

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Patricia Yumi Murakami

A INFLUÊNCIA DE POLISSACARÍDEOS E PROTEÍNAS NO
PROCESSO DE LIPÓLISE GASTROINTESTINAL

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof.^a Dr.^a Carolina Siqueira Franco Picone

Campinas 2017

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): Não se aplica.

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

M931i Murakami, Patricia Yumi, 1992-
A influência de polissacarídeos e proteínas no processo de lipólise
gastrointestinal / Patricia Yumi Murakami. – Campinas, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Carolina Siqueira Franco Picone.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Polissacarídeos. 2. Lipólise. 3. Proteínas. 4. Controle. I. Picone, Carolina
Siqueira Franco. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações adicionais complementares

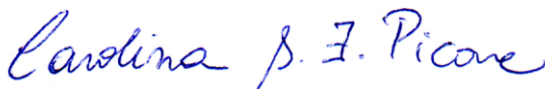
Titulação: Bacharel

Data de entrega do trabalho definitivo: 28-11-2017

Campinas, 21 de novembro de 2017

O trabalho de conclusão de curso da aluna Patricia Yumi Murakami apresentado à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp consiste em uma revisão bibliográfica sobre o efeito de polissacarídeos e proteínas no processo de lipólise ao longo do trato gastrointestinal. O processo de digestão de lipídeos foi revisado, dando-se ênfase a como as características da emulsão afetam sua estabilidade ao longo do aparelho digestivo. Foi feita uma revisão da literatura recente sobre estratégias de redução da lipólise pelo uso de proteínas e polissacarídeos. Além disso foram apresentados os principais tipos de experimentos utilizados para a avaliação da lipólise.

O documento foi bem elaborado e bem redigido. Assim, indico o trabalho para publicação e sugiro a nota 9,5.



Profa. Dra. Carolina Siqueira Franco Picone
Departamento de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Unicamp

Resumo

O controle da digestão de emulsões óleo-água pode ser feito visando-se a redução da absorção de lipídios, e consequentemente, a diminuição do risco de obesidade e doenças cardiovasculares. Este estudo apresenta uma revisão bibliográfica a respeito dos mecanismos envolvidos em emulsões estabilizadas de polissacarídeos (hidroxipropilmetilcelulose – HPMC e pectinas) e proteínas (proteínas do leite e proteínas da soja), e suas interações com sais biliares, íons cálcio e ácidos graxos livres. Para isso, foi realizado um estudo geral do processo de digestão de lipídios no trato gastrointestinal, abordando os métodos *in vitro* e *in vivo* de avaliação da lipólise e liberação de ácidos graxos. Os estudos revelam uma maior efetividade das emulsões estabilizadas por polissacarídeos na redução da taxa de lipólise em comparação às estabilizadas por proteínas.

Abstract

The control of the digestion of oil-water emulsions, aims to reduce the absorption of lipids, and consequently, the reduction of the risk of obesity and cardiovascular diseases. This study presents a review of the mechanisms involved in the polysaccharides (hydroxypropylmethylcellulose - HPMC and pectins) and proteins (milk proteins and soy proteins) stabilized emulsions, and their interactions with bile salts, calcium ions and free fatty acids. For this, a general study of the digestion process of lipids in the gastrointestinal tract were carried out, using *in vitro* and *in vivo* methods to evaluate the lipolysis and release of fatty acids, which allowed observed a greater effectiveness of emulsions stabilized with polysaccharides in the reduction of the rate of lipolysis compared to the proteins.

Sumário

1. Introdução	7
2. Objetivo.....	10
3. Processo de lipólise	10
3.1. Interferentes	15
4. Polissacarídeos.....	17
4.1. Mecanismos de interferência no processo de lipólise	18
4.1.1. Hidroxipropilmetilcelulose - HPMC.....	18
4.1.2. Pectina	20
5. Proteínas	23
5.1. Mecanismos de interferência no processo de lipólise	24
5.1.1. Proteínas do leite	25
5.1.2. Proteínas da soja	26
6. Metodologias de avaliação da lipólise.....	27
6.1. Métodos Gerais	27
6.1.1. Estudos <i>in vitro</i>	27
6.1.2. Estudos <i>in vivo</i>	28
6.2. Método pH-stat	29
7. Efetividade	32
8. Conclusão	33
9. Referências.....	34

Lista de Figuras

Figura 1: Representação do sistema gastrointestinal e os processos físico-químicos que podem ocorrer (Singh, Ye e Horne, 2009).....	9
Figura 2: Alterações físico-químicas que a emulsão está sujeita durante o processo de lipólise (Pilosof, 2017).	15
Figura 3: Compostos que interferem no processo de lipólise (Singh, Ye e Horne, 2009).	17
Figura 4: Esquema do processo de adsorção de sais biliares na interface do HPMC (Pizones Ruiz-Henestrosa et al., 2017).....	20
Figura 5: Efeitos da interação cálcio-pectina no processo de lipólise (Cervantes-paz et al., 2017).	23
Figura 6: Esquema do modelo de digestão in vitro utilizado no método de pH-stat (McClements e Li, 2010).	30

1. Introdução

A capacidade de controlar a digestão lipídica no trato gastrointestinal humano permite desenvolver alimentos funcionais com o intuito de diminuir do risco de algumas doenças associadas à alta absorção lipídica, como obesidade e doenças cardiovasculares. Alguns estudos concluíram que triacilgliceróis dietéticos que chegam a parte do trato gastrointestinal, denominado ílio, sem serem digeridos, acabam ativando os mecanismos que induzem saciedade (Bellesi *et al.*, 2016; Corstens *et al.*, 2015).

Os lipídios constituem um grupo de compostos solúveis em solventes orgânicos, e apresentam principalmente em sua estrutura ácidos graxos, os quais contêm uma cadeia alifática e um grupo ácido carboxílico. A maioria apresenta um número par de carbonos, que variam de 14 a 24, embora, existam algumas exceções, como os presentes na gordura do leite, óleos tropicais e em alguns micro-organismos. Porém, os ácidos graxos livres não são encontrados em tecidos vivos, devido a sua citotoxicidade e a capacidade de romper a membrana celular. Mas sim na forma de acilgliceróis, que podem variar de mono-, di- e triésteres. Destes três, o mais encontrado em alimentos são os trigliceróis, embora, os outros dois, são comumente utilizados como aditivos alimentares, e consistem em ésteres de uma molécula de glicerol e três moléculas de ácidos graxos, que podem apresentar um número diferente de carbonos, grau de insaturação e ramificações (Damodaran, 2010).

Os lipídios provenientes da alimentação, são obtidos a partir dos alimentos na forma de emulsões óleo-água, que consistem em gotículas de gordura em meio aquoso. A superfície destas gotículas é revestida por uma camada de moléculas interfaciais ativas, como proteínas e polissacarídeos, as quais desempenham um papel importante não só na formação e estabilidade das emulsões, como também na extensão da digestão lipídica, bem como a taxa de liberação de quaisquer componentes lipofílicos aprisionados (Bellesi *et al.*, 2014; Bouyer *et al.*, 2011; Malaki Nik, Wright, e Corredig, 2011; Qian e McClements, 2011; Wan *et al.*, 2014; Ye, Cui, Zhu, e Singh, 2013).

O processo de digestão de lipídios começa no estômago, quando o alimento parcialmente digerido se mistura com o suco gástrico, composto por pepsina e componentes ativos de superfície como a fosfatidilcolina que altera a composição interfacial das gotículas de óleo, e é onde ocorre cerca de 20% da lipólise por ação da

lipase gástrica. A outra parte (80%) é mediada pelo complexo de lipase-colipase pancreática, liberando o sn-2-monoacilglicerol e dois ácidos graxos livres de triacilgliceróis no intestino delgado (Golding e Wooster, 2010). Ao atingir a parte do duodeno, o alimento é misturado com sais biliares e secreções pancreáticas, formando uma emulsão estabilizada por bio-tensoativos. Um dos principais papéis dos sais biliares é preparar a superfície da gordura e facilitar o acesso das enzimas lipolíticas aos substratos lipídicos (Maldonado-Valderrama, Wilde, Macierzanka e Mackie, 2011). Desta forma, os produtos de lipólise são incorporados em micelas de sais biliares para então serem transportados para o meio aquoso e absorvidos pela mucosa do intestino delgado. Logo, a natureza da camada interfacial que envolve as gotículas de gordura apresenta um papel importante na digestão lipídica. Trabalhos anteriores mostraram que a característica dos filmes interfaciais pode afetar a adsorção dos sais biliares em condições intestinais simuladas, o que poderia alterar o processo digestão de lipídios (Bellesi *et al.*, 2014; Maldonado-Valderrama *et al.*, 2008; Mun, Decker, e McClements, 2007; Singh e Sarkar, 2011; Singh *et al.*, 2009; Torcello-Gómez e Foster, 2014).

Durante o processo de digestão, a emulsão é exposta a mudanças físicas e bioquímicas que podem resultar em diversos efeitos, como apresentado na Figura 1. A floculação consiste em um processo de agregação sem que haja a ruptura da camada interfacial das gotículas do óleo, e ocorre devido às forças de atração de van der Waals, que se sobressaem às forças de repulsão formando flocos, e promovendo uma separação de fase (Tadros, 2013; Adbel-Raouf, 2012). Este fenômeno está associado ao tamanho da gotícula, sua distribuição e a viscosidade da emulsão, pois, segundo Wright e Burgess (2012), quanto maior a gota mais rápida é a floculação. A coalescência é um processo irreversível, induzida pela ruptura do filme que reveste as gotículas de óleo que se encontram próxima, resultando na agregação e formação de gotículas maiores. Porém, este processo pode ser evitado se as gotículas de óleo forem pequenas, ou seja, apresentarem uma menor área de filme, ou se o filme que as reveste for mais espesso, o que aumenta as forças de repulsão entre elas (Damodaran, 2010).

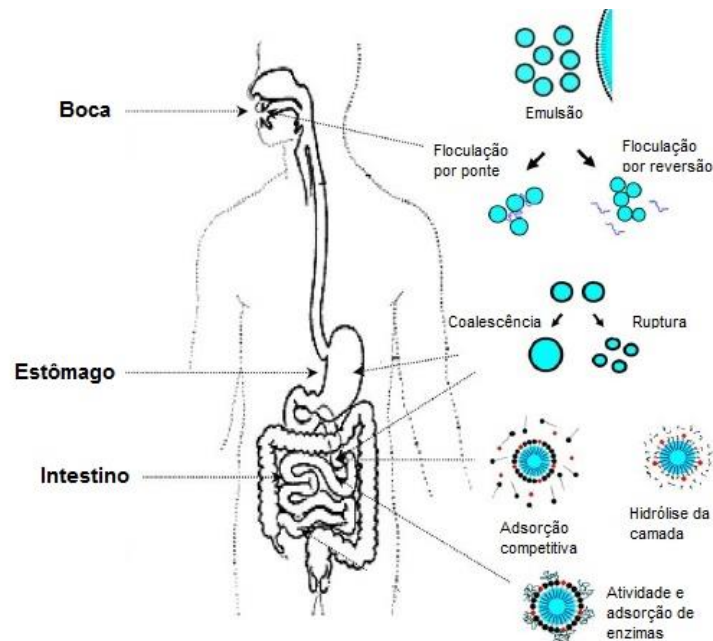


Figura 1: Representação do sistema gastrointestinal e os processos físico-químicos que podem ocorrer (Singh, Ye e Horne, 2009).

Os polissacarídeos mais utilizados em formulação de emulsões alimentares são pectina, xantana, carragena, goma arábica, goma guar e alginato. A maioria apresenta um alto peso molecular, são hidrofílicos, e não tem atividade interfacial. Por isso, são considerados não tenso-ativos. No entanto, muitos são utilizados principalmente como estabilizadores na preparação de emulsões alimentares. Além disso, existem alguns polissacarídeos hidrofobicamente modificados, e que podem ser utilizados como emulsificantes, entre eles os derivados de celulose (metilcelulose - MC, carboximetilcelulose - CMC, hidroxipropilcelulose - HPC e hidroxipropilmetilcelulose - HPMC) e os ésteres de propileno glicol do ácido algínico (Rodríguez Patino e Pilosof, 2011).

Informações a respeito do processo de digestão de emulsões, onde um polissacarídeo é o principal emulsificante, são pouco encontradas na literatura. Porém, em um estudo recente, Bellesi *et al.* (2016) demonstraram que emulsões estabilizadas por HPMC sofreram pequenas mudanças no ambiente gastrointestinal, devido à natureza não-iônica dos polissacarídeos e por não ser digerível por proteases gástricas ou duodenais. O menor grau de desestabilização de emulsões ao longo do trato gastrointestinal tem sido associado à taxa de atraso do esvaziamento gástrico, alterações na liberação dos hormônios envolvidos na digestão humana e consequentemente com o prolongamento da sensação de saciedade (Malaki Nik, Wright, e Corredig, 2010; Marciani *et al.*, 2009).

2. Objetivo

Analisar a influência de polissacarídeos e proteínas no processo de digestão de lipídeos, avaliando o processo de lipólise e seus interferentes, os tipos de polissacarídeos, e as metodologias de avaliação de lipólise. As informações foram obtidas através de um levantamento bibliográfico, com base em literatura recente.

3. Processo de lipólise

Os lipídios desempenham um papel importante na qualidade dos alimentos, contribuindo na textura, sabor, nutrição e densidade calórica. Podem ser classificados como óleos e gorduras, dependendo do estado físico em que se encontra à temperatura ambiente, ou podem ser classificados como polares e apolares, de acordo com a diferença de solubilidade e suas propriedades funcionais. A estrutura de lipídios polares apresenta uma parte hidrofílica, com alta afinidade por água, e a outra parte hidrofóbica (Gropper, 2011).

A maioria da gordura orgânica está na forma de triacilgliceróis, que representa uma forma extremamente concentrada de energia (Damodaran, 2010). Os triacilgliceróis consistem em ésteres de uma molécula de glicerol e três moléculas de ácidos graxos, sendo que cada ácido graxo pode ter um número diferente de átomos de carbono, grau de insaturação e ramificações, o que significa que podem existir uma grande variedade de triacilgliceróis. Os diversos tipos de organização estrutural diferem tanto no estado líquido como no estado sólido, resultando em diversas formas cristalinas polimórficas, que apresentam propriedades e comportamento termodinâmico diferentes (Gropper, 2011).

O processo de digestão dos lipídios tem início no estômago, por ação das enzimas lipase lingual e gástrica. A primeira é produzida pelas glândulas serosas da língua e liberada na boca, mas o processo de hidrólise ocorre somente no estômago, pois ela apresenta maior estabilidade em pH baixo, que se encontra em torno de 2 no estômago. A lipase gástrica constitui umas das três enzimas encontradas no suco gástrico, juntamente com a pepsina e amilase, além de outros componentes como água, eletrólitos, ácido clorídrico, muco e fatores intrínsecos. Considera-se que a ação de ambas as enzimas, lingual e gástrica, sejam responsáveis por cerca de 20% da digestão de lipídios em seres humanos, atuando preferencialmente sobre os triglicerídeos que contêm ácidos graxos de cadeia média e curta, hidrolisando ácidos graxos na posição sn-3, e liberando um ácido graxo e 1,2-diacilgliceróis como

produtos (Gropper, 2011). Como foi mencionado, óleos e gorduras são estruturas hidrofóbicas, e as enzimas digestivas são proteínas e hidrofílicas. Logo, antes de serem digeridos é necessário um processo de emulsificação (Gropper, 2011).

A emulsão óleo em água consiste em um sistema de gotículas de gordura dispersas em um meio aquoso, formada a partir da mistura destes dois líquidos imiscíveis, no qual é necessário fornecer energia para que ocorra a redução do tamanho das partículas de gordura. Todas as emulsões são termodinamicamente instáveis e tendem à separação de fases após determinado tempo. Isso acontece devido a diferentes processos físico-químicos, como floculação e coalescência, que promovem a formação de agregados e glóbulos de gordura maiores, e inclui também mudanças na composição devido aos processos de oxidação e hidrólise lipídica. Porém, uma forma de se evitar que tais alterações ocorram é através da adição de agentes emulsificantes, que aumentam a estabilidade cinética da emulsão, diminuindo a tensão superficial entre os meios (Hill, 1996; McClements, 2005; Perrechil, 2008; Rousseau, 2000; Stauffer, 2005).

O estômago contém compostos como polissacarídeos, fosfolipídios e peptídeos provenientes de proteínas alimentares que atuam como emulsificantes potenciais em ambiente ácido. Além disso, as contrações do músculo e a aspersão de gordura através de um esfíncter pilórico parcialmente aberto produzem forças suficientes para promover a emulsificação dos lipídios (Gropper, 2011).

O intestino delgado pode ser dividido em três zonas, duodeno, jejuno e íleo. É nesta etapa do processo digestório que ocorre a maior parte da digestão e absorção de lipídios, especialmente dos ácidos graxos de cadeia longa que requerem pouca acidez, lipases apropriadas e agentes emulsificantes mais eficazes (Damodaran, 2010; Gropper, 2011). A parede intestinal apresenta um epitélio estruturado de forma a maximizar a sua superfície e com isso aumentar sua capacidade de absorver nutrientes. A hidrólise dos lipídios emulsionados resulta na liberação de 2-monoacilglicerol e dois ácidos graxos livres. Durante a fase duodenal diversas secreções são liberadas no intestino, o pâncreas é responsável por liberar as enzimas digestivas, como protease, esterase, lipase, fosfolipase e amilase (van Aken, 2010), e a vesícula biliar secreta bicarbonato, que neutraliza o pH do meio para 5,5 no duodeno e 7,5 no íleo, e bile, composto por sais biliares e fosfolipídios (Ibekwe *et al.*, 2008). O conjunto desses componentes é denominado suco pancreático, que incluem também eletrólitos, cátions de sódio, potássio, cálcio e ânion cloreto (Gropper, 2011).

É no intestino que ocorre a efetiva emulsificação dos lipídios por ação dos sais biliares, cuja estrutura contém grupos hidroxílicos na região hidrofílica que interagem com outros sais biliares, e uma cabeça iônica na região hidrofóbica que pode ser dissolvida na interface óleo-água (Bauer, Jakob e Mosenthin, 2005). Os sais tem como papel principal adsorver na superfície das gotículas lipídicas, favorecendo a emulsão, reduzindo o tamanho das partículas, e consequentemente, aumentando a área de superfície, promovendo a ancoragem da colipase, que se liga com a lipase pancreática formando um complexo que favorece a degradação enzimática do substrato lipídico (Moghimpour, Ameri e Handali, 2015; Reis, Holmberg, Watzke, Leser e Miller, 2009). A eficácia da colipase está em suas propriedades anfipáticas, ou seja, sua estrutura apresenta regiões igualmente hidrofílicas e hidrofóbicas, desta forma, tendem a se organizar na superfície dos glóbulos de gordura com suas caudas hidrofóbicas voltadas para dentro da estrutura e a área hidrofílica virada para fora, na direção da porção aquosa (Gropper, 2011).

O cálcio também desempenha um papel importante na digestão lipídica através de diversos mecanismos físico-químicos. Atua como cofator para a lipase pancreática (Kimura, Futami, Tarui e Shinomiya, 1982; Whayne e Felts, 1971), e facilita a lipólise através da precipitação de ácidos graxos livres de cadeia longa, formando sabões de cálcio insolúveis, permitindo que a lipase obtenha acesso às superfícies das gotículas de óleo (Hu, Li, Decker e McClements, 2010; MacGregor *et al.*, 1997; Patton e Carey, 1979; Zangenberg, Müllertz, Kristensen e Hovgaard, 2001).

Na Tabela 1, constam as principais características de cada compartimento do trato gastrointestinal, como o pH, o tempo de residência que o alimento permanece em cada região, os componentes digestivos e as alterações os quais estão sujeitos.

Tabela 1: Principais características de cada região do sistema gastrointestinal humano (Corstens *et al.*, 2015).

Compartimento	pH	Tempo de residência	Componentes digestivos	Ação físico-química
Boca	5,4 - 7,8	Alguns segundos	Saliva	Fragmentação, Digestão do amido
Estômago	1,5 - 3,5	0,5 – 4 h	Suco gástrico	Fragmentação, Emulsificação, Floculação, Coalescência, Início da Digestão de lipídeos e proteínas
Intestino (Duodeno, jejuno e ílio)	7 - 9	1 – 24 h	Suco pancreático e bile	Emulsificação, Digestão de lipídeos, amido e proteínas, Absorção

Quando o alimento passa pelo trato gastrointestinal humano, está sujeito a diversas mudanças físico-químicas e fisiológicas, como as descritas a seguir:

- **pH:** Ocorrem variações consideráveis no pH da fase aquosa que envolve o alimento ao longo do sistema digestório. Inicialmente, o pH da boca encontra-se em torno de 7, caído para pH ~ 1-3 no estômago e por fim aumentando novamente para pH ~ 6-7 no intestino. Isso pode resultar em alterações na composição, estrutura ou interações de compostos, como tensoativos, proteínas e polissacarídeos (McClements e Li, 2010).
- **Composição iônica:** Podem ocorrer variações no tipo e concentração de íons presentes no meio aquoso, dependendo da região do trato gastrointestinal e a natureza do alimento a ser digerido, resultando em interações eletrostáticas entre os íons e compostos da superfície do glóbulo de gordura, como por exemplo, as interações que ocorrem entre os íons cálcio e os ácidos graxos de cadeia longa, formando precipitados. A remoção desses ácidos graxos da superfície do glóbulo facilita o acesso da lipase (Zangenberg *et al.*, 2001).
- **Componentes da superfície-ativa:** Existe uma variedade de compostos tensoativos endógenos (proteínas, fosfolipídios e sais biliares), exógenos (surfactantes e proteínas) e que são formados internamente (produtos da digestão de lipídios), que competem com as substâncias presentes na interface óleo-água, promovendo mudanças nas propriedades e composição interfacial (Reis *et al.*, 2009; Reis *et al.*, 2008)

- Temperatura: A variação de temperatura ao longo do processo de digestão pode causar alterações no estado físico, conformação molecular, interações entre componentes, que por sua vez, afetam a digestibilidade (McClements e Li, 2010).

Além disso, um dos principais fatores que determinam a taxa de digestão de lipídios é a capacidade de catalisação da lipase, que converte o substrato lipídico em ácidos graxos livres e monoacilgliceróis. E esta pode ser retardada utilizando uma série de abordagens, como:

- Inativação da lipase: A lipase pode ser inativada através da adição de um substrato específico que se liga no sítio ativo e impede que ela interaja com o glóbulo de gordura (McClements e Li, 2010).
- Interação com outros compostos: A atividade de lipase pode ser reduzida por uma série de interações que ocorrem no fluido de digestão, por exemplo, a com fibras dietéticas ou ácidos biliares (McClements e Li, 2010).
- Barreira física: A atividade da lipase é reduzida ao se criar uma barreira física na superfície das gotículas lipídicas impedindo a enzima de entrar em contato com os lipídios emulsionados. Esse revestimento pode ser feito adicionando uma camada de surfactante ou polímeros (Chu *et al.*, 2009).
- Acúmulo de produtos de reação: A atividade da lipase diminui se os produtos de reação da digestão lipídica (ácidos graxos livres e monoacilgliceróis) não são removidos da superfície da gotícula (McClements e Li, 2010).

Porém, existem outros mecanismos que retardam o processo de lipólise, como (Figura 2):

- Acúmulo na interface de produtos de lipólise (ácidos graxos livres e monoacilgliceróis);
- Resistência de filmes interfaciais à adsorção de sais biliares;
- Fatores estéricos que inibem a ancoragem interfacial da lipase/colipase;
- Floculação e coalescência de gotículas que, em condições gastroduodenais, diminui da área interfacial disponível para adsorção de lipase/colipase, retardando a lipólise;
- Diminuição do cálcio disponível devido à ligação com sais biliares, formando compostos precipitados, como sabões (Golding e Wooster, 2010).

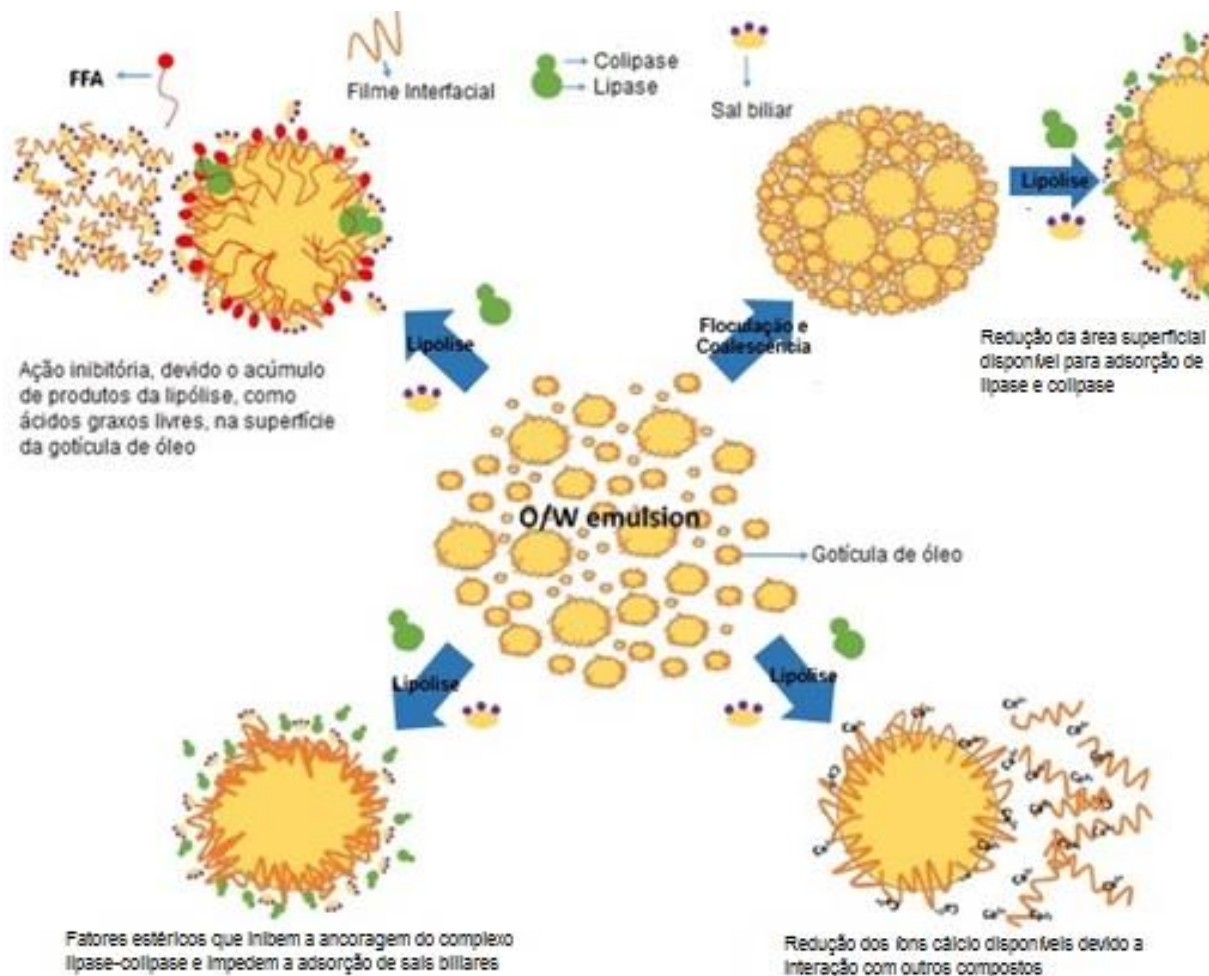


Figura 2: Alterações físico-químicas que a emulsão está sujeita durante o processo de lipólise (Pilosof, 2017).

3.1. Interferentes

Os emulsificantes são definidos como compostos anfífilos que tendem a adsorver na interface óleo-água, diminuindo a tensão interfacial e, assim, retardam a cinética de separação de fases da emulsão. Speranza *et al.* (2013) e Torcello-Gómez *et al.* (2014) analisaram o comportamento de diferentes surfactantes não-iônicos sob condições duodenais simuladas a partir de um ponto de vista superficial, e concluíram que os surfactantes poderiam resistir ao deslocamento interfacial de sais biliares, retardando ou limitando a atividade da lipase.

As proteínas são conhecidas especificamente por sua atividade superficial, o que lhes permite desempenhar um papel importante na formação e estabilização de emulsões por meio de uma combinação de mecanismos eletrostáticos (Dickinson, 1992). No entanto, elas não formam uma barreira efetiva, apenas promovem um atraso na lipólise, devido à sua baixa resistência à ação de proteases e à penetração

de sais biliares, que facilita a ancoragem do complexo de lipase/colipase. Também são capazes de interagir com cálcio, reduzindo a sua disponibilidade e, conseqüentemente, promovem uma diminuição da atividade da lipase (Pilosofo, 2017).

Os polissacarídeos também vêm sendo muito estudados como forma de fortalecer a barreira física na interface das gotículas de lipídios, e devido a sua capacidade de interação com sais biliares, ácidos graxos e íons cálcio, promovendo processos de floculação e agregação (Pilosofo, 2017).

Em condições gastroduodenais, a presença de íons cálcio, atua como cofator da lipase pancreática, facilitando o processo de lipólise, porém também podem promover a floculação de gotículas, gelificação de biopolímeros e precipitação de sais biliares (Hu *et al.*, 2010), reações as quais, retardam a taxa de digestão lipídica ao atrasar o acesso da lipase às superfícies dos glóbulos de gordura (Li, Hu, e McClements, 2011; McClements e Li, 2010), da mesma forma que, a diminuição da concentração de sais biliares reduz o processo de emulsificação de gorduras. Estudos indicam que estes processos ocorrem devido à ação sinérgica entre a formação de sabões de cálcio insolúveis (Biehler, Hoffmann, Krause, e Bohn, 2011; Corte-Real *et al.*, 2016; Soukoulis, Cambier, Hoffmann e Bohn, 2016; Soukoulis *et al.*, 2017).

Outra forma de retardar o processo de lipólise, é através da aplicação de emulsões multicamadas, que são formadas depositando dois ou mais biopolímeros com cargas opostas sobre as superfícies das gotículas através da atração eletrostática (McClements, 2010). Supõe-se, em alguns estudos, que eles possam ter uma melhor resistência contra os estresses do processo de digestão do que as emulsões primárias devido a uma maior resistência contra a ruptura mecânica. Além disso, as membranas interfaciais, por serem mais espessas e robustas, podem impedir o acesso da lipase, prevenindo ou retardando a liberação de ácidos graxos livres (Zeeb, Lopez-Pena, Weiss e McClements, 2015).

McClements (2010) examinou o impacto do número de camadas na digestão lipídica e descobriu que a taxa de digestão diminui à medida que aumenta o número de camadas em torno das gotículas lipídicas. Embora, esses revestimentos de polissacarídeos não possam ser considerados barreiras muito efetivas, pois, as multicamadas interfaciais são desintegradas no ambiente gastrointestinal, os polissacarídeos envolvidos nas camadas interfaciais podem modular a área interfacial disponível para a lipólise, bem como interagir com sais biliares ou cálcio, afetando assim a taxa ou extensão da lipólise.

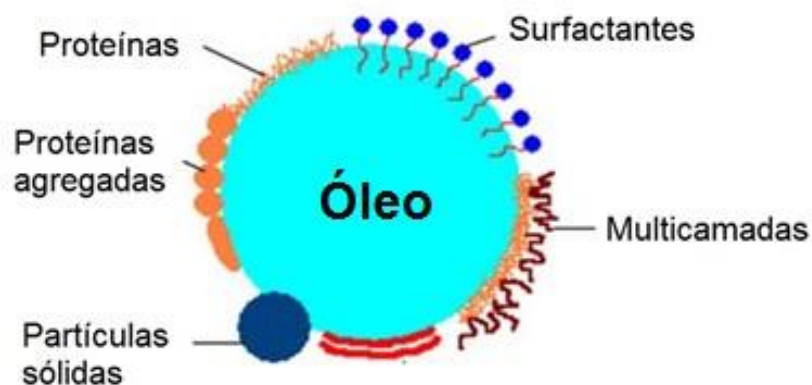


Figura 3: Compostos que interferem no processo de lipólise (Singh, Ye e Horne, 2009).

4. Polissacarídeos

Polissacarídeos são polímeros de monossacarídeos, compostos por mais de 10 ou 20 unidades glicosil em arranjos lineares. Se todas as unidades glicosídicas forem do mesmo tipo, estes são denominados homoglicanos, e se contém dois ou mais tipos diferentes de unidades monossacarídicas, são heteroglicanos. Estima-se que mais de 90% da massa de carboidratos da natureza seja encontrado na forma de polissacarídeos. A maioria dos polissacarídeos contém unidades glicosil que possuem, em média, três grupos hidroxila, ou seja, apresentar uma forte afinidade por água, sendo capazes de realizar ligações de hidrogênio (Damodaran, 2010; Gropper, 2011).

Os polissacarídeos indigestíveis, também conhecidos como fibras dietéticas, são amplamente empregados como constituintes funcionais em produtos comerciais de alimentos e bebidas por fornecerem benefícios físico-químicos ou fisiológicos desejáveis, como melhora a estabilidade física, modificar a textura, reduzir o teor de gordura ou oferecer benefícios para a saúde (Li e McClements, 2011; Bagre *et al.*, 2013; Gidley, 2013; Viuda-Martos *et al.*, 2010; Funami, 2011; Cirillo e Capasso, 2015). Além disso, diferem no número, tipo, sequência e ligação de monossacarídeos, resultando em diferentes pesos moleculares, ramificação, conformação, hidrofobicidade, propriedades elétricas, propriedades físico-químicas e funcionais (Rosell *et al.*, 2009; Cheng e Neiss, 2012; Gidley, 2013; Gouseti *et al.*, 2014; Li e Nie, 2016).

4.1. Mecanismos de interferência no processo de lipólise

Inicialmente os estudos realizados a respeito da relação entre os polissacarídeos e o processo de lipólise buscavam o fortalecimento das propriedades de barreira e de filmes interfaciais de modo a inibir a ação da lipase (Pilosofo, 2017). No entanto, trabalhos mais recentes passaram a analisar o impacto indireto de componentes da película interfacial (ou mesmo componentes não adsorvidos) na lipólise. O mecanismo de interferência dos polissacarídeos na digestão lipídica é atribuído à sua capacidade de induzir flocculação de gotículas e às suas interações com espécies moleculares envolvidas em hidrólise de lipídios, como sais biliares, ácidos graxos, biosurfactantes e cálcio. Porém, sua capacidade de estabilizar ou desestabilizar uma emulsão, depende do emulsificante primário e sua área de superfície disponível para a ação da lipase (Pilosofo, 2017).

Também evidencia-se o papel-chave da interação de sais biliares com polissacarídeos com atividade interfacial, os quais podem diminuir o conteúdo de sais biliares não adsorvidos no ciclo entero-hepático e, portanto, potencialmente atrasam ou inibem a lipólise. A maioria dos estudos se concentra nas interações de sais biliares com fibras dietéticas solúveis (SDF), que são polissacarídeos de plantas não amiláceas resistentes à digestão e absorção no trato gastrointestinal humano (Gunnness, Flanagan, Shelat, Gilbert e Gidley, 2012). O mecanismo de interação consiste na associação e complexação das fibras com as micelas dos sais biliares à nível molecular no intestino, formando estruturas agregadas e impedindo a reabsorção através da circulação entero-hepático, resultando na redução do colesterol no sangue (Gunnness e Gidley, 2010; Gunnness, Flanagan, Mata, Gilbert e Gidley, 2016).

4.1.1. Hidroxipropilmetilcelulose - HPMC

A hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) é um derivado de celulose, quimicamente modificado e com alto peso molecular, utilizado em alimentos como agente espessante, fonte de fibras e emulsificante (Bellesi *et al.*, 2016; Wollenweber *et al.*, 2000; Fang e Dalgleish, 1993; Torcello-Gómez e Foster, 2016; Pizones Ruiz-Henestrosa *et al.*, 2017; Torcello-Gómez e Foster, 2014). Sua estrutura consiste em um grupo metil na região hidrofóbica e um hidroxipropil na região hidrofílica da molécula de anidroglicose, e incluem também uma família de éteres de celulose que diferem principalmente em peso molecular, viscosidade e grau de substituição. O grau de substituição é o número médio de grupos hidroxil por unidade de anidroglicose no

qual o hidrogénio é substituído por um metil, e substituição molar é o número médio de grupos de óxido de propileno por unidade de anidroglicose. Quanto maior o grau de substituição total, maior será a hidrofobicidade do polissacarídeo, e maior será sua atividade interfacial (Camino *et al.*, 2009a; Chang e Gray, 1978; Daniels e Barta, 1994; Wollenweber, Makievski, Miller, e Daniels, 2000).

As HPMCs apresentam benefícios à saúde, devido seus efeitos hipocolesterolêmicos (Kim *et al.*, 2011; Maki *et al.*, 2000, 2009; Reppas, Swidan, Tobey, Turowski e Dressman, 2009; Torcello-Gómez e Foster, 2014, Yokoyama *et al.*, 2011), e vem sendo utilizadas como veículos promissores para a encapsulação de compostos ativos (Fathi, Martín e McClements, 2014, Mun, Kim, Shin e McClements, 2015) visando a liberação controlada no trato gastrointestinal.

O comportamento de emulsões de HPMC nas condições simuladas do trânsito gastrointestinal humano foi recentemente avaliado (Bellesi, Martinez, Pizones Ruiz-Henestrosa e Pilosof, 2016). O meio utilizado foi composto por sucos do estômago e o líquido pancreático, com enzimas (tripsina, quimiotripsina, lipases, etc.) e fluido biliar, que continha diferentes bio-tensoativos, como sais biliares, fosfolípidios, colesterol e produtos obtidos a partir da digestão de lípidios (Mackie e Macierzanka, 2010; Nik, Corredig, e Wright, 2010). Foi observada, uma extensão muito menor da taxa de lipólise ao usar HPMC como emulsificante em comparação com a β -lactoglobulina.

Há uma forte evidência sobre interações entre sais biliares e HPMCs. Na fase aquosa, os sais biliares são ligados ou "sequestrados" pelo HPMC, devido às interações com o seu núcleo hidrofóbico, que ocorre entre os éteres de celulose e os sais biliares, como apresentado na Figura 4 (Pizones Ruiz-Henestrosa *et al.*, 2017). Bellesi *et al.* (2016) mostraram que emulsões estabilizadas com HPMC sofreram pequenas mudanças no ambiente gastrointestinal devido à sua natureza não-iônica e por não ser digerível por proteases gástricas ou duodenais. Assim, elas foram mais resistentes em condições gástricas que emulsões de proteínas.

O uso do HPMC como único emulsificante, também demonstrou atrasar a lipólise das emulsões de azeite de oliva-água em relação ao surfactante alimentar convencional Tween 20 (Torcello-Gómez e Foster, 2016). Tal característica foi atribuída à capacidade emulsificante mais baixa dos éteres de celulose, dando origem a gotículas maiores e, portanto, menor área interfacial inicial disponível para a reação de lipólise (Pilosof, 2017).

A emulsão formada com o HPMC menos hidrofóbico foi mais suscetível à lipólise. Este comportamento não pode ser atribuído a diferenças na área de tamanho/superfície disponível para a ação de lipase/colipase nem a diferenças nas propriedades do filme interfacial, mas pode ser resultado de eventos moleculares que ocorrem na interface após adsorção de sais biliares. O HPMC mostrou habilidades semelhantes para adsorver e "sequestrar" sais biliares tanto em solução como na interface. Algumas características especiais surgiram da variação da proporção entre grupos metil/hidroxipropil diferentes (Pizones Ruiz-Henestrosa *et al.*, 2017).

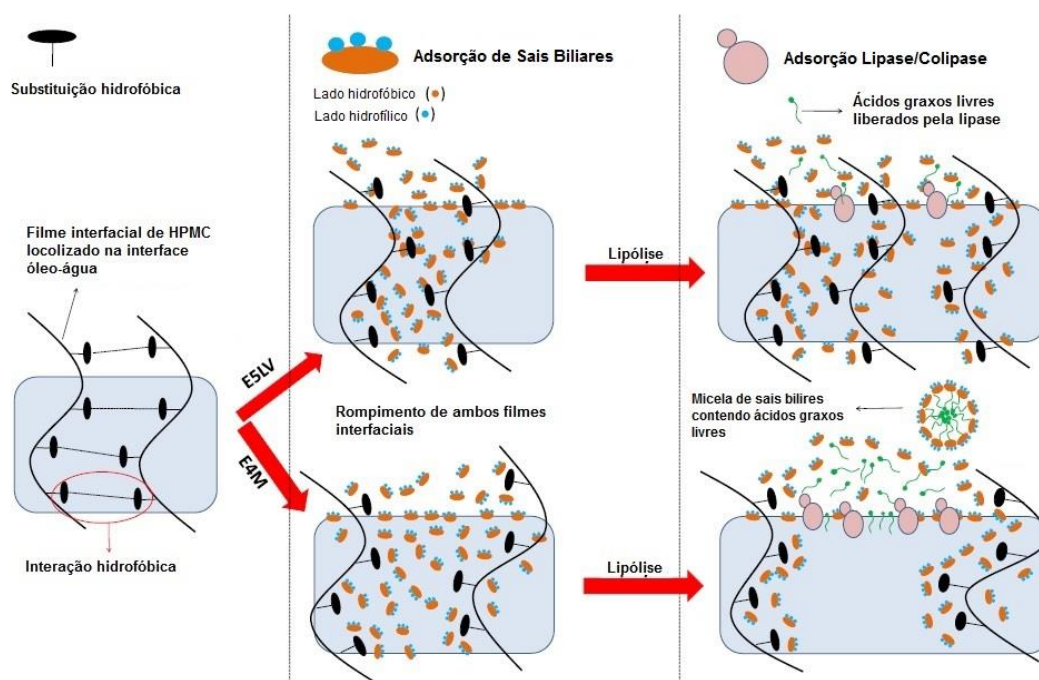


Figura 4: Esquema do processo de adsorção de sais biliares na interface do HPMC (Pizones Ruiz-Henestrosa *et al.*, 2017).

4.1.2. Pectina

Pectinas são polissacarídeos complexos, presentes na parede celular de plantas e vegetais (Caffall e Mohnen, 2009). Estão envolvidos no crescimento celular, rigidez dos tecidos, alguns mecanismos de defesa, regulação do transporte de íons, permeabilidade enzimática e capacidade de retenção de água das células (Caffall e Mohnen, 2009; Voragen, Coenen, Verhoef e Schols, 2009). São polímeros lineares de resíduos de ácido D-galacturônico ligados em $\alpha(1-4)$, contendo segmentos de L-ramnose ligados na posição 1,2. Cada molécula de pectina é composta por centenas de blocos criando um polissacarídeo de alto peso molecular (Sinha e Kumria, 2001).

Além disso, a quantidade de ésteres de metil presentes na estrutura determina o grau de esterificação, e este é utilizado para explicar diversas propriedades, como

gelificação e hidratação desses polissacarídeos (Ngouémazong *et al.*, 2011; Voragen *et al.*, 2009; Ramos-Aguilar *et al.*, 2015). Logo, a funcionalidade das pectinas como agentes gelificantes, espessantes e estabilizantes está fortemente relacionada ao seu grau de esterificação e alto peso molecular (Ngouémazong, Christiaens, Shpigelman, Van Loey e Hendrickx, 2015).

A quantidade e as propriedades das pectinas presentes nos alimentos dependem das características da matriz vegetal, o que inclui o tipo de alimento, cultivar, variedade, fase de amadurecimento, intensidade de processamento (Ornelas-Paz *et al.*, 2008; Victoria-Campos *et al.*, 2013; Ramos-Aguilar *et al.*, 2015).

As pectinas, como outros componentes endógenos e dietéticos, podem se ligar aos íons de cálcio (Figura 5) (Braccini e Perez, 2001; Rui, 2009), através das fortes interações com os resíduos de ácido galacturônico e galurônico, formando géis (Braccini e Perez, 2001). Estes complexos reduzem a digestão lipídica, diminuindo a área superficial das gotículas de gordura, promovendo a floculação e formação de microgel, o que impede a ação da lipase, e a redução dos níveis de cálcio livre no meio gastrointestinal resulta na acumulação de ácidos graxos livres nas superfícies de gotículas lipídicas (Hu, Li, Decker e McClements, 2010).

A interação da pectina com sais biliares também pode afetar o processo de lipólise, pois limita a disponibilidade destes para a formação de micelas e emulsificação de lipídeos (Cervantes-Paz *et al.*, 2016b; Dongowski, Huth, e Gebhardt, 2003). A ligação das pectinas ocorre por meio de interações hidrofóbicas, e tal capacidade pode ser atribuída ao diferente número de grupos hidroxilas presentes em ambas estruturas (Drzikova, Dongowski, Gebhardt, e Habel, 2005; Cervantes-Paz *et al.*, 2016b; Espinal-Ruiz, Parada-Alfonso, Restrepo-Sánchez, Narváez-Cuenca e McClements, 2014b). Cervantes-Paz *et al.* (2016b) avaliou o efeito da concentração e das propriedades estruturais das pectinas sobre a capacidade de ligação com sais biliares e o processo de formação de micelas de carotenoides, e descobriu que a interação é influenciada pelo grau de esterificação, no qual uma interação é mais forte quando as pectinas apresentam um alto grau de esterificação.

Também foi relatado, que a pectina de beterraba forma multicamadas na interface das gotículas lipídicas através de interações eletrostáticas entre as porções proteicas carregadas positivamente e os resíduos de ácido galacturônico que são carregados negativamente (Siew, Williams, Cui e Wang, 2008), causando variações na carga elétrica das moléculas, tensão superficial, reologia e densidade de fluidos

(McClements, Decker e Weiss, 2009; Bauer *et al.*, 2005; Capuano, 2016). Essas variações podem alterar o processo de lipólise e modificar os níveis dos produtos de digestão lipídica disponíveis para a formação de micelas (McClements, 2013). Por outro lado, a formação de camadas favorece a atividade emulsificante das pectinas, de acordo com as propriedades estruturais do polissacarídeo (Leroux *et al.*, 2003; Funami *et al.*, 2011). Zhao e colaboradores (2015) e Zhang e colaboradores (2015) observaram uma alta estabilidade de emulsões óleo-água contendo polissacarídeos aniônicos, como pectina de beterraba, embora a digestão lipídica tenha sido comprometida. Esta pode ser uma consequência da abundância de cargas negativas, o que provocou repulsão eletrostática entre moléculas de pectina nas superfícies de gotículas lipídicas e favoreceu uma maior concentração de pectina não absorvida, promovendo o processo de floculação.

Por fim, a pectina pode influenciar a atividade das enzimas digestivas, inclusive as envolvidas na digestão lipídica, atuando como uma barreira física entre substratos e enzimas digestivas (McClements e Li, 2010; Mun, Decker, Park, Weiss e McClements, 2006), protonando o sítio enzimático ativo por meio dos resíduos de ácido carboxílico (Kumar e Chauhan, 2010), e estabelecendo interações moleculares diretas (eletrostática, ligação de hidrogênio ou hidrofóbicas), e passando a competir pelo sítio ativo da enzima (Capuano, 2016). Essa competição depende dos grupos de ésteres, que alteram a natureza polar do polissacarídeo, aumentando a hidrofobicidade da pectina (Mohnen, 2008).

Tsujita *et al.* (2003) observaram que a pectina de baixo peso molecular inibiu fortemente a atividade da lipase, e atribuíram esse efeito à interação da pectina com substratos emulsionados o que inibiu a adsorção de lipase na interface da emulsão. Em contraste, Edashige, Murakami e Tsujita (2008) demonstraram que as pectinas de alto peso molecular inibiram fortemente a atividade da lipase, enquanto que a pectina de baixo peso molecular teve um efeito inibitório mais fraco. Portanto, considerando tais informações, vários fatores, como a solubilidade e a viscosidade das pectinas, podem estar envolvidos na inibição das lipases, assim como uma interferência física da pectina também é possível (Tsujita *et al.*, 2003). Esta hipótese da inibição da atividade da lipase pela pectina é reforçada por vários estudos, que demonstraram que as atividades de outras enzimas, como a tripsina, a-quimotripsina, α -amilase e pepsina, também foram inibidas pela pectina (Ikeda e Kusano, 1983).

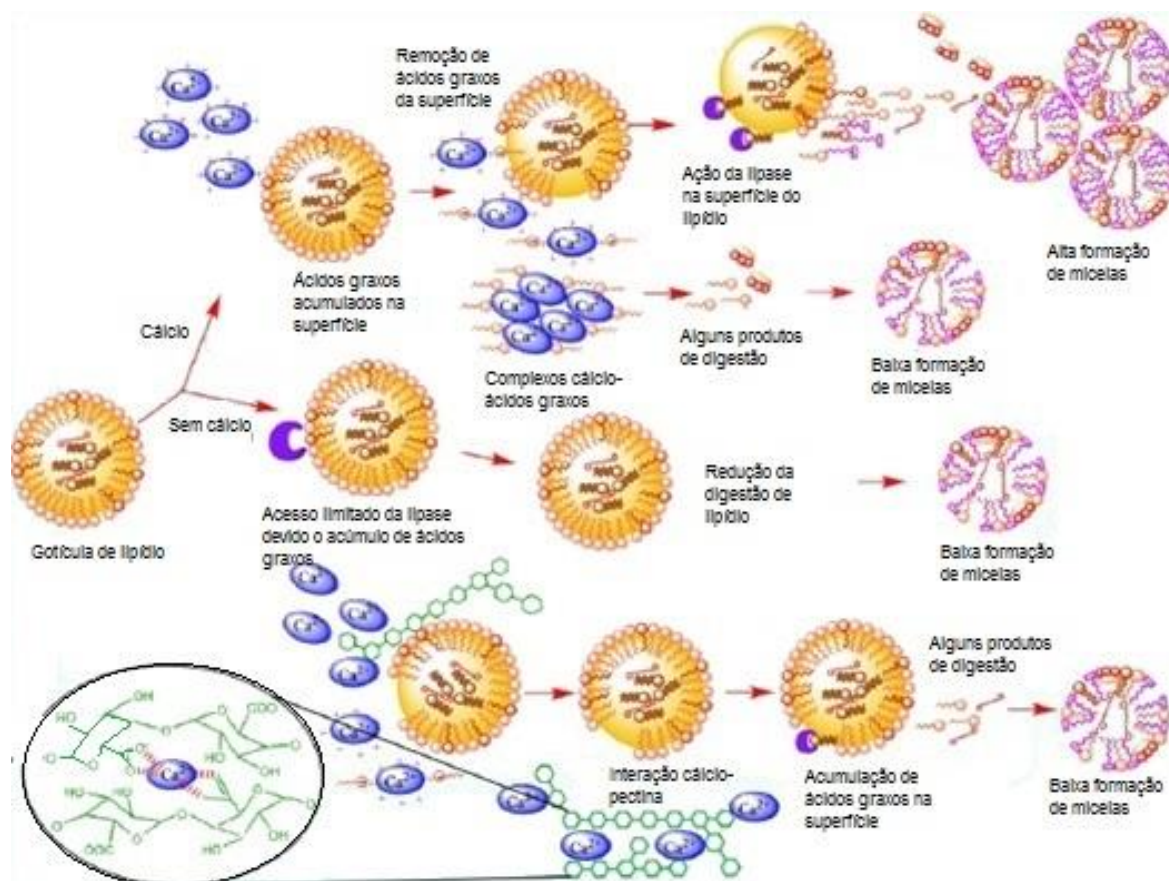


Figura 5: Efeitos da interação cálcio-pectina no processo de lipólise (Cervantes-paz *et al.*, 2017).

5. Proteínas

As proteínas são polímeros complexos, compostos por 21 aminoácidos diferentes. E além de atuarem como enzimas, as proteínas também funcionam como componentes estruturais das células e dos organismos complexos. Essa diversidade funcional resulta da sua composição química, que dá origem a uma série de formas estruturais tridimensionais, com diferentes funções biológicas (Damodaran, 2010).

Podem ser denominadas como homoproteínas ou heteroproteínas, quando são complexadas com compostos não proteicos. Também podem ser classificadas de acordo com sua organização estrutural aparente, como proteínas globulares, as quais apresentam uma forma esférica, e fibrosas, na forma de bastonetes. Ou são categorizadas conforme sua função biológica, como catalizadores enzimáticos, proteínas estruturais, contráteis, transportadoras, de armazenamento, protetoras, hormônios e anticorpos (Damodaran, 2010).

Existem quatros níveis de estrutura das proteínas, a estrutura primária consiste em uma sequência linear com aminoácidos ligados por meio de ligações peptídicas;

a estrutura secundária apresenta um arranjo espacial dos resíduos de aminoácidos em alguns segmentos da cadeia peptídica, pode ser classificada como estrutura helicoidal ou folha β ; a estrutura terciária consiste em uma estrutura secundária com a cadeia linear mais compacta; e por fim, a estrutura quaternária refere-se ao arranjo espacial de uma proteína que contém mais de uma cadeia polipeptídica (Damodaran, 2010).

As principais fontes alimentares de proteínas são leite, carnes, ovos, cereais, leguminosas e oleaginosas. E as propriedades funcionais das proteínas nos alimentos estão relacionadas com as características estruturais e físico-químicas, podendo estar sujeitas a mudanças durante o processamento (Damodaran, 2010).

5.1. Mecanismos de interferência no processo de lipólise

Muitas proteínas apresentam uma excelente atividade superficial, motivo pelo qual são amplamente utilizadas como ingrediente na preparação de emulsões (Kanto e Nakai, 1980; Singh, 2011; Dickinson, 2001). Tal característica é atribuída a sua flexibilidade molecular, e a anfifilicidade de suas cadeias polipeptídicas, que permitem que as proteínas se reorientem de forma que os resíduos hidrofóbicos permaneçam na fase oleosa e os resíduos hidrofílicos na fase aquosa. Quando em contato com uma emulsão as proteínas são adsorvidas na superfície ativa das gotículas de lipídios, diminuindo a tensão superficial e retardando a coalescência (Damodaran, 1997; Dalgleish, 2006; Dickinson, 1999).

As proteínas mais utilizadas em emulsões alimentares são derivadas de leite, soja e ovos. Singh e Ye (2013) apresentaram uma excelente revisão sobre os fatores que afetam a digestibilidade de emulsões lipídicas à base de proteínas e descreveram também o comportamento destas emulsões no ambiente oral, gástrico e intestinal. O tipo de proteína afeta claramente o comportamento físico-químico das emulsões estabilizadas por proteínas durante a digestão *in vitro*, mas não está claro se elas apresentam um efeito significativo na digestão lipídica (Singh e Ye, 2013). Além disso, deve-se considerar que o pH baixo do estômago provoca floculação ou coalescência das proteínas e sua interface é propensa a proteólise por ação da pepsina no ambiente gástrico e duodenal, o que afeta a sua estabilidade (Bellesi, Martinez, Pizones Ruiz-Henestrosa e Pilosof, 2016).

Estudos *in vitro* mostraram que as emulsões estabilizadas com caseinato e proteína do soro de leite apresentaram uma pequena diferença entre si, mas se comparadas as emulsões estabilizadas com lecitina e Tween 20, as extensões de lipólise foram bem maiores (Mun *et al.*, 2007).

Para emulsões estabilizadas por proteínas, o efeito do cálcio depende de vários fatores, pois este tem impacto nas propriedades físico-químicas da emulsão e na estrutura superficial das gotículas de lipídios (Singh e Ye, 2013). Ye *et al.* (2013) avaliaram o efeito do cálcio na cinética de liberação de ácidos graxos livres nas emulsões estabilizadas por proteína isolada do soro de leite, Tween 20, caseinato de sódio e lecitina sob condições duodenais, comprovando que a adição de cálcio promove a taxa de liberação de ácidos graxos livres, através a remoção destes da superfície das gotículas de lipídio, e concluíram que o aumento da taxa depende do agente emulsificante. As proteínas são capazes de interagir com cálcio, reduzindo a sua disponibilidade e, conseqüentemente, diminuem a atividade da lipase, além disso, as moléculas de proteínas também podem ser adsorvidas na interface da gotícula dificultando o acesso da lipase (Helbig, Silletti, Timmerman, Hamer e Gruppen, 2012).

Em outro trabalho, Bellesi *et al.* (2014) demonstrou a partir da análise de adsorção competitiva que a proteína de soja era particularmente mais resistente ao deslocamento de sais biliares do que a β -lactoglobulina ou a proteína de clara de ovo, o que poderia impactar na digestão de lipídios. E neste mesmo trabalho foi estudado o comportamento de emulsões estabilizadas com proteína de soja em comparação com a β -lactoglobulina (Sarkar, Horne e Singh, 2010a, 2010b; Singh *et al.*, 2009) e um polissacarídeo não-iônico (hidroxipropilmetilcelulose – HPMC) (Camino, Sanchez, Rodriguez Patino e Pilosof, 2012) sob condições simuladas de digestão gastrointestinal.

5.1.1. Proteínas do leite

As proteínas do leite podem ser divididas em duas categorias: as proteínas do soro de leite, como a β -lactoglobulina, que são proteínas globulares, e caseínas, que possuem estruturas flexíveis e não apresentam estruturas secundárias e terciárias regulares (Dickinson, 1999 e 2001; Dalgleish, 2006 e 1996; Walstra, 1993; Morr *et al.*, 1993; Ye e Singh, 2006 e 2007; Singh, 2005; Ornebro *et al.*, 2000).

As proteínas derivadas do leite têm sido extensivamente estudadas para a formação e estabilização de emulsões que apresentem boas propriedades de superfície ativa e que forme camadas interfaciais com propriedades reológicas desejáveis (Rodríguez Patino e Pilosof, 2011; Singh e Ye, 2013). As mais utilizadas são as caseínas, que apresentam estruturas bastante flexíveis e as proteínas do soro que são tipicamente globulares.

Mun, Decker e McClements (2007) estudaram o comportamento do caseinato de sódio e da proteína isolada do soro de leite em emulsões de óleo de milho-água, observando a taxa de liberação de ácidos graxos livres em um modelo *in vitro* por ação da lipase pancreática. E concluiu-se que a liberação de ácidos graxos a partir de emulsão com caseinato de sódio foi ligeiramente mais elevada do que a emulsão com proteína isolada. Em um outro trabalho realizado por Chang e McClements (2016), utilizando as mesmas proteínas em uma emulsão de óleo de peixe-água foram obtidos resultados diferentes, houve uma digestão quase completa do óleo de peixe para ambas as emulsões. No entanto, as taxas de digestão iniciais para as gotículas de gordura revestidas com caseinato foram mais lentas do que para as gotículas com proteína isolada, devido ao processo de floculação e coalescência que ocorreu antes da adição das lipases.

Mais recentemente Zhang e colaboradores (2015) compararam a influência do tipo de proteína do leite, sendo uma catiônica-lactoferrina e o outra aniônico-caseinato, em um ambiente gastrointestinal simulado. Foi observado que a velocidade inicial de digestão de lipídios foi mais lenta nas emulsões estabilizadas por caseinato, devido à floculação de gotículas na fase gástrica, o que restringiu o acesso da lipase à superfície dos glóbulos de gordura. No entanto, houve a completa digestão dos lipídios em todas as emulsões ao final do processo.

5.1.2. Proteínas da soja

As principais proteínas da soja são a conglicina e a glicina. As modificações estruturais causadas por métodos físicos ou químicos podem melhorar as características superficiais e sua funcionalidade (Morales, Martínez, Pizones Ruiz-Henestrosa e Pilosof, 2015).

Malaki Nik, Wright e Corredig (2011) utilizaram vários modelos de digestão *in vitro* para investigar o processo de lipólise de emulsões preparadas com proteína isolada do soro de leite e proteína de soja. Foi observado que independentemente do modelo de digestão *in vitro*, as emulsões com proteína de soja apresentaram um elevado grau de lipólise se comparado às emulsões estabilizadas por proteínas do leite. Tal resultado foi obtido pois a emulsão com proteína do leite era mais estável durante a digestão gástrica *in vitro*, mas devido ao processo de proteólise por ação da tripsina e quimiotripsina combinado com deslocamento interfacial de sais biliares, estes sofreram uma perda de estabilidade, resultando na coalescência das gotículas e em um menor grau de lipólise.

Bellesi *et al.* (2016 e 2014) estudaram o comportamento de emulsões estabilizadas com proteína de soja em comparação com a β -lactoglobulina. A extensão da digestão de lipídios da emulsão de proteína de soja apresentou resultados menores ao ser medir a liberação de ácidos graxos livres na digestão *in vitro*, o que pode estar relacionado com o comportamento da interface das proteínas de soja, que são mais resistentes ao deslocamento de sais biliares, resultando em uma menor adsorção da lipase.

6. Metodologias de avaliação da lipólise

6.1. Métodos Gerais

6.1.1. Estudos *in vitro*

O teste se baseia em submeter um sistema de entrega a uma série de tratamentos que simulam uma ou mais partes do trato gastrointestinal humano (boca, estômago, intestino). O que engloba a aplicação de uma série de fluidos, com composição, pH, enzimas, sais biliares e outros componentes semelhantes ao que é liberado no corpo humano. Ao longo do processo, sempre são avaliadas mudanças na composição, estrutura e propriedades físico-químicas do sistema de entrega (Hur; Decker; McClements, 2009). Desta forma, a taxa de digestão lipídica pode ser determinada pela quantidade de ácidos graxos liberados, por ação da lipase (Armand *et al.*, 1992; Dahan e Hoffman, 2008).

Este teste também permite avaliar a absorção de componentes lipofílicos utilizando um método físico ou pela absorção de culturas de células que imitam o epitélio do intestino humano (Christenses *et al.*, 2004; Versantvoort *et al.*, 2002;

Dhuique-Mayer *et al.*, 2007). Experimentos *in vitro* fornecem informações úteis sobre possíveis mecanismos físico-químicos que ocorrem durante o processo de digestão e absorção de lipídios (Porter e Charman, 2001). Porém, o sistema digestório humano é extremamente complexo e varia de pessoa para pessoa, logo, não é possível imitá-lo corretamente em laboratório.

6.1.2. Estudos *in vivo*

Estudos *in vivo* utilizando animais e humanos: Para a obtenção de resultados mais realistas do desempenho de um sistema de entrega, o mais indicado é a realização de estudos *in vivo* com animais ou até seres humanos, o que permite diferentes tipos de medições (McClements, Decker e Park, 2009). O método consiste em alimentar um animal com o sistema de entrega a ser testado, podendo ser feito de maneira isolada ou incorporando a sua dieta, durante um período específico (McClements e Li, 2010).

Em seguida, os resultados podem ser medidos de acordo com mudanças no comportamento ou peso do animal, e pelas alterações fisiológicas que possam ocorrer com órgãos internos específicos, como fígado, pâncreas, rins, gorduras subcutâneas, trato gastrointestinal, entre outros. Outro modo de avaliar os resultados é através da análise da composição de fezes, urina e sangue, que além de ser um indicativo de absorção, metabolismo e excreção de compostos em particular, permite também o monitoramento desses mesmos mecanismos (McClements e Li, 2010).

Em alguns casos, é possível utilizar tubos invasivos para coletar amostras de sistemas de entrega em uma determinada região do trato digestivo. Alternativamente, pode-se usar de métodos de imagem, tais como ressonância magnética, ultrassom ou raios-X, para visualizar os processos que ocorrem no interior do trato gastrointestinal. Estudos *in vivo* geralmente fornecem resultados mais precisos de como os sistemas de entrega funcionam na prática, mas também possuem muitas limitações, pois se trata de um método caro, demorado e aborda questões éticas e legais. Além disso, ao se trabalhar com animais, é importante que seus sistemas digestórios se comportem de forma semelhante com o dos humanos, para que assim se obter resultados significativos (McClements e Li, 2010).

Armand *et al.* (1999) e Seimon *et al.* (2009) realizaram estudos *in vivo* com humanos voluntários, avaliando a influência do tamanho das gotículas de lipídios das emulsões no ambiente gástrico e intestinal, e observaram que tal característica está

associada à sensação de saciedade, à digestão lipídica, motilidade e esvaziamento gástrico. Maljaars *et al.* (2012) trabalharam com infusão direta de emulsões estabilizadas com caseinato no intestino de humanos, e relataram que emulsões com partículas menores reduziram significativamente a fome, retardando o processo de esvaziamento gástrico. O efeito do tamanho dos glóbulos de gordura nas emulsões tem maior efeito no duodeno do que no íleo, pois há uma maior abundância de lipases no duodeno do que no íleo, e a área de superfície é um fator limitante na taxa de digestão (Layer, Go e DiMagno, 1986).

6.2. Método pH-stat

O método pH-stat é uma ferramenta analítica amplamente utilizada em produtos farmacêuticos e pesquisa de alimentos para a caracterização de condições simuladas da digestão de lipídios no intestino *in vitro* (Armand *et al.*, 1992; Dahan e Hoffman, 2008; Dahan e Hoffman, 2006; Nilsson e Belfrage, 1979). Baseia-se em medições da quantidade de ácidos graxos livres liberados a partir dos lipídios (triglicerídeos) após a ação das lipases em um meio com pH próximo do neutro. O pH do meio é um fator importante para a representação, pois o comportamento dos íons presentes, a solubilidade dos ácidos graxos e a atividade da lipase variam de acordo com o pH (Ali, Siddiqui e Nazzal, 2010; Bauer, Jakob e Mosenthin, 2005; Snabe, Neves-Petersen e Petersen, 2005; De Maria *et al.*, 2009).

O processo consiste em colocar a amostra em uma câmara com temperatura controlada, contendo um fluido que simula as condições do meio no intestino. Esse fluido é composto pelos principais componentes digestivos em concentrações adequadas, o que inclui lipase, colipase, sais biliares, fosfolipídios e íons minerais. A lipase catalisa a digestão lipídica, formando dois ácidos graxos e um monoacilglicerol a partir de um triacilglicerol, em seguida é adicionado um álcali (NaOH), em concentração suficiente para neutralizar os ácidos graxos, mantendo assim o controle do pH, e tal etapa deve ser registrada em função do tempo (McClements e Li, 2010).

O pH-stat (Figura 6) é um método relativamente simples e rápido, que permite comparar diferentes sistemas de entrega sob condições experimentais semelhantes, podendo então ser utilizado em pesquisas rápidas onde se deseja analisar o impacto de diferentes fatores físico-químicos sobre o processo de digestão de lipídios. Sendo importante ressaltar que a composição do fluido que simula as condições do meio no intestino deve ser apropriada, de modo a se obter resultados que possam ser

comparados com estudos *in vivo*. Para se obter resultados mais realistas, é necessário que os sistemas de entrega analisados sejam submetidos a todas as condições do trato gastrointestinal (McClements e Li, 2010).

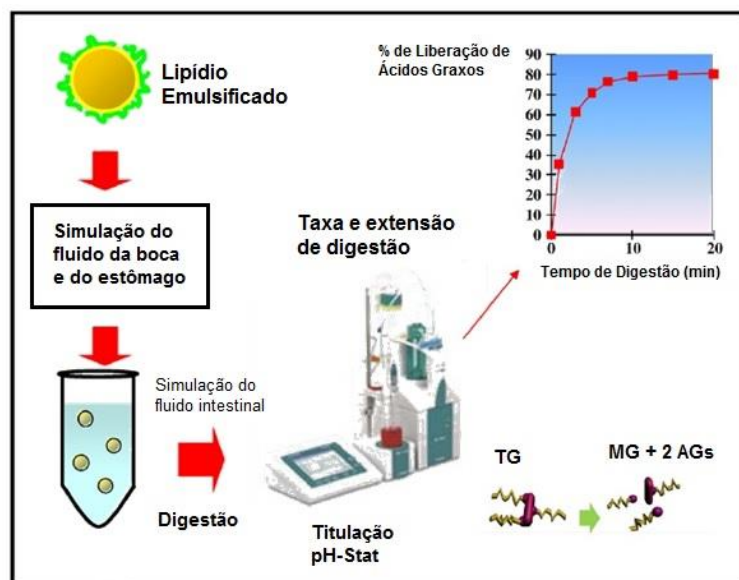


Figura 6: Esquema do modelo de digestão *in vitro* utilizado no método de pH-stat (McClements e Li, 2010).

A percentagem de ácidos graxos livres totais liberado (Φ) em função do tempo (t), pelo método de pH-stat pode ser calculado a partir da equação 1:

$$\Phi = \Phi_{\text{máx}} \times \left(1 - \left(1 + \frac{3 \times k \times M \times t}{2 \times d_0 \times \rho_0} \right)^{-2} \right) \quad [\text{Equação 1}]$$

Em que: $\Phi_{\text{máx}}$ = medida da extensão da digestão (ou seja, o percentual máximo do total de ácidos graxos livres presente, que é lançado no final da reação); k = medida da velocidade de digestão (isto é, a quantidade em mmol de ácidos graxos livres liberados por unidade de área de superfície das gotículas por unidade de tempo); d_0 = diâmetro da gotícula inicial; ρ_0 = densidade das gotículas de óleo; M = massa molar do óleo (McClements e Li, 2010).

Logo, o perfil de pH-stat pode ser obtido em termos de apenas dois parâmetros, $\Phi_{\text{máx}}$ e k , os quais podem ser determinados a partir de valores que melhor se ajustem aos dados experimentais e ao modelo matemático (McClements e Li, 2010).

Uma série de estudos examinaram o impacto do tipo de emulsificante no processo de digestão lipídica. McClements e Li (2010) observaram que a resistência das gotículas lipídicas revestidas por diferentes tipos de emulsificantes durante o processo de lipólise diminuía de acordo com a seguinte ordem: surfactante não-iônico

(Tween 20), lecitina, caseinato ou proteína isolado do soro. Contrariando um estudo recente que, utilizando o método pH-stat, descobriram que o tipo de emulsificante não tem grande impacto sobre a taxa e extensão da digestão lipídica. As emulsões óleo-água de triglicerídeos de cadeia média, estabilizadas por diferentes emulsificantes (β -lactoglobulina, Tween 20 e lecitina) apresentaram uma porcentagem de ácidos graxos liberados em função do tempo bastante semelhantes, assim como os valores de k e $\phi_{\text{máx}}$. Porém, as diferenças encontradas a respeito do impacto do tipo emulsificante na digestão de lipídios podem ser devido às diferenças na natureza dos métodos *in vitro* utilizados, como as características iniciais das gotículas (tipo de óleo, tamanho e concentração das gotículas) e a composição do fluido intestinal utilizado na simulação (saís biliares, lipase e minerais) (McClements e Li, 2010).

Em um outro experimento, utilizando digestão *in vitro*, McClements e Li (2010) examinaram a influência das propriedades do revestimento de biopolímero na digestão de lipídios por ação da lipase pancreática. No qual foi utilizado uma técnica de deposição eletrostática de multicamadas para preparar emulsões de óleo de milho-água, revestidas com lecitina, lecitina-quitosana e lecitina-quitosana-pectina. Uma determinada concentração de lipase pancreática e extrato de bile foram adicionados a cada emulsão, e a quantidade de gotículas agregadas e ácidos graxos liberados foi medida em função do tempo. Os resultados mostraram que a quantidade de ácidos graxos liberados foi muito mais baixa nas emulsões revestidas com lecitina-quitosana, se comparadas às demais. E o processo de agregação das gotículas foi mais extensa na emulsão de lecitina-quitosana do que nas outras duas emulsões (Mun *et al.*, 2006). A atividade da lipase foi reduzida na emulsão de lecitina-quitosana devido à formação de uma camada catiônica relativamente espessa ao redor de cada glóbulo, o que ocasionou na formação de flocos grandes, restringindo o acesso da lipase. E o fato do revestimento de lecitina-quitosana-pectina não ter inibido a atividade da lipase foi atribuído à dessorção de um complexo de quitosana/pectina da superfície das gotículas de lipídio, permitindo o acesso das enzimas digestivas.

Estudos recentes, realizado por McClements (2010), utilizando a mesma metodologia citada anteriormente, mostraram que outras combinações de emulsificantes e biopolímeros também apresentam a capacidade de reduzir a taxa e a extensão da digestão de lipídios, como por exemplo, a β -lactoglobulina-alginato de quitosana.

Porém, uma das limitações do método de multicamada é que o revestimento de biopolímeros é realizado por interações eletrostáticas, e, portanto, podem ser interrompidas se o pH ou a força iônica do sistema for alterado.

Este mesmo estudo avaliou o impacto do número de camadas na digestão lipídica, e observou que a taxa de digestão de lipídios diminui conforme o número de camadas em torno das gotículas lipídicas aumenta (McClements, 2010). A influência do tamanho da gotícula de lipídio na atividade da lipase também foi investigada *in vitro* (Armand *et al.*, 1992; Borel *et al.*, 1994) e *in vivo* (Armand *et al.*, 1999; Foltz *et al.*, 2009), para ambas as lipases, gástrica e pancreática, mostrando que quanto maior a gotícula, menor taxa de lipólise.

7. Efetividade

Todos os estudos apresentados neste trabalho mostraram que tanto os polissacarídeos como as proteínas, possuem a capacidade de retardar o processo de digestão de lipídios no ambiente gastrointestinal humano. Tais características dependem do tipo e da estrutura do composto, como por exemplo, foi citado o uso de derivados de celulose, ou hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), o qual seu grau de hidrofobicidade está associado a grau de substituição, e no caso da pectina, quanto maior o grau de esterificação mais interações será capaz de realizar. Porém, deve-se ressaltar que houve bastante divergência de resultados, alguns estudos apontaram que o tipo de emulsificante influencia na diminuição da lipólise, enquanto outros mostraram que os resultados eram praticamente os mesmos.

A forma que os polissacarídeos e as proteínas interferem no processo de digestão de lipídios são bem semelhantes, em ambos os casos há formação de uma barreira física, que impede o contato das enzimas lipase com os lipídios emulsionados, e a interação com sais biliares, íons cálcio e ácidos graxos livres, que podem resultar na floculação de gotículas, redução da concentração de cálcio no meio digestivo e acúmulo de compostos na superfície dos glóbulos de gordura. É possível observar nos estudos apresentados que os polissacarídeos são mais efetivos na redução da taxa e extensão de lipólise, pois não são afetados pela ação de enzimas, ao contrário das proteínas que estão sujeitas à proteólise.

Tais informações foram obtidas através de estudos *in vitro*, que são mais simples e rápidos, e têm apresentado resultados promissores. Mas, também é possível recorrer a estudos *in vivo*, com animais ou seres humanos voluntários, e embora seja um método mais caro e que envolve muitas questões éticas, os resultados obtidos são mais realistas. Porém, em ambos os métodos houveram uma série de divergências, pois, além de ainda não ser possível reproduzir corretamente as condições às quais a emulsão é submetida no trato gastrointestinal humano, cada autor utilizou em seus estudos *in vitro* emulsões com características diferentes e uma determinada concentração de fluidos gastrointestinais. Nos estudos *in vivo*, deve-se considerar que foram realizados com amostras de emulsões prontas, que foram inseridas em um ambiente digestivo específico, logo, não se sabe se os resultados serão os mesmos para produtos alimentares ingeridos oralmente, pois existem outros compostos presentes nos alimentos que podem interferir e afetar a estabilidade das emulsões.

8. Conclusão

Os estudos *in vitro* e *in vivo* mostraram que emulsões estabilizadas por polissacarídeos foram mais efetivas na redução da lipólise, se comparadas com as proteínas, pois não são afetadas pelo processo de proteólise no trato gastrointestinal, e embora, em nenhum dos casos foi possível inibir completamente o processo de digestão de lipídios, estes estudos permitiram determinar alguns mecanismos que reduzem a taxa de lipólise, como as interações dos polissacarídeos e proteínas com sais biliares, íons cálcio e ácidos graxos livres, que promovem uma alteração na concentração destes compostos inibindo a atividade da lipase.

Além de entender os mecanismos de interferência de polissacarídeos e proteínas na digestão lipídica, foi possível observar que os métodos utilizados para avaliação do processo de lipólise têm apresentado resultados promissores, que permitem uma boa aproximação do que ocorre no sistema digestivo humano. Apesar das divergências de resultados entre autores, deve-se considerar que cada um trabalhou com um tipo de emulsão e fluidos digestivos diferentes. Além disso, o desafio atual é conseguir reproduzir os movimentos peristálticos do sistema gastrointestinal, obtendo assim uma maior aproximação do processo de digestão de lipídios ao longo de todo o trato gastrointestinal.

9. Referências

ABDEL-RAOUF, M. E. **Crude oil emulsions-composition stability and characterization**. 2012.

ALI, H.; SIDDIQUI, A.; NAZZAL, S. The effect of media composition, pH, and formulation excipients on the in vitro lipolysis of self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS). **Journal Dispersion Science Technology**; 31: 226–32. 2010.

ARMAND, M.; *et al.* Effects of droplet size, triacylglycerol composition, and calcium on the hydrolysis of complex emulsions by pancreatic lipase — an in vitro study. **Journal of Nutritional Biochemistry**; 3: 333–41. 1992.

ARMAND, M.; PASQUIER, B.; ANDRE, M.; BOREL, P.; SENFT, M.; PEYROT, J.; *et al.* Digestion and absorption of 2 fat emulsions with different droplet sizes in the human digestive tract. **American Journal of Clinical Nutrition**, 70: 1096-1106. 1999.

BAGRE, A.P.; JAIN, K.; JAIN, N. K. Alginate coated chitosan core shell nanoparticles for oral delivery of enoxaparin: In vitro and in vivo assessment. **International Journal of Pharmaceutics**, 456: 31–40. 2013.

BAUER, E.; JAKOB, S.; MOSENTHIN, R. Principles of physiology of lipid digestion. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 18, 282–295. 2005.

BELLESI, F. A.; MARTINEZ, M. J.; PIZONES RUIZ-HENESTROSA, V. M.; PILOSOFF, A. M. R. Comparative behavior of protein or polysaccharide stabilized emulsion under in vitro gastrointestinal conditions. **Food Hydrocolloids**, 52: 47-56. 2016.

BELLESI, F. A.; PIZONES RUIZ-HENESTROSA, V. M.; PILOSOFF, A. M. R. Behavior of protein interfacial films upon bile salts addition. **Food Hydrocolloids**, 36: 115-122. 2014.

BIEHLER, E.; HOFFMANN, L.; KRAUSE, E.; BOHN, T. Divalent minerals decrease micellarization and uptake of carotenoids and digestion products into Caco-2 cells. **Journal of Nutrition**, 141: 1769-1776. 2011.

BOREL, P.; ARMAND, M.; YTHIER, P.; DUTOT, G.; MELIN, C.; SENFT, M.; *et al.* Hydrolysis of emulsions with different triglycerides and droplet sizes by gastric lipase

in vitro. Effect on pancreatic lipase activity. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 5: 124-133. 1994.

BOUYER, E.; MEKHLOUFI, G.; LE POTIER, I.; DU FOU DE Kerdaniel, T.; GROSSIORD, J.-L.; ROSILLO, V.; *et al.* Stabilization mechanism of oil-in-water emulsions by β -lactoglobulin and gum arabic. **Journal of Colloid and Interface Science**, 354: 467-477. 2011.

BRACCINI, I.; PEREZ, S. Molecular basis of Ca^{2+} -induced gelation in alginates and pectins: The egg-box model revisited. **Biomacromolecules**, 2: 1089–1096. 2001.

CAFFALL, K. H.; MOHNEN, D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. **Carbohydrate Research**, 344: 1879–1900. 2009.

CAMINO, N. A.; PÉREZ, O. E.; PILOSOFF, A. M. R. Molecular and functional modification of hydroxypropylmethylcellulose by high-intensity ultrasound. **Food Hydrocolloids**, 23: 1089-1095. 2009.

CAMINO, N. A.; SANCHEZ, C. C.; RODRÍGUEZ PATINO, J. M.; PILOSOFF, A. M. R. Hydroxypropylmethylcellulose-b-lactoglobulin mixtures at the oil/water interface. Bulk, interfacial and emulsification behavior as affected by pH. **Food Hydrocolloids**, 27: 464-474. 2012.

CAMPO, V. L.; CARVALHO, I. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. **Química Nova**, Ribeirão Preto, 30: 425-430. 2006.

CAPUANO, E. The behavior of dietary fiber in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, 57: 3543-3564. 2016.

CERVANTES-PAZ, B. *et al.* Effects of pectin on lipid digestion and possible implications for carotenoid bioavailability during pre-absorptive stages: A review. **Food Research International**, 99: 917-927. 2017.

CERVANTES-PAZ, B.; ORNELAS-PAZ, J. J.; PÉREZ-MARTÍNEZ, J. D.; REYES-HERNÁNDEZ, J.; ZAMUDIO-FLORES, P. B.; *et al.* Effect of pectin concentration and

properties on digestive events involved on micellarization of free and esterified carotenoids. **Food Hydrocolloids**, 60: 580–588. 2016.

CHANG, S. A.; GRAY, D. G. The surface tension of aqueous hydroxypropyl cellulose solutions. *Journal of Colloid Interface Sciences*, 67: 255-265. 1978.

CHANG, Y.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of emulsifier type on the in vitro digestion of fish oil-in-water emulsions in the presence of an anionic marine polysaccharide (fucoidan): Caseinate, whey protein, lecithin, or Tween 80. **Food Hydrocolloids**, 61: 92-101. 2016.

CHENG, H. N.; NEISS, T. G. Solution NMR spectroscopy of food polysaccharides. **Polymer Reviews**, 52: 81–114. 2012.

CHRISTENSEN, J. O.; *et al.* Solubilisation of poorly water-soluble drugs during in vitro lipolysis of medium- and long-chain triacylglycerols. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 23: 287–96. 2004.

CHU, B. S. *et al.* Modulating pancreatic lipase activity with galactolipids: effects of emulsion interfacial composition. **Langmuir**, 25: 9352–60. 2009.

CIRILLO, C.; CAPASSO, R. Constipation and botanical medicines: an overview. **Phytotherapy Research**, 29:1488–93. 2015.

CORSTENS, M. N.; BERTON-CARABIN, C. C.; DE VRIES, R.; TROOST, F. J.; MASCLEE, A. A. M.; SCHROEN, K. Food-grade micro-encapsulation systems that may induce satiety via delayed lipolysis: A review. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, 57: 2218-2244. 2015.

CORTE-REAL, J.; IDDIR, M.; SOUKOULIS, C.; RICHLING, E.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Effect of divalent minerals on the bioaccessibility of pure carotenoids and on physical properties of gastro-intestinal fluids. **Food Chemistry**, 197: 546-553. 2016.

DAHAN, A.; HOFFMAN, A. Rationalizing the selection of oral lipid based drug delivery systems by an in vitro dynamic lipolysis model for improved oral bioavailability of poorly water soluble drugs. **Journal Control Release**, 129: 1–10. 2008.

- DAHAN, A.; HOFFMAN, A. Use of a dynamic in vitro lipolysis model to rationalize oral formulation development for poor water soluble drugs: correlation with in vivo data and the relationship to intra-enterocyte processes in rats. **Pharmaceutical Research**, 23: 2165–74. 2006.
- DALGLEISH, D. G. Conformations and structures of milk proteins adsorbed to oil–water interfaces. **Food Research International**. 29: 541–7. 1996.
- DALGLEISH, D. G. Food emulsions — their structures and structure-forming properties. . **Food Hydrocolloids**, 20: 415–22. 2006.
- DAMODARAN, S. Food proteins: an overview. **Food proteins and their applications**, 1–24. 1997.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. 2010.
- DANIELS, R.; BARTA, A. Pharmacopoeial cellulose ethers as oil-in-water emulsifiers: I. Interfacial properties. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 40: 128-133. 1994.
- DE MARIA, P. D *et al.* Role of apparent pK(a) of carboxylic acids in lipase-catalyzed esterifications in biphasic systems. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, 59: 220–4. 2009.
- DHUIQUE-MAYER, C.; *et al.* β -Cryptoxanthin from citrus juices: assessment of bioaccessibility using an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model. **British Journal of Nutrition**; 97: 883–90. 2007.
- DICKINSON, E. An introduction to food colloids. USA: Oxford University Press. 1992.
- DICKINSON, E. Caseins in emulsions: interfacial properties and interactions. **International Dairy Journal**, 9:305–12. 1999.
- DICKINSON, E. Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion stability and rheology. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 20:197–210. 2001.

- DONGOWSKI, G.; HUTH, M.; & GEBHARDT, E. Steroids in the intestinal tract of rats are affected by dietary fibre-rich barley-based diets. **British Journal of Nutrition**, 90: 895–906. 2003.
- DRZIKOVA, B.; DONGOWSKI, G.; GEBHARDT, E.; HABEL, A. The composition of dietary fibre-rich extrudates from oat affects bile acid binding and fermentation in vitro. **Food Chemistry**, 90: 81–192. 2005.
- EDASHIGE, Y.; MURAKAMI, N.; TSUJITA, T. Inhibitory effect of pectin from the segment membrane of citrus fruits on lipase activity. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, 54: 409–415. 2008.
- EDWARDS, A.; MUR, L. A.; GIRDWOOD, S. E.; ANESIO, A. M.; STIBAL, M.; RASSNER, S. M.; *et al.* Coupled cryoconite ecosystem structure-function relationships are revealed by comparing bacterial communities in alpine and Arctic glaciers. **FEMS Microbiology Ecology**, 89: 222-237. 2014.
- ESPINAL-RUIZ, M.; PARADA-ALFONSO, F.; RESTREPO-SÁNCHEZ, L. P.; NARVÁEZ-CUENCA, C. E.; MCCLEMENTS, D. J. Interaction of a dietary fiber (pectin) with gastrointestinal components (bile salts, calcium, and lipase): A calorimetry, electrophoresis, and turbidity study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62: 12620–12630. 2014.
- FANG, Y.; DALGLEISH, D.G. Dimensions of the adsorbed layers in oil-in-water emulsions stabilized by caseins, **Journal of Colloid and Interface Science**, 156: 329–334. 1993.
- FATHI, M.; MARTÍN, A.; MCCLEMENTS, D. J. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. **Trends in Food Science Technology**, 39: 18-39. 2014.
- FOLTZ, M.; MALJAARS, J.; SCHURING, E. A. H.; VAN DER WAL, R. J. P.; BOER, T.; DUCHATEAU, G. S. M.; *et al.* Intragastric layering of lipids delays lipid absorption and increases plasma CCK but has minor effects on gastric emptying and appetite. **American Journal of Physiology e Gastrointestinal and Liver Physiology**, 296: G982-G991. 2009.

- FRANCISCO, É. C.; FRANCO, T. T.; WAGNER, R.; JACOB-LOPES, E. Assessment of different carbohydrates as exogenous carbon source in cultivation of cyanobacteria. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 37: 1497-1505. 2014.
- FUNAMI, T. Next target for food hydrocolloid studies: Texture design of foods using hydrocolloid technology. **Food Hydrocolloids**, 25: 1904–14. 2011.
- FUNAMI, T.; NAKAUMA, M.; ISHIHARA, S.; TANAKA, R.; INOUE, T.; PHILLIPS, G. O. Structural modifications of sugar beet pectin and the relationship of structure to functionality. **Food Hydrocolloids**, 25: 221–229. 2011.
- GIDLEY, M. J. Hydrocolloids in the digestive tract and related health implications. **Current Opinion in Colloid e Interface**, 18: 371–8. 2013.
- GOLDING, M.; WOOSTER, T. J. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. **Current Opinion in Colloid e Interface Science**, 15: 90-101. 2010.
- GOUSETI, O.; JAIME-FONSECA, M. R.; FRYER, P. J.; MILLS, C.; WICKHAM, M. S. J.; BAKALIS, S. Hydrocolloids in human digestion: dynamic in-vitro assessment of the effect of food formulation on mass transfer. **Food Hydrocolloids**, 42: 378–85. 2014.
- GROPPER, S. S.; SMITH, J. L.; GROFF, J. L. **Nutrição avançada e metabolismo humano**. 5. ed. 2011.
- GUNNESS, P.; FLANAGAN, B. M.; MATA, J. P.; GILBERT, E. P.; GIDLEY, M. J. Molecular interactions of a model bile salt and porcine bile with (1,3:1,4)- β -glucans and arabinoxylans probed by ^{13}C NMR and SAXS. **Food Chemistry**, 197: 676-685. 2016.
- GUNNESS, P.; FLANAGAN, B. M.; SHELAT, K.; GILBERT, R. G.; GIDLEY, M. J. Kinetic analysis of bile salt passage across a dialysis membrane in the presence of cereal soluble dietary fibre polymers. **Food Chemistry**, 134: 2007-2013. 2012.
- GUNNESS, P.; GIDLEY, M. J. Mechanisms underlying the cholesterol-lowering properties of soluble dietary fibre polysaccharides. **Food and Function**, 1: 149-155. 2010.

- HELBIG, A.; SILLETTI, E.; TIMMERMAN, E.; HAMER, R. J.; GRUPPEN, H. In vitro study of intestinal lipolysis using pH-stat and gas chromatography. **Food Hydrocolloids**, 28: 10-19. 2012.
- HILL, S.E. Emulsions. In G.M.Hall, **Methods of testing protein functionality**. 1996.
- HU, M.; LI, Y.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Role of calcium and calcium-binding agents on the lipase digestibility of emulsified lipids using an in vitro digestion model. **Food Hydrocolloids**, 24: 719-725. 2010.
- HUR, S.J.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during in vitro digestion. **Food Chemistry**, 114: 253–62. 2009.
- IBEKWE, V. C.; FADDA, H. M.; MCCONNELL, E. L.; KHELA, M. K.; EVANS, D. F.; BASIT, A. W. Interplay between intestinal pH, transit time and feed status on the in vivo performance of pH responsive ileocolonic release systems. **Pharmaceutical Research**, 25: 1828–1835. 2008.
- IKEDA, K.; KUSANO, T. In vitro inhibition of digestive enzymes by indigestible polysaccharides. **Cereal Chemistry**, 60: 260–263. 1983.
- KARUPAIAH, T.; SUNDRAM, K. Effects of stereo specific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. **Nutrition and Metabolism**, 4: 1-17. 2007.
- KATO, A.; NAKAI, S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface-properties of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, 624: 13–20. 1980.
- KIM, H.; TUROWSKI, M.; ANDERSON, W. H. K.; YOUNG, S. A.; KIM, Y.; YOKOYAMA, W. Supplementation of hydroxypropyl methylcellulose into yeast leavened all-whole grain barley bread potentiates cholesterol-lowering effect. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 59: 7672-7678. 2011.

- KIMURA, H.; FUTAMI, Y.; TARUI, S.-I.; SHINOMIYA, T. Activation of human pancreatic lipase activity by calcium and bile salts. **Journal of Biochemistry**, 92: 243-251. 1982.
- KUMAR, A.; CHAUHAN, G. S. Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor. **Carbohydrate Polymers**, 82: 454–459. 2010.
- LAYER, P.; GO, V. L.; DIMAGNO, E. P. Fate of pancreatic enzymes during small intestinal aboral transit in humans. **American Journal of Physiology**, 251: 475–480. 1986.
- LEROUX, J.; LANGENDORFF, V.; SCHICK, G.; VAISHNAV, V.; MAZOYER, J. Emulsion stabilizing properties of pectin. **Food Hydrocolloids**, 17: 455–462. 2003.
- LI, J. M.; NIE, S. P. The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. **Food Hydrocolloids**, 53: 46–61. 2016.
- LI, J.; YE, A.; LEE, S. J.; SINGH, H. Influence of gastric digestive reaction on subsequent in vitro intestinal digestion of sodium caseinate-stabilized emulsions **Food and Function**, 3: 320–6. 2012.
- LI, Y.; HU, M.; MCCLEMENTS, D. J. Factors affecting lipase digestibility of emulsified lipids using an in vitro digestion model: Proposal for a standardized pH-stat method. **Food Chemistry**, 126: 498-505. 2011.
- LI, Y.; MCCLEMENTS D. J. Controlling lipid digestion by encapsulation of protein-stabilized lipid droplets within alginate-chitosan complex coacervates. **Food Hydrocolloids**, 25: 1025–33. 2011.
- LORENZEN, J. K.; NIELSEN, S.; HOLST, J. J.; TETENS, I.; REHFELD, J. F.; ASTRUP, A. Effect of dairy calcium or supplementary calcium intake on post prandial fat metabolism, appetite, and subsequent energy intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, 85: 678-687. 2007.

MACGREGOR, K. J.; EMBLETON, J. K.; LACY, J. E.; PERRY, E. A.; SOLOMON, L. J.; SEAGER, H.; *et al.* Influence of lipolysis on drug absorption from the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 25: 33-46. 1997.

MAKI, K. C.; CARSON, M. L.; KERR ANDERSON, W. H.; GEOHAS, J.; REEVES, M. S.; FARMER, M. V.; *et al.* Lipid-altering effects of different formulations of hydroxypropylmethylcellulose. **Journal of Clinical Lipidology**, 3: 159-166. 2009.

MAKI, K. C.; DAVIDSON, M. H.; TORRI, S.; INGRAM, K. A.; O'MULLANE, J.; DAGGY, B. P.; *et al.* High-molecular-weight hydroxypropylmethylcellulose taken with or between meals is hypocholesterolemic in adult men. **Journal of Nutrition**, 130: 1705-1710. 2000.

MALAKI NIK, A.; WRIGHT, A. J.; CORREDIG, M. Impact of interfacial composition on emulsion digestion and rate of lipid hydrolysis using different in vitro digestion models. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 83: 321-330. 2011.

MALAKI NIK, A.; WRIGHT, A. J.; CORREDIG, M. Surface adsorption alters the susceptibility of whey proteins to pepsin-digestion. **Journal of Colloid and Interface Science**, 344: 372-381. 2010.

MALDONADO-VALDERRAMA, J.; WILDE, P.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A. The role of bile salts in digestion. **Advances in Colloid and Interface Science**, 165: 36-46. 2011.

MALDONADO-VALDERRAMA, J.; WOODWARD, N. C.; GUNNING, A. P.; RIDOUT, M. J.; HUSBAND, F. A.; MACKIE, A. R.; *et al.* Interfacial characterization of β -lactoglobulin networks: displacement by Bile Salts. **Langmuir**, 24: 6759-6767. 2008.

MALJAARS, P. W. J.; VAN DER WAL, R. J. P.; WIERSMA, T.; PETERS, H. P. F.; HADDEMAN, E.; MASCLÉE, A. A. M. The effect of lipid droplet size on satiety and peptide secretion is intestinal site-specific. **Clinical Nutrition**, 31: 535-542. 2012.

MARCIANI, J.; FAULKS, R.; WICKHAM, M. S. J.; BUSH, D.; PICK, B.; WRIGHT, J.; *et al.* Effect of intra gastric acid stability of fat emulsions on gastric emptying, plasma lipid profile and postprandial satiety. **British Journal of Nutrition**, 101: 919-928. 2009.

- MCCLEMENTS, D. J. Design of nano-laminated coatings to control bioavailability of lipophilic food components. **Journal of Food Science**, 75: 30-42. 2010.
- MCCLEMENTS, D. J. Emulsion Ingredients. In. Food Emulsion: Principles, Practices, and Techniques. 2 ed. 2005.
- MCCLEMENTS, D. J. Utilizing food effects to overcome challenges in delivery of lipophilic bioactives: Structural design of medical and functional foods. **Expert Opinion on Drug Delivery**, 10: 1621–1632. 2013.
- MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; PARK, Y. Controlling lipid bioavailability through physicochemical and structural approaches. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 49: 48–67. 2009.
- MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; WEISS, J. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 49: 577–606. 2009.
- MCCLEMENTS, D. J.; LI, Y. Review of in vitro digestion models for rapid screening of emulsion-based. **Food and Function**, 1: 32-59. 2010.
- MCCLEMENTS, D. J.; LI, Y. Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. **Advances in Colloid and Interface Science**, 159: 213–228. 2010.
- MOGHIMIPOUR, E.; AMERI, A.; HANDALI, S. Absorption-enhancing effects of bile salts. **Molecules**, 20: 14451–14473. 2015.
- MOHNEN, D. Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 11: 266–277. 2008.
- MORALES, R.; MARTÍNEZ, K. D.; PIZONES RUIZ-HENESTROSA, V. M.; PILOSOFF, A. M. R. Modification of foaming properties of soy protein isolate by high ultrasound intensity: Particle size effect. **Ultrasonics Sonochemistry**, 26: 48-55. 2015.
- MORR, C. V.; HA, E. Y. W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 33: 431–76. 1993.

- MUN, S.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of emulsifier type on in vitro digestibility of lipid droplets by pancreatic lipase. **Food Research International**, 40: 770-781. 2007.
- MUN, S.; DECKER, E. A.; PARK, Y.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of interfacial composition on in vitro digestibility of emulsified lipids: Potential mechanism for chitosan's ability to inhibit fat digestion. **Food Biophysics**, 1: 21–29. 2006.
- MUN, S.; KIM, Y. R.; SHIN, M.; MCCLEMENTS, D. J. Control of lipid digestion and nutraceutical bioaccessibility using starch-based filled hydrogels: Influence of starch and surfactant type. **Food Hydrocolloids**, 44: 380-389. 2015.
- NGOUÉMAZONG, D. E.; TENGWEH, F. F.; DUVETTER, T.; FRAEYE, I.; VAN LOEY, A.; MOLDENAERS, P.; *et al.* Quantifying structural characteristics of partially de-esterified pectins. **Food Hydrocolloids**, 25: 434–443. 2011.
- NGOUÉMAZONG, E. D.; CHRISTIAENS, S.; SHPIGELMAN, A.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. The emulsifying and emulsion-stabilizing properties of pectin: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 14: 705–718. 2015.
- NILSSON, N. O.; BELFRAGE, P. Continuous monitoring of free fatty-acid release from adipocytes by pH-stat titration. **The Journal of Lipid Research**, 20: 557–60. 1979.
- ÖRNEBRO, J.; NYLANDER, T.; ELIASSON, A. C. Interfacial behaviour of wheat proteins. **Journal of Cereal Science**, 31: 195–221. 2000.
- ORNELAS-PAZ, J. J.; FAILLA, M. L.; YAHIA, E.M.; GARDEA-BEJAR, A. Impact of the stage of ripening and dietary fat on in vitro bioaccessibility of β -carotene in 'Ataulfo' mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56: 1511–1516. 2008.
- PATTON, J.; CAREY, M. Watching fat digestion. **Science**, 204: 145-148. 1979.
- PERRECHIL, F.A. **Avaliação estrutural e reológica de emulsões simples e múltiplas estabilizadas por caseinato de sódio e jataí**. 2008.

- PILOSOF, A. M. R. Potential impact of interfacial composition of proteins and polysaccharides stabilized emulsions on the modulation of lipolysis. The role of bile salts. **Food Hydrocolloids**, 68: 178-185. 2017.
- PIZONES RUIZ-HENESTROSA, V. M.; BELLESI, F. A.; CAMINO, N. A.; PILOSOF, A. M. R. The impact of HPMC structure in the modulation of in vitro lipolysis: The role of bile salts. **Food Hydrocolloids**, 62: 251-261. 2017.
- PORTER, C. J. H.; CHARMAN, W. N. In vitro assessment of oral lipid based formulations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 50: 127–47. 2001.
- QIAN, C.; MCCLEMENTS, D. J. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: factors affecting particle size. **Food Hydrocolloids**, 25: 1000-1008. 2011.
- RAMOS-AGUILAR, O. P.; ORNELAS-PAZ, J. J.; RUIZ-CRUZ, S. R.; ZAMUDIO-FLORES, P. B.; CERVANTES-PAZ, B.; GARDEA-BÉJAR, A. A.; *et al.* Effect of ripening and heat processing of the physicochemical and rheological properties of pepper pectins. **Carbohydrate Polymers**, 115: 112–121. 2015.
- REIS, P. *et al.* Lipases at interfaces: a review. **Advances in Colloid and Interface Science**, 147–48: 237–50. 2009.
- REIS, P. *et al.* Lipases at interfaces: unique interfacial properties as globular proteins. **Langmuir**, 24: 6812–6819. 2008.
- REIS, P.; MILLER, R.; LESER, M.; WATZKE, H. Lipase-catalyzed reactions at interfaces of two-phase systems and microemulsions. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 158: 706–721. 2009.
- REPPAS, C.; SWIDAN, S. Z.; TOBEY, S. W.; TUROWSKI, M.; & DRESSMAN, J. B. Hydroxypropylmethylcellulose significantly lowers blood cholesterol in mildly hypercholesterolemic human subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, 63: 71-77. 2009.
- RODRÍGUEZ PATINO, J. M.; PILOSOF, A. M. R. Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces. **Food Hydrocolloids**, 25: 1925-1937. 2011.

- ROSELL, C. M.; SANTOS, E.; COLLAR, C. Physico-chemical properties of commercial fibres from different sources: a comparative approach. *Food Research International*, 42: 176–84. 2009.
- ROUSSEAU, D. Fat Crystals and Emulsion Stability – A Review. **Food Research International**, 33: 3-14. 2000.
- RUI, X. U. Calcium binding of peptides derived from enzymatic hydrolysates of whey protein concentrate. **International Journal of Dairy Technology**, 62: 170–173. 2009.
- SARKAR, A.; HORNE, D. S.; SINGH, H. Interactions of milk protein-stabilized oil-in-water emulsions with bile salts in a simulated upper intestinal model. **Food Hydrocolloids**, 24: 142-151. 2010a.
- SARKAR, A.; HORNE, D. S.; SINGH, H. Pancreatin-induced coalescence of oil-in-water emulsions in an in vitro duodenal model. **International Dairy Journal**, 20: 589-597. 2010b.
- SCHOLZ-AHRENS, K. E.; SCHREZENMEIR, J. Milk minerals and the metabolic syndrome. **International Dairy Journal**, 16: 1399-1407. 2006.
- SEIMON, R. V.; WOOSTER, T.; OTTO, B.; GOLDING, M.; DAY, L.; LITTLE, T. J.; et al. The droplet size of intraduodenal fat emulsions influences antropyloroduodenal motility, hormone release, and appetite in healthy males. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 89: 1729–1736. 2009.
- SIEW, C. K.; WILLIAMS, P. A.; CUI, S.W.; WANG, Q. Characterization of the surfaceactive components of sugar beet pectin and the hydrodynamic thickness of the adsorbed pectin layer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56: 8111–8120. 2008.
- SINGH, H. Aspects of milk-protein-stabilised emulsions. **Food Hydrocolloids**, 25: 1938–44. 2011.
- SINGH, H. Milk protein functionality in food colloids. In: Dickinson E, editor. *Food colloids: interactions, microstructure and processing*. **UK: Royal Society of Chemistry**, 179–93. 2005.

- SINGH, H.; SARKAR, A. Behaviour of protein-stabilised emulsions under various physiological conditions. **Advances in Colloid and Interface Science**, 165: 47-57. 2011.
- SINGH, H.; YE, A. Structural and biochemical factors affecting the digestion of protein-stabilized emulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, 18: 360-370. 2013.
- SINGH, H.; YE, A.; HORNE, D. Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion. **Progress in Lipid Research**, 48: 92-100. 2009.
- SINHA, V. R.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, 224: 19–38. 2001.
- SNABE, T.; NEVES-PETERSEN, M. T.; PETERSEN, S. B. Enzymatic lipid removal from surfaces-lipid desorption by a pH-induced “electrostatic explosion”. **Chemistry and Physics of Lipids**, 133: 37–49. 2005.
- SOUKOULIS, C.; CAMBIER, S.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Chemical stability and bioaccessibility of b-carotene encapsulated in sodium alginate o/w emulsions: Impact of Ca²⁺ mediated gelation. **Food Hydrocolloids**, 57: 301-310. 2016.
- SOUKOULIS, C.; TSEVDOS, M.; ANDRE, C. M.; CAMBIER, S.; YONEKURA, L.; TAOUKIS, P. S.; *et al.* Modulation of chemical stability and in vitro bioaccessibility of betacarotene loaded in kappa-carrageenan oil-in-gel emulsions. **Food Chemistry**, 220: 208-218. 2017.
- SPERANZA, A.; CORRADINI, M. G.; HARTMAN, T. G.; RIBNICKY, D.; OREN, A.; ROGERS, M. A. Influence of emulsifier structure on lipid bioaccessibility in oil—water nanoemulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61: 6505–6515. 2013.
- STAUFFER, C. E. Emulsifiers for the Food Industry. In: **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, 2005.
- TADROS, T. F. **Emulsion Formation, Stability, and Rheology**. 2013.

TORCELLO-GÓMEZ, A.; FOSTER, T. J. Influence of interfacial and bulk properties of cellulose ethers on lipolysis of oil-in-water emulsions. **Carbohydrate Polymers**, 144: 495-503. 2016.

TORCELLO-GÓMEZ, A.; FOSTER, T. J. Interactions between cellulose ethers and a bile salt in the control of lipid digestion of lipid-based systems. **Carbohydrate Polymers**, 113: 53-61. 2014.

TORCELLO-GÓMEZ, A.; MALDONADO-VALDERRAMA, J.; JÓDAR-REYES, A. B.; CABRERIZO-VÍLCHEZ, M. A.; MARTÍN-RODRÍGUEZ, A. Pluronic-covered oilwater interfaces under simulated duodenal conditions. **Food Hydrocolloids**, 34: 54-61. 2014.

TSUJITA, T.; SUMIYOSHI, M.; HAN, L. K.; FUJIWARA, T.; TSUJITA, J.; OKUDA, H. Inhibition of lipase activities by citrus pectin. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, 49: 340–345. 2003.

VAN AKEN, G. A. Relating food emulsion structure and composition to the way it is processed in the gastrointestinal tract and physiological responses: What are the opportunities? **Food Biophysics**, 5: 258–283. 2010.

VERSANTVOORT, C. H. M.; *et al.* Monolayers of IEC-18 cells as an in vitromodel for screening the passive transcellular and paracellular transport across the intestinal barrier: comparison of active and passive transport with the human colon carcinoma Caco-2 cell line. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 11: 335, 13: 55-55. 2002.

VICTORIA-CAMPOS, C. I.; ORNELAS-PAZ, J. J.; YAHIA, E. M.; JIMÉNEZ-CASTRO, J. A.; CERVANTES-PAZ, B.; Ibarra-Junquera, V.; *et al.* Effect of ripening, heat processing, and fat type on the micellarization of pigments from jalapeño peppers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61: 9938–9949. 2013.

VIUDA-MARTOS, M.; LOPEZ-MARCOS, M. C.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; SENDRA, E.; LOPEZ-VARGAS, J. H.; PEREZ-ALVAREZ, J. A. Role of fiber in cardiovascular diseases: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 9: 240–58. 2010.

- VORAGEN, A. G. J.; COENEN, G. J.; VERHOEF, R. P.; SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, 20: 263–275. 2009.
- WALSTRA, P. Introduction to aggregation phenomena in food colloids. **Food colloids and polymers: stability and mechanical properties**, 3–15. 1993.
- WAN, Z.-L.; WANG, L.-Y.; WANG, J.-M.; ZHOU, Q.; YUAN, Y.; YANG, X.-Q. Synergistic interfacial properties of soy protein-stevioside mixtures: relationship to emulsion stability. **Food Hydrocolloids**, 39: 127-135. 2014.
- WHAYNE, T. F.; FELTS, J. M. Activation of lipoprotein lipase. Evaluation of calcium, magnesium, and ammonium as cofactors. **Circulation Research**, 28: 649-654. 1971.
- WOLLENWEBER, C.; MAKIEVSKI, A. V.; MILLER, R.; DANIELS, R. Adsorption of hydroxypropyl methylcellulose at the liquid/liquid interface and the effect on emulsion stability, **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 172: 91–101. 2000.
- WRIGHT, J. C.; BURGESS, D. J. **Long acting injections and implants**. 2012.
- YE, A.; CUI, J.; ZHU, X.; SINGH, H. Effect of calcium on the kinetics of free fatty acid release during in vitro lipid digestion in model emulsions. **Food Chemistry**, 139: 681-688. 2013.
- YE, A.; SINGH, H. Adsorption behaviour of lactoferrin in oil-in-water emulsions as influenced by interactions with β -lactoglobulin. **Journal of Colloid and Interface Science**, 295: 249–54. 2006.
- YE, A.; SINGH, H. Formation of multilayers at the interface of oil-in-water emulsion via interactions between lactoferrin and β -lactoglobulin. **Food Biophysics**. 2: 125–32. 2007
- YOKOYAMA, W.; ANDERSON, W. H. K.; ALBERS, D. R.; HONG, Y.-J.; LANGHORST, M. L.; HUNG, S.-C.; *et al.* Dietary hydroxypropyl methylcellulose increases excretion of saturated and trans fats by hamsters fed fast food diets. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 59: 11249-11254. 2011.

ZANGENBERG, N. H.; MÜLLERTZ, A.; KRISTENSEN, H. G.; HOVGAARD, L. A dynamic in vitro lipolysis model: I. Controlling the rate of lipolysis by continuous addition of calcium. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 14: 115-122. 2001.

ZEEB, B.; LOPEZ-PENA, C. L.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Controlling lipid digestion using enzyme-induced crosslinking of biopolymer interfacial layers in multilayer emulsions. **Food Hydrocolloids**, 46: 125-133. 2015.

ZHANG, R.; ZHANG, Z.; ZHANG, H.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of emulsifier type on gastrointestinal fate of oil-in-water emulsions containing anionic dietary fiber (pectin). **Food Hydrocolloids**, 45: 175–185. 2015.

ZHAO, J.; WEI, T.; WEI, Z.; YUAN, F.; GAO, Y. Influence of soybean soluble polysaccharides and beet pectin on the physicochemical properties of lactoferrin-coated orange oil emulsion. **Food Hydrocolloids**, 44: 443–452. 2015.