

Produção de nanopartículas para encapsulação do óleo da semente de maracujá

Production of nanoparticles for encapsulation of passion fruit seed oil

RESUMO

Kaylana Angela Ramos
Kaylana.ang@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

Caroline Casagrande Sipoli
carolinesipoli@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

As sementes de maracujá são resíduos industriais resultantes do processo de esmagamento da fruta. O óleo da semente de maracujá apresenta características interessantes para a indústria cosmética e farmacêutica. Como o óleo tem baixa solubilidade em água e apresenta sensibilidade quando exposto às condições ambientes, com o intuito de aumentar o tempo de vida útil, a microencapsulação é uma alternativa. A microencapsulação é o processo de incorporação de compostos em sistemas extremamente pequenos e o conteúdo é liberado de forma controlada. Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi a produção de sistemas nanoparticulados denominados lipossomas, para encapsulação do óleo da semente de maracujá. O método utilizado para produção dos lipossomas foi o de injeção de etanol, um método de fácil reprodução e escalonável, tornando-o atrativo para produção industrial. Na primeira fase desse trabalho foram produzidos os lipossomas e na segunda etapa realizou-se a encapsulação do óleo nos lipossomas. Foram testadas diferentes concentrações de lipídios para a produção dos sistemas, adicionando posteriormente diferentes frações de óleo para encapsulação. As amostras foram analisadas em termos de tamanho e polidispersidade e os resultados se demonstraram satisfatórios em relação à variação significativa dos diâmetros médios.

PALAVRAS-CHAVE: Sementes de maracujá. Lipossomas. Encapsulação.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



ABSTRACT

Passion fruit seeds are industrial waste resulting from the fruit crushing process. Passion fruit oil has interesting characteristics for the cosmetic and pharmaceutical industry. As the oil has low water solubility and sensitivity when exposed to ambient conditions in order to increase shelf life, microencapsulation is an alternative. Microencapsulation is the process of incorporating compounds into extremely small systems and the contents are released in a controlled manner. Thus, the objective of this work was the production of nanoparticulate systems called liposomes, for encapsulation of passion fruit seed oil. The method used for liposome production was ethanol injection, an easily reproducible and scalable method, making it attractive for industrial production. In the first phase of this work the liposomes were produced and in the second stage the encapsulation of the oil in the liposomes was performed. Different concentrations of lipids were tested for the production of the systems, later adding different oil fractions for encapsulation. The samples were analyzed for size and polydispersity and the results were satisfactory in relation to the significant variation of the average diameters.

KEYWORDS: Passion fruit seeds. Liposomes. Encapsulation.

INTRODUÇÃO

O resíduo gerado a partir do processamento de frutas tropicais e subtropicais apresenta-se como um grande problema devido ao crescente aumento de produção. Sabe-se também que o uso futuro do material pode ser limitado considerando a degradação microbiológica (Kobori & Jorge, 2005).

As sementes de maracujá, são resíduos industriais resultantes do processo de esmagamento da fruta para a obtenção do suco e podem ser utilizadas nas indústrias de alimentos e de cosméticos por serem consideradas boas fontes de ácidos graxos essenciais (Zeraik et al., 2010). De acordo com Ferrari et al. (2004), as sementes de maracujá possuem em torno de 25,7% de óleo e teor proteico de 15,62%, sendo também ricas em fibras.

A exposição de compostos como o óleo de maracujá (OM) à ação da luz, calor, umidade e variação de pH reduz o seu tempo de vida útil (Favaro-Trindade et al., 2008). Por isso, a microencapsulação é eficiente para a sua proteção. A microencapsulação é o processo de empacotamento de materiais particulados em cápsulas extremamente pequenas, as quais podem liberar o conteúdo de forma controlada e em condições específicas. As vantagens da microencapsulação do OM estão no aumento da solubilidade em água, redução dos odores indesejados para aplicação final, diminuição da volatilidade e prolongamento da vida útil dos compostos bioativos do óleo (Favaro-Trindade et al., 2008).

Várias técnicas podem ser utilizadas para produção de sistemas nanoparticulados para encapsulação de compostos bioativos e a escolha do método de encapsulação para uma aplicação específica depende de uma série de fatores, como as propriedades físicas e químicas do material encapsulado e das cápsulas, e do tamanho de partículas requerido. Uma boa alternativa para encapsulação do OM são os lipossomas. Os lipossomas são estruturas esféricas, com diâmetros que variam de nanômetros até micrômetros, que em solução aquosa se organizam em uma ou mais bicamadas de fosfolipídios em forma de vesículas (Diniz, 2008). Devido à sua natureza anfifílica, os lipossomas podem incorporar substâncias tanto hidrofílicas quanto hidrofóbicas, sendo que, dependendo da característica do material a ser encapsulado, este pode ficar aprisionado no compartimento aquoso ou inserido entre as bicamadas, respectivamente (Batista et al., 2007).

Para este trabalho, o método escolhido para a produção de lipossomas e encapsulação do óleo é o de injeção de etanol. Essa técnica é muito utilizada devido à facilidade de escalonamento e otimização do processo causado ao longo dos avanços tecnológicos, que fazem da mesma uma técnica consolidada (Zômpero, 2013). O método de injeção de etanol também é considerado um método mais econômico, pois não é necessária a utilização de homogeneizadores de alta pressão ou de microfluidizadores (Toniazzi et al., 2015).

MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados foram: Lecitina de soja com massa molar média de 760 g/mol (Solae Company™, St. Louis, USA); Álcool etílico; Água destilada; e Óleo extraído da semente de maracujá (OM).

Com base e na metodologia escrita Bligh e Dyer (1989), os lipídios das sementes de maracujá foram extraídos utilizando diclorometano-etanol-água. Os ésteres de ácidos graxos foram separados em um cromatógrafo a gás (Shimadzu GC-2010 Plus), equipado com coluna RT-2560 (100 m de comprimento, 0,2 μ m de espessura do filme e 0,25 mm de diâmetro interno), conforme Martin et al. (2008). As injeções foram realizadas em duplicata e volume injetado de 2 μ L (Martin et al., 2008).

Para a produção dos lipossomas e encapsulação do OM, foi empregado o método de injeção de etanol, de acordo com Zômpero (2015). O lipídio é dispersado em etanol em temperatura acima de sua transição de fases em banho ultrassônico, até completa dissolução do mesmo, formando assim a fase orgânica. Foram testadas diferentes concentrações de lipídios: 2,32 mM, 4,64 mM e 6,96 mM e, em condições de temperatura na faixa de 50 a 60 °C. A injeção da fase orgânica em água foi realizada com temperatura controlada considerando uma razão de 10 % v/v de solução orgânica em água (Zômpero, 2015). Na produção de lipossomas com o OM, o óleo era dissolvido no etanol e variou-se de 5 até 17% (m/m) a quantidade de OM em relação à massa de lipídios.

A caracterização das partículas foi realizada considerando o diâmetro hidrodinâmico médio e o índice de polidispersidade das nanopartículas que foram avaliadas por meio da técnica de espalhamento de luz dinâmico (Dynamic Light Scattering – DLS). Após a preparação dos lipossomas contendo o OM, é possível identificar a presença de óleo tanto nos lipossomas (fração encapsulada), como também no meio aquoso (fração não encapsulada).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO DA SEMENTE DE MARACUJÁ

As sementes de maracujá são consideradas boas fontes de ácidos graxos essenciais. O principal ácido graxo encontrado foi o ácido palmítico (16:0), seguido do ácido esteárico (18:0). O ácido oleico (18:1n9), foi o ácido graxo que teve maior destaque entre os ácidos monoinsaturados, estando de acordo com os resultados obtidos por Kobori e Jorge (2005) e Schieber et al. (2001). A ingestão de ácido oleico está relacionada com a redução do nível de baixa densidade lipoproteínas (LDL) e, conseqüentemente, a prevenção de arteriosclerose (Kobori e Jorge, 2005; Schieber et al., 2001).

PRODUÇÃO DE LIPOSSOMAS

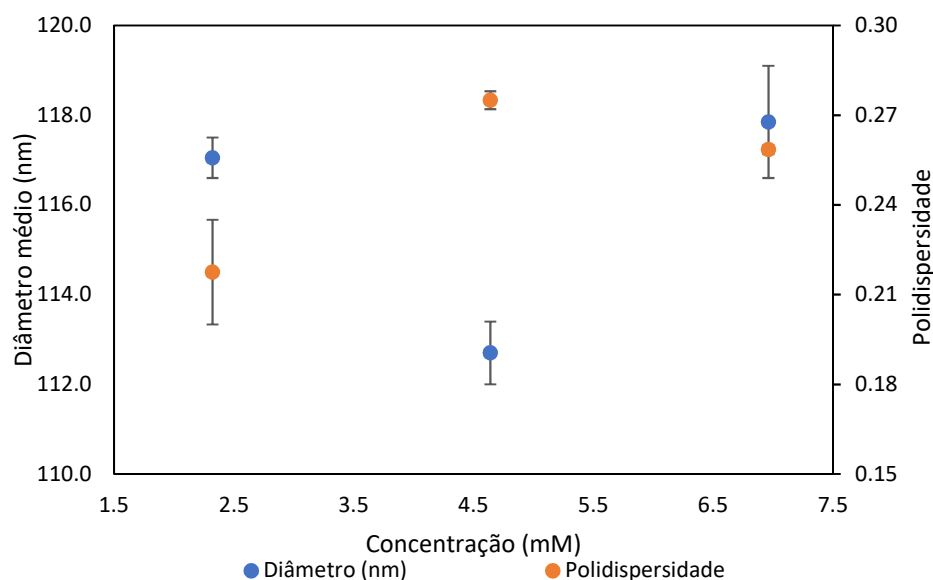
A tabela 1 apresenta os dados de produção e da caracterização de lipossomas em 3 concentrações diferentes anteriormente à incorporação do óleo. A variação de temperatura (T) foi mantida entre 50-60 °C e, devido à limitação de equipamento, sob baixa agitação, conforme descrito por Zômpero (2015). Na Tabela 1 são apresentados os dados dos diâmetros médios das amostras em cada concentração (C) e da polidispersidade (PDI) dos lipossomas com seus respectivos desvios padrão (D.P.), algo que é ilustrado também na figura 1.

Tabela 1 – Caracterização físico-química e condições de produção de lipossomas

C (mM)	T (°C)	Rotação	Diâmetro ± D.P. (nm)	PDI ± D.P.
2,32	50 – 60	Baixa	117,05 ± 0,45	0,218 ± 0,018
4,64	50 – 60	Baixa	112,70 ± 0,70	0,275 ± 0,003
6,96	50 – 60	Baixa	117,85 ± 1,25	0,259 ± 0,002

Fonte: Aatoria Própria (2019).

Figura 1 – Gráfico de Diâmetro Médio e Polidispersidade com Desvio Padrão



Fonte: Aatoria Própria (2019).

Os dados de polidispersidade apresentaram-se interessantes para futuras aplicações, visto que os valores foram baixos e pouco variavam dentre as concentrações estudadas. Estudos posteriores serão realizados para verificar a variação de PDI em maiores concentrações de lipídio.

As análises de tamanho das partículas e polidispersidade nas amostras estudadas foram feitas pela técnica de dispersão dinâmica de luz (do inglês, Dynamic Light Scattering). Essa técnica analisa o movimento browniano determinando o coeficiente de difusão das partículas e o relaciona com o seu tamanho, quanto maior a partícula, mais lento será seu movimento.

ESTUDO DA INCORPORAÇÃO DE OM EM LIPOSSOMAS

Para os testes de encapsulação do óleo variou-se a concentração dos lipídios entre 2,32 até 6,96 mM. Para concentração de óleo a faixa foi de 5 até 17% em termos da massa de lipídio presente. A tabela 2 apresenta as condições de preparo dos lipossomas e encapsulação do óleo, devido à limitação de equipamento a rotação foi mantida baixa e constante, de modo que fosse a mesma para todas as amostras preparadas. Nesta tabela estão dispostos os resultados obtidos dos diâmetros médios das amostras em cada concentração e da polidispersidade dos lipossomas com seus respectivos desvios padrão (D.P.), também é possível

comparar o comportamento dos lipossomas com e sem óleo nas diferentes concentrações estudadas.

Tabela 2 – Condições de encapsulação do óleo e caracterização das partículas

C (mM)	% óleo (m/m)	T (°C)	Rotação	Diâmetro (nm ± D.P.) ^a	PDI ± D.P.
2,32	0	50 – 60	Baixa	131,53 ± 7,56	0,232 ± 0,024
	5	50 – 60	Baixa	141,33 ± 3,03	0,286 ± 0,015
	10	50 – 60	Baixa	135,40 ± 3,38	0,273 ± 0,002
	17	50 – 60	Baixa	137,83 ± 3,65	0,248 ± 0,003
4,64	0	50 – 60	Baixa	134,63 ± 0,26	0,260 ± 0,006
	5	50 – 60	Baixa	158,50 ± 3,81	0,226 ± 0,013
	10	50 – 60	Baixa	154,07 ± 3,52	0,229 ± 0,008
	17	50 – 60	Baixa	163,53 ± 0,48	0,219 ± 0,003
6,96	0	50 – 60	Baixa	147,03 ± 3,13	0,250 ± 0,014
	5	50 – 60	Baixa	160,60 ± 4,41	0,243 ± 0,004
	10	50 – 60	Baixa	152,30 ± 3,06	0,229 ± 0,008
	17	50 – 60	Baixa	181,63 ± 6,25	0,205 ± 0,007

^a Diâmetro médio analisado em número de partículas
Resultado representa média ± D.P., n=3 (experimentos independentes)
Fonte: Autoria Própria (2019).

Diante da Tabela 2, foi possível comprovar que a tendência em termos de diâmetro médio é observar o aumento conforme o aumento de concentração de lipídio e de concentração de óleo (Gómez-Mascaraque et al., 2017). Os diâmetros das partículas foram analisados estatisticamente pelo teste *t-Student* com 95% de confiança e a análise indica que existe diferença significativa da média dos diâmetros apresentados na Tabela 2, o que demonstra possível incorporação do OM aos lipossomas produzidos. Estudos posteriores e complementares de eficiência de encapsulação serão realizados para confirmar os resultados.

CONCLUSÃO

O OM apresenta características importantes e com isso a sua proteção se faz necessária para diversas aplicações. Além disso, um grande diferencial do trabalho é a utilização de um resíduo para a geração de um produto com valor agregado. O sistema escolhido para incorporação do OM possui diversas vantagens conforme mostrado anteriormente e os dados obtidos em termos de tamanho e polidispersidade foram satisfatórios. A partir dos resultados apresentados nesse trabalho, percebe-se que o óleo está sendo incorporado aos lipossomas conforme demonstrado no aumento de tamanho das partículas como era esperado. O próximo passo é a obtenção da eficiência de encapsulação para se concluir qual o melhor percentual (massa/massa) de óleo que deve ser empregado com a maior eficiência no processo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UTFPR pelo auxílio financeiro na forma de bolsa. Agradeço também ao professor Noboru Hioka do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá por nos fornecer livre acesso ao equipamento utilizado nas análises das partículas.

REFERÊNCIAS

BATISTA, C. M.; CARVALHO, C. M. B.; MAGALHÃES, N. S. S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43 n. 2, p. 142-151, abr./jun. 2007.

DINIZ, D. G. A. **Obtenção, caracterização e avaliação da citotoxicidade sobre células neoplásicas da isotretinoína encapsulada em lipossomas e nanocápsulas poliméricas**. 2008. 158 p. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Braz. J. Food Technol.**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 103-112, abr./jun, 2008.

GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; SIPOLI; C. C., LA TORRE, L. LÓPEZ-RUBIO, G. A. Microencapsulation structures based on protein-coated liposomes obtained through electrospraying for the stabilization and improved bioaccessibility of curcumin. **Food chemistry**, v. 233, p. 343-350, out. 2017.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Cien. Agrotec**, v. 29, n. 5, p. 1008 – 1014, 2005.

MARTIN, C. A.; OLIVEIRA, C. C.; VISENTAINER, J. V.; MATSUSHITA, M.; DE SOUZA, N. E. Optimization of the Selectivity of a Cyanopropyl Stationary Phase for the Gas Chromatographic Analysis of Trans Fatty Acids. **Journal Chromatogr. A**, v. 1194, ed. 1, p. 111-117, jun. 2008.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recente developments. **Trends Food Sci Technol**, v. 12, p. 401-413, nov. 2001.

TONIAZZO, T.; GALESKAS, H.; PINHO, S.C. **Produção e caracterização de lipossomas liofilizados encapsulando quercetina**. In: Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados. 37. São Carlos. Anais. UFSCar, São Carlos – SP, 2015.

ZERAIK, M.L.; PEREIRA, C.A.M; ZUIN, V.G; YARIWAKE, J.H. Maracujá: um alimento funcional?. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 459-471, Jun/Jul 2010.

ZÔMPERO, R. H. F. **Desenvolvimento e otimização do método de injeção de etanol para produção de lipossomas contendo β -caroteno visando sua aplicação na indústria de alimentos**. 95 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.