

Encapsulação de extrato de pinhão: otimização e caracterização

Pinhão extract encapsulation: optimization and characterization

RESUMO

Ana Luisa Silva Pepinelli
anaspepinelli@gmail.com
Nome Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, Campo Mourão,
Paraná Brasil

Fernanda Vitória Leimann
fernandaleimann@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná
Brasil

Anielle de Oliveira
ani.028@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná
Brasil

Tamires Barlati Vieira da Silva
tamiresbarlati93@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná
Brasil.

Thaysa Fernandes Moya Moreira
thaysa.moya@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Campo Mourão, Paraná
Brasil

Diversos compostos de origem natural, como os compostos fenólicos presentes no extrato de pinhão (*Araucaria angustifolia* Bertol. Kuntze), apresentam atividades biológicas como por exemplo, atividade antioxidante e atividades de inibição de enzimas como a α -amilase. A encapsulação de tais compostos aumenta a estabilidade dos mesmos e torna possível a aplicação destes em alimentos sem prejudicar suas propriedades sensoriais. O presente trabalho objetivou investigar a eficácia da encapsulação do extrato proveniente da água do cozimento do pinhão por meio da técnica de dispersão sólida, utilizando três polímeros (gelatina, goma arábica e caseinato de sódio). Foram avaliados também a capacidade de retenção da catequina nas partículas quando submetidas à extração com etanol (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência HPLC-DAD), estabilidade e características térmicas (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC), bem como possíveis diferenças entre os encapsulados obtidos devido os diferentes polímeros utilizados com a análise de componentes principais (Principal Component Analysis, PCA). A goma arábica apresentou uma menor capacidade de retenção da catequina, e para obter uma maior estabilidade térmica e interação entre encapsulante/encapsulado foram determinadas as condições experimentais em que o extrato é encapsulado em gelatina e caseinato de sódio utilizando-se o mecanismo de agitação magnética. Desta forma conclui-se que encapsulados com maior estabilidade térmica e retenção de catequina foram obtidos com gelatina e caseinato de sódio, e o mecanismo de agitação magnética, permitindo que estes encapsulados possam ser futuramente aplicados como aditivos alimentares de consumo geral pela população, visando propriedades bioativas.

PALAVRAS-CHAVE: Pinhão. Dispersão sólida. DSC. Encapsulação. PCA.

ABSTRACT

Several naturally occurring compounds such as phenolic compounds present in pine nut extract (*Araucaria angustifolia* bertol, Kuntze), have biological activities such as antioxidant activity and enzyme inhibition activities such as α -amilase. The encapsulation of such compounds increases their stability and makes it possible to apply them to foods without impairing their sensory properties. The present work aimed to investigate the effectiveness of the extract from *Pinhão* seeds cooking water by the solid dispersion technique using three polymers (gelatin, Arabic gum and sodium caseinate). The catechin retention capacity of the particles when subjected to ethanol extraction (HPLC-DAD High Performance Liquid Chromatography), stability and thermal characteristics (*Differential Scanning Calorimetry* DSC) were also evaluated, as well as possible differences between the encapsulates obtained due to different polymers used with Principal Component Analysis (PCA). Arabic gum had a lower catechin retention capacity, and to obtain a higher thermal stability and encapsulate/ encapsulated interaction were determined the experimental conditions in

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.



which the extract is encapsulated in gelatin and sodium caseinate using the magnetic stirring mechanism. Thus, it can be concluded that the encapsulated extracts with higher thermal stability and catechin retention were obtained with gelatin and sodium caseinate, and the magnetic stirring mechanism, allowing these encapsulated extracts to be applied in the future as general food additives for the population, aiming guarantee bioactive properties.

KEYWORDS: Pinhão. Solid dispersion. DSC. Encapsulation. PCA.

INTRODUÇÃO

“O pinhão, semente da *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, é um produto bastante consumido no sul do Brasil, pois, além de seu sabor agradável, possui boas propriedades nutritivas” (DE ARAÚJO, 2010, p. 1). Souza et al. (2014) estudaram a atividade antioxidante de extrato da casca do pinhão encontrando altos níveis de compostos fenólicos no extrato. A microencapsulação é uma técnica de grande aceitação na área de alimentos, cuja utilização visa aumentar a efetividade da ação biológica muitos compostos, por promover uma barreira física entre o componente do núcleo e os outros componentes do produto (PEREIRA, 2018, p. 2). Agentes encapsulantes compõe a cobertura para os encapsulados, e podem ser as gomas, hidrolisados de amidos, celulose, os lipídios, os materiais inorgânicos e as proteínas (BERNARDI, 2010). A escolha do agente encapsulante depende de uma série de fatores, entre eles a não reatividade com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação das partículas e o mecanismo de liberação ideal (FAVARO-TRINDADE, 2008). Esse estudo objetivou investigar a encapsulação do extrato proveniente da água do cozimento do pinhão por meio da técnica de dispersão sólida, usando gelatina, goma arábica e caseinato de sódio como matrizes encapsulantes e avaliando três diferentes mecanismos de agitação para dispersão: magnética, ultrassom e Ultra-turrax. Investigou-se possíveis diferenças na eficiência da encapsulação (com relação à catequina, composto principal presente no extrato) devido aos diferentes mecanismos e encapsulantes empregados com a análise de componentes principais.

MATERIAL E MÉTODOS

O extrato foi preparado conforme descrito por De Freitas et al. (2018) após o cozimento do mesmo (500g/L de água, 2 horas em ebulição). A formulação dos encapsulados é apresentada na Tabela 1. O extrato (50 mL) e o Tween 80 (90 mg, Dinâmica), utilizado como surfactante, foram misturados. Posteriormente, o encapsulante (348 mg) (gelatina (Gelita), caseinato de sódio (Sigma Aldrich), ou goma arábica (Vetec)) foi adicionado à mistura, que foi aquecida a 50 °C por 15 min. Após esta etapa, cada mistura foi levada para a agitação: aplicação de ultrassom com pulso 30 s ligado e 10 s desligado por 15 min, 100% de amplitude (Fischer Scientific, 150 Watts de potência), com agitação magnética (200 rpm, 16h) ou com homogeneização por Ultra-turrax (Ika, T25) a 12.000 rpm por 15 min (KARAVAS et al. 2006; DO PRADO SILVA et al. 2017). Finalmente, as misturas foram congeladas em ultrafreezer (-90 °C) e liofilizadas (Liotop, L101). As amostras foram codificadas de acordo com o tipo de polímero encapsulante (G- gelatina; C – caseinato de sódio; GA – Goma arábica) e tipo de agitação (1- agitação magnética; 2- Ultrassom; 3 – Ultra-turrax). A caracterização térmica das partículas obtidas pelos diferentes tratamentos foi realizada utilizando-se um Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC, Perkin Elmer, 4000) com os mesmos parâmetros utilizados por De Freitas et al. (2018). As estruturas das partículas foram analisadas utilizando um

microscópio óptico (Nikon Eclipse-E200) com magnificação de 100 vezes (software Motic Images Plus 3.0 M.L.). As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) Dionex UltiMate 3000 (Germering, Alemanha). Para a quantificação de catequina liberada das partículas, 400 mg das mesmas foram extraídas com 50mL de etanol, filtradas e o solvente rotaevaporado. Os extratos foram solubilizados em 300 μ L de etanol, filtrados (PTFE hidrofílicos, 0,45 μ m) e injetados (curva de calibração $y = 83,83x - 0,9468$). A análise de componentes principais foi realizada utilizando o software Matlab R2008b (MathWorks Inc., Natick, MA) de acordo com a metodologia descrita por dos Santos et al. (2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentadas as formulações das partículas produzidas. A partir dos resultados obtidos foi possível perceber que quando o mecanismo de agitação utilizado foi o ultrassom, obteve-se uma menor temperatura de fusão para todas as formulações em relação as demais técnicas, isso possivelmente ocorreu pelo fato de que o cisalhamento induzido por cavitação provocou uma maior clivagem das cadeias poliméricas (LEIMANN, 2013). Assim, as partículas obtidas por meio do ultrassom possivelmente apresentaram um menor peso molecular, o que justifica a menor temperatura de fusão observada.

Tabela 1 – Formulações das partículas de extrato de pinhão encapsulado, valores de temperaturas de fusão, suas variações de entalpia (ΔH) e concentração de catequina extraída das partículas.

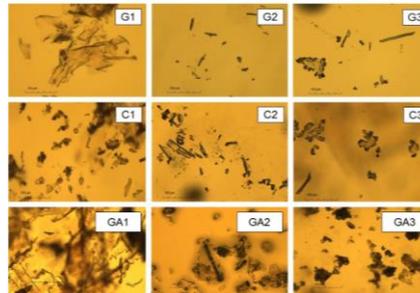
| Partículas | Agitação | ΔH (J/g) | Tm ($^{\circ}C$) | Concentração de catequina (mg _{cat. extraída} /g _{partículas}) |
|------------|--------------|------------------|--------------------|--|
| G1 | Magnética | 132,7 | 80,12 | 7,53 |
| G2 | Ultrassom | 76,9 | 67,77 | 8,84 |
| G3 | Ultra-turrax | 80,0 | 70,11 | 7,65 |
| C1 | Magnética | 79,5 | 77,7 | 4,54 |
| C2 | Ultrassom | 114,9 | 73,69 | 3,53 |
| C3 | Ultra-turrax | 261,0 | 77,40 | 2,35 |
| GA1 | Magnética | 146,7 | 81,12 | 5,10 |
| GA2 | Ultrassom | 101,1 | 77,42 | 4,20 |
| GA3 | Ultra-turrax | 116,9 | 77,43 | 4,60 |

Fonte: Autoria própria.

Em concordância a esses resultados, as formulações submetidas a agitação magnética demonstraram uma maior temperatura de fusão, possivelmente pela menor energia envolvida nesse tipo de agitação, o que por sua vez possivelmente afetou menos a estrutura das cadeias poliméricas. Já as partículas submetidas ao Ultra-turrax, foram as que apresentaram uma temperatura de fusão intermediária, ficando entre a faixa da maior temperatura de fusão (partículas submetidas à agitação magnética) e menor temperatura de fusão (partículas submetidas ao ultrassom). Com relação ao tipo de material encapsulante percebe-se que as proteínas (gelatina e caseinato de sódio) apresentaram maiores valores de temperatura de fusão quando comparados com a goma arábica (carboidrato). Possivelmente, a maior interação entre a compostos fenólicos e proteínas, como a gelatina e o caseinato de sódio é função da ação dos grupos hidrofílicos dos compostos fenólicos que contribuem para a mobilidade das cadeias poliméricas (DE FREITAS, 2018). Essas hipóteses corroboram com os resultados de microscopia,

conforme descrito abaixo. Na Figura 1 são apresentadas as micrografias das diferentes formulações de partículas submetidas aos três mecanismos de agitação.

Figura 1 – Micrografias das partículas de gelatina, caseinato de sódio e goma arábica submetidas a diferentes mecanismos de agitação

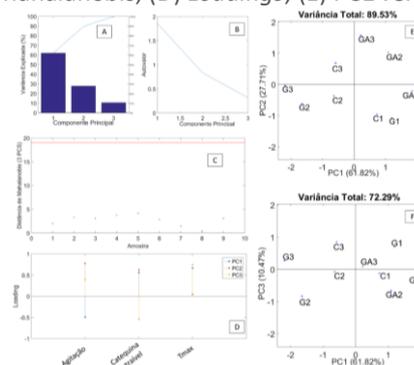


Fonte: A autoria própria

Por meio das micrografias obtidas pode-se perceber que quanto menor a força aplicada na agitação (G1, C1 e GA1), como no caso das partículas submetidas à agitação magnética, mais as partículas ficaram aglomeradas entre si, apresentando uma estrutura amorfa e complexa. Em contrapartida, as partículas submetidas a uma maior força de cisalhamento (ultrassom) e conseqüentemente, a uma maior tensão de cisalhamento, apresentaram estruturas que se assemelham as estruturas cristalinas e as partículas ficaram mais separadas entre si. Pode-se perceber pelas micrografias das partículas submetidas ao Ultra-turrax (G3, C3, GA3), que essas demonstraram tanto morfologia semelhante as partículas obtidas por agitação magnética quanto por ultrassom, exibindo assim, partículas que ficaram mais aglomeradas e partículas que apresentaram uma estrutura cristalina. Esses resultados podem ser relacionados com os resultados das análises térmicas, pois a temperatura de fusão do polímero é função do tamanho molecular do mesmo (DE FREITAS, 2018).

Com o intuito de extrair importantes informações da tabela de dados e expressar as informações como um conjunto de novas variáveis ortogonais, a análise de componentes principais foi aplicada aos resultados da Tabela 1. Esta análise pode revelar observações agrupadas, tendências e *outliers*, bem como descobrir relações entre as observações, as variáveis e entre as próprias variáveis (SANTOS, 2018). Os dados utilizados para a análise de componentes principais estão dispostos na Tabela 1 e os gráfico da variância explicada e do autovalor em relação ao número de componentes principais determinados para os dados em questão estão representados na Figura 3.

Figura 3 – (A) Gráfico da variância explicada; (B) autovalores em função do nº de PCs; (C) Distância de Mahalanobis; (D) Loadings; (E) PC1 versus PC2; (F) PC1 versus PC3.



Fonte: Autoria própria.

Os resultados de concentração de catequina ($\text{mg}_{\text{cat. extraída}}/\text{g}_{\text{partículas}}$) indicam a facilidade com que a catequina é liberada das partículas. Os maiores valores obtidos foram para a goma arábica que possivelmente apresentou uma menor interação entre encapsulante/encapsulado, uma vez que todas as amostras continham a mesma quantidade de extrato (consequentemente de catequina). A gelatina apresentou os menores valores de concentração de catequina, possivelmente por apresentar em maior interação com o extrato, não permitindo sua liberação para o solvente de extração. Analisando as Figuras 3 (A) e (B), percebe-se que é necessário a utilização de três componentes principais para avaliar as semelhanças e diferenças existentes nas amostras, já que 95% da variância explicada é alcançada somente com o uso das três componentes. Ainda na Figura 3 (C) está apresentada a distância de Mahalanobis, é possível perceber que não há a presença de *outliers*.

Ao analisar o gráfico dos *loadings* (Figura 3 (D)) em conjunto com o dos *scores* de PC1 e PC2 (Figuras 3 (E)), percebe-se que a separação mais evidente ocorre pelo mecanismo de agitação utilizado, independentemente do tipo de polímero, isso provavelmente indica que a agitação influencia diretamente nas características finais avaliadas das partículas e consequentemente no efeito da encapsulação. Além do mais, a concentração de catequina é a variável que explica as amostras presentes nos quadrantes positivos da PC1 e PC2 (Figura 3 (E)), ou seja, as partículas em que a goma arábica foi utilizada como encapsulante estão agrupadas e apresentam uma maior concentração de catequina liberada quando comparadas as demais partículas, conforme observado na Tabela 1. Na Figura 3 (F) estão representados os *scores* obtidos para o espaço de projeção das PC1 e PC3. As amostras localizadas no quadrante negativo da PC3 e o positivo da PC1 são explicadas pela concentração de catequina extraída, pode-se observar que as amostras presentes nesses quadrantes apresentaram uma maior concentração de catequina

CONCLUSÃO

A encapsulação do extrato de pinhão com diferentes polímeros (gelatina, caseinato de sódio e goma arábica) foi possível de ser realizada utilizando a técnica de dispersão sólida. A avaliação dos efeitos dos três mecanismos de agitação empregados (agitação magnética, ultrassom e Ultra-turrax) foi realizada e um claro efeito do cisalhamento sobre as cadeias poliméricas, com menores temperaturas de fusão em função do aumento da energia de cisalhamento foi observado. A liberação da catequina presente no extrato de pinhão foi avaliada e a goma arábica apresentou uma menor capacidade de retenção deste composto, quando comparada aos encapsulados em gelatina e caseinato de sódio.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de iniciação científica (PIBIC).

REFERÊNCIAS

DE ARAÚJO, A. L. Estudo preliminar da formação de microcápsulas através da utilização do amido de pinhão. **XXII Salão de iniciação científica**, p. 18-22, 2010. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/46052>. Acesso em: 11 jul.

2019.

SOUZA, M. O. et al. Antioxidant and Antigenotoxic Activities of the Brazilian Pine *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Antioxidants**, v. 3, p. 24-37, 2014.

Disponível em: <file:///C:/Users/olgaz/Downloads/antioxidants-03-00024.pdf>.

Acesso em: 11 jul. 2019.

PEREIRA, K. C. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Braz. J. Food Technol.**, v. 21, 2018. Disponível em:

<http://www.scielo.br/pdf/bjft/v21/1981-6723-bjft-21-e2017083.pdf>. Acesso em:

11 jul. 2018.

BERNARDI, S. **Funcionalidade de própolis livre e microencapsulada em salame tipo italiano**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências)–Escola Superior de Cultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

Disponível em: file:///C:/Users/olgaz/Downloads/Sabrina_Bernardi.pdf. Acesso

em: 11 jul. 2018.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 2, p. 103-112, abr./jun. 2008. Disponível em:

<http://bjft.ital.sp.gov.br/artigos/html/busca/PDF/v11n2318a.pdf>. Acesso em: 11

jul. 2018.

KARAVAS, E. et al. Effect of hydrogen bonding interactions on the release mechanism of felodipine from nanodispersions with polyvinylpyrrolidone.

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 63, n. 2, p. 103–

114, 2006. Disponível em: <https://helios>

eie.ekt.gr/EIE/bitstream/10442/3162/3/European%20Journal%20of%20Pharmaceutics%20and%20Biopharmaceutics%20282006%29.pdf. Acesso em: 1 ago. 2019

DO PRADO SILVA, J.T. et al. Nanoencapsulation of lutein and its effect on mice 's declarative memory. **Materials Science & Engineering C**, v. 76, p. 1005–1011, 2017.

DE FREITAS, T. B. et al. Antioxidants extraction from Pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) coats and application to zein films. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 15, n. July 2017, p. 28–34, 2018. Disponível em:

<https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/17091/1/Antioxidants%20extraction.pdf>. Acesso em: 1 ago. 2019.

SANTOS, C. H. K. et al. Systematic study on the extraction of antioxidants from pinhão (*Araucaria angustifolia* (bertol.) Kuntze) coat. *Food Chemistry*, v. 261, p. 216-223, 2018. Disponível em:

https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/17111/3/Artigo%20Carlos_FC_Correcciones_FVL.pdf Acesso em: 1 ago. 2019.

LEIMANN, F. V. et al. Hydrolysis of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 128, n. 5, p. 3093–3098, 2013.