



EMULSÕES PICKERING ESTABILIZADAS POR ZEÍNA E QUITOSANA: EFEITO DO TIPO DE ÓLEO ESSENCIAL E CONCENTRAÇÃO PROTEICA VEGETAL

NATÁLIA CHINELLATO DE AZAMBUJA FERREIRA¹, VITÓRIA CARAMATTI¹ & CAROLINA SIQUEIRA FRANCO PICONE^{1*}

¹Universidade Estadual de Campinas, FEA, Faculdade de Engenharia de Alimentos
*e-mail: cpicone@unicamp.br

RESUMO – Sistemas emulsionados estabilizados por polissacarídeos ou partículas coloidais de grau alimentício podem apresentar uma melhor estabilidade física e propriedades de carregamento ou liberação controlada de compostos bioativos. As partículas coloidais à base de proteínas são particularmente interessantes, pois são amplamente disponíveis, de baixo custo, têm boas propriedades emulsificantes e apresentam benefícios nutricionais. No presente trabalho foram desenvolvidas dispersões, com e sem adição de óleos essenciais, estabilizadas por dois biopolímeros, quitosana e zeína, no qual a concentração de zeína variou de 0.5 a 1.5% (m/m). A fase aquosa e as emulsões foram caracterizadas quanto ao tamanho de partícula, índice de polidispersão, microestrutura, estabilidade cinética e comportamento reológico. Os resultados indicaram que o tipo de óleo essencial utilizado não interfere na estabilidade das emulsões. Já a emulsificação da fase aquosa alterou a organização da zeína, que tende a permanecer próxima às regiões apolares, contribuindo para a estabilização da interface. A concentração de zeína foi fundamental para garantir a estabilidade das emulsões, sendo necessário a adição de ao menos 1.0% (m/m) da proteína para a obtenção de emulsões estáveis ao longo de 28 dias.

INTRODUÇÃO

Nos dias atuais o emprego de aditivos em alimentos é visto com cautela, uma vez que a grande maioria dos aditivos existentes no mercado é de origem sintética e apontam ameaças à saúde associadas ao uso em excesso e/ou contínuo em longo prazo. Aliado a isso, há uma maior procura dos consumidores por alimentos mais saudáveis, livres de aditivos sintéticos (De Almeida *et al.*, 2018). Existe, portanto, a necessidade de buscar substâncias de origem natural que possam ser utilizadas como conservantes de alimentos, realizando adequação aos princípios da chamada Química Verde (De Marco *et al.*, 2019). Os óleos essenciais, compostos secundários produzidos pelas plantas, apresentam uma alternativa promissora aos conservantes sintéticos, pois apresentam diversas propriedades benéficas

como ação bactericida e fungicida, sendo comumente utilizados como aditivos em alimentos (Granata *et al.*, 2018; Pandey *et al.*, 2017). Os óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare L.*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) têm despertado grande interesse por possuírem alto conteúdo de compostos fenólicos, considerados responsáveis pela atividade antimicrobiana desses óleos (De Almeida *et al.*, 2020). O carvacrol é o principal composto fenólico presente no óleo essencial de orégano representando cerca de 70% de sua composição, e em conjunto com outros monoterpenos atuam na membrana plasmática dos microrganismos, desarranjando a estrutura e provocando lise celular (Silva *et al.*, 2010). O óleo essencial de tomilho apresenta em sua composição elevado teor de flavonoides, ácidos fenólicos e principalmente timol, composto esse que possui atividade antimicrobiana, antioxidante, expectorante, dentre outras.

Pesquisas relatam que os compostos fenólicos presentes no óleo essencial de tomilho reagem diretamente com os radicais livres, inibindo a peroxidação lipídica nos alimentos (Kazdair *et al.*, 2018). Por estes compostos apresentarem reconhecida ação antimicrobiana, são considerados uma alternativa natural para a conservação de alimentos sendo geralmente reconhecidos como seguros - GRAS (Boskovic *et al.*, 2017). Contudo, a ação efetiva de óleos essenciais frente à inibição de crescimento de algumas bactérias e fungos, dependem da estabilidade destes compostos, pois apresentam baixa estabilidade química, rápida oxidação e volatilização. Porém, a degradação e perda de eficiência destes compostos podem ser minimizados através de sua incorporação em sistemas biopoliméricos emulsionados.

As propriedades reológicas de um sistema emulsionado são de grande importância para sua estabilidade. Através de testes reológicos pode-se determinar diversos fenômenos associados à desestabilização de emulsões tais como cremação, floculação, coalescência, fenômeno de *Ostwald ripening* e inversão de fases (Nour, 2018). Dentre as técnicas de medidas reológicas temos, testes realizados a altas taxas de deformação, como as curvas de escoamento, e a baixas taxas de deformações, como os ensaios oscilatórios. A partir de varreduras de frequência a baixas deformações é possível avaliar o ponto em que sistemas emulsionados apresentam a transição de uma fase predominantemente viscosa para outra predominantemente elástica à medida que a frequência de oscilação excede um dado valor crítico, permitindo definir o tempo em que o sistema emulsionado atinge o equilíbrio (Tadros, 2013; Mason, 1999; Tadros, 1994).

Uma emulsão é composta pela mistura de dois líquidos imiscíveis, geralmente água e óleo. Um dos líquidos é disperso na forma de gotículas (fase dispersa ou interna), em outro, denominado fase contínua ou externa. Em grande parte dos alimentos, as gotículas apresentam diâmetro em torno de 0,1 a 100 μm (McClements, 2015). Após a homogeneização do óleo com a água, a tendência é que ocorra rapidamente a separação de fases ficando a camada de óleo (menor densidade) sobre a camada de água (maior densidade), devido ao contato termodinamicamente desfavorável

entre a água e o óleo (McClements, 2015). O uso de surfactantes permite prolongar a estabilidade cinética de emulsões (Benetti, 2019). No entanto, o uso de surfactantes sintéticos tem sido visto com restrições pelos consumidores em busca de produtos mais saudáveis e naturais. Por isso, outros tipos de moléculas tensoativas naturais, como proteínas e polissacarídeos, vêm sendo estudados para a estabilização de sistemas emulsionados (McClements & Gumus, 2016). Uma alternativa para o aumento da estabilidade de tais sistemas é o uso de partículas coloidais. Emulsões *Pickering* são estabilizadas por partículas sólidas adsorvidas à interface em vez de um agente surfactante ou tensoativo. Desse modo, emulsões *Pickering* pode ser considerado como “livre de tensoativos”. Elas apresentam menor polidispersão e são mais estáveis quando comparadas com emulsões estabilizadas por emulsionantes convencionais (Dupont *et al.*, 2021; Low *et al.*, 2020).

Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a formação de emulsões de óleo essencial de tomilho e orégano a partir de partículas de zeína e quitosana. O efeito da concentração de zeína nas propriedades das partículas e estabilidade das emulsões foi avaliado. O comportamento das partículas da fase aquosa da emulsão também foi estudado de maneira a contribuir para o entendimento dos sistemas emulsionados.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

A Zeína (Z) e a Quitosana (CS) de baixo peso molecular (75–85 % desacetilada, 50.000–190.000 Da) foram adquiridas da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). O óleo essencial de orégano (OEO) e óleo essencial de tomilho (OET) foram adquiridos da empresa Givaldan (Brasil), glicerol P.A. (G) (Synth, Brasil) e os demais reagentes utilizados nas análises foram de grau analítico.

Métodos

Preparo das dispersões: As dispersões foram obtidas de acordo com metodologia descrita por Zhang e colaboradores (2019) com modificações. Inicialmente foi preparada uma solução estoque de 2.5% (m/v) de quitosana em

água deionizada, acidificada a pH 4.0 com ácido acético e mantida sob agitação magnética *overnight*. Posteriormente, foi preparada uma solução hidroetanólica 90% (m/m) na qual foi adicionada 4% (m/m) de zeína sob agitação magnética por 30 min a 80°C. Em seguida, esta solução de zeína foi resfriada em banho de gelo, até temperatura ambiente e acidificada a pH 4.0, utilizando ácido acético glacial. A partir das soluções estoques, as fases aquosas foram preparadas utilizando 1.5% (m/m) de quitosana e diferentes concentrações de zeína, 0.5, 1.0 e 1.5% (m/m). O glicerol foi adicionado na proporção 1:1 (m/m) em relação à concentração de zeína em dispersão. As amostras foram homogeneizadas sob agitação magnética por 30 min. Para formação das emulsões, 3.0% (g/g de fase aquosa) de óleo essencial de orégano ou tomilho foram adicionados à fase aquosa seguido de homogeneização em Ultra Turrax (IKA, Modelo T18, Alemanha) a 10.000 rpm por 3 min (Dos Santos Paglione *et al.*, 2019).

Densidade de carga: Foi analisado o potencial zeta das amostras e soluções estoques de biopolímeros na concentração de 0.01% (v/v) em água deionizada. A análise foi realizada em equipamento ZetaSizer Nano-ZS 90 (Malvern Instruments, Reino Unido).

Tamanho de partícula: A distribuição de tamanho de gota das emulsões foi caracterizada através de espalhamento estático de luz em um Malvern Mastersizer 2000 (Malvern, Reino Unido). Além disso, o valor do diâmetro de Brouckere ($D_{4,3}$) foi calculado de acordo com a Equação 1.

$$D_{4,3} = \frac{\sum_{i=1}^N n_i d_i^4}{\sum_{i=1}^N n_i d_i^3} \quad (1)$$

Onde n_i representa o número de gotas de um determinado intervalo de tamanho e d_i é o diâmetro da gota.

O índice de polidispersão (Span) das emulsões foi calculado de acordo com a Equação 2. Todas as medições de difração de laser foram realizadas em triplicada.

$$Span = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}} \quad (2)$$

Microscopia óptica: A microscopia óptica foi realizada imediatamente após o preparo das amostras em microscópio Carl Zeiss Modelo

Jenaval SICCT 9961 (ZEISS, Alemanha) equipado com uma câmera modelo HD-CAM Light 89/336 (BEL, China).

Estabilidade cinética: A estabilidade das emulsões à separação de fases foi medida utilizando o equipamento Turbiscan LAB® Expert (Formulaction, França) nos tempos 0 e 28 dias após o preparo das amostras. O Turbiscan analisa os perfis de retroespalhamento de luz ao longo da amostra permitindo correlacioná-los com os fenômenos de desestabilização de emulsões antes de qualquer observação visual efetiva (Gomes *et al.*, 2018). O *Turbiscan Stability Index* (TSI) foi usado para quantificar a estabilidade das amostras, no qual, quanto menor o valor encontrado de TSI mais estável se apresenta a amostra analisada (Zalewska *et al.*, 2019). Este índice foi determinado utilizando o software Turbisoft 2.0 (Santos *et al.*, 2020). O aspecto visual das dispersões foi avaliado nos mesmos tempos das análises de estabilidade cinética.

Comportamento reológico: A viscosidade das emulsões e suas respectivas fases aquosas foram medidas através de curvas de escoamento em um reômetro de deformação controlada (TA Instrument - Modelo AR1500ex, EUA) com uma geometria de placas paralelas de 40 mm de diâmetro a uma taxa de cisalhamento variando na faixa de 0-300 s⁻¹ a temperatura de 25°C, em três rampas. A equação de Newton, Equação 3, foi ajustada aos dados experimentais.

$$\tau = \eta \times \dot{\gamma} \quad (3)$$

Onde η denota a viscosidade (Pa.s), τ denota a tensão de cisalhamento (Pa) e $\dot{\gamma}$ representa a taxa de cisalhamento (s⁻¹).

O comportamento reológico das emulsões a baixas deformações foi determinado a 25°C. O módulo de armazenamento (G') e o módulo de dissipação (G'') foram medidos através de uma varredura de frequência de 0.1 a 100 Hz na região de viscoelasticidade linear das amostras (taxa de deformação de 0.1%).

Análise estatística: A diferencia entre as médias foi determinada por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com nível de significância de $p < 0.05$, utilizando o software Past version 3.25 (Hammer *et al.*, 2001).

RESULTADOS

Densidade de carga

Os valores de potencial zeta das soluções dos biopolímeros puros, quitosana (CS) e zeína (Z), foram +40.2 e +33.8 mV, respectivamente. Já o potencial zeta da fase aquosa e das emulsões variaram de +67.6 a +72.1 mV. O potencial zeta é a diferença de tensão elétrica entre a camada difusiva de íons ao redor da partícula e a suspensão líquida. Ele pode ser relacionado à repulsão eletrostática entre partículas, que por sua vez interfere na estabilidade coloidal do sistema (Oliveira, 2019; Freitas, 2016). Valores de potencial zeta superiores a ± 30 mV, indicam partículas altamente carregadas, relacionadas a dispersões fisicamente estáveis (Mehnert & Mäder, 2012). Os valores de potencial zeta são influenciados pelas mudanças na interface com o meio dispersante, em razão da dissociação de grupos funcionais na superfície da partícula ou da adsorção de espécies iônicas presentes no meio aquoso de dispersão (Schaffazick *et al.*, 2003). De acordo com os resultados observados, as soluções de biopolímeros puros, apresentam valores menores de potencial zeta quando comparadas às dispersões sem e com adição de óleo essencial. O carácter catiônico da quitosana está relacionado à protonação dos grupos amino livres, tornando esse polissacarídeo mais solúvel em água e carregado positivamente em soluções com pH abaixo de seu valor de pKa 6.3 (Duarte *et al.*, 2022; Duan *et al.*, 2019). Em relação à zeína, o valor encontrado se deve ao fato do pH da solução (4.0) estar abaixo do seu ponto isoelétrico (6.5). Embora a zeína e a quitosana apresentem repulsão eletrostática devido ao potencial zeta positivo, complexos zeína-quitosana podem ser formados através de interações hidrofóbicas entre os grupos acetil apolares na quitosana e aminoácidos apolares na zeína (Chen *et al.*, 2020). Além disso, podem contribuir para a atração entre as moléculas de quitosana e zeína, ligações de hidrogênio, devido a interação das moléculas de hidrogênio com os grupos hidroxilas dos biopolímeros e as forças de van der Waals (Li *et al.*, 2018).

Tamanho de partícula e microscopia ótica

Uma das mais importantes caracterizações físico-químicas das suspensões coloidais é a distribuição de tamanho, pois estas

podem indicar tendências à separação. Na fase aquosa obteve-se tamanho de partícula em torno de 3 μm , enquanto que as emulsões apresentaram valores de tamanho centrados entre 1.87 e 2.15 μm e todas as amostras apresentaram distribuição de partícula monomodais (Figuras 1, 2 e 3).

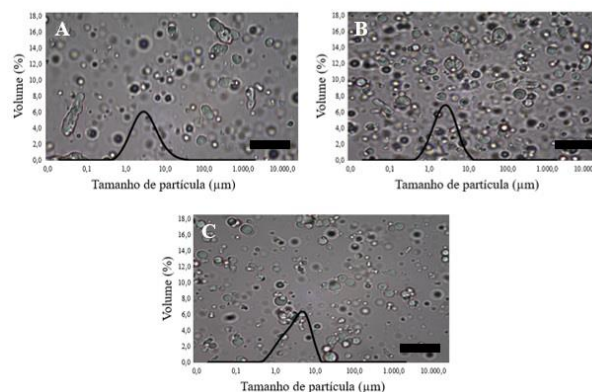


Figura 1: Microscopia ótica e distribuição de tamanho de partículas, da fase aquosa composta por 1.5% (m/v) de quitosana (CS), sem adição de óleo essencial e diferentes proporções de zeína (Z): A) 0.5% (m/m); B) 1.0% (m/m) e C) 1.5% (m/m). Barras de escala = 5 μm .

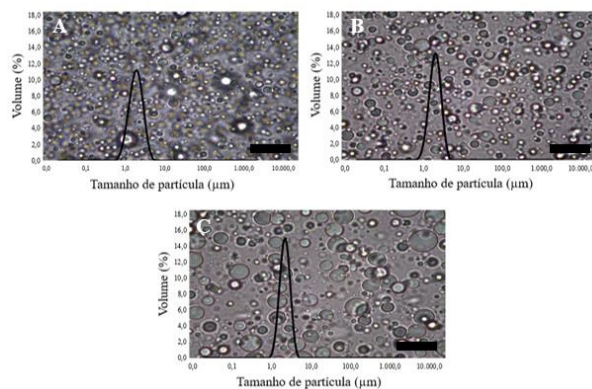


Figura 2: Microscopia ótica e distribuição de tamanho de partículas, da emulsão composta por 1.5% (m/v) de quitosana (CS), 3.0% (m/m) de adição de óleo essencial orégano e diferentes proporções de zeína (Z): A) 0.5% (m/m); B) 1.0% (m/m) e C) 1.5% (m/m). Barras de escala = 5 μm .

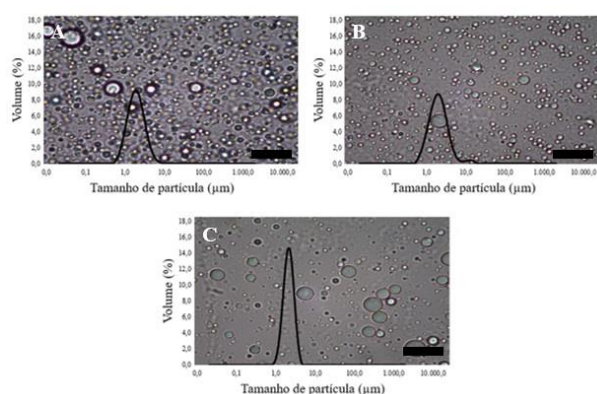


Figura 3: Microscopia óptica e distribuição de tamanho de partículas, da emulsão composta por 1.5% (m/v) de quitosana (CS), 3.0% (m/m) de adição de óleo essencial tomilho e diferentes proporções de zeína (Z): A) 0.5% (m/m); B) 1.0% (m/m) e C) 1.5% (m/m). Barras de escala = 5 μm .

Os valores de tamanho de partícula ($D_{4,3}$) e índice de polidispersão (Span) das amostras são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de diâmetro de Brouckere ($D_{4,3}$) e Span das dispersões sem adição de óleo essencial e adicionadas de óleo essencial de orégano ou óleo essencial de tomilho.

Amostra	$D_{4,3}$ (μm)	Span
0% (m/m) de Óleo essencial		
CS1.5Z0.5G0.5	3,97 \pm 0,03 ^a	2,42 \pm 0,01 ^a
CS1.5Z1G1	3,16 \pm 0,01 ^b	1,84 \pm 0,01 ^c
CS1.5Z1.5G1.5	3,98 \pm 0,01 ^a	1,88 \pm 0,01 ^b
3% (m/m) de Óleo essencial de orégano		
CS1.5Z0.5G0.5	1,87 \pm 0,01 ^e	1,05 \pm 0,01 ^f
CS1.5Z1G1	1,98 \pm 0,01 ^d	0,88 \pm 0,01 ^g
CS1.5Z1.5G1.5	2,15 \pm 0,01 ^c	0,77 \pm 0,01 ^h
3% (m/m) de Óleo essencial de tomilho		
CS1.5Z0.5G0.5	1,99 \pm 0,01 ^d	1,41 \pm 0,01 ^d
CS1.5Z1G1	2,15 \pm 0,01 ^c	1,31 \pm 0,01 ^e
CS1.5Z1.5G1.5	1,99 \pm 0,01 ^d	0,72 \pm 0,01 ⁱ

Observa-se que as amostras com adição de óleo essencial apresentam menores tamanhos de partículas. Na fase aquosa, sem adição de óleo essencial, o tamanho de partícula é maior decorrente a formação de agregados de zeína devido a mudança de polaridade do solvente. A zeína possui grande fração de prolaminas com aminoácidos apolares, refletindo na baixa solubilidade da proteína em meio aquoso. No entanto, nos sistemas

emulsionados, os tamanhos de partículas observados (Tabela 1) foram menores que os de suspensões de zeína-quitosana, indicando uma reorganização dos biopolímeros na presença de óleo. Wang e colaboradores (2016), reportam a formação de partículas de zeína-quitosana em interfaces óleo-água. A quitosana em pH acima de 6.0, forma agregados que são adsorvidos na superfície das gotículas de óleo no processo de emulsificação, produzindo assim emulsões *Pickering*, com tudo a quitosana possui fraca capacidade emulsificante em condições ácidas (Liu *et al.*, 2012). A zeína é formada majoritariamente por prolaminas, proteínas anfífilas insolúveis em água e óleo. Porém essas proteínas são solúveis em soluções alcoólicas e apresentam uma forte hidrofobicidade superficial (Yan *et al.*, 2020; Dai *et al.*, 2018), que caracteriza a tendência da zeína à agregação, formando partículas esféricas na presença de água. As prolaminas, presentes na zeína e outras proteínas como kafirina e gliadina, podem formar partículas através da evaporação ou alteração de polaridade do solvente ou ajuste de pH. O desempenho na estabilização de emulsões deste tipo de partículas de proteínas hidrofóbicas pode ser aprimorado pela formação de complexos com moléculas mais hidrofílicas, como a quitosana, proteínas hidrofílicas ou polifenóis. Este efeito é atribuído ao fato de que o equilíbrio de grupos hidrofílicos a hidrofóbicos nas superfícies das partículas de proteína pode ser modulado para otimizar seu comportamento de adsorção à interface enquanto inibe a tendência de auto agregação tornando sistemas emulsionados mais estáveis (Yan *et al.*, 2020).

No presente estudo, à medida que a solução hidroetanólica de zeína é adicionada à solução de quitosana ocorre inversão de polaridade do solvente, induzindo a agregação da zeína, metodologia conhecida como precipitação antisolvente. Na presença de óleos essenciais, observa-se a redução do tamanho de partícula (Tabela 1), devido à reorganização da zeína e quitosana na interface óleo-água e exposição das regiões altamente hidrofóbicas dos biopolímeros para a fase oleosa.

O índice de polidispersão (Span), se relaciona à uniformidade da distribuição de partículas podendo ser associado à estabilidade

de suspensões e emulsões (Low *et al.*, 2020; McClements, 2007). Os valores de Span obtidos (Tabela 1) variaram de 0.72 a 2.42, sendo que os menores valores correspondem às amostras com adição de óleo essencial. Quanto maior a variação do tamanho de gota, maior a estabilidade de dispersões à separação.

Estabilidade cinética

Logo após a obtenção das amostras todas apresentaram-se estáveis conforme observado nas Figuras 4, 5 e 6 (0 Dias).

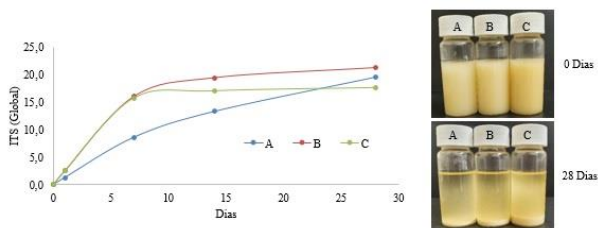


Figura 4: Aspecto visual da fase aquosa composta por 1.5% (m/v) de quitosana (CS), sem adição de óleo essencial e diferentes proporções de zeína (Z): A) 0.5% (m/m); B) 1.0% (m/m) e C) 1.5% (m/m).

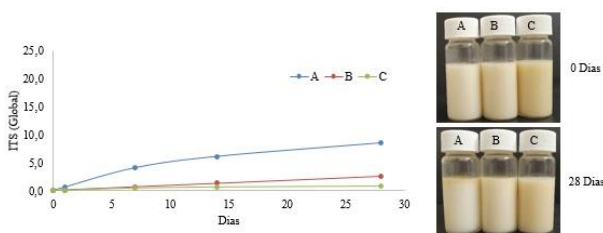


Figura 5: Aspecto visual das emulsões composta por 1.5% (m/v) de quitosana (CS), 3.0% (m/m) de óleo essencial de orégano e diferentes proporções de zeína (Z): A) 0.5% (m/m); B) 1.0% (m/m) e C) 1.5% (m/m).

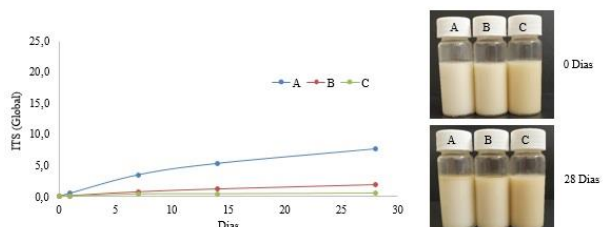


Figura 6: Aspecto visual das emulsões composta por 1.5% (m/v) de quitosana (CS), 3.0% (m/m) de óleo essencial de tomilho e diferentes proporções de zeína (Z): A) 0.5% (m/m); B) 1.0% (m/m) e C) 1.5% (m/m).

Ao longo de 28 dias a fase aquosa, sem adição de óleo essencial, apresentou

sedimentação e aumento nos valores de TSI (Figura 4), indicando uma desestabilização mais rápida e maior em relação às emulsões (Figuras 5 e 6). Isso ocorre, pois as suspensões apresentam partículas de tamanhos maiores que as emulsões, o que torna essas amostras mais susceptíveis à ação da força gravitacional.

Nas emulsões, as amostras contendo a menor concentração de zeína (0.5% m/m), apresentaram separação de óleo na parte superior dos tubos de análise ao longo do tempo (Figuras 5 e 6). A formação de uma fase oleosa límpida indica a ocorrência de coalescência e cremação das gotas, esta última promovida pela menor densidade das gotas de óleo, fazendo com que essas gotículas subam em direção à superfície da emulsão. Esse processo de desestabilização é influenciado pela velocidade de migração das gotas de óleo em direção à superfície da emulsão e depende diretamente do tamanho da gota e da diferença de densidade entre as fases contínua e dispersa (Oliveira, 2019). A drenagem do filme interfacial e coalescência das gotas pode ocorrer quando a quantidade de surfactante ou partículas estabilizadoras da interface é insuficiente para o recobrimento total da mesma. Com o aumento da concentração de zeína, é possível maior recobrimento da interface, reduzindo a coalescência das gotas e tornando as emulsões mais estáveis (Yan *et al.*, 2020). Com isso foi necessário concentrações superiores a 1.0% (m/m) de proteína para que ocorresse uma estabilização adequada da interface dos sistemas avaliados.

Comportamento reológico

Se a viscosidade do fluido não depende da taxa de cisalhamento ele é chamado de “Fluido newtoniano” (Ghannam *et al.*, 2014). O comportamento reológico de uma emulsão pode ser newtoniano ou não newtoniano dependendo das características morfológicas da emulsão (Boxall *et al.*, 2010; Aomari *et al.*, 1998). No presente estudo, todas as emulsões apresentaram comportamento Newtoniano ($R^2 > 0,99$) (Tabela 2). As suspensões de zeína e quitosana que compõem as fases aquosas das emulsões, apresentaram os menores valores de viscosidade que suas respectivas emulsões.

Tabela 2: Viscosidade das amostras sem adição de óleo essencial e adicionadas de óleo essencial de orégano e óleo essencial de tomilho.

Tratamentos	Viscosidade (Pa.s)	R ²
0% (m/m) de Óleo essencial		
CS1.5Z0.5G0.5OE0	0,156±0,003 ^f	0,999
CS1.5Z1G1OE0	0,180±0,002 ^{de}	0,999
CS1.5Z1.5G1.5OE0	0,217±0,006 ^c	0,999
3% (m/m) de Óleo essencial de orégano		
CS1.5Z0.5G0.5OEO3	0,173±0,001 ^e	0,999
CS1.5Z1G1OEO3	0,210±0,004 ^c	0,999
CS1.5Z1.5G1.5OEO3	0,260±0,005 ^a	0,999
3% (m/m) de Óleo essencial de tomilho		
CS1.5Z0.5G0.5OET3	0,185±0,003 ^d	0,999
CS1.5Z1G1OET3	0,238±0,004 ^b	0,999
CS1.5Z1.5G1.5OET3	0,254±0,002 ^a	0,999

Tanto na fase aquosa, quanto nas emulsões, o aumento da concentração de zeína aumentou a viscosidade das amostras. De acordo com Gomes e colaboradores (2018), a viscosidade é ligeiramente maior para sistemas com alto teor de proteína.

Testes reológicos oscilatórios, podem ser conduzidos sob condições de tração, compressão ou cisalhamento, no qual a amostra é submetida a uma pequena força oscilatória ou deformação que varia senoidalmente com o tempo (Rao, 1999). Nas Figuras 7 e 8 estão apresentados os espectros mecânicos das emulsões em relação ao G' (módulo elástico) e o G'' (módulo viscoso) (Tadini *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2008; Steffe, 1996).

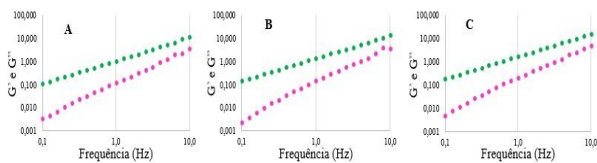


Figura 7: Valores de G', representado em rosa e G'', representado em verde, durante varredura de frequência das emulsões compostas por 1.5% (m/v) de quitosana (CS), 3.0% (m/m) de óleo essencial de orégano e diferentes proporções de zeína (Z): A) 0.5% (m/m); B) 1.0% (m/m) e C) 1.5% (m/m).

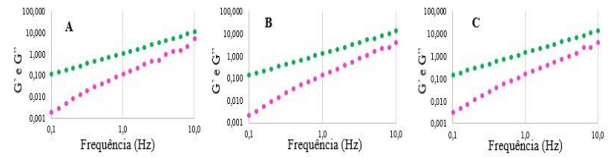


Figura 8: Valores de G', representado em rosa e G'', representado em verde, durante varredura de frequência das emulsões compostas por 1.5% (m/v) de quitosana (CS), 3.0% (m/m) de óleo essencial de orégano e diferentes proporções de zeína (Z): A) 0.5% (m/m); B) 1.0% (m/m) e C) 1.5% (m/m).

A análise dinâmica de um material, a partir dos módulos de cisalhamento dinâmico (G' e G''), bem como a viscosidade e a variação da frequência, permite caracterizar esse material como mais viscoso ou mais elástico (Morris, 1995). Para materiais com características mais viscosas, próximo aos líquidos ideais, G'' se apresenta maior em relação ao G'. Desta forma, após análise das Figuras 7 e 8, pode-se inferir que as amostras avaliadas, apresentaram valores de G'' superiores a G' ao longo de todo o espectro, o que indica que as dispersões apresentam características de materiais mais viscosos do que elásticos. A semelhança entre os espectros mecânicos das amostras reflete a similaridade entre a morfologia após o preparo das emulsões produzidas com óleo essencial de tomilho e de orégano. As diferentes concentrações de zeína não influenciaram o comportamento das emulsões a baixas deformações.

CONCLUSÕES

Foi possível a produção de emulsões estáveis por 28 dias à separação de fases na presença de quitosana e zeína, sendo necessária a concentração mínima de 1.0% (m/m) de zeína para garantir a estabilização das emulsões. Concentrações superiores a esta ocasionaram aumento da viscosidade das emulsões, o que pode ter contribuído para a estabilidade, associado ao melhor recobrimento da interface e impedimento da coalescência entre as gotas. Os tamanhos de gota das emulsões foram inferiores aos das suspensões aquosas de biopolímeros, indicando uma reorganização da zeína e quitosana na presença de óleo, que contribuiu para a estabilidade dos sistemas emulsionados.

REFERÊNCIAS

- AOMARI, N., GAUDU, R., CABIOC'H, F., & OMARI, A. (1998), Rheology of water in crude oil emulsions, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol 139, p.13-20.
- BENETTI, J. V. M., DO PRADO SILVA, J. T., & NICOLETTI, V. R. (2019), SPI microgels applied to Pickering stabilization of O/W emulsions by ultrasound and high-pressure homogenization: rheology and spray drying, *Food Research International*, Vol 122, p.383-391.
- BOSKOVIC, M., DJORDJEVIC, J., IVANOVIC, J., JANJIC, J., ZDRAVKOVIC, N., GLISIC, M., GLAMOCLJA, N., BALTIC, B., DJORDJEVIC, V. & BALTIC, M. (2017), Inhibition of Salmonella by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere, *International Journal of Food Microbiology*, Vol 258, p.58-67.
- BOXALL, J. A., KOH, C. A., SLOAN, E. D., SUM, A. K., & WU, D. T. (2010), Measurement and calibration of droplet size distributions in water-in-oil emulsions by particle video microscope and a focused beam reflectance method, *Industrial & engineering chemistry research*, Vol 49, p.1412-1418.
- CHEN, S., LI, Q., MCCLEMENTS, D. J., HAN, Y., DAI, L., MAO, L., & GAO, Y. (2020), Co-delivery of curcumin and piperine in zein-carrageenan core-shell nanoparticles: Formation, structure, stability and in vitro gastrointestinal digestion, *Food Hydrocolloids*, Vol 99, p.105334.
- DAI, L., ZHAN, X., WEI, Y., SUN, C., MAO, L., MCCLEMENTS, D. J., & GAO, Y. (2018), Composite zein-propylene glycol alginate particles prepared using solvent evaporation: Characterization and application as Pickering emulsion stabilizers, *Food Hydrocolloids*, Vol 85, p.281-290.
- DE ALMEIDA, C. B. D., CORRADINI, E., FORATO, L. A., FUJIHARA, R. & LOPES FILHO, J. F. (2018), Microstructure and thermal and functional properties of biodegradable films produced using zein, *Polímeros*, Vol 28, p.30-37.
- DE ALMEIDA, J. C., DE ALMEIDA, P. P., & GHERARDI, S. R. M. (2020), Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018, *Nutri Time*, Vol 17, p.8623-8633.
- DE MARCO, B. A., RECHELO, B. S., TÓTOLI, E. G., KOGAWA, A. C. & SALGADO, H. R. N. (2019), Evolution of green chemistry and its multidimensional impacts: A review, *Saudi Pharmaceutical Journal*, Vol 27, p.1-8.
- DOS SANTOS PAGLIONE, I., GALINDO, M. V., DE MADEIROS, J. A. S., YAMASHITA, F., ALVIM, I. D., GROSSO, C. R. F., SAKANAKA, L.S. & SHIRAI, M. A. (2019), Comparative study of the properties of soy protein concentrate films containing free and encapsulated oregano essential oil, *Food Packaging and Shelf Life*, Vol 22, p.100419.
- DUAN, C., MENG, X., MENG, J., KHAN, M. I. H., DAI, L., KHAN, A., AN, X., ZHANG, J., HUQ, T. & NI, Y. (2019), Chitosan as a preservative for fruits and vegetables: a review on chemistry and antimicrobial properties, *Journal of Bioresources and Bioproducts*, Vol 4, p.11-21.
- DUARTE, L. G., ALENCAR, W. M., IACUZIO, R., SILVA, N. C. & PICONE, C. S. (2022), Synthesis, characterization and application of antibacterial lactoferrin nanoparticles, *Current Research in Food Science*, Vol 5, p.642-652.
- DUPONT, H., MAINGRET, V., SCHMITT, V., & HÉROGUEZ, V. (2021), New insights into the formulation and polymerization of Pickering emulsions stabilized by natural organic particles, *Macromolecules*, Vol 54, p.4945-4970.
- FREITAS, D. Z. D. (2016), Nanopartículas de zeína e quitosana contendo óleo essencial

- de *Ocimum gratissimum* L. quimiotipos eugenol e geraniol. PPGCA/UFSC – Florianópolis – SC, 157p. (dissertação de mestrado).
- GHANNAM, M. T., ABU-JDAYIL, B., & ESMAIL, N. (2014), Experimental investigation of crude oil-xanthan emulsions flow behavior, *Journal of Petroleum Science and Engineering*, Vol 3, p.1-15.
- GOMES, A., COSTA, A. L. R., & CUNHA, R. L. (2018), Impact of oil type and WPI/Tween 80 ratio at the oil-water interface: Adsorption, interfacial rheology and emulsion features, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Vol 164, p.272-280.
- GRANATA, G., STRACQUADANIO, S., LEONARDI, M., NAPOLI, E., CONSOLI, G. M. L., CAFISO, V. & GERACI, C. (2018), Essential oils encapsulated in polymer-based nanocapsules as potential candidates for application in food preservation, *Food Chemistry*, Vol 269, p.286-292.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T. & RYAN, P. D. (2001) PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis, *Palaeontologia Electronica* 3.
- KHAZDAIR, M. R., ANAEIGOUDARI, A., HASHEMZEHI, M. & MOHEBBATI, R. (2018), Neuroprotective potency of some spice herbs, a literature review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, Vol 30, p.98-105.
- LI, M., CHEN, L., XU, M., ZHANG, J., WANG, Q., ZENG, Q., WEI, X. & YUAN, Y. (2018), The formation of zein-chitosan complex coacervated particles: Relationship to encapsulation and controlled release properties, *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol 116, p.1232-1239.
- LIU, H., WANG, C., ZOU, S., WEI, Z., & TONG, Z. (2012), Simple, reversible emulsion system switched by pH on the basis of chitosan without any hydrophobic modification, *Langmuir*, Vol 28, p.11017-11024.
- LOW, L. E., SIVA, S. P., HO, Y. K., CHAN, E. S. & TEY, B. T. (2020), Recent advances of characterization techniques for the formation, physical properties and stability of Pickering emulsion, *Advances in colloid and interface science*, Vol 277, p.102117.
- MASON, T. G. (1999), New fundamental concepts in emulsion rheology, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, Vol 4, p.231-238.
- MCCLEMENTS, D. J. (2007), Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability, *Critical reviews in food science and nutrition*, Vol 47, p.611-649.
- MCCLEMENTS, D. J. (2015), Encapsulation, protection, and release of hydrophilic active components: Potential and limitations of colloidal delivery systems, *Advances in colloid and interface science*, Vol 219, p.27-53.
- MCCLEMENTS, D. J., & GUMUS, C. E. (2016), Natural emulsifiers - Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance, *Advances in Colloid and interface Science*, Vol 234, p.3-26.
- MEHNERT, W., & MÄDER, K. (2012), Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications, *Advanced drug delivery reviews*, Vol 64, p.83-101.
- MORRIS, E. R. (1995), Polysaccharide rheology and in-mouth perception, *Food polysaccharides and their applications*, p.517-546.
- NOUR, A. H. (2018), Emulsion types, stability mechanisms and rheology: A review, *International Journal of Innovative Research and Scientific Studies (IJIRSS)*, Vol 1, p.1.
- OLIVEIRA, M. K. D. S. (2019), Nanopartículas magnéticas de FeCo. Caracterização e estudo de estabilidade após recobrimento com goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). PPGQ/UFC – Fortaleza – Ceará, 58p. (dissertação de mestrado).
- PANDEY, A. K., KUMAR, P., SINGH, P., TRIPATHI, N. N. & BAJPAI, V. K. (2017), Essential oils: Sources of

- antimicrobials and food preservatives, *Frontiers in microbiology*, Vol 7, p.2161.
- RAO, M. A. (1999), *Rheology of fluid and semisolid foods*, Gaithersburg, Maryland: Aspen.
- SANTOS, J., ALCAIDE-GONZÁLEZ, M. A., TRUJILLO-CAVADO, L. A., CARRILLO, F. & ALFARO-RODRÍGUEZ, M. C. (2020), Development of food-grade Pickering emulsions stabilized by a biological macromolecule (xanthan gum) and zein, *International journal of biological macromolecules*, Vol 153, p.747-754.
- SCHAFFAZICK, S. R., GUTERRES, S. S., FREITAS, L. D. L., & POHLMANN, A. R. (2003), Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos, *Química nova*, Vol 26, p.726-737.
- SILVA, L. L., HELDWEIN, L. G., REETZ, L. G. B., HÖRNER, R., MALLMANN, C. A., HEINZMANN, B. M. (2010), Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., *Lamiaceae*, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Vol 20, p.700-705.
- STEFFE, J. F. (1996), *Rheological methods in food process engineering*, Freeman press, 418p.
- TADINI, C. C., TELIS, V. R. N., & DE ALMEIDA MEIRELLES, A. J. (2016), *Operações unitárias na indústria de alimentos*, Grupo Gen-LTC, 512p.
- TADROS, T. F. (1994), *Fundamental principles of emulsion rheology and their applications*, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol 91, p.39-55.
- TADROS, T. F. (2013), *Emulsion formation, stability, and rheology*, *Emulsion formation and stability*, Vol 1, p.1-75.
- WANG, L. J., YIN, S. W., WU, L. Y., QI, J. R., GUO, J., & YANG, X. Q. (2016), Fabrication and characterization of Pickering emulsions and oil gels stabilized by highly charged zein/chitosan complex particles (ZCCPs), *Food Chemistry*, Vol 213, p.462-469.
- YAN, X., MA, C., CUI, F., MCCLEMENTS, D. J., LIU, X., & LIU, F. (2020), Protein-stabilized Pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods, *Trends in Food Science & Technology*, Vol 103, p.293-303.
- ZALEWSKA, A., KOWALIK, J., & GRUBECKI, I. (2019), Application of turbiscan lab to study the effect of emulsifier content on the stability of plant origin dispersion, *Chemical and Process Engineering*, p.399-409.
- ZHANG, L., LIU, Z., HAN, X., SUN, Y., WANG, X. (2019), Effect of ethanol content on rheology of film-forming solutions and properties of zein/chitosan film, *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol 134, p.807-814.
- ZHANG, Y., XU, X., & ZHANG, L. (2008), Dynamic viscoelastic behavior of triple helical Lentinan in water: Effect of temperature, *Carbohydrate polymers*, Vol 73, p.26-34.