1, p. 25-39, 2003.
- GALANI, Eleni I. Incorporation of natural bioactive components into matrices to enhance food functionality and shelf-life. Tese (Doutorado em Food Science and Human Nutrition) – Agricultural University of Athens, Atenas, 2024.
- GAO, Xinpeng et al. Analysis of the effect mechanism of wet grinding on the film properties of pea protein isolate based on its structure changes. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 89, p. 103474, 2023.
- HADIDI, Milad et al. Plant protein-based food packaging films; recent advances in fabrication, characterization, and applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 120, p. 154-173, 2022.
- HE, X.; LU, Q. A review of high internal phase *Pickering* emulsions: Stabilization, rheology, and 3D printing application. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 103086, 2024.
- HOU, Wenbo et al. Formation and characterization of solid fat mimetic based on pea protein isolate/polysaccharide emulsion gels. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 1053469, 2022.

- HUANG, Liurong *et al.* Emulsification and encapsulation properties of conjugates formed between whey protein isolate and carboxymethyl cellulose under acidic conditions. **Food Chemistry**, v. 430, p. 136995, 2024.
- JIANG, Peiyun *et al.* Quality Improvement of Pea Protein Isolate-Based Film: Effect of Sodium Carboxymethyl Cellulose on Film. **Starch-Stärke**, v. 76, n. 5-6, p. 2200253, 2024.
- LIU, Miao *et al.* Effect of oleic acid on the dynamic interfacial tensions of surfactant solutions. **Energy & Fuels**, v. 32, n. 5, p. 5868-5876, 2018.
- MARANGON, Crisiane A. *et al.* Formulation of Chitosan/Gelatin/Pequi Oil Emulsions: Rheological, Thermal, and Antimicrobial Properties. **ACS Applied Polymer Materials**, v. 3, n. 11, p. 5826-5835, 2021.
- MCCLEMENTS, D. J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. **Soft Matter**, v. 7, n. 6, p. 2297-2316, 2011.
- NIMAMING, Nisufyan *et al.* Hybrid particles for stabilization of food-grade emulsions: Fabrication principles and interfacial properties. **Trends in Food Science & Technology**, v. 138, p. 671-684, 2023.
- NOOSHKAM, Majid *et al.* Behavior of protein-polysaccharide conjugate-stabilized food emulsions under various destabilization conditions. **Food Chemistry: X**, v. 18, p. 100725, 2023.
- PAUNOV, Vesselin N. *et al.* Emulsions stabilised by food colloid particles: Role of particle adsorption and wettability at the liquid interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 312, n. 2, p. 381-389, 2007.
- QI, Ng Pei; IBRAHIM, Nor Hayati; HASIM, Azlin Shafrina. Effect of Pea Protein Isolate, Carboxymethyl Cellulose, Pectin and Their Interaction on Physicochemical and Oxidative Stability of Oil-in-Water Emulsions. **Universiti Malaysia Terengganu Journal of Undergraduate Research**, v. 1, n. 2, p. 8-18, 2019.
- SCHROËN, Karin *et al.* From theoretical aspects to practical food emulsions: Formation, stabilization, and complexities linked to the use of colloidal food particles. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 103321, 2024.
- SHEVKANI, Khetan *et al.* Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 679-689, 2015.
- SILVA, Aurenice Maria Mota da; ALMEIDA, Flávia; SATO, Ana Carla Kawazoe. Can plant proteins and carboxymethylcellulose coacervates be a tool to vehicle bioactive compounds? In: Anais do Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos e Nutrição (SLACAN), Campinas, SP, v. 1, 2023. Disponível em: <https://proceedings.science/slacan-2023/trabalhos/can-plant-proteins-and-carboxymethylcellulose-coacervates-be-a-tool-to-vehicle-b?lang=pt-br>. Acesso em: 04 dez. 2025.
- SILVA, Jéssica Thaís *et al.* Whey protein isolate microgel properties tuned by crosslinking with organic acids to achieve stabilization of emulsions. **Foods**, v. 10, n. 6, p. 1296, 2021.
- TANG, Dyao *et al.* Effects of Polyphenols on the Structure, Interfacial Properties, and Emulsion Stability of Pea Protein. **Molecules**, v. 30, n. 8, p. 1674, 2025.
- TANG, Qi; ROOS, Yrjö H.; MIAO, Song. Plant protein versus dairy proteins: A pH-dependency investigation on their structure and functional properties. **Foods**, v. 12, n. 2, p. 368, 2023.

TANG, Zonghui *et al.* Fabrication, characterization, and emulsifying properties of complex based on pea protein isolate/pectin for the encapsulation of pterostilbene. **Food Chemistry: X**, v. 18, p. 100663, 2023.

WEI, Yue *et al.* Comparative studies on the stabilization of pea protein dispersions by using various polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 98, p. 105233, 2020.

XIAO, Jie; LI, Yunqi; HUANG, Qingrong. Recent advances on food-grade particles stabilized emulsions: Fabrication, characterization and research trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 55, p. 48-60, 2016.

XU, Liangyun *et al.* Pea protein/carboxymethyl cellulose complexes prepared using a pH cycle strategy as stabilizers of high internal phase emulsions for 3D printing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 269, p. 131967, 2024.

YANG, Jia *et al.* Physical and emulsifying properties of pea protein: influence of combined physical modification by flaxseed gum and ultrasonic treatment. **Food Science and Human Wellness**, v. 12, n. 2, p. 431-441, 2023.

YI, Jiang *et al.* Development of pea protein and high methoxyl pectin colloidal particles stabilized high internal phase emulsions for β -carotene protection and delivery. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106497, 2021.

YUE, Ying *et al.* Interactions between pea protein isolate and carboxymethylcellulose in neutral and acid aqueous systems. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1560, 2021.

YU, Xiaoshuai *et al.* Changes in physicochemical and structural properties of pea protein during the high moisture extrusion process. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 251, p. 126350, 2023.

ZHANG, Lina; LIANG, Renwen; LI, Liang. The interaction between anionic polysaccharides and legume protein and their influence mechanism on emulsion stability. **Food Hydrocolloids**, v. 131, p. 107814, 2022.

ZHOU, Lei *et al.* Effects of carboxymethyl cellulose on the emulsifying, gel and digestive properties of myofibrillar protein-soybean oil emulsion. **Carbohydrate Polymers**, v. 309, p. 120679, 2023.

**ARTIGO 2 - EFEITO DO PH NA ESTABILIDADE DE EMULSÕES COM ÓLEO DE
PEQUI ESTABILIZADAS POR PROTEÍNA DE ERVILHA E COMPLEXO
PROTEÍNA- CARBOXIMETILCELULOSE**

Mateus Vinícius Carvalho Simões

EFEITO DO PH NA ESTABILIDADE DE EMULSÕES COM ÓLEO DE PEQUI ESTABILIZADAS POR PROTEÍNA DE ERVILHA E COMPLEXO PROTEÍNA-CARBOXIMETILCELULOSE

RESUMO

As emulsões à base de proteínas têm se destacado como alternativas aos sistemas convencionais estabilizados por surfactantes artificiais, especialmente diante da crescente demanda da indústria alimentícia por ingredientes naturais e produtos com rótulos limpos. O óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*), abundante no Cerrado brasileiro, tem elevado teor de ácidos graxos insaturados e é rico em compostos bioativos, como carotenoides e compostos fenólicos, que conferem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do pH em emulsões do tipo óleo em água (O/A) para a encapsulação do óleo de pequi, visando à proteção de seus compostos bioativos, utilizando como agentes estabilizantes a proteína isolada de ervilha (PE) e o complexo proteína-carboximetilcelulose (PE-CMC). O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5×2 , avaliando-se o efeito do pH (3, 4, 5, 6 e 7) e do tipo de estabilizante (PE e PE-CMC) sobre o comportamento do sistema. Os resultados evidenciaram interação significativa entre o pH e o tipo de estabilizante, o que impacta diretamente a estabilidade das emulsões. As emulsões de PE apresentaram elevada instabilidade física, caracterizada por floculação acentuada e separação de fases, especialmente nos pHs 4, 5 e 6, atribuída à redução da solubilidade proteica nessas condições, acompanhada do aumento do diâmetro médio das partículas. Em contraste, as emulsões de PE-CMC exibiram maior estabilidade em pH 7, 6 e 5, mantendo a integridade do sistema nesta faixa de pH avaliada. Entretanto, nos pHs 3 e 4, observou-se uma maior separação de fases, associada à formação de complexos proteína-polissacarídeo insolúveis. O comportamento superior das emulsões PE-CMC foi relacionado à combinação de mecanismos de estabilização eletrostática e estérica promovidos pela CMC, resultando na formação de uma barreira interfacial mais espessa e mecanicamente resistente. A análise reológica indicou um comportamento de fluido pseudoplástico. As emulsões de PE-CMC apresentaram maior eficiência na retenção dos compostos bioativos do óleo de pequi quando comparadas às emulsões de PE e ao óleo de pequi. A redução do pH comprometeu essa eficiência em todos os sistemas avaliados. Em relação aos testes de estabilidade, o ciclo de congelamento e descongelamento revelou desempenho inferior das emulsões de PE-CMC em comparação às de PE, enquanto o estresse térmico indicou maior retenção de carotenoides nas emulsões de PE-CMC. A atividade antioxidante variou em função do pH, associada às modificações estruturais. O FTIR não encontrou diferenças das bandas de proteína das emulsões. De modo geral, os sistemas estabilizados com PE e PE-CMC mostraram-se eficazes na estabilização de emulsões contendo óleo de pequi, apresentando comportamento fortemente dependente do pH. Esses resultados evidenciam o potencial das emulsões à base de proteínas como estratégias promissoras para aplicações alimentícias, especialmente no desenvolvimento de produtos com ingredientes naturais.

Palavras-chave: emulsões; óleo de pequi; complexo proteína-polissacarídeo; compostos bioativos; estabilidade físico-química.

1 INTRODUÇÃO

O óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) destaca-se como uma importante fonte natural de compostos bioativos, especialmente carotenoides e compostos fenólicos, além de apresentar elevada proporção de ácidos graxos insaturados. Esses compostos são responsáveis pela coloração característica e por sua reconhecida atividade antioxidante. Apesar de seu elevado potencial nutricional e funcional, a elevada insaturação lipídica torna esse óleo particularmente suscetível à oxidação e à degradação induzidas por fatores ambientais, como a luz, a temperatura e o pH, o que limita sua incorporação direta em sistemas alimentícios processados e compromete sua estabilidade durante o armazenamento (Comunian *et al.* 2024).

Nesse contexto, a encapsulação do óleo de pequi em emulsões à base de proteínas tem sido amplamente investigada como estratégia promissora para aumentar a estabilidade dos sistemas emulsificados. Essas emulsões são estabilizadas por partículas sólidas adsorvidas na interface óleo-água, formando uma barreira física rígida e praticamente irreversível, capaz de reduzir fenômenos como a coalescência, o amadurecimento de *Ostwald* e a degradação oxidativa. Apesar dessas vantagens, a estabilidade das emulsões é fortemente influenciada pelo pH do meio, uma vez que variações de pH alteram o estado de ionização, a molhabilidade e a conformação das partículas estabilizantes. Essas mudanças podem comprometer a afinidade interfacial das partículas, favorecer processos de agregação ou dessorção da interface e, consequentemente, reduzir a eficiência da estabilização. Assim, a compreensão do papel do pH no comportamento interfacial das partículas é fundamental para o desenvolvimento de emulsões estáveis ao longo do tempo, especialmente em sistemas alimentícios sujeitos a diferentes condições de processamento e armazenamento (He; Lu, 2024; McClements, 2011).

Entre os biopolímeros de origem vegetal, a proteína de ervilha (PE) tem sido amplamente investigada como estabilizante interfacial devido à sua natureza anfifílica, à capacidade de adsorção à interface óleo-água e à formação de filmes viscoelásticos. Entretanto, o desempenho estabilizante das proteínas é altamente dependente do pH do sistema, especialmente nas regiões próximas ao seu ponto isoelétrico, nas quais a redução da carga superficial pode favorecer fenômenos de agregação, floculação e instabilidade coloidal. Dessa forma, o uso de proteínas isoladas pode não ser suficiente para garantir estabilidade adequada sob diferentes condições de processamento e armazenamento (Yi *et al.* 2021).

A associação de proteínas com polissacarídeos aniônicos, como a carboximetilcelulose (CMC), surge como uma estratégia eficiente para modular a estabilidade das emulsões em função do pH. O comportamento desses sistemas é governado por interações eletrostáticas

dependentes do estado de ionização dos biopolímeros, podendo resultar na formação de complexos proteína-polissacarídeo solúveis ou insolúveis, conforme o pH do meio. Esses complexos podem promover alterações significativas na espessura, na composição e na resistência mecânica da camada interfacial, além de modificar a viscosidade da fase contínua, contribuindo para melhorias nas propriedades reológicas, na estabilidade físico-química e na proteção de compostos lipofílicos sensíveis, como os carotenoides (Liu *et al.* 2018; Yue *et al.* 2021; Xu *et al.* 2024).

Apesar dos avanços no desenvolvimento de emulsões estabilizadas por biopolímeros, ainda são escassos os estudos que avaliam a influência do pH sobre a estabilidade físico-química e a retenção de compostos bioativos em emulsões que encapsulam óleos ricos em carotenoides, como o óleo de pequi. A compreensão de como o pH regula as interações proteína-polissacarídeo, a estrutura interfacial e a estabilidade coloidal desses sistemas é fundamental para o desenvolvimento de emulsões mais robustas e com maior potencial de aplicação na indústria de alimentos.

Diante desse cenário, o objetivo deste trabalho é elaborar e caracterizar emulsões do tipo óleo em água (O/A) encapsulando o óleo de pequi, estabilizadas por PE e PE-CMC, avaliando suas propriedades físico-químicas e a estabilidade do sistema, com foco na retenção de carotenoides totais sob diferentes condições de pH, visando ao seu potencial de aplicação em futuras formulações alimentícias.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Para a elaboração das emulsões, utilizou-se a PE (0,8% de carboidrato, 80% de proteína, 1,5% de gordura total, 0,5% de fibra alimentar, em base seca), adquirida da Wenutri, São Paulo. A CMC (0,9 grau de substituição, viscosidade de 3500 cP) adquirida da Adicel, Belo Horizonte. O óleo da polpa de pequi foi adquirido da Aroma D'Minas, (Monte Carmelo). Os demais reagentes utilizados no estudo foram citados ao longo do trabalho.

2.2 Métodos

2.2.1 Planejamento experimental

O experimento foi conduzido em um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), em esquema fatorial 5×2, com cinco níveis de pH (3, 4, 5, 6 e 7) e dois tipos de estabilizante

(PE e PE-CMC) em três repetições, o que permite avaliar os efeitos do pH, do tipo de estabilizante e da interação entre esses fatores sobre o comportamento do sistema emulsionado.

2.3 Elaboração dos biopolímeros

Para o preparo dos biopolímeros foi utilizada a metodologia modificada de Xu *et al.* (2024). Inicialmente, A PE foi dispersa em 100mL de água destilada na concentração de 6,82% (m/v), à temperatura ambiente (25 °C), sob agitação magnética a 500 rpm por 3 horas, para garantir a hidratação completa da proteína. Em seguida, o pH da solução foi ajustado de 7 para 12 com NaOH 4 M, e a solução foi agitada por 1 hora. Posteriormente, o pH foi neutralizado para 7 com HCl 1 M. Em seguida, a solução de proteína foi submetida a um tratamento térmico (85 °C/30 min) para promover a desnaturação proteica e resfriada até a temperatura ambiente (25 °C). Simultaneamente, 1,0 g de CMC foi dispersa em 100mL de água destilada sob agitação magnética (500 rpm) a 25 °C por 3 horas. Ambas as dispersões (PE e CMC) foram então incubadas a 4 °C por 12 horas, para garantir a hidratação completa dos polímeros. Após a hidratação, as soluções de PE e CMC foram misturadas na proporção de massa 1:1 e mantidas sob agitação magnética (500 rpm) por 30 minutos, resultando em uma mistura final com 3,41% (m/v) de PE e 0,5% (m/v) de CMC. A dispersão de PE foi diluída em água destilada na proporção 1:1, resultando em uma concentração final de 3,41% (m/v) de PE.

2.4 Elaboração das emulsões

As emulsões foram preparadas utilizando óleo de pequi (10% m/v) como fase oleosa e uma fase aquosa composta por biopolímeros (90% m/v). A pré-homogeneização das emulsões foi realizada em homogeneizador do tipo hélice (Ika Rw 20, Brasil) a 2500 rpm por 10 minutos, seguida de sonicação com ultrassom de ponteira (Branson, México) por 3 minutos, com amplitude de 60% e potência de 240 W.

Como as emulsões foram caracterizadas em função do tempo (60 dias) em algumas análises, foi utilizado o conservante benzoato de sódio (0,02% (m/v)), concentração conhecida por impedir o crescimento e a deterioração por microrganismos (Ramos *et al.* 2023). Para o ajuste de pH, foi utilizado HCl 0,5M, visto que as emulsões, após o preparo inicial apresentavam pH inicial de 7.

2.5 Diâmetro médio de gotícula e microscopia óptica

O diâmetro médio das gotículas foi determinado por meio da análise das imagens no microscópio óptico (Olen, Brasil) e do software ImageJ, a partir da medição de 100 gotículas selecionadas aleatoriamente. A calibração da escala microscópica foi realizada com régua micrométrica, considerando cada divisão equivalente a 100 μm (adaptado de Zhang *et al.* 2024).

A microestrutura das emulsões foi avaliada por microscopia óptica, utilizando o mesmo equipamento, equipado com câmera digital acoplada e o software S-Eye para a captura de todas as imagens. As amostras foram analisadas imediatamente após o preparo, após diluição de 1:3 em água destilada, empregando ampliações de 10 $\times$ e 40 $\times$ (Xu *et al.* 2024).

2.6 Potencial Zeta

O potencial zeta das emulsões foi determinado por dispersão dinâmica de luz (DLS), utilizando um Zetasizer Nano (Malvern Instruments Ltd., Reino Unido). As amostras foram diluídas na proporção 1:1000 em água ultrapura ajustada ao respectivo pH de cada sistema e transferidas para cubetas descartáveis de poliestireno com eletrodos (adaptado de Xu *et al.* 2024). As medições foram realizadas a 25 °C, com processamento dos dados pelo *Zetasizer Software* e os índices de refração adotado para o óleo de pequi e para a fase aquosa foram de 1,42 e 1,33, respectivamente.

2.7 Determinação do índice de cremação

O índice de cremação (CI) foi utilizado como parâmetro para avaliar a estabilidade física das emulsões, conforme descrito por Rawal *et al.* (2025). O método baseou-se na quantificação da separação de fases, por meio da medição da altura da camada de soro (fase aquosa) e da altura total da emulsão no tempo 0 e após 60 dias. Após o preparo, as amostras foram transferidas para tubos graduados de 20 mL, devidamente selados e armazenados à temperatura ambiente (25 °C). O índice de cremação foi calculado como a razão percentual entre a altura da camada de soro (H_s) e a altura total da emulsão (H_t) no tempo, conforme Equação 1.

$$\text{Índice de cremação (\%)} = \frac{H_s}{H_t} * 100 \quad (1)$$

2.8 Estabilidade de centrifugação

A estabilidade das emulsões foi avaliada por centrifugação, segundo a metodologia adaptada de Xu *et al.* (2024), determinando-se a tendência de separação acelerada de fases. As emulsões foram transferidas para tubos de ensaio de 15 mL e centrifugadas em centrífuga (Fanen, Brasil) a 3600 rpm por 15 min e sua estabilidade foi calculada com a Equação 2.

$$\text{Estabilidade centrífuga (\%)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1} * 100 \quad (2)$$

Em que, m_1 é a massa total da emulsão antes da centrifugação, m_2 é a massa da remoção de água e óleo por centrifugação (fase aquosa separada).

2.9 Análises reológicas

O perfil reológico das emulsões foi determinado a 25 °C com o auxílio de um viscosímetro rotacional de cilindros concêntricos (Brookfield DVIII Ultra, Brookfield Engineering Laboratories, EUA). As análises foram realizadas empregando o spindle SC4-31 e uma rampa crescente de taxa de deformação variando de 5,1 a 85 s⁻¹. Para determinar o perfil de fluxo dos fluidos, o modelo da Lei da Potência (Equação 3) foi ajustado aos dados de tensão de cisalhamento e de taxa de deformação (Steffe, 1996).

$$\sigma = k\dot{\gamma}^n \quad (3)$$

Em que, σ é a tensão de cisalhamento (Pa), k é o índice de consistência (Pa.sⁿ), $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s⁻¹) e n é o índice de comportamento de fluxo (adimensional).

2.10 Estudo cinético

Os efeitos do armazenamento sobre a degradação dos carotenoides nas emulsões foram avaliados por meio do ajuste dos dados experimentais ao modelo de primeira ordem (Adaptado de Li *et al.* 2021). Os carotenoides foram monitorados ao longo de 60 dias de armazenamento (0,15, 30, 45 e 60 dias) após a encapsulação. A constante de taxa de degradação (k) foi calculada

de acordo com a Equação 4 e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) foi determinado de acordo com a Equação 5:

$$-\ln \frac{C_t}{C_o} = k.t \quad (4)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (5)$$

Para a extração dos carotenoides utilizou-se a metodologia adaptada de Comunian *et al.* (2020). Uma amostra (1 g) foi diluída em solução de citrato de sódio a 2% (m/v) para ajustar a força iônica e facilitar a separação das fases das emulsões. A amostra foi agitada em vórtex por 1 minuto e, em seguida, submetida a um banho ultrassônico por 20 minutos para liberação do óleo da matriz coloidal. Em seguida, foi adicionado um volume específico de hexano grau HPLC (Êxodo Científica, Brasil) à mistura, que foi centrifugada (Fanen, Brasil) a 3500 rpm por 15 minutos a 25 °C. O sobrenadante (fase hexano) foi analisado em espectrofotômetro Uv-vis em comprimento de onda de 450 nm e o teor de carotenoides totais foi calculado de acordo com a Equação 6:

$$\text{Carotenoides totais} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Abs} \cdot v \cdot 10^4}{m \cdot 2500} \quad (6)$$

Em que, Abs = Absorbância; v = volume de hexano adicionado (mL); m = massa da amostra (g); 2500 = coeficiente de extinção médio de mistura de carotenoides.

O óleo de pequi livre foi utilizado como referência para comparação dos resultados, tendo pH nativo de 4,80 e ajustado aos pH's correspondentes com HCl 0,5M ou NaOH 1M.

2.11 Análise de cor das emulsões

A análise de cor foi realizada utilizando um colorímetro Konica Minolta (modelo CM-5), com o objetivo de monitorar as alterações cromáticas das emulsões durante um período de 60 dias (0 e 60 dias após a encapsulação), sob temperatura de armazenamento de 25 °C, correspondente à condição de acompanhamento da estabilidade dos carotenoides (adaptado de Guo *et al.* 2025). Os parâmetros de cor foram avaliados por meio do sistema CIE Lab*, em que L* corresponde à luminosidade da amostra (variando de 0 = preto a 100 = branco), a* representa a variação cromática no eixo verde-vermelho (valores negativos indicam tonalidade esverdeada e valores positivos indicam tonalidade avermelhada), b* expressa a variação no eixo azul-

amarelo (valores negativos indicam tonalidade azulada e valores positivos indicam tonalidade amarelada), saturação da cor (Chroma) calculada pela Equação 7 e a diferença total de cor (ΔE) calculada pela Equação 8:

$$C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (7)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (8)$$

2.12 Testes de estabilidade das emulsões

2.12.1 Estabilidade ao ciclo de congelamento e descongelamento

Foi realizado 1 ciclo de congelamento durante um período total de 24 horas, sendo a etapa de congelamento conduzida a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ em freezer doméstico (Refrigerador Brastemp GE FrostFree, Brasil) e a etapa de descongelamento realizada à temperatura ambiente por 5 horas em bancada (adaptado de Dai *et al.* 2023). Após o ciclo, foram observadas possíveis alterações visuais e a separação de fases para avaliar a estabilidade das emulsões frente ao estresse físico.

2.12.2 Estabilidade ao estresse térmico

O tratamento térmico foi conduzido a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos, simulando condições de processamento térmico moderado, utilizando banho-maria (adaptado de Singh *et al.* 2022). Após o tratamento, foram avaliadas a retenção de carotenoides totais nas emulsões, e a fotografias para análise visual das alterações estruturais. O óleo de pequi foi utilizado como amostra de comparação.

Para o cálculo da retenção de carotenoides totais após o estresse térmico, utilizou-se a equação 9:

$$\text{Retenção de carotenoides totais (\%)} = \frac{C_x}{C_i} * 100 \quad (9)$$

Onde C_x representa a concentração de carotenoides após o estresse e C_i corresponde à concentração inicial de carotenoides nas emulsões.

2.13 Atividade antioxidante (ABTS e DPPH)

2.13.1 Determinação da capacidade antioxidante das emulsões pelo ensaio do cátion radical ABTS•+

A capacidade antioxidante das emulsões foi avaliada pelo método de captura de radicais livres ABTS•+, seguindo a metodologia de Li, Jiang e Shi, (2024). Os radicais ABTS•+ foram gerados misturando uma solução de 7 mmol/L de ABTS com 2,45 mmol/L de persulfato de potássio (K₂S₂O₈) na proporção volumétrica de 2:1. A mistura foi incubada no escuro a 20 °C por 16 horas, permitindo a formação completa dos radicais. Após o período de incubação, a solução foi diluída em etanol até atingir uma absorbância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm, medida em espectrofotômetro UV-*vis*. Para a determinação da atividade antioxidante, a amostra de 20 µL foi misturada à solução de ABTS•+ preparada e mantida a 20 °C por 6 minutos. Em seguida, a atividade antioxidante foi medida na região de comprimento de onda de 734 nm, conforme a Equação 10.

$$\text{Atividade sequestrante de radicais ABTS} \bullet + (\%) = \frac{(\text{Abs controle} - \text{Abs amostra})}{\text{Abs controle}} \times 100 \quad (10)$$

Em que, Abs controle é a absorbância do branco e Abs amostra é a absorbância da amostra (emulsão).

2.13.2 Determinação da capacidade antioxidante das emulsões pelo ensaio do cátion radical DPPH nas emulsões

A atividade sequestrante de radicais das emulsões foi avaliada pelo método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) conforme a metodologia de Fazelioukouei *et al.* (2023). Primeiramente, 50 µL das emulsões foram misturados a 2 mL de uma solução etanólica de DPPH (0,1 mM) e incubados a 25 °C por 30 minutos, em ambiente escuro, para evitar a degradação do DPPH pela luz. Como controle, foram utilizados 50 µL de água destilada em lugar das emulsões, enquanto o etanol foi usado como branco. Após o período de incubação, a absorbância das amostras foi medida a 517 nm em um espectrofotômetro UV-Vis. A atividade antioxidante, expressa como a capacidade sequestrante de radicais DPPH, será calculada utilizando a Equação 11:

$$\text{Atividade sequestrante de radicais DPPH} (\%) = \frac{(\text{Abs controle} - \text{Abs amostra})}{\text{Abs controle}} \times 100 \quad (11)$$

Em que, Abs controle é a absorbância da amostra controle e Abs amostra é a absorbância da amostra (emulsão).

2.15 Estabilidade oxidativa acelerada

A estabilidade oxidativa das emulsões foi avaliada conforme a metodologia adaptada de Comunian *et al.* (2020), a fim de determinar a formação de peróxidos e a resistência das emulsões à degradação lipídica. As análises foram realizadas em um equipamento Rancimat 743 (Metrohm, Suíça), no qual 6,5 g de amostra foram submetidos a um fluxo de ar seco, limpo e filtrado (20 L/h), sob aquecimento a 120 °C. O método baseia-se no monitoramento contínuo da condutividade elétrica da célula de medida, permitindo registrar o tempo decorrido entre o início da análise e o ponto de inflexão da curva de condutividade, denominado período de indução.

2.16 Espectroscopia do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As emulsões foram liofilizadas e analisadas em um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (Tensor27, Alemanha). As emulsões foram maceradas e combinadas com KBr na proporção 1:150. Os interferogramas foram coletados com 100 varreduras, resolução de 2 cm⁻¹ e faixa espectral de 400 a 4000 cm⁻¹ (Fazelioskouei *et al.* 2023).

2.17 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados utilizando o programa estatístico SISVAR 5.8 (Build 92) para análise de variância (ANOVA), seguido por teste de Tukey de comparação médias (nível de significância 5%).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Diâmetro médio de gotículas e microscopia óptica

3.1.1 Diâmetro médio de gotículas

O diâmetro médio das gotas de óleo foi determinado por meio de microscopia óptica, utilizando uma régua de calibração com divisões. Os resultados referentes ao tamanho de partícula encontram-se apresentados na Tabela 1. A análise estatística indicou efeito significativo ($p < 0,05$) para os fatores pH, tipo de estabilizante, bem como para a interação entre ambos, evidenciando que o efeito do estabilizante sobre o tamanho de partícula varia em função do pH da emulsão.

Tabela 1 – Diâmetro médio de partículas das emulsões PE e PE-CMC em função do pH.

Diâmetro médio de partícula (μm)					
Estabilizante	pH				
	7	6	5	4	3
PE	5,73 $\pm$ 0,42 Ba	7,77 $\pm$ 0,64 Aa	8,50 $\pm$ 0,60 Aa	4,57 $\pm$ 0,30 Ca	4,20 $\pm$ 0,31 Cb
PE-CMC	6,13 $\pm$ 0,72 ABa	5,50 $\pm$ 0,62 ABb	5,07 $\pm$ 0,35 Bb	5,17 $\pm$ 0,51 Ba	6,47 $\pm$ 0,42 Aa

Legenda: Média $\pm$ desvio padrão ($n = 3$). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de *Tukey*. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os valores de pH para um mesmo estabilizante (linha), enquanto letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os estabilizantes para um mesmo valor de pH (coluna). Fonte: Autor (2026).

Para PE em pH 7,0, observou-se um diâmetro médio de partícula de 5,73 μm , condição, em que as moléculas de PE apresentam elevada carga líquida negativa, promovendo forte repulsão eletrostática entre as gotículas recobertas por proteína. Essa repulsão reduz a tendência à agregação, favorecendo uma dispersão uniforme e contribuindo para a estabilidade cinética da emulsão. Com a redução do pH para 6,0 e para pH 5,0, verificou-se um aumento no diâmetro médio de partícula, atingindo 7,77 μm e 8,50 μm , respectivamente. Esse comportamento é característico de processos de floculação e indica desestabilização do sistema. À medida que o pH se aproxima do ponto isoelétrico da PE (aproximadamente 4,6), diminui-se a solubilidade proteica, o que enfraquece as forças de repulsão entre as gotículas. Como consequência, interações atrativas, como as forças de *van der Waals*, tornam-se predominantes, levando à agregação proteína-proteína e à formação de flocos visíveis, o que se reflete no aumento do

diâmetro médio de gotículas (Nooshkam *et al.* 2023).

Quando o pH foi reduzido para valores abaixo do ponto isoelétrico, especificamente para pH 4,0 e 3,0, observaram-se tamanhos médios de gotículas de 4,57 e 4,20 μm , respectivamente. Nessas condições, as moléculas de PE adquirem carga líquida positiva, o que restabelece a repulsão eletrostática entre as gotículas e minimiza a agregação. O comportamento em pH 3,0 é consistente com o relatado por Sridharan *et al.* (2020), que destacam que as frações solúveis (55% de solubilidade) da PE atuam como os principais agentes estabilizantes, formando uma camada interfacial carregada positivamente e estável ao redor das gotículas de óleo.

A adição de CMC modificou o comportamento das emulsões, especialmente no pH em que a PE isolada apresentou desempenho limitado. Em pH 7, o diâmetro médio de partícula foi de 6,13 μm . Embora ambos os biopolímeros apresentem carga negativa nesta condição, a CMC promoveu a estabilização por meio de um mecanismo de barreira estérica. O aumento da viscosidade da fase contínua reduziu a mobilidade das gotículas, dificultando sua aproximação e prevenindo coalescência.

O estudo de Wei *et al.* (2020) investigou o efeito da concentração de CMC (0 a 0,8%) sobre o diâmetro médio das partículas em dispersões de PE em pH 7,0. A PE isolada (1%) apresentou partículas de 505 nm, que aumentaram para 1238 nm com 0,4% de CMC. Com o aumento para 0,5%, o tamanho diminuiu para 850 nm, sugerindo uma estrutura mais compacta e estável, reforçada pela maior viscosidade da fase contínua.

Em pH 6, 5 e 4, os diâmetros médios de partícula das emulsões foram de 5,50, 5,07 e 5,17 μm , respectivamente. A diferença dos diâmetros médios é significativa nos pH 6 e 5, onde o sistema PE-CMC apresentou gotículas menores em comparação com o PE isolado, demonstrando que a CMC minimizou o diâmetro médio de gotículas na faixa do ponto isoelétrico.

Em pH 3,0, o sistema apresentou o maior diâmetro médio de partícula de 6,47 μm , indicando que a alta carga positiva da PE nessa condição promoveu uma complexação excessiva com a CMC (negativa), favorecendo a formação de agregados de maior tamanho e resultando na desestabilização do sistema, devido à coacervação complexa entre os biopolímeros. Nessa condição, em vez de formar uma camada solúvel e homogênea ao redor das gotículas, os biopolímeros tendem a se associar massivamente, promovendo instabilidade (Schmitt e Turgeon, 2011).

No estudo de Wei *et al.* (2020) observou-se que, em pH 3,5, a adição de CMC reduziu o diâmetro médio de partícula até a maior concentração avaliada (0,8%), indicando que, nessa condição, as interações eletrostáticas entre os biopolímeros foram mais balanceadas, favorecendo a formação de complexos interfaciais estáveis. Entretanto, quando aplicadas a sistemas emulsionados, essas interações podem apresentar comportamentos distintos.

3.1.2 Microscopia óptica

A análise das microestruturas das emulsões de PE e de PE-CMC, em diferentes valores de pH (Figura 1), foi realizada para compreender como as interações entre os biopolímeros e o meio afetam a organização e a estabilidade do sistema, permitindo observar o arranjo e a distribuição das gotículas e relacioná-los ao comportamento estabilizante.

Em pH 7, as emulsões de PE apresentaram distribuição das gotículas de óleo uniforme e com estabilidade elevada, atribuída à desprotonação dos grupos carboxila, que gera carga negativa e promove repulsão eletrostática entre as gotículas, prevenindo a floculação e a coalescência (Barac *et al.* 2010). As emulsões PE-CMC também exibiram boa dispersão das gotículas e formação de complexos estabilizantes. A presença de pequenas floculações no sistema sugere o fenômeno de floculação por pontes poliméricas, em que a CMC, um polissacarídeo aniônico de alto peso molecular, pode adsorver-se parcialmente às gotas recobertas por proteína, mantendo porções livres capazes de interagir com gotas adjacentes, formando pontes. Esse comportamento é consistente com os resultados reportados por Yang *et al.* (2011) e French *et al.* (2015), sendo que este último apresentou evidências por meio de imagens do fenômeno destacando dois pré-requisitos para esse tipo de floculação: (i) partículas estabilizadoras hidrofílicas, com ângulo de contato inferior a 90°, e (ii) concentração insuficiente de partículas para promover o recobrimento completo da interface, caracterizando efeito de saturação superficial.

À medida que o pH se aproxima do ponto isoelétrico da PE ($pI \approx 4,6$), observa-se o aumento do diâmetro médio de gotículas nas emulsões de PE. Em pH 6 surgem os primeiros sinais de agregação, que se intensificam em pH 5, com floculação acentuada e formação de grandes aglomerados de proteínas, resultando em completa desestabilização. Em pH 4, a emulsão apresenta agregados volumosos decorrentes da baixa solubilidade (~20%) e da reduzida capacidade emulsificante (Liang e Tang, 2013), embora com interface ligeiramente mais robusta que nos pH 5 e 6. Em contraste, as emulsões PE-CMC permanecem relativamente homogêneas nos pH 6 e 5, ainda apresentando floculação por ponte polimérica, mas com ação estabilizante da CMC, impedindo agregação por repulsão estérica.

Em pH 3, as emulsões de PE exibiram boa distribuição das gotículas, com pequenos agregados proteicos, possivelmente decorrentes da solubilização parcial das frações proteicas. Nesse pH, uma parte das subunidades permanece solúvel, enquanto outra tende à autoagregação, formando partículas maiores. Shidharan *et al.* (2020) demonstraram que, em pH 3, a maior parte da proteína se encontra na forma de moléculas individuais menores, o que favorece a migração e a adsorção na interface óleo-água. As moléculas individuais solúveis podem recobrir até 47% da superfície interfacial, enquanto os agregados recobrem cerca de 3,2%. Por outro lado, as emulsões PE-CMC em pH 3–4 exibiram agregação intensa e formação de grandes flocos. Nessa faixa, a PE encontra-se positivamente carregada e interage fortemente com o CMC, negativamente carregado, formando complexos insolúveis (coacervados). Wei *et al.* (2020) relataram comportamento análogo em sistemas PE–CMC em pH 3,5 e o estudo de Silva, Almeida e Sato (2023) sobre a coacervação complexa entre PE e CMC apresentou imagens que corroboram os resultados observados no presente trabalho.

Figura 1 – Microscopia óptica das emulsões PE e PE-CMC em diferentes valores de pH (7 a 3), obtidas com objetiva de 10× (imagem principal) e de 40× (imagem ampliada).

(Continua)

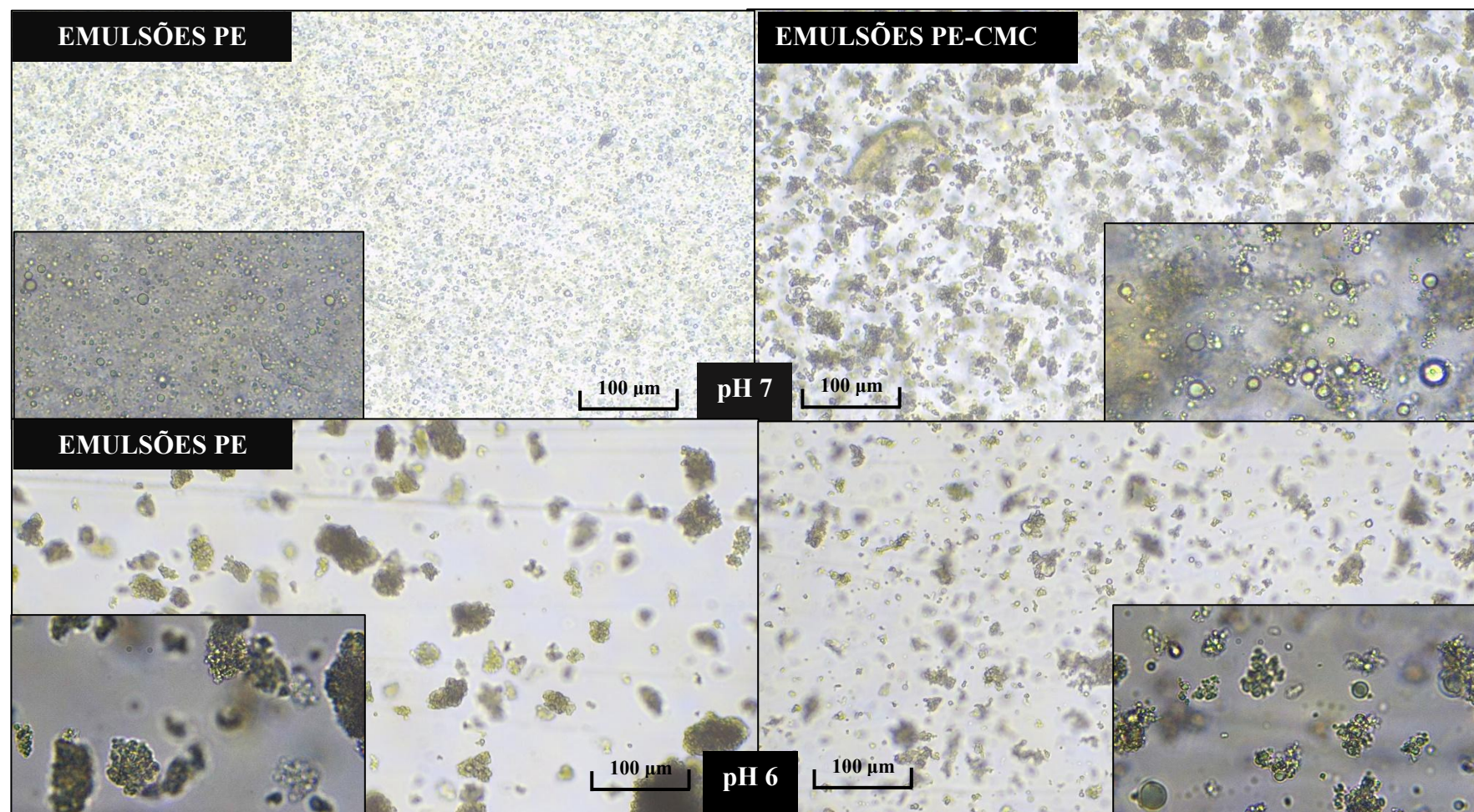


Figura 1 – Microscopia óptica das emulsões PE e PE-CMC em diferentes valores de pH (7 a 3), obtidas com objetiva de 10× (imagem principal) e de 40× (imagem ampliada).

(Continua)

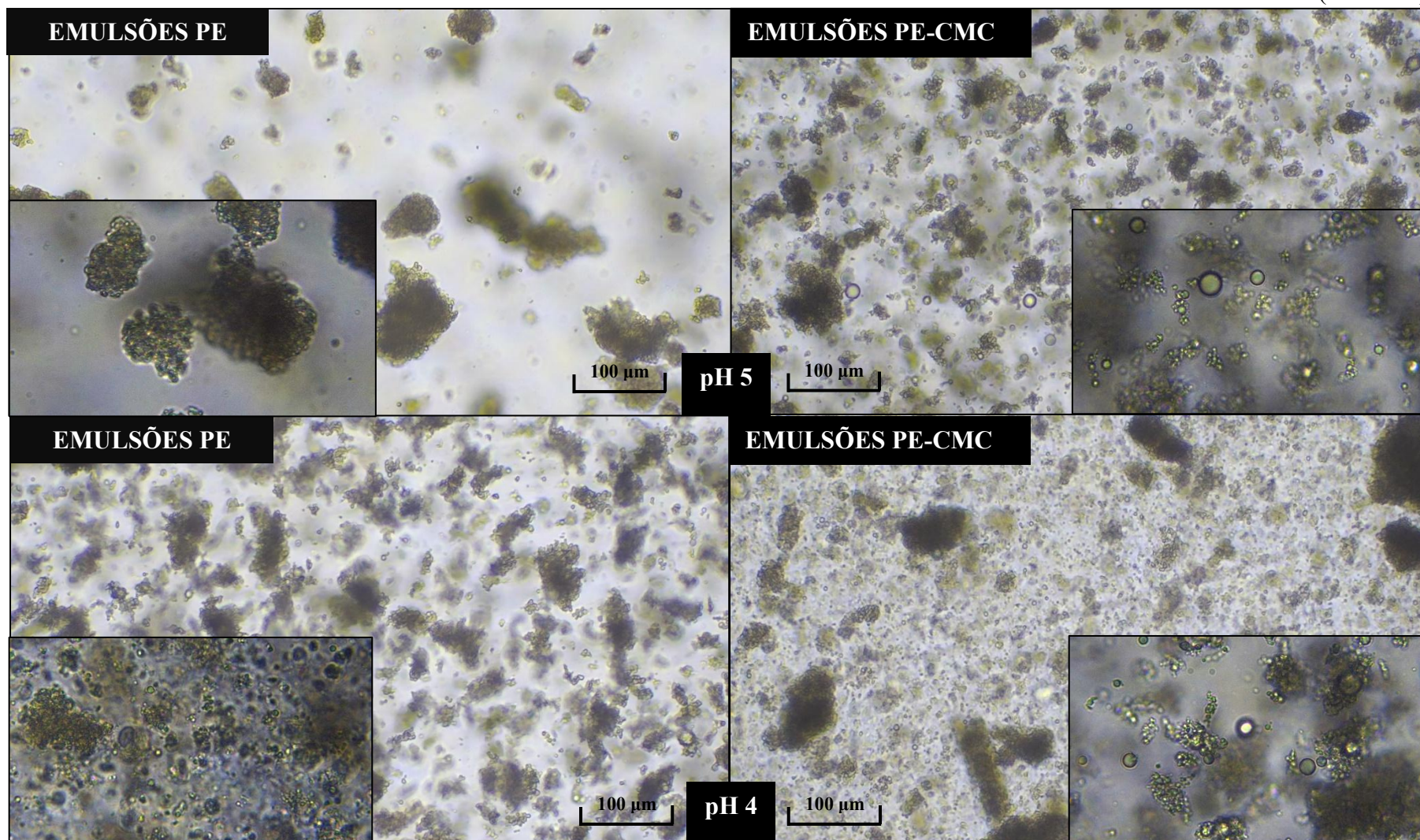
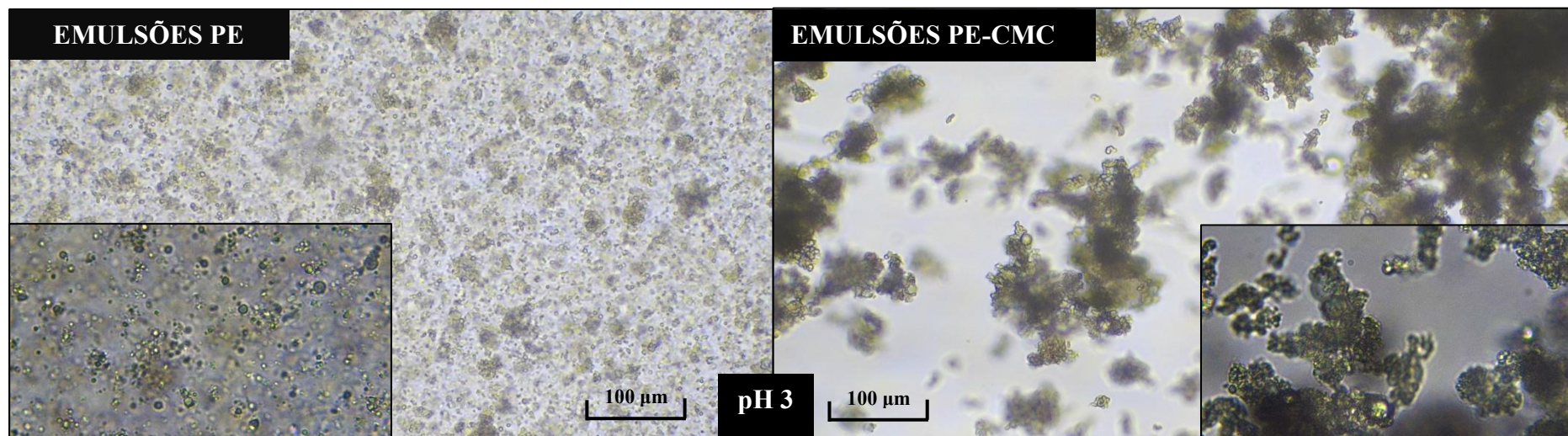


Figura 1– Microscopia óptica das emulsões PE e PE-CMC em diferentes valores de pH (7 a 3), obtidas com objetiva de 10× (imagem principal) e de 40× (imagem ampliada).

(Conclusão)



Fonte: Autor (2026).

3.2 Potencial Zeta

Os resultados do potencial zeta das emulsões estão apresentados na Tabela 2. A análise estatística indicou efeito significativo ($p < 0,05$) para os fatores pH, o tipo de estabilizante e a interação entre ambos, evidenciando que o efeito do tipo de estabilizante sobre o potencial zeta varia em função do pH da emulsão e impacta diretamente a carga superficial das gotículas.

Em emulsões de PE, o potencial zeta apresentou valor de $-40,00$ mV em pH 7. No entanto, com a acidificação do meio, observou-se uma queda acentuada nessa magnitude, atingindo o valor mínimo de $-22,16$ mV em pH 3. O fato do potencial zeta permanecer negativo em pH ácido sugere a formação de uma interface quimicamente dominada pelos constituintes lipídicos do óleo de pequi, sobrepondo-se à carga proteica. Emulsões com valores acima de $|30$ mV, são consideradas relativamente estáveis porque as forças repulsivas são maiores que as forças atrativas, e valores entre $|20\text{mV}|$ e $|30$ mV de estabilidade moderada (Comunian *et al.* 2020).

Os valores de potencial zeta, variando de -25 a -20 mV encontrados neste estudo indicaram a formação de camada interfacial carregada negativamente, tal comportamento semelhante foi relatado por Pereira *et al.* (2025) ao elaborem nanoemulsões com óleo de pequi. O estudo de Comunian *et al.* (2020) elaborou emulsões coencapsulando óleo de pequi e buriti (1:2) utilizando whey protein (4%) com e sem modificações térmicas (1:3, óleo:água) em pH 6, e obteve um zeta de -43 e -50 mV, respectivamente. Segundo os autores, tal comportamento observado do zeta no whey modificado deve-se à desnaturação proteica, à exposição de grupos ionizáveis (grupos carboxílicos e sulfidrilas) e à contribuição lipídica do óleo de pequi e de buriti.

A predominância de carga negativa observada no presente estudo pode ser atribuída à composição complexa do óleo de pequi, que é rico em espécies anfifílicas naturais, predominantemente ácido oleico (50–60%) e palmítico (30–40%), além de mono e diglicerídeos. Estes compostos atuam como surfactantes aniônicos naturais. Devido à sua baixa massa molecular, tais lipídeos possuem uma cinética de difusão superior à das macromoléculas proteicas, difundindo mais rapidamente para a interface óleo-água e contribuindo a uma carga negativa predominante (Liu *et al.* 2018; Sena *et al.* 2010). A ocorrência desta adsorção competitiva é corroborada por Wang *et al.* (2024), que demonstraram que mono e diglicerídeos competem ativamente com frações da PE, reduzindo a presença proteica na interface e modificando as propriedades físico-químicas da emulsão.

O estudo de Kowalczyk *et al.* (2024) avaliou a interação entre a PE e o ácido oleico em sistemas filmogênicos e confirmou a alta interação de interface entre os componentes. Estudos com partículas hidrofobizadas com ácido oleico mostram que seus grupos carboxílicos tornam as emulsões sensíveis ao pH: a desprotonação em pH elevado aumenta a carga negativa e a estabilidade, enquanto a protonação em pH ácido reduz o potencial zeta e favorece a coalescência (Udoetok, Wilson e Headley, 2016). O estudo de Jiang *et al.* (2025) confirma esse comportamento, registrando potenciais zeta de $-39,16 \pm 5,09$ mV em pH 5 e de $-61,36 \pm 2,68$ mV em pH 9. Esse mecanismo, característico do ácido oleico (principal componente do óleo de pequi), explica a manutenção da carga negativa das emulsões.

Emulsões PE-CMC apresentaram valores de potencial zeta elevados e ao longo de toda a faixa de pH, variando de $-56,94$ a $-45,57$ mV, superiores aos observados nas emulsões PE. A incorporação de CMC, um polissacarídeo aniônico, intensificou a estabilização eletrostática ao aumentar a densidade de carga negativa na interface, somando-se à contribuição dos constituintes anfifílicos do óleo de pequi. Observa-se uma redução gradual da magnitude do zeta em meios mais ácidos, efeito semelhante ao observado nas emulsões de PE. Contudo, em emulsões PE-CMC, essa diminuição também está associada à menor solubilidade e à maior protonação do CMC em pH baixo, fatores que reduzem sua contribuição para a carga superficial. Em pH 3, observou-se um potencial zeta de $-45,57$ mV para as emulsões PE-CMC, com evidências de coacervação complexa observadas por microscopia óptica e pelas demais características físico-químicas do sistema.

A análise do potencial zeta para emulsões PE-CMC revelou um comportamento, em que a carga negativa atingiu, em módulo, seu máximo em pH 5 ($-56,94$ mV). Este fenômeno é consistente com o início da formação de complexos eletrostáticos solúveis na região próxima ao pH_c (pH crítico de complexação), conforme revisado por Schmitt e Turgeon (2011). Em pH 7, a elevada densidade de carga negativa tanto da proteína quanto do polissacarídeo gera uma repulsão eletrostática que limita a densidade de adsorção do CMC na interface óleo-água. Contudo, a redução da carga líquida da proteína diminui a barreira energética em pH 5, favorecendo uma adsorção cooperativa (Umar *et al.* 2025) e uma maior densidade das cadeias de CMC sobre a camada proteica.

Entretanto, a estabilidade de sistemas dispersos não é determinada exclusivamente pelas interações eletrostáticas. As forças estéricas também podem atuar de forma significativa, impedindo a agregação das partículas na fase aquosa, independentemente do pH (De Barros *et al.* 2016). Dessa forma, o potencial zeta deve ser interpretado em conjunto com outros

parâmetros físico-químicos e estruturais para uma avaliação mais completa da estabilidade do sistema.

Tabela 2 – Potencial zeta das emulsões PE e PE-CMC em função do pH.

Potencial zeta (ζ)					
Estabilizante	pH				
	7	6	5	4	3
PE	- 40,00 $\pm$ 0,44 ^{Ab}	-31,83 $\pm$ 0,75 ^{Bb}	-33,00 $\pm$ 0,36 ^{Bb}	-26,13 $\pm$ 0,41 ^{Cb}	-22,16 $\pm$ 0,61 ^{Db}
PE-CMC	-51,47 $\pm$ 0,25 ^{Ba}	-51,37 $\pm$ 0,45 ^{Ba}	-56,94 $\pm$ 0,32 ^{Aa}	-52,46 $\pm$ 1,25 ^{Ba}	-45,57 $\pm$ 0,16 ^{Ca}

Legenda: Média $\pm$ desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (p < 0,05) pelo teste de *Tukey*. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os valores de pH para um mesmo estabilizante (linha), enquanto letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os estabilizantes para um mesmo valor de pH (coluna). Fonte: Autor (2026).

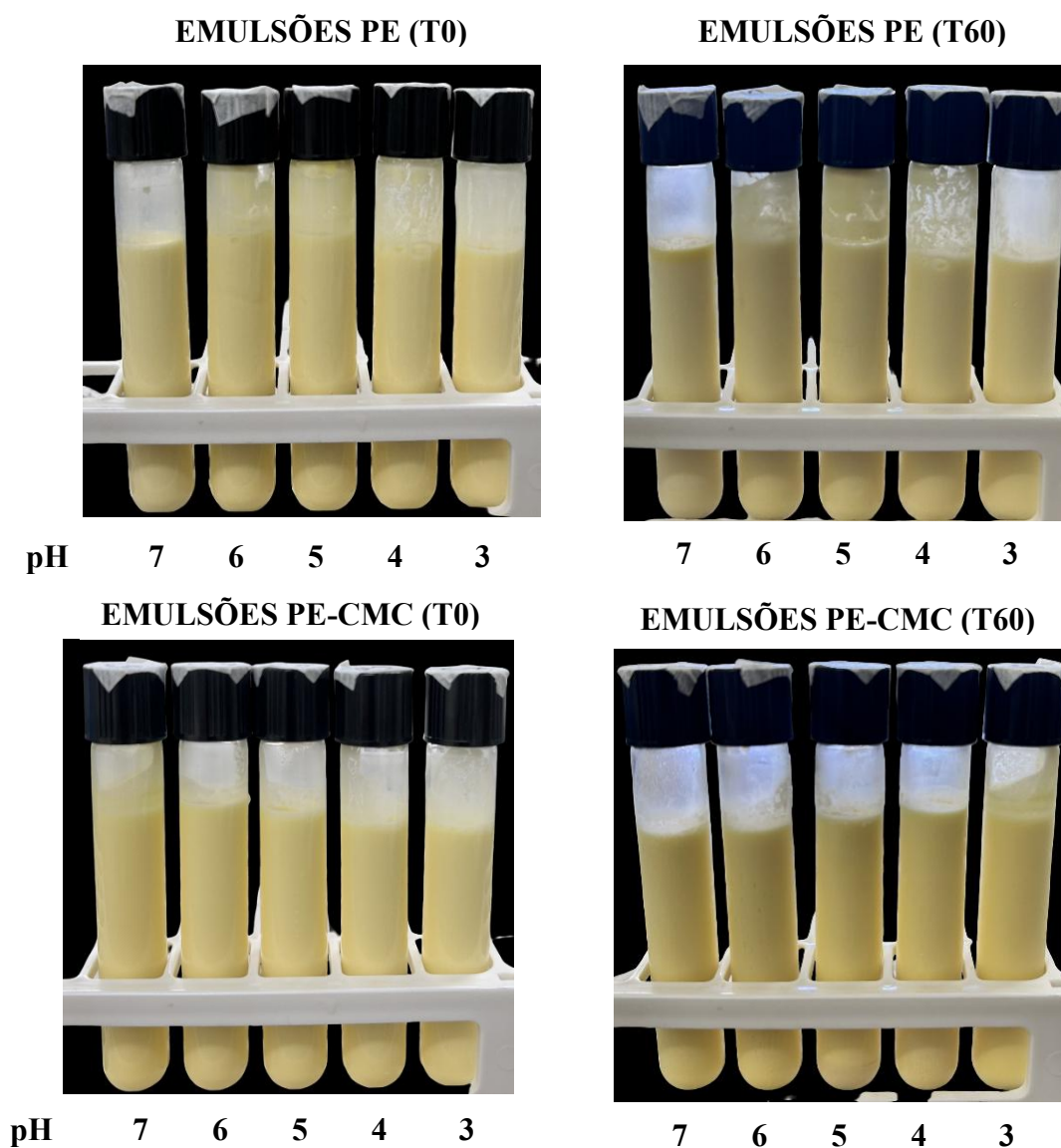
3.3 Índice de cremeação e estabilidade centrífuga

As emulsões foram avaliadas com o objetivo de verificar a estabilidade física, por meio da análise visual da formação de camada de creme e da separação de fases por gravidade, ao longo de 60 dias de armazenamento em condição ambiente (25 °C) em repouso e em estabilidade centrífuga (EC).

A análise estatística indicou que não houve efeito significativo para nenhuma variável, devido à ausência de variação nos dados experimentais. As emulsões de PE e de PE–CMC (Figura 2) apresentaram índice de cremeação de 0% durante todo o período de armazenamento, independentemente do pH, não sendo observada a formação de camada de creme ou qualquer evidência de separação macroscópica de fases.

Wang *et al.* (2025) investigaram emulsões elaboradas com óleo de perilla (75%), a pH 7, utilizando PE e o complexo PE–CMC como estabilizantes. Os resultados mostraram que as emulsões PE apresentaram elevada separação de fases, enquanto aquelas preparadas com PE–CMC exibiram apenas leve separação de fases ao longo de 7 dias de armazenamento a 25 °C. No entanto, o estudo não foi apresentado dados quantitativos do índice de cremeação, sendo a avaliação da estabilidade baseada exclusivamente em registros fotográficos.

Figura 2 – Observação visual das emulsões de PE (T0 – após preparo) e T60 (60 dias de armazenamento) e de PE-CMC (T0 – após preparo) e T60 (60 dias de armazenamento).



Fonte: Autor (2026).

Entretanto, os ensaios de EC (Tabela 3) revelaram um comportamento distinto, com efeito significativo ($p < 0,05$) do pH e da interação entre pH e tipo de estabilizante, evidenciando que a estabilidade das emulsões depende das condições do meio (Figura 3). Esse método, ao intensificar forças externas, permite antecipar processos de desestabilização que ocorreriam mais lentamente sob condições normais de armazenamento.

Tabela 3 - EC (%) das emulsões PE e PE-CMC, em função do pH.

Estabilidade Centrífuga (%)					
Estabilizante	pH				
	7	6	5	4	3
PE	100,0 ± 0,0 ^{Aa}	54,2 ± 1,6 ^{Bb}	53,6 ± 1,7 ^{Bb}	52,6 ± 1,1 ^{Ba}	100,0 ± 0,0 ^{Aa}
PE-CMC	85,5 ± 1,5 ^{Ab}	86,3 ± 2,1 ^{Aa}	85,9 ± 1,6 ^{Aa}	32,2 ± 1,5 ^{Bb}	34,2 ± 1,3 ^{Bb}

Legenda: Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de *Tukey*. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os valores de pH para um mesmo estabilizante (linha), enquanto letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os estabilizantes para um mesmo valor de pH (coluna). Fonte: Autor (2026).

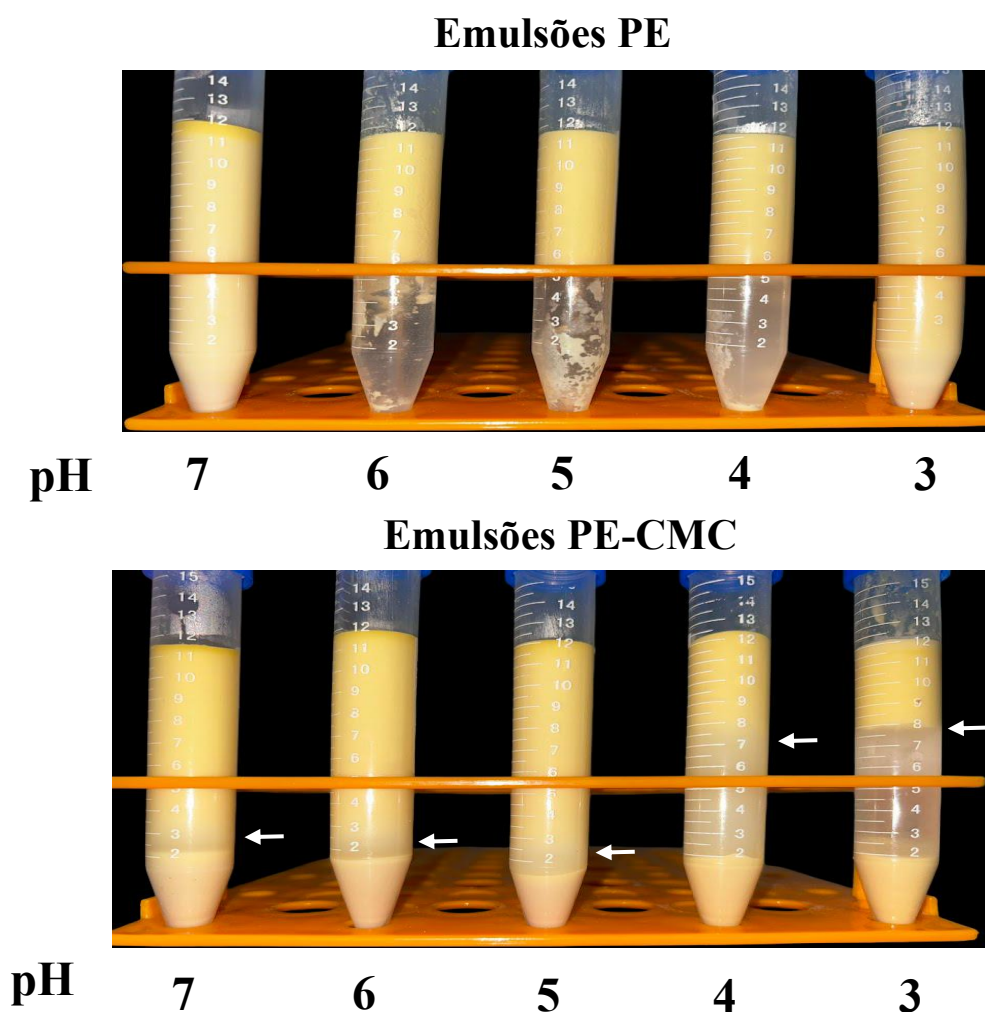
Em emulsões PE, obteve-se 100,0 % de EC nos pH extremos (3 e 7), enquanto nos pH intermediários (4, 5 e 6) houve uma acentuada queda de estabilidade, com valores entre 52,6% e 54,2%. A instabilidade intermediária pode ser atribuída à proximidade do ponto isoelétrico da PE, devido à sua baixa solubilidade, em que a carga líquida tende a ser baixa, favorecendo a agregação entre partículas e reduzindo a capacidade da proteína de manter as gotículas de óleo dispersas. Em pHs 3 e 7, a proteína adquire cargas significativas (positivas e negativas, respectivamente), aumentando a repulsão eletrostática e, conseqüentemente, a estabilidade do sistema.

De acordo com o estudo de Liang e Tang (2013) em meio aquoso, na faixa de pH entre 3 e 7, a solubilidade da PE varia consideravelmente. Em pH 3, a solubilidade é de aproximadamente 55%, reduzindo-se para cerca de 20% em pH 4 e atingindo um mínimo próximo de 0% em pH 5. Em pH 6, a solubilidade é de cerca de 5-10%, aumentando para aproximadamente 70% em pH 7. Resultados semelhantes foram observados por Wei *et al.* (2020), que também investigaram a solubilidade da PE em função do pH, o que corrobora com os resultados de EC das emulsões.

Emulsões PE-CMC apresentaram baixa EC em pH 3 e 4 (32,2 % e 34,2%, respectivamente), e maior estabilidade nos demais pH. A notável dependência da estabilidade do sistema PE-CMC em relação ao pH pode ser atribuída às alterações no grau de ionização dos grupos carboximetila da CMC, o que modifica sua densidade de carga, a conformação molecular e a afinidade interfacial. Em pH 3 e 4, a baixa estabilidade da emulsão é atribuída à reduzida solubilidade da CMC: pKa (4,60), pH em que uma fração significativa dos grupos (50%) carboximetil está em sua forma protonada (-COOH), levando à formação de coacervados

densos e pouco solúveis (Feng, Leduc e Pelton, 2008; Legrand *et al.* 2024). A estabilidade observada a partir de pH 5 reflete a completa ionização e a solubilização da CMC. Nessas condições, formam-se complexos, com o polissacarídeo atuando de forma eficaz na fase contínua, promovendo uma barreira robusta contra a coalescência por meio da combinação de repulsão eletrostática e impedimento estérico (Yue *et al.* 2021).

Figura 3 – Fotografia das emulsões de PE e de PE-CMC, em função do pH, após centrifugação.



Fonte: Autor (2026).

3.4 Análise de Viscosidade

De acordo com a Tabela 4, a análise estatística indicou efeito significativo ($p < 0,05$) dos fatores pH, do tipo de estabilizante e da interação entre ambos, evidenciando que o efeito do estabilizante depende do pH da emulsão e impacta o índice de consistência (K).

Os ajustes do modelo da Lei da Potência apresentaram elevados coeficientes de determinação ($R^2 > 0,98$) e baixos valores de RMSE em todos os tratamentos, indicando que o modelo descreve adequadamente o comportamento de escoamento dos sistemas avaliados. A partir desse ajuste, foram determinados o índice de consistência e o índice de comportamento do fluido.

Todas as emulsões apresentaram comportamento não-newtoniano do tipo pseudoplástico ($n < 1$) (Figura 3), ou seja, a viscosidade aparente diminuiu com o aumento da taxa de cisalhamento (faixa de 5,1 a 85 s^{-1}). Esse comportamento é consistente com o relatado por Yue *et al.* (2021) ao estudar misturas de biopolímeros PE e PE-CMC.

Tabela 4 - Parâmetros do modelo da Lei da Potência ajustados às viscosidades das emulsões.

Estabilizante	pH	k ($Pa \cdot s^n$)	n	R^2	RMSE
PE	7	$0,968 \pm 0,158^{Aa}$	$0,276 \pm 0,025^{Bb}$	0,988	0,056
PE	5	$0,146 \pm 0,017^{Ba}$	$0,634 \pm 0,025^{Ab}$	0,986	0,064
PE	3	$0,167 \pm 0,011^{Bb}$	$0,616 \pm 0,010^{Aa}$	1,000	0,012
PE-CMC	7	$0,421 \pm 0,025^{Bb}$	$0,704 \pm 0,011^{Ba}$	1,000	0,046
PE-CMC	5	$0,211 \pm 0,004^{Ca}$	$0,792 \pm 0,004^{Aa}$	1,000	0,016
PE-CMC	3	$0,583 \pm 0,052^{Aa}$	$0,359 \pm 0,018^{Cb}$	0,981	0,073

Legenda: k é o índice de consistência ($Pa \cdot s^n$) e n é o índice de comportamento de fluxo (adimensional), R^2 é o coeficiente de determinação e RMSE é a raiz quadrada do erro médio. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os valores de pH dentro de um mesmo estabilizante, enquanto letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os estabilizantes dentro de um mesmo valor de pH. Fonte: Autor (2026). Fonte: Autor (2026).

Em pH 7, as emulsões PE apresentaram índice de consistência elevado ($k = 0,968 Pa \cdot s^n$), indicando alta resistência ao escoamento em baixas taxas de deformação, enquanto o índice de fluxo ($n = 0,276$) evidencia um sistema fortemente estruturado, associado à formação de agregados. As emulsões PE-CMC apresentaram menor consistência ($k = 0,421 Pa \cdot s^n$) e maior valor de n (0,792), sugerindo menor resistência ao escoamento e menor pseudoplasticidade. Isso indica que a presença de CMC desestruturou a rede de agregados de proteína através de repulsão eletrostática e incompatibilidade termodinâmica, tornando o fluido mais homogêneo sem a formação de complexos fortes entre os biopolímeros (Huan; Vardhanabhuti, 2016).

Em pH 5, observou-se redução acentuada do índice de consistência das emulsões de PE ($k = 0,146 Pa \cdot s^n$) e aumento do índice de fluxo ($n = 0,634$), refletindo um sistema menos estruturado e com menor resistência ao escoamento. Esse comportamento está relacionado à diminuição da carga superficial da proteína, que favorece a agregação, mas gera estruturas

agregada pouco conectadas, incapazes de formar uma rede contínua. O estudo de Zhang *et al.* (2020) elaborou emulsões estabilizadas por PE e em pH 5, obteve um k de 0,13 Pa.sⁿ e n de 0,63, corroborando os dados do atual estudo. Em emulsões PE-CMC, o índice de consistência ($k = 0,211 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$) foi maior que o de PE, mas o índice n foi mais elevado (0,792), evidenciando maior pseudoplasticidade que emulsões PE. Esse comportamento sugeriu que, apesar da agregação proteica, a presença da CMC contribui para a manutenção de certa resistência ao escoamento, em função da formação de barreiras estéricas e da repulsão eletrostática. No estudo de Huan e Vardhanabhuti (2016), o modelo pseudoplástico foi ajustado ao comportamento reológico de emulsões contendo whey protein (10%) ($k = 0,017$; $n = 0,664$) e do complexo whey–CMC (10% + 0,5%; 2500 kDa) ($k = 0,043$; $n = 0,882$), avaliadas no ponto isoelétrico da proteína. Esses resultados indicam efeito semelhante da adição de CMC sobre o comportamento reológico das emulsões, em concordância com a tendência observada no presente estudo.

Em pH 3, as emulsões de PE apresentaram índice de consistência ($k = 0,167 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$) e índice de comportamento $n = 0,616$. Esse comportamento pode ser atribuído ao aumento da fração de estruturas desordenadas da proteína (*random coil*), oriundas de um desdobramento parcial resultante da acidificação, que resultam em cadeias conformacionalmente flexíveis e altamente móveis, incapazes de sustentar interações intermoleculares persistentes e de formar uma rede estrutural contínua, reduzindo, assim, a resistência do sistema ao escoamento (Ohtmeni *et al.* 2025). Outra hipótese, conforme Shidharan *et al.* (2020) que demonstraram que, em pH 3, a maior parte da PE encontra-se na forma de moléculas individuais menores, favorecendo migração e adsorção na interface óleo-água. As moléculas individuais solúveis podem recobrir até 47% da superfície interfacial, enquanto os agregados recobrem cerca de 3,2%, o que pode ter gerado uma estrutura menos rígida. Em emulsões de PE-CMC, observou-se aumento da consistência ($k = 0,583 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$) e forte redução do valor de n (0,359), evidenciando a formação de agregados densos, resultantes de complexos insolúveis, que promovem uma rede estrutural mais resistente ao cisalhamento e maior oposição ao escoamento.

3.7 Estudo cinético da degradação de carotenoides em emulsões

Os parâmetros cinéticos da degradação dos carotenoides a 25 °C, durante 60 dias de armazenamento, sob diferentes condições de pH (3 a 7), das emulsões de PE, de PE–CMC e de óleo de pequi puro estão apresentados na Tabela 5. O objetivo desta análise foi avaliar a cinética de degradação dos carotenoides nesses sistemas, considerando o efeito do pH e do tipo de estabilizante. A degradação ajustou-se adequadamente ao modelo cinético de primeira ordem ($R^2 = 0,96\text{--}0,99$), indicando que a taxa de degradação foi proporcional à concentração inicial de carotenoides, comportamento comumente relatado na decomposição desses pigmentos em sistemas emulsionados (Xiao *et al.* 2018). A partir desse ajuste, foi possível estimar a constante de degradação (k) e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$), parâmetros que fornecem informações relevantes sobre a estabilidade dos carotenoides nas emulsões.

Tabela 5 – Parâmetros do estudo cinético dos carotenoides totais das emulsões PE e PE-CMC em função do pH.

Parâmetros cinéticos										
pH										
Estabilizante	7		6		5		4		3	
	k	t _{1/2}	k	t _{1/2}	k	t _{1/2}	k	t _{1/2}	k	t _{1/2}
PE	0,008	81,44	0,009	75,90	0,010	67,35	0,011	65,38	0,011	63,66
PE-CMC	0,003	217,60	0,004	182,27	0,006	116,34	0,008	81,53	0,010	66,28
Óleo de pequi	0,013	52,24	0,014	48,72	0,015	44,60	0,015	45,35	0,016	43,51

Legenda: Parâmetros cinéticos: k – constante de degradação; t_{1/2} - tempo de meia-vida. Fonte: Autor (2026).

Na faixa de pH, as emulsões de PE apresentaram valores de k entre 0,008 e 0,011 dia^{-1} e $t_{1/2}$ de 81,44 a 63,66 dias. Isso demonstra um efeito protetor moderado em relação ao óleo puro, cujo k variou de 0,013 a 0,016 dia^{-1} e o $t_{1/2}$ foi o mais baixo de todos os sistemas (52,24 a 43,51 dias). Contudo, a proteção conferida pela PE diminuiu com a redução do pH, evidenciando perda de eficiência em ambientes ácidos.

Emulsões PE-CMC apresentaram o melhor desempenho nessa faixa de pH, com k variando de 0,003 a 0,010 dia^{-1} e $t_{1/2}$ entre 66,28 e 217,60 dias. Em pH 7, a meia-vida do sistema PE-CMC (217,60 dias) foi mais prolongada do que a observada para a PE isolada (81,44 dias) e para o óleo puro (52,24 dias). Mesmo em condições mais ácidas (pH 3 e 4), o complexo manteve valores de $t_{1/2}$ numericamente superiores aos da PE, embora, na microscopia óptica, o sistema PE-CMC apresente desestabilização devido à formação de complexos insolúveis.

O estudo de Li *et al.* (2021) elaborou emulsões com nanogéis de cloridrato de quitosana-carboximetil amido (1,5%) e curdlana (polissacarídeo: 0% ,1% ,2% e 3%) encapsulando β -caroteno em óleo de milho (10% e 50%). A cinética de degradação seguiu um modelo de primeira ordem, sendo avaliada sob estresse térmico a 55 °C por 30 dias. As emulsões com 50% de óleo e 3% de curdlana apresentaram valores de $k = 0,023 \text{ dia}^{-1}$ e $t_{1/2} = 30$ dias, superiores aos das emulsões com 10% de óleo e 3% de curdlana ($k = 0,052 \text{ dia}^{-1}$; $t_{1/2} = 13$ dias). Emulsões sem polissacarídeo, 50% óleo e 10% óleo apresentaram valores k e $t_{1/2}$ de 0,037, 0,052 dia^{-1} e 19 e 13 dias, respectivamente. Essa diferença nas emulsões foi atribuída à maior viscosidade e à formação de uma interface mais compacta, fatores que dificultam a difusão de pró-oxidantes, especialmente devido à maior quantidade de óleo e à presença do polissacarídeo.

Observa-se que o óleo puro apresenta a menor retenção de carotenoides em todas as condições de pH. O óleo de pequi, rico em β -caroteno, apresenta elevada sensibilidade à acidificação. Em meios ácidos, ocorre intensificação das reações de oxidação e de isomerização, promovendo a perda de cor e da atividade antioxidante dos carotenoides (Schaich; Tian; Xie 2013; Rodriguez-Amaya, 2019). Os estudos de Ordoñez-Santos, Martínez-Girón e Villamizar-Vargas (2018) corroboram os resultados deste trabalho, ao demonstrar que a retenção de carotenoides é influenciada pelo pH. Os autores observaram que, na faixa de pH entre 3 e 11, houve uma redução progressiva na retenção de β -caroteno conforme o meio se tornava mais ácido, sendo o pH 8 identificado como o ponto de maior retenção do composto.

A proteção dos carotenoides em sistemas emulsionados depende de diversos fatores. A presença de proteínas forma uma camada protetora densa que reduz a difusão de oxigênio,

enquanto o pH do sistema, a temperatura e a presença de íons metálicos também influenciam a estabilidade. Além disso, a formação de complexos proteína-polissacarídeo reforça a densidade da camada protetora, contribuindo para a redução dos fatores que promovem a instabilidade do sistema (Comunian *et al.* 2020; Deng, Li e Chen, 2022).

De modo geral, os resultados indicam que o óleo sem estabilizante é o sistema mais suscetível à degradação, seguido de emulsões de PE, proporcionando uma proteção intermediária, e do complexo PE-CMC constituindo a barreira mais eficaz, prolongando a meia-vida dos carotenoides em todas as condições de pH avaliadas.

3.8 Análise de cor das emulsões

A análise colorimétrica é fundamental para monitorar a estabilidade visual e a preservação dos pigmentos, especialmente os carotenoides, cuja degradação está diretamente associada à perda de tonalidade e à redução do valor funcional e sensorial das emulsões. O objetivo desta análise foi avaliar a estabilidade de cor das emulsões de PE e de PE-CMC ao longo do armazenamento. A estabilidade de cor das emulsões de PE e de PE-CMC foi avaliada por colorimetria nos dias 0 e 60 de armazenamento. Foram calculadas as variações de luminosidade (ΔL^*), dos eixos verde-vermelho (Δa^*) e amarelo-azul (Δb^*), da saturação de cor (ΔC^*) e da diferença total de cor (ΔE^*) entre o tempo inicial (após o preparo) e o tempo final (60 dias). Valores elevados desses parâmetros indicam maior alteração das propriedades colorimétricas, refletindo menor estabilidade da cor ao longo do armazenamento.

De acordo com a Tabela 6, a análise estatística indicou efeito significativo ($p < 0,05$) dos fatores pH, do tipo de estabilizante e da interação entre ambos, evidenciando que o efeito do tipo de estabilizante depende do pH e impacta a cor do sistema.

Tabela 6 – Parâmetros de cor das emulsões PE e PE-CMC em função do pH.

(Continua)

Parâmetro ΔL^*	pH				
Estabilizante	7	6	5	4	3
PE	$1,79 \pm 0,68^{Ca}$	$5,75 \pm 0,82^{ABa}$	$5,65 \pm 0,55^{Ba}$	$5,47 \pm 0,42^{Ba}$	$6,90 \pm 0,54^{Aa}$
PE-CMC	$1,45 \pm 0,42^{Aa}$	$1,70 \pm 0,20^{Ab}$	$1,92 \pm 0,35^{Ab}$	$2,57 \pm 0,43^{Ab}$	$2,43 \pm 0,35^{Ab}$
Parâmetro Δa^*	pH				
Estabilizante	7	6	5	4	3
PE	$0,82 \pm 0,22^{Aa}$	$0,88 \pm 0,23^{Aa}$	$0,91 \pm 0,12^{Aa}$	$0,87 \pm 0,13^{Aa}$	$0,95 \pm 0,09^{Aa}$
PE-CMC	$0,38 \pm 0,07^{Cb}$	$0,52 \pm 0,05^{Cb}$	$0,61 \pm 0,09^{BCb}$	$0,90 \pm 0,12^{ABa}$	$0,97 \pm 0,10^{Aa}$
Parâmetro Δb^*	pH				
Estabilizante	7	6	5	4	3
PE	$7,04 \pm 0,17^{Ba}$	$7,50 \pm 0,19^{ABa}$	$8,19 \pm 0,09^{Aa}$	$8,53 \pm 0,20^{Aa}$	$8,60 \pm 0,62^{Aa}$

(Conclusão)

PE-CMC $4,46 \pm 0,20$ ^{Cb} $5,16 \pm 0,18$ ^{Cb} $7,84 \pm 0,84$ ^{Ba} $10,30 \pm 0,64$ ^{Ab} $10,84 \pm 0,53$ ^{Ab}

Parâmetro ΔC*	pH				
Estabilizante	7	6	5	4	3
PE	$6,55 \pm 0,37$ ^{Ca}	$7,66 \pm 0,36$ ^{Ba}	$8,62 \pm 0,14$ ^{Aa}	$8,81 \pm 0,39$ ^{Aa}	$9,25 \pm 0,15$ ^{Ab}
PE-CMC	$3,82 \pm 0,34$ ^{Db}	$4,85 \pm 0,29$ ^{Cb}	$5,83 \pm 0,31$ ^{Bb}	$9,38 \pm 0,44$ ^{Aa}	$10,11 \pm 0,66$ ^{Aa}
Parâmetro ΔE*	pH				
Estabilizante	7	6	5	4	3
PE	$7,34 \pm 0,07$ ^{Ca}	$9,51 \pm 0,49$ ^{Ba}	$10,00 \pm 0,26$ ^{Ba}	$10,17 \pm 0,17$ ABa	$11,08 \pm 0,20$ ^{Ab}
PE-CMC	$4,72 \pm 0,19$ ^{Cb}	$5,30 \pm 0,16$ ^{Cb}	$8,10 \pm 0,90$ ^{Bb}	$10,67 \pm 0,69$ ^{Aa}	$11,16 \pm 0,46$ ^{Aa}

Legenda: Média $\pm$ desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (p < 0,05) pelo teste de *Tukey*. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os valores de pH para um mesmo estabilizante (linha), enquanto letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os estabilizantes para um mesmo valor de pH (coluna). Fonte: Autor (2026).

Para o parâmetro ΔL , que reflete alterações na luminosidade e está diretamente associado ao espalhamento de luz do sistema, observou-se que a variação nas emulsões PE e PE-CMC em função do pH foi de 1,79 a 6,90 e de 1,45 a 2,57, respectivamente.

Nas emulsões PE, a redução do pH de 7 para 3 resultou em um aumento abrupto na variação de luminosidade, indicando maior clareamento do sistema, associado à degradação dos carotenoides. Em emulsões PE-CMC, a acidificação promoveu uma variação significativamente menor e mais controlada da luminosidade. Embora tenha havido um ligeiro aumento nos valores em pH 4 (2,57) e pH 3 (2,43) em comparação ao pH neutro, estes permaneceram muito inferiores aos observados nas emulsões PE, exceto em pH 7.

Para o parâmetro Δa^* , que reflete alterações na tonalidade avermelhada associada aos carotenoides presentes no óleo de pequi, observou-se que a variação cromática nas emulsões de PE e de PE-CMC em função do pH foi de 0,82 a 0,95 e de 0,38 a 0,97, respectivamente.

Emulsões de PE, a redução do pH de 7 para 3 não resultou em uma alteração discreta na tonalidade avermelhada. Emulsões PE-CMC, a acidificação promoveu um aumento progressivo na variação da tonalidade, em função do pH, porém menor que PE até pH 5. Os valores mais expressivos de Δa^* foram registrados em pH 4 (0,90) e pH 3 (0,97) para emulsões elaboradas com PE-CMC.

Para o parâmetro Δb^* , que reflete alterações na tonalidade amarela do óleo de pequi, observou-se que a variação de coloração amarela em emulsões PE e PE-CMC em função do pH, variou de 7,04 a 8,53 e 4,46 a 10,84, respectivamente.

Nas emulsões PE, a diminuição do pH de 7 para 3 intensificou a perda da coloração amarela. Os maiores valores de Δb^* , que indicam essa alteração, foram observados em pH 4 (8,53) e 3 (8,60), condições que coincidem com a instabilidade do sistema e a acidificação crítica para a degradação de carotenoides. Em emulsões PE-CMC, a redução do pH de 7 para 3 levou a um aumento progressivo na perda da cor amarela. Os maiores valores de Δb^* foram registrados em pH 4 (10,30) e 3 (10,84), resultado atribuído diretamente à instabilidade gerada pela formação de complexos insolúveis entre a proteína e o polissacarídeo em meio fortemente ácido, correlacionando com a queda expressiva no estudo cinético dos carotenoides.

Para o parâmetro ΔC^* , que reflete a variação na saturação da cor, observou-se que emulsões PE e PE-CMC em função do pH, apresentaram valores variando de 6,55 a 9,25 e 3,82 a 10,11, respectivamente. Em emulsões PE, o decréscimo do pH levou um aumento na variação da saturação do sistema, principalmente em pH 4 (8,81) e 3 (9,25), relacionado à degradação dos carotenoides. Em emulsões PE-CMC, o decréscimo do pH levou um aumento na variação da saturação do sistema, principalmente em pH 4 (9,38) e 3 (10,11), devido a formação de

complexos insolúveis.

Para o parâmetro ΔE^* , que indica a diferença total de cor percebida entre as emulsões no dia 0 e 60, observou-se que emulsões PE e PE-CMC em função do pH, apresentaram valores variando de 7,34 a 11,08, e 4,72 a 11,16. A variação de cor foi mais evidente em pH 4 e 3 (emulsões PE e PE-CMC).

O estudo de Sivabalan *et al.* (2024) elaborou emulsões para a encapsulação de β -caroteno utilizando óleo MCT (triglicerídeo de cadeia média) com amido modificado (OSA) combinado com quitosana em pH 7, e avaliou a estabilidade da cor durante 25 dias de armazenamento a 37 °C sob luz. Nas emulsões com óleo MCT, o ΔE variou de 19,1 a 43,1 sob luz. O parâmetro b^* apresentou uma redução acentuada, passando de aproximadamente 42 para 23–24 nos primeiros cinco dias ($\Delta b^* = 18$ –19). A perda de coloração prosseguiu ao longo do armazenamento, atingindo b^* próximo de zero ao final dos 25 dias. É importante ressaltar que os resultados de colorimetria em emulsões são influenciados por múltiplos fatores. As condições experimentais, como o tipo e modificações na estrutura da proteína, a concentração de carotenoides e o tipo de polissacarídeo empregado, juntamente com as condições de armazenamento (luz, temperatura e tempo), determinam a estabilidade geral.

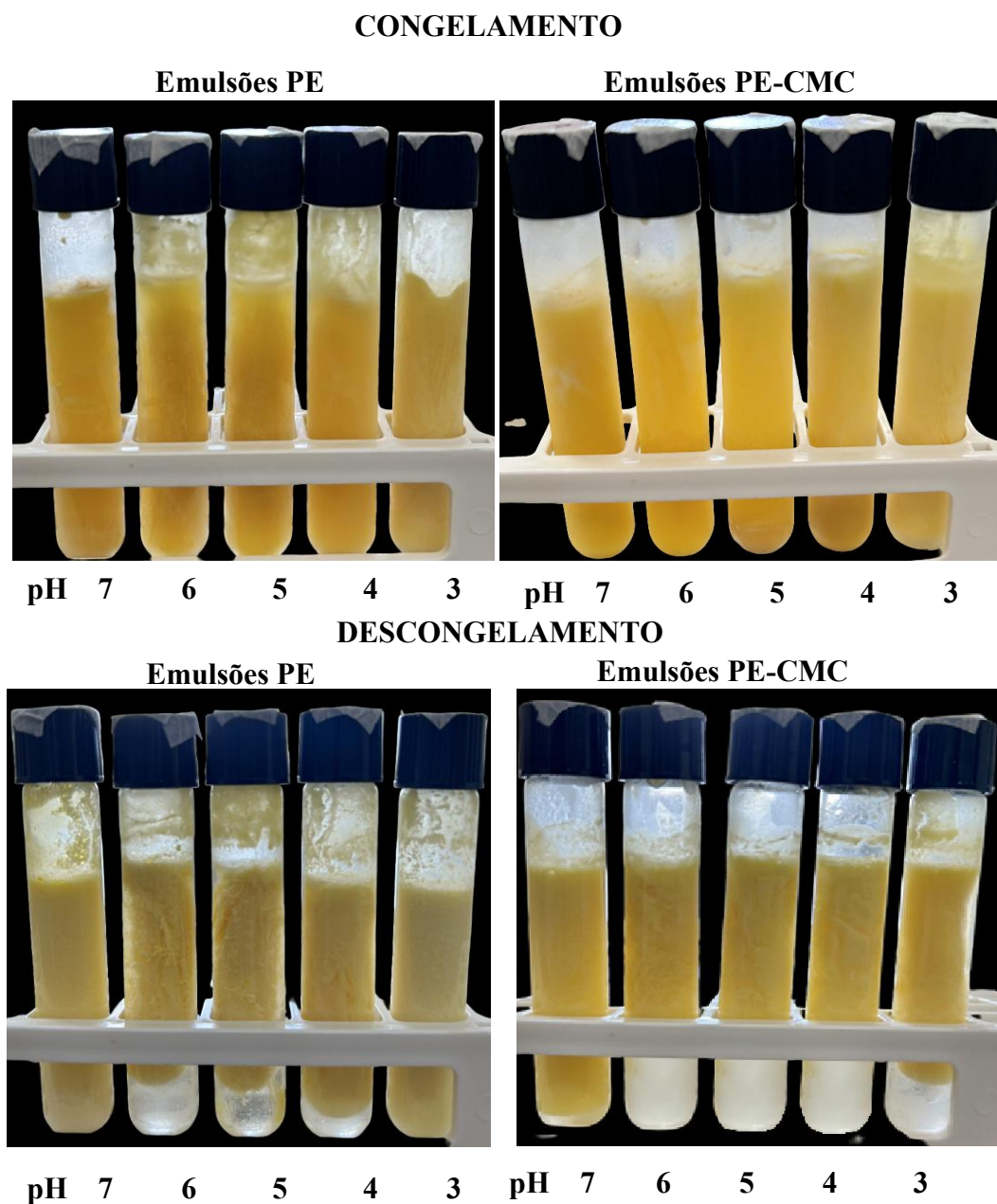
3.9 Testes de estabilidade das emulsões

3.9.1 Estabilidade ao ciclo de congelamento e descongelamento

As emulsões foram submetidas a ciclos de congelamento e descongelamento com o objetivo de avaliar a estabilidade das emulsões PE e PE-CMC em função do pH. O procedimento consistiu no congelamento das emulsões a -18 °C por 24 horas, seguido do descongelamento à temperatura ambiente (25 °C) por 4 horas.

Na Figura 4, observa-se que o processo de congelamento/descongelamento afetou significativamente a estabilidade das emulsões.

Figura 4 – Registro fotográfico das emulsões PE e PE-CMC em função do pH depois do congelamento e descongelamento.



Fonte: Autor (2026).

Nas emulsões de PE, não foi observada separação de fases em pH 7 e 3, devido à elevada solubilidade da proteína nessas condições, que favorece a dispersão das gotículas e a manutenção da integridade coloidal. Em contraste, em pHs 6, 5 e 4, ocorreu separação de fases, associada à menor solubilidade da proteína, próxima ao seu ponto isoelétrico, o que aumenta a tendência à agregação e à instabilidade (Liang e Tang, 2013). Em pH 4, observa-se menor separação do que em pH 5 e 6, o que corrobora as fotografias de microscopia óptica, nas quais

a estrutura do sistema era mais robusta, mesmo com sinais de agregação.

Nas emulsões contendo PE-CMC, a instabilidade foi evidente em todos os pHs avaliados, sendo menos pronunciada em pH 7 e mais acentuada nos outros pH's. A presença de polissacarídeos, embora possa aumentar a estabilidade por barreira estérica e interação eletrostática, representa um desafio em sistemas emulsificados, especialmente quando há interações entre biopolímeros de mesma carga em pH neutro. Em pH neutro, a incompatibilidade termodinâmica entre proteína e polissacarídeo, ainda que parcialmente compensada pela barreira estérica, pode comprometer a estabilidade global da emulsão (Dickinson, 2003), tornando-a mais suscetível à separação de fases sob condições de congelamento e descongelamento.

A formação de cristais de gelo promove a concentração dos solutos na fração aquosa não congelada, fenômeno conhecido como *freeze-concentration*, o que altera a força iônica das gotículas. Essa modificação tende a reduzir a repulsão eletrostática entre as gotas, favorecendo a floculação por depleção (Degner *et al.* 2014; Dickinson, 2003).

As emulsões à base de proteínas são sistemas sensíveis aos ciclos de congelamento e descongelamento. Durante esse processo, a formação e o crescimento de cristais de gelo podem danificar o filme interfacial da emulsão, resultando na liberação e migração do óleo previamente encapsulado, caracterizando o fenômeno de lixiviação. Consequentemente, após o descongelamento, as gotículas na fase aquosa são forçadas a se aproximar, favorecendo a coalescência (Song *et al.* 2022).

O estudo de Wang *et al.* (2025) relatou maior estabilidade de emulsões PE-CMC e óleo de semente de pérola (75%) em ciclos de congelamento e descongelamento (-20° C), em contraste com os resultados observados neste trabalho. Essa divergência pode estar associada às diferenças na composição do sistema, especialmente na concentração de óleo e de biopolímeros, que influenciam a formação e a resistência da rede estrutural interfacial.

Resultados semelhantes aos deste estudo foram observados por Zhang *et al.* (2023), que verificaram separação de fases em emulsões estabilizadas por PE após ciclos de congelamento e descongelamento (-18°C), sendo a estabilidade dependente da concentração de partículas, devido à formação de filmes interfaciais mais espessos e resistentes.

Por outro lado, Li *et al.* (2024) demonstraram que emulsões com maiores concentrações de proteína (2%, 3% e 4% em peso) em pH 7, podem atuar como crioprotetores, reduzindo a formação de água congelável e melhorando a estabilidade estrutural em sistemas alimentícios, como em produtos de panificação, o que reforça a importância da composição do sistema na resposta ao congelamento.

3.9.2 Estabilidade ao estresse térmico

As emulsões foram submetidas a tratamento térmico a 85 °C por 30 minutos, com o objetivo de avaliar a integridade do sistema em relação à separação de fases e a retenção de carotenoides totais em função do pH (Figura 5). O óleo de pequi foi utilizado como referência para comparação. De acordo com a Tabela 7, a análise estatística indicou efeito significativo ($p < 0,05$) dos fatores pH, do tipo de estabilizante e da interação entre ambos, evidenciando que o efeito do estabilizante depende do pH da emulsão e influencia a retenção de carotenoides após o estresse térmico.

Tabela 7 – Retenção de carotenoides após estresse térmico das emulsões PE e PE-CMC em função do pH.

Retenção carotenoides após estresse térmico (%)					
Estabilizante	pH				
	7	6	5	4	3
PE	73,58 ± 1,44 ^{Ab}	65,08 ± 1,55 ^{Bb}	64,42 ± 0,48 ^{Bb}	64,35 ± 0,83 ^{Bb}	58,72 ± 0,68 ^{Cb}
PE-CMC	84,39 ± 1,16 ^{Aa}	83,30 ± 0,52 ^{Aa}	83,11 ± 0,88 ^{Aa}	74,12 ± 0,63 ^{Ba}	69,64 ± 0,65 ^{Ca}
Óleo	50,29 ± 0,99 ^{Ac}	49,40 ± 1,05 ^{Ac}	48,65 ± 0,77 ^{ABc}	46,73 ± 0,58 ^{Bc}	43,77 ± 0,77 ^{Cc}

Legenda: Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de *Tukey*. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os valores de pH para um mesmo estabilizante (linha), enquanto letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os estabilizantes para um mesmo valor de pH (coluna). Fonte: Autor (2026).

A aplicação do estresse térmico em emulsões contendo PE, PE-CMC e óleo de pequi, em diferentes valores de pH, resultou em retenções de carotenoides variando de 73,58 a 58,72%, 84,39 a 69,64% e 50,29 a 43,77%, respectivamente.

As emulsões de PE apresentaram maior retenção de carotenoides em pH 7 e menor em pH 3, com valores intermediários em pH 6 a 4. Nos pH's 6, 5 e 4, as emulsões mantiveram retenção intermediária de carotenoides, apesar de condições que favorecem instabilidade do sistema (baixa solubilidade).

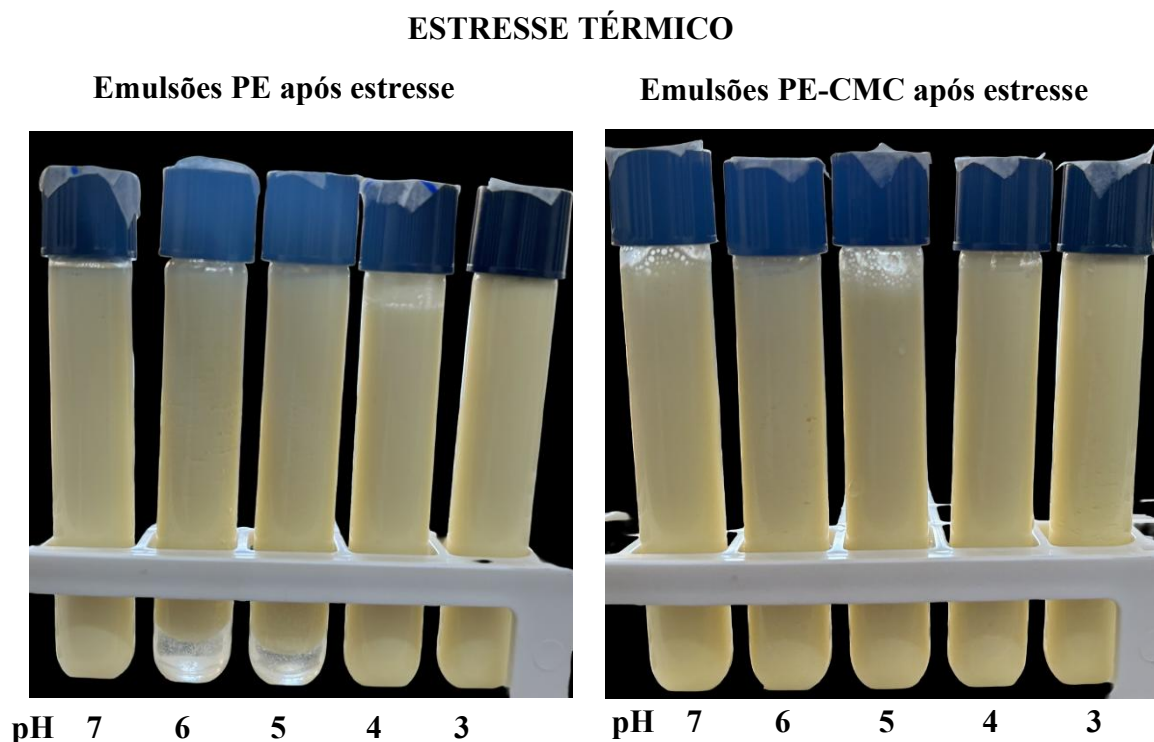
Os resultados estão de acordo com a estabilidade observada do sistema, visto que em pH 7 e 3 a PE apresenta alta solubilidade, o que contribui para a manutenção da integridade estrutural da emulsão. No entanto, em meios excessivamente ácidos, ocorre intensificação da degradação dos carotenoides (Liang; Tang 2013; Wijesekara; Xu, 2024) .

As emulsões PE-CMC apresentaram maior retenção de carotenoides em pH 7 e menor em pH 3 e 4, o que pode ser atribuído à formação de complexos insolúveis e à intensificação da degradação dos carotenoides em pH baixos, resultando em maior instabilidade do sistema nessas condições.

Em contraste, o óleo de pequi sem estabilizante não possui essa barreira, tornando os carotenoides mais suscetíveis à degradação térmica e oxidativa, o que explica a menor retenção observada no pH de 7 a 3. De modo geral, esse comportamento reforça o potencial das emulsões *Pickering* como sistemas promissores para a encapsulação e proteção de compostos sensíveis ao calor, como os carotenoides do óleo de pequi, permitindo o desenvolvimento de alimentos funcionais mais estáveis e com maior valor nutricional, mesmo após o processamento térmico (Comunian *et al.* 2020).

A estabilidade das emulsões formadas por proteínas e polissacarídeos sob estresse térmico pode ser explicada pela adsorção irreversível das partículas na interface óleo/água, resultando em uma barreira interfacial viscoelástica que dificulta a coalescência das gotículas. Tratamentos térmicos moderados favorecem a formação de partículas mais estáveis e rigidamente estruturadas, que reforçam essa camada protetora e mantêm a integridade do sistema. Além disso, o ângulo de contato das partículas desempenha um papel importante na estabilidade, influenciando a afinidade interfacial e a resistência à separação de fases (Han *et al.* 2023; Tanger *et al.* 2022).

Figura 5 - Registro fotográfico das emulsões PE e PE-CMC em função do pH após o estresse térmico.



Fonte: Autor (2026).

Em emulsões de PE, a aplicação de estresse térmico resultou na separação de fase em pHs 6 e 5, devido à baixa solubilidade da PE. Em pH 4, próximo ao ponto isoelétrico, não foi observada separação de fases, sendo este pH associado à formação de uma interface mais robusta em comparação aos pHs 6 e 5, conforme evidenciado pelas análises de microscopia óptica. Já nos pHs 7 e 3, a elevada solubilidade da proteína e interface bem formada contribuíram para a manutenção da estabilidade do sistema.

Em emulsões PE-CMC não houve nenhuma separação de fase, evidenciando que a CMC exerce efeito protetor na estabilidade do sistema, mesmo em pHs 4 e 3, onde sua solubilidade é baixa ($pK_a \cong 4,5$). Para PE-CMC, o tratamento térmico não foi suficiente para induzir separação de fases, o que pode estar relacionado com alguns fatores como: (i) a elevada viscosidade do óleo de pequi e da fase aquosa, (ii) novas mudanças conformacionais na PE durante o tratamento térmico, (iii) alta valor absoluto do potencial zeta. Li *et al.* (2024) elaboraram emulsões utilizando complexo de PE (5%) e amido de feijão mungo (2%) em pH 7 para encapsular β -caroteno em óleo de colza (50%). As emulsões foram submetidas a tratamento térmico a 85 °C por 30 minutos e apresentaram excelente estabilidade física, sem separação de fase.

As possíveis aplicações das emulsões de PE e PE–CMC devem considerar o pH como fator determinante para a estabilidade interfacial e da retenção dos carotenoides frente ao estresse térmico. As emulsões de PE, nos pHs estudados, apresentaram maior retenção de carotenoides em pH neutro (pH 7) após o tratamento térmico, indicando que sistemas submetidos a aquecimento, como bebidas vegetais e sopas, são mais adequados a esse tipo de emulsão. Por sua vez, as emulsões de PE–CMC promoveram uma maior estabilidade dos carotenoides do que as emulsões de PE, nos pHs avaliados, e a estabilidade dos carotenóides após o estresse térmico foi maior em pHs próximos ao neutro, diminuindo à medida que o pH se torna mais ácido, tornando estas emulsões apropriadas para sopas, produtos de panificação e bebidas vegetais fermentadas, que envolvem etapas de processamento térmico.

3.10 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante das emulsões foi avaliada utilizando os métodos ABTS e DPPH, permitindo investigar as alterações estruturais das emulsões em função do pH. De acordo com a Tabela 8, a análise estatística indicou efeito significativo ($p < 0,05$) dos fatores pH, do tipo de estabilizante e da interação entre ambos, evidenciando que o efeito do tipo de estabilizante depende do pH da emulsão e influencia a atividade antioxidante em função de alterações estruturais no sistema.

Tabela 8 – Atividade antioxidante das emulsões PE e PE-CMC em função do pH (ABTS e DPPH).

Atividade antioxidante (ABTS)					
	pH				
Estabilizante	7	6	5	4	3
PE	56,48 ± 1,23 ^{Cb}	61,33 ± 1,24 ^{Bb}	61,75 ± 0,68 ^{Bb}	61,71 ± 0,87 ^{Bb}	65,24 ± 1,35 ^{Ab}
PE-CMC	60,24 ± 1,22 ^{Ca}	68,80 ± 0,80 ^{Ba}	66,08 ± 1,34 ^{Ba}	74,65 ± 0,73 ^{Aa}	72,33 ± 1,44 ^{Aa}

Atividade antioxidante (DPPH)					
	pH				
Estabilizante	7	6	5	4	3
PE	32,84 ± 1,03 ^{Ca}	41,54 ± 1,50 ^{Aa}	36,18 ± 1,51 ^{Ba}	33,93 ± 0,83 ^{BCb}	33,53 ± 0,86 ^{BCb}
PE-CMC	33,81 ± 0,71 ^{Ca}	33,75 ± 0,79 ^{Cb}	37,14 ± 1,13 ^{Ba}	40,74 ± 1,29 ^{Aa}	42,15 ± 1,02 ^{Aa}

Legenda: Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (p < 0,05) pelo teste de *Tukey*. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os valores de pH para um mesmo estabilizante (linha), enquanto letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os estabilizantes para um mesmo valor de pH (coluna). Fonte: Autor (2026).

3.10.1 ABTS

No ensaio de atividade antioxidante pelo método ABTS, as emulsões de PE apresentaram valores de inibição entre 56,49% a 65,24%. Esse comportamento está relacionado às alterações conformacionais da proteína em função do pH. Em condições de baixa solubilidade (pHs 6, 5 e 4), a repulsão eletrostática diminuída favorece a agregação do sistema, o que expõe parcialmente sítios reativos, como resíduos hidrofóbicos (Othmeni; Blecker; Karoui, 2025) facilitando a interação com o radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$. A atividade antioxidante máxima em pH 3 pode ser atribuída a uma desnaturação mais pronunciada, que aumenta a exposição de grupos funcionais capazes de interagir fortemente com o radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Estudos anteriores, como o de Felix *et al.* (2017), confirmam que a acidificação de soluções de PE (pH 8,0 para pH 2,0) provoca alterações estruturais profundas, maximizando a exposição de sítios antioxidantes internos, aumentando a interação com o radical. Tang, Roos e Maio (2023) ressaltam a hipótese de que a hidrofobicidade da PE em pHs 3, 5, 7 e 9, observando-se em pH 3 a maior exposição de grupos hidrofóbicos.

No ensaio de atividade antioxidante pelo método ABTS, as emulsões PE-CMC apresentaram valores de inibição entre 60,24% e 74,65%. O aumento da atividade antioxidante em relação a emulsões de PE com a diminuição do pH pode ser atribuído às alterações na solubilidade e conformação da proteína quando complexada, fatores que influenciam diretamente sua capacidade de sequestro de radicais. Esse efeito decorre de mudanças estruturais na PE, que promovem a exposição de grupos anteriormente inacessíveis. O estudo de Yu *et al.* (2023), corrobora a afirmação, indicando que a interação entre a PE e a CMC induz modificações conformacionais que ampliam a disponibilidade de resíduos funcionais, resultando em atividades antioxidantes maiores.

Em pHs 4 e 3, a maior atividade antioxidante pode ser atribuída a mecanismos relacionados ao aumento da hidrofobicidade da PE-CMC em função do pH. De acordo com Yue *et al.* (2021), a hidrofobicidade superficial da PE complexada com CMC foi significativamente maior em pH 4,5 do que em pH 7, indicando que a proteína sofre desenovelamento e expõe grupos previamente ocultos. Dessa forma, muitos dos aminoácidos com potencial antioxidante, como triptofano e tirosina (Shanthakumar, 2022), possuem caráter hidrofóbico; portanto, sua maior exposição ao meio aquoso favorece a interação com o radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, resultando na atividade máxima observada nessas condições.

3.10.2 DPPH

No ensaio de atividade antioxidante pelo método DPPH, as emulsões PE apresentaram valores de inibição variando entre 32,84% e 41,54%. A maior atividade antioxidante foi observada em pH 6, enquanto atividades intermediárias ocorreram em pH 5, 4 e 3, e a menor atividade foi registrada em pH 7, o que pode ser atribuído à menor difusão do radical através de uma interface óleo-água mais organizada e compacta. O comportamento observado em pH 6 pode ser explicado por diversas hipóteses relacionadas às propriedades físico-químicas da emulsão, incluindo a baixa solubilidade da proteína, evidenciada pela intensa floculação do sistema, expondo as gotículas de óleo ao radical.

No ensaio de atividade antioxidante pelo método DPPH, as emulsões PE-CMC apresentaram valores de inibição entre 33,75% e 42,15%. A menor atividade antioxidante foi observada em pH 7, o que pode ser explicada pela formação de uma interface mais densa e organizada, limitando a difusão do radical. Em pH 5, apresentou atividade antioxidante intermediária, o que pode ser explicado pela diminuição da solubilidade da CMC, o que facilita a difusão dos radicais ao óleo. A maior atividade antioxidante foi observada em pH 3 e 4, devido à floculação do sistema, facilitando acesso aos compostos bioativos do óleo. O estudo de Qi, Ibrahim e Hasim (2019) investigou a interação entre o isolado de PE, a CMC e a pectina em emulsões do tipo óleo em água (O/A) contendo 40% de óleo de girassol. Foi aplicada uma regra de mistura para avaliar como diferentes proporções dos polímeros influenciaram a atividade antioxidante pelo método DPPH, a qual variou entre 85,06% a 91,17%, indicando que a interação entre os polímeros pode modular positivamente a capacidade de sequestro de radicais.

3.11 Estabilidade oxidativa acelerada

A estabilidade oxidativa das emulsões foi determinada com o objetivo de fornecer informações sobre a resistência dos sistemas ao processo de oxidação lipídica de forma acelerada ao longo do tempo com a injeção de 20 L/h de ar e a 120 °C. Foram analisadas emulsões de PE e de PE-CMC em três valores de pH: 7, 5 e 3. O óleo de pequi foi usado como controle em seu pH nativo.

De acordo com a Tabela 9, a análise estatística indicou que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os fatores pH, tipo de estabilizante e para a interação entre ambos, evidenciando que o efeito do tipo de estabilizante depende do pH da emulsão e impacta na estabilidade oxidativa das emulsões.

Tabela 9 – Tempo de indução para emulsões PE e PE-CMC em função do pH.

Tempo de indução (horas)			
Estabilizante	pH		
	7	5	3
PE	15,02 ± 0,34 ^{Ab}	1,15 ± 0,11 ^{Bb}	0,99 ± 0,12 ^{Ba}
PE-CMC	17,23 ± 0,30 ^{Aa}	12,14 ± 0,95 ^{Ba}	0,04 ± 0,02 ^{Cb}

Legenda: Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de *Tukey*. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os valores de pH para um mesmo estabilizante (linha), enquanto letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os estabilizantes para um mesmo valor de pH (coluna). Fonte: Autor (2026).

As emulsões PE e PE-CMC apresentaram tempos de indução variando de 15,02 a 0,99 h e de 17,23 a 0,04 h, respectivamente. As emulsões estabilizadas apenas por PE apresentaram tempo de indução de 15,02 h em pH 7, com redução acentuada para 1,15 h em pH 5 e 0,99 h em pH 3, confirmando que a acidificação do meio compromete a estabilidade oxidativa do sistema. Esse comportamento está associado à agregação das moléculas proteicas em condições de menor solubilidade, o que reduz a eficiência da proteção interfacial contra a oxidação lipídica.

As emulsões PE-CMC apresentaram maior tempo de indução em pH 7 (17,23 h), indicando proteção oxidativa superior em relação às emulsões PE, atribuída à formação de uma interface mais espessa e organizada, conferida pela combinação de mecanismos de estabilização eletrostática e estérica. No entanto, com a redução do pH, observou-se diminuição progressiva do tempo de indução, alcançando 12,14 h em pH 5 ainda maior que PE e apenas 0,04 h em pH 3, este último menor que PE, devido à formação de uma interface mais desestruturada.

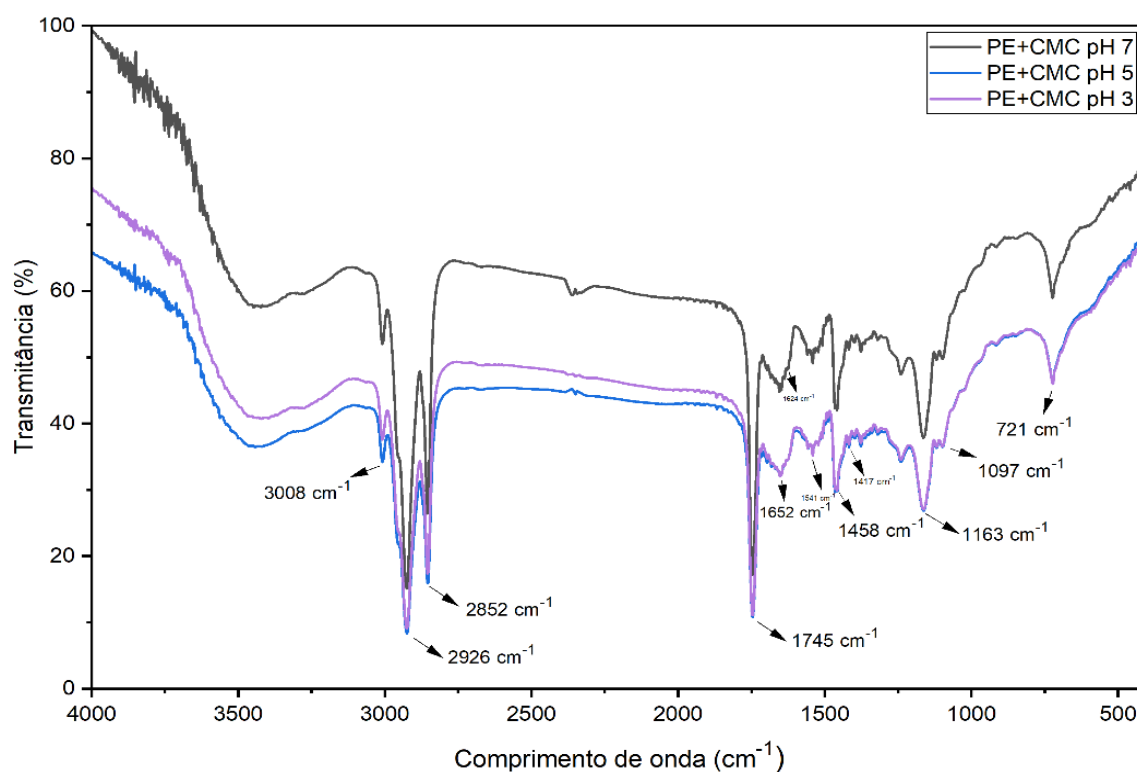
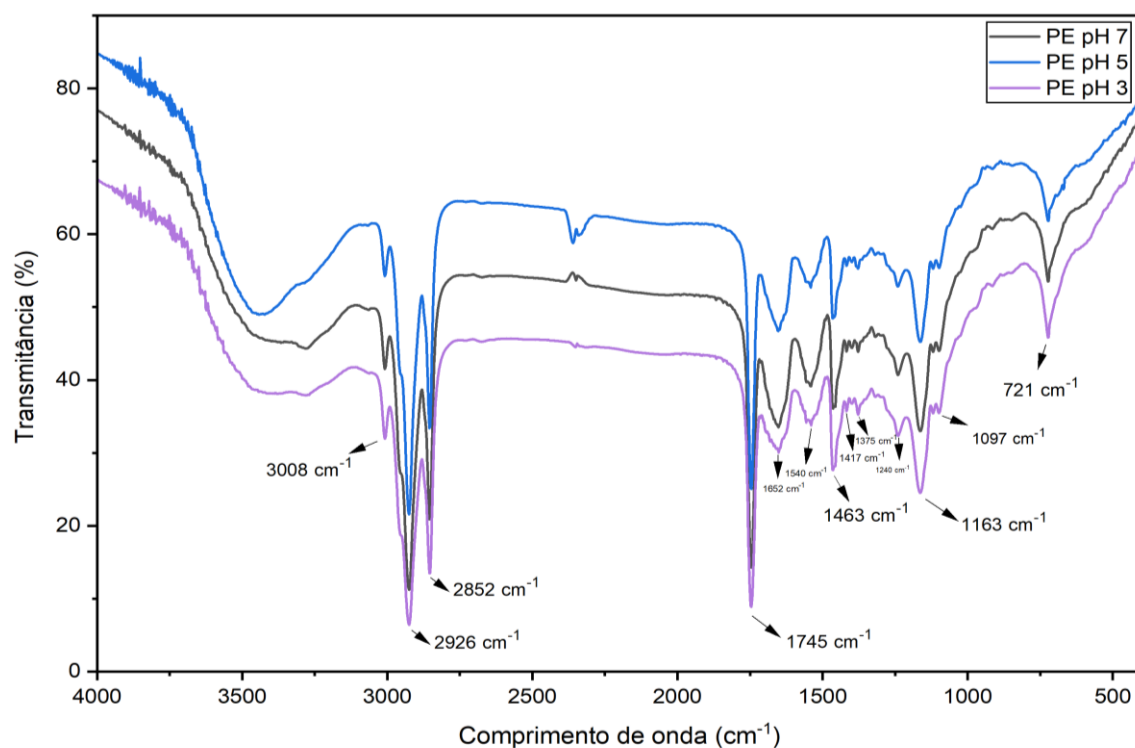
O óleo apresentou tempo de indução de 7,49 h, indicando alta estabilidade. Torres *et al.* (2016), mediram a estabilidade oxidativa (Temperatura: 120 °C e 20 L/h vazão de ar) do óleo de pequi e encontraram o tempo de indução de 7,33 a 15,91 h, dependendo do método de extração. O óleo de pequi apresenta alta estabilidade oxidativa devido ao seu elevado teor de ácido oleico e à baixa presença de ácidos graxos poli-insaturados, que reduzem a reatividade com o oxigênio. Somado a isso, é naturalmente rico em carotenoides e tocoferóis, antioxidantes que retardam a degradação. A combinação desses fatores torna o óleo de pequi significativamente mais resistente à oxidação do que a maioria dos óleos vegetais, como a soja (3,87h: mesmas condições) (Ramadan; Asker; Tadros, 2012; Torres *et al.* 2016).

O estudo de Comunian *et al.* (2020) elaborou emulsões *Pickering* coencapsulando óleo de pequi e buriti (1:2) utilizando whey protein (4%) com e sem modificações térmicas (1:3, óleo:água). A estabilidade oxidativa foi avaliada pelo método Rancimat, na temperatura de 90 °C e vazão de ar de 20 L/h, sendo observados tempos de indução de 46 e 51 horas para as emulsões, respectivamente. Em contraste, o óleo de pequi e buriti na forma livre apresentou tempo de indução de 20,5 horas.

3.12 FTIR

Os espectros de FTIR possibilitaram a análise das interações proteína–polissacarídeo das emulsões, bandas associadas às ligações de hidrogênio, aos grupos carboxílicos e às amidas da proteína, contribuindo para uma interpretação mais clara e fundamentada das emulsões de PE e de PE-CMC (Figura 6).

Figura 6 – Espectro de FTIR dos grupos PE e PE-CMC em função do pH.



Fonte: Autor (2026).

Os espectros de FTIR das emulsões de PE exibiram uma banda larga entre 3200–3600 cm^{-1} , atribuída aos estiramentos O–H e N–H associados às ligações de hidrogênio. A banda

observada em 3008 cm^{-1} corresponde ao estiramento =C-H de cis-alcenos, indicando a presença de insaturações características dos ácidos graxos do óleo. As bandas intensas em 2926 cm^{-1} e 2852 cm^{-1} corresponderam aos estiramentos C-H assimétrico e simétrico dos grupos CH_2/CH_3 , marcadores das cadeias alifáticas dos lipídios e das regiões hidrofóbicas da proteína (Jin *et al.* 2024).

A banda em 1745 cm^{-1} confirmou o estiramento C=O dos ésteres dos triglicerídeos, evidenciando a presença do óleo. As bandas relacionadas à estrutura secundária da proteína foram identificadas em 1652 cm^{-1} (Amida I, estiramento C=O) e 1540 cm^{-1} (Amida II, deformação N-H e estiramento C-N). As bandas em 1458 cm^{-1} e 1422 cm^{-1} corresponderam às deformações angulares de CH_2/CH_3 , características das cadeias alifáticas presentes nos lipídios e nas regiões hidrofóbicas da proteína. As bandas em 1240 cm^{-1} , 1163 cm^{-1} e 1097 cm^{-1} foram atribuídas às vibrações C-O e C-O-C dos triglicerídeos, reforçando a contribuição lipídica no sistema. A banda em 721 cm^{-1} está associada à vibração de deformação do grupo CH_2 em cadeias olefinicas, confirmando a integridade das cadeias acila dos ácidos graxos (Correa *et al.* 2024; Riaz *et al.* 2018).

As emulsões PE-CMC apresentaram perfil espectral semelhante ao observado para as emulsões PE, porém com alterações associadas à presença do polissacarídeo. A banda larga entre $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ tornou-se mais intensa e expandida, refletindo a elevada densidade de grupos hidroxila da CMC. Na região analisada, foram identificadas bandas em 1624 cm^{-1} e 1417 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo carboxilato (-COO^-) da CMC (Riaz *et al.*, 2018).

Para as emulsões PE-CMC, observou-se intensidade ainda mais elevada na banda O-H , pela forte atração eletrostática favorecendo a formação de uma rede intermolecular mais organizada, intensificando e alargando a banda O-H . A adição de CMC não promoveu alterações significativas na estrutura secundária da proteína, em concordância com os resultados reportados por Silva, Almeida e Sato (2023), que observaram que a interação entre PE e CMC também não ocasionou modificações estruturais relevantes nessa região. Jiang *et al.* (2024) com seu estudo corroboram também o achado ao trabalhar com sistemas de PE-CMC.

4 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que emulsões estabilizadas com PE e PE-CMC são estratégias eficazes para a encapsulação e proteção dos compostos bioativos do óleo de pequi, sendo fortemente influenciadas pelo pH e pelo tipo de estabilizante. De modo geral, a adição de CMC

promoveu maior estabilidade física e proteção dos compostos, associada a efeitos combinados de barreira estérica, repulsão eletrostática e aumento da viscosidade do sistema, embora sua eficiência tenha sido reduzida em condições mais ácidas.

A estabilidade e a retenção de carotenoides também dependeram do tipo de estresse aplicado, com melhor desempenho das emulsões PE–CMC sob condições térmicas. Além disso, a atividade antioxidante apresentou relação com as interações moleculares identificadas por FTIR, indicando a importância da estrutura interfacial na manutenção do sistema coloidal.

Do ponto de vista aplicado, as emulsões de PE são mais adequadas para sistemas neutros, enquanto as emulsões de PE–CMC apresentam maior potencial para alimentos neutros ou levemente ácidos, destacando-se como alternativas promissoras para o desenvolvimento de produtos com maior estabilidade e valor funcional, alinhados ao conceito de rótulo limpo.

De forma geral, os resultados demonstram que as emulsões estabilizadas com PE e PE–CMC apresentam grande potencial para aplicações alimentícias, sendo capazes de proteger os compostos bioativos do óleo de pequi de forma dependente do pH, do tipo de estabilizante e do processo. Esses achados reforçam a viabilidade do uso de sistemas naturais e sustentáveis para o desenvolvimento de produtos com rótulos limpos, contribuindo para a valorização dos ingredientes funcionais do Cerrado brasileiro.

REFERÊNCIAS

- BARAC, Miroljub *et al.* Profile and functional properties of seed proteins from six pea (*Pisum sativum*) genotypes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 12, p. 4973-4990, 2010.
- CHEN, Hai-Hua *et al.* A pH-controlled curcumin-loaded emulsion stabilized by pea protein isolate-maltodextrin-epigallocatechin-3-gallate. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 646, p. 129003, 2022.
- CHEN, Xiaobao *et al.* Nanoformulation of Polymyxin E Through Complex Coacervation: A Pharmacokinetic Analysis. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 1, p. 76, 2025.
- CORREA, Kamila Leal *et al.* Physicochemical and nutritional properties of vegetable oils from Brazil diversity and their applications in the food industry. **Foods**, v. 13, n. 10, p. 1565, 2024.
- DAI, H. *et al.* Myofibrillar protein microgels stabilized high internal phase emulsions with heat-promoted stability. **Food Hydrocolloids**, v. 138, p. 108, 2023.
- DE BARROS, Heloise Ribeiro *et al.* Stability of gum arabic-gold nanoparticles in physiological simulated pHs and their selective effect on cell lines. **RSC Advances**, v. 6, n. 12, p. 9411-9420, 2016.
- DEGNER, Brian M. *et al.* Factors influencing the freeze-thaw stability of emulsion-based foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 2, p. 98-113, 2014.
- DENG, W. *et al.* emulsions stabilized by polysaccharides particles and their applications: a review. **Food Science and Technology**, v. 42, p. 247, 2022.
- DICKINSON, Eric. Protein-stabilized emulsions. In: **Water in foods**. Pergamon, 1994.
- DICKINSON, Eric. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 1, p. 25-39, 2003.
- FAZELIOSKOU EI, T. *et al.* Fabrication and characterization of food-grade pea protein-ascorbic acid nanoparticles-stabilized emulsion. **Journal of Molecular Liquids**, v. 388, p. 122, 2023.
- FELIX, M. *et al.* Development of thermally processed bioactive pea protein gels: Evaluation of mechanical and antioxidant properties. **Food and Bioproducts Processing**, v. 101, p. 74-83, 2017.
- FENG, Xianhua; LEDUC, Marc; PELTON, Robert. Polyelectrolyte complex characterization with isothermal titration calorimetry and colloid titration. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 317, n. 1-3, p. 535-542, 2008.
- FRENCH, David J. *et al.* Making and breaking bridges in a emulsion. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 441, p. 30-38, 2015.
- GUO, Z. *et al.* 4D printing of emulsion: Temperature-driven color changes. **Journal of Food Engineering**, v. 386, p. 112, 2025.
- HAN, Yameng *et al.* foams stabilized by protein-based particles: A review of characterization, stabilization, and application. **Trends in Food Science & Technology**, v. 133, p. 148-159, 2023.

- HE, X.; LU, Q. A review of high internal phase Pickering emulsions: Stabilization, rheology, and 3D printing application. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 103086, 2024.
- HUAN, Yan; ZHANG, Sha; VARDHANABHUTI, Bongkosh. Influence of the molecular weight of carboxymethylcellulose on properties and stability of whey protein-stabilized oil-in-water emulsions. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 3305-3315, 2016.
- JIANG, Dongping *et al.* Elucidating the pH Effects on Oleic Acid and Interactions with Lipid Membranes. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 129, n. 24, p. 5976-5988, 2025.
- JIANG, Peiyun *et al.* Quality Improvement of Pea Protein Isolate-Based Film: Effect of Sodium Carboxymethyl Cellulose on Film. **Starch-Stärke**, v. 76, n. 5-6, p. 2200253, 2024.
- JIN, Danping *et al.* A study on the synergistic interaction of pea protein isolate and whey protein isolate for enhancing the stability and quality of krill oil emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 157, p. 110426, 2024.
- KOWALCZYK, Dariusz *et al.* Structural and physicochemical properties of glycerol-plasticized edible films made from pea protein-based emulsions containing increasing concentrations of candelilla wax or oleic acid. **Molecules**, v. 29, n. 24, p. 5998, 2024.
- LEGRAND, Gauthier *et al.* Acid-induced gelation of carboxymethylcellulose solutions. **ACS Macro Letters**, v. 13, n. 2, p. 234-239, 2024.
- LI, D.; JIANG, Y.; SHI, J. Novel Pickering emulsion stabilized by glycosylated whey protein isolate: Characterization, stability, and curcumin bioaccessibility. **Food Chemistry: X**, v. 21, p. 101-112, 2024.
- LI, Diming *et al.* Pea-Protein-Stabilized Emulsion as a High-Performance Cryoprotectant in Frozen Dough. **Foods**, v. 13, n. 23, p. 3840, 2024.
- LI, Shiyu *et al.* High internal phase emulsions stabilized by the complexes of ultrasound-treated pea protein isolate/mung bean starch for delivery of β -carotene. **Food Chemistry**, v. 440, p. 138201, 2024.
- LI, Xiao-Min *et al.* Investigation of the fabrication, characterization, protective effect and digestive mechanism of a novel emulsion gels. **Food Hydrocolloids**, v. 117, p. 106708, 2021.
- LIANG, Han-Ni; TANG, Chuan-He. pH-dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum* (L.)] proteins. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 309-319, 2013.
- LIU, Miao *et al.* Effect of oleic acid on the dynamic interfacial tensions of surfactant solutions. **Energy & Fuels**, v. 32, n. 5, p. 5868-5876, 2018.
- MCCLEMENTS, D. J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. **Soft Matter**, v. 7, n. 6, p. 2297-2316, 2011.
- NOOSHKAM, Majid *et al.* Behavior of protein-polysaccharide conjugate-stabilized food emulsions under various destabilization conditions. **Food Chemistry: X**, v. 18, p. 100725, 2023.
- ORDOÑEZ-SANTOS, Luis Eduardo *et al.* Encapsulation of β -carotene extracted from peach palm residues: a stability study using two spray-dried processes. **Dyna**, v. 85, n. 206, p. 128-134, 2018.
- OTHMENI, Ines; BLECKER, Christophe; KAROUI, Romdhane. pH-dependent emulsifying properties of pea protein isolate: Investigation of the structure–Function relationship. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 290, p. 139105, 2025.

- PEREIRA, Tácio Fragoso *et al.* Pequi Pulp (Caryocar brasiliense) Oil-Loaded Emulsions as Cosmetic Products for Topical Use. **Polymers**, v. 17, n. 2, p. 226, 2025.
- QI, Ng Pei; IBRAHIM, Nor Hayati; HASIM, Azlin Shafrina. Effect of Pea Protein Isolate, Carboxymethyl Cellulose, Pectin and Their Interaction on Physicochemical and Oxidative Stability of Oil-in-Water Emulsions. **Universiti Malaysia Terengganu Journal of Undergraduate Research**, v. 1, n. 2, p. 8-18, 2019.
- RAMADAN, Mohamed Fawzy *et al.* Antiradical and antimicrobial properties of cold-pressed black cumin and cumin oils. **European Food Research and Technology**, v. 234, n. 5, p. 833-844, 2012.
- RAMOS, G. V.C *et al.* Impact of Emulsification Time and Concentration of Modified Starch Nanoparticles on Stability. **Chemical Engineering Transactions**, v. 102, p. 247-252, 2023.
- RAWAL, K. *et al.* Engineering plant-based Pickering emulsions as highly stable dairy cream alternatives using a binary mixture of particle stabilisers. **Food Hydrocolloids**, v. 159, p. 110, 2025.
- RIAZ, Tehseen *et al.* FTIR analysis of natural and synthetic collagen. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 53, n. 9, p. 703-746, 2018.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. 2. ed. [S.l.]: **International Life Sciences Institute (ILSI Press)**, 2019.
- SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1074–1089, 2013.
- SCHMITT, Christophe; TURGEON, Sylvie L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 167, n. 1-2, p. 63-70, 2011.
- SENA, Diniz M. *et al.* Physicochemical and spectroscopical investigation of Pequi (Caryocar coriaceum Wittm.) pulp oil. **Grasas y Aceites**, v. 61, n. 2, p. 191-196, 2010.
- SHANTHAKUMAR, P. *et al.* The current situation of pea protein and its application in the food industry. **Molecules**, v. 27, n. 16, p. 53-54, 2022.
- SILVA, Aurenice Maria Mota da; ALMEIDA, Flávia; SATO, Ana Carla Kawazoe. Can plant proteins and carboxymethylcellulose coacervates be a tool to vehicle bioactive compounds? In: **Anais do Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos e Nutrição (SLACAN)**, Campinas, SP, v. 1, 2023.
- SILVA, Jéssica Thaís *et al.* Whey protein isolate microgel properties tuned by crosslinking with organic acids to achieve stabilization of emulsions. **Foods**, v. 10, n. 6, p. 1296, 2021.
- SINGH, C. K. S. *et al.* Effects of high-energy emulsification methods and environmental stresses on emulsion stability and retention of tocotrienols encapsulated in emulsions. **Journal of Food Engineering**, v. 327, p. 111, 2022.
- SIVABALAN, S. *et al.* Physical, thermal, and storage stability of multilayered emulsion loaded with β -carotene. **Food Innovation and Advances**, v. 3, n. 3, p. 244–255, 2024.
- SONG, Ziyue *et al.* Effects of concentration of soybean protein isolate and maltose and oil phase volume fraction on freeze–thaw stability of emulsion. **Foods**, v. 11, n. 24, p. 4018, 2022.

SRIDHARAN, Simha *et al.* On the emulsifying properties of self-assembled pea protein particles. **Langmuir**, v. 36, n. 41, p. 12221-12229, 2020.

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

TANG, Qi; ROOS, Yrjö H.; MIAO, Song. Plant protein versus dairy proteins: A pH-dependency investigation on their structure and functional properties. **Foods**, v. 12, n. 2, p. 368, 2023.

TANG, Zonghui *et al.* Fabrication, characterization, and emulsifying properties of complex based on pea protein isolate/pectin for the encapsulation of pterostilbene. **Food Chemistry: X**, v. 18, p. 100663, 2023.

TANGER, Caren *et al.* Influence of pH and ionic strength on the thermal gelation behaviour of pea protein. **Food Hydrocolloids**, v. 123, p. 106903, 2022.

TORRES, L. R. O. *et al.* Physicochemical and antioxidant properties of the pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almond oil obtained by handmade and cold-pressed processes. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 4, p. 1541, 2016.

UDOETOK, Inimfon A.; WILSON, Lee D.; HEADLEY, John V. Stabilization of emulsions by iron oxide nano-particles. **Adv Mat Sci**, v. 1, p. 24-33, 2016.

UMAR, Muhammad *et al.* Non-Covalent Complexes of Plant-Based Proteins-Polysaccharides and Their Applications to Stabilize the Delivery Systems for Bioactive Compounds. **Food Reviews International**, p. 1-31, 2025.

WANG, Yang *et al.* Effect of ionic type of celluloses attached to pea protein on high internal phase emulsions properties. **Food Chemistry: X**, p. 102542, 2025.

WANG, Ziyang *et al.* Physicochemical Quantitative Analysis of the Oil–Water Interface as Affected by the Mutual Interactions between Pea Protein Isolate and Mono- and Diglycerides. **Foods**, v. 13, n. 1, p. 176, 2024.

WEI, Yue *et al.* Comparative studies on the stabilization of pea protein dispersions by using various polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 98, p. 105233, 2020.

WIJESEKARA, T.; XU, B. A critical review on the stability of natural food pigments and stabilization techniques. **Food Research International**, p. 114, 2024.

XIAO, Yadong *et al.* Thermal degradation kinetics of all-trans and cis-carotenoids in a light-induced model system. **Food Chemistry**, v. 239, p. 360-368, 2018.

XU, Liangyun *et al.* Pea protein/carboxymethyl cellulose complexes prepared using a pH cycle strategy as stabilizers of high internal phase emulsions for 3D printing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 269, p. 131967, 2024.

YANG, Xiaoqing *et al.* Stability of citral in emulsions coated with cationic biopolymer layers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 50, p. 12519–12527, 2011.

YI, Jiang *et al.* Development of pea protein and high methoxyl pectin colloidal particles stabilized high internal phase emulsions for β -carotene protection and delivery. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106497, 2021.

YU, Xiaoshuai *et al.* Changes in physicochemical and structural properties of pea protein during the high moisture extrusion process. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 251, p. 126350, 2023.

YUE, Ying *et al.* Interactions between pea protein isolate and carboxymethylcellulose in neutral and acid aqueous systems. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1560, 2021.

ZHANG, Jingnan *et al.* High internal phase emulsions stabilized by pea protein isolate modified by ultrasound combined with pH-shifting: Micromorphology, rheology, and physical stability. **Foods**, v. 12, n. 7, p. 1433, 2023.

ZHANG, Rixin *et al.* Fabrication and characterization of fat crystal-stabilized W/O high internal phase Pickering emulsions (HIPPEs) as a low-fat alternative margarine. **Lwt**, v. 196, p. 115798, 2024.

ZHANG, Shuning *et al.* Pea protein microgel particles as Pickering stabilisers of oil-in-water emulsions: Responsiveness to pH and ionic strength. **Food Hydrocolloids**, v. 102, p. 105583, 2020.