

Encapsulação de óleo extraído da semente de maracujá utilizando lipossomas

Encapsulation of oil extracted from passion fruit seed using liposomes

RESUMO

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

Rubia Michele Suzuki
rubiamsuzuki@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

Caroline Casagrande Sipoli
carolinesipoli@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

A crescente geração de resíduos de frutas, como a semente de maracujá, decorrentes da produção de sucos tem se tornado um problema. Sabe-se que na semente de maracujá estão presentes ácidos graxos essenciais e outros compostos antioxidantes, sendo interessante realizar a extração desse óleo com o intuito de aplicá-lo em indústrias farmacêuticas ou cosméticas. Quando em exposição, esses compostos têm seu tempo de vida útil reduzido por isso se faz necessário a encapsulação em lipossomas para proteger este produto com alto valor agregado. Tais vesículas lipídicas têm estrutura semelhante à da membrana celular, sendo biocompatíveis com o organismo e possibilitando a liberação controlada. Com os resultados obtidos foi observado que com o aumento da concentração do lipídeo houve uma tendência de aumento no diâmetro médio das partículas e o inverso ocorreu para a polidispersidade, que diminuiu com o aumento da concentração.

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartícula. Concentração. Diâmetro médio. Maracujá.

ABSTRACT

The growing generation of fruit residues, such as passion fruit seed, resulting from the production of juices has becoming a problem. It is known that in the passion fruit seed are present essential fatty acids and other antioxidant compounds, it is interesting to perform the extraction of this oil in order to apply it in pharmaceutical or cosmetic industries. When they are exposed, these compounds have a reduced shelf life, so it is necessary to encapsulate them in liposomes to protect the product with high added value. The lipid vesicles have a structure similar to that of the cell membrane, being biocompatible with the organism and enabling controlled release. With the obtained results it was observed that with the increase of the lipid concentration there was a tendency of increasing in the average diameter of the particles and the opposite occurred for the polydispersity, which decreased with the increase of the concentration.

KEYWORDS: Nanoparticle. Concentration. Average diameter. Passion fruit.

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

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



INTRODUÇÃO

Com o crescente aumento de produção e consumo do suco de maracujá, proveniente do esmagamento da fruta, o resíduo gerado por suas cascas e sementes tem se tornado um problema para essa indústria. Muitos estudos têm reconhecido frutas tropicais e subtropicais como fontes ricas de compostos antioxidantes (ABDENNACER, 2015). As sementes de maracujá são consideradas uma boa fonte de ácidos graxos essenciais (ZERAİK *et al*, 2010) e o óleo extraído a partir delas possui compostos bioativos que são desejáveis para as indústrias de alimentos e de cosméticos. Dessa forma, pode-se garantir um maior aproveitamento desse recurso e agregação de valor econômico ao mesmo, além da geração de menor quantidade de resíduos, o que abrange interesses econômicos, sociais e ambientais.

Compostos como o óleo extraído da semente de maracujá (OM) têm seu tempo de vida útil reduzido, quando expostos à ação do calor, umidade, variação de pH e da luz (FAVARO-TRINDADE *et al*, 2008). Por isso, tem sido estudado e desenvolvido a encapsulação para a proteção desses compostos bioativos. A encapsulação também apresenta vantagens considerando a baixa solubilidade de tais compostos em água e também com o intuito de superar a susceptibilidade e melhorar a estabilidade durante o processamento e também estocagem, a nanoencapsulação tem sido recentemente aplicada na indústria de alimentos e nutracêuticos. Em outras palavras, a encapsulação pode reduzir a perda de atividade dos compostos ativos (HOSSEINI *et al*, 2013; JAMIL *et al*, 2016).

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 núcleo e do tamanho de partículas requerido, este último que pode estar estritamente ligado a aplicação final do produto. Uma boa alternativa para encapsulação do OM são os lipossomas.

Os lipossomas são estruturas esféricas, com diâmetros que variam de nanômetros até micrômetros, em solução aquosa têm-se a formação de uma ou mais bicamadas de fosfolípidios em forma de vesículas (DINIZ, 2008). Devido à sua natureza anfifílica, os lipossomas podem encapsular 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)

A vantagem da incorporação de compostos em lipossomas está na semelhança da estrutura da bicamada lipídica com a membrana celular, deste modo tais vesículas tornam-se biologicamente compatíveis e apresentam-se mais facilmente metabolizáveis pelo organismo. Sendo essas, importantes características para aplicações no transporte de fármacos, na indústria de cosméticos ou de alimentos. Os lipossomas apresentam-se como sistemas úteis para proteção de produtos biologicamente ativos frente à sua inativação ou degradação no organismo (SOUZA, 2018).

Para ser aplicado na indústria farmacêutica, é de extrema importância que se produza concentrações altas de vesículas, sendo assim a técnica de injeção de solventes se destaca (GÓMEZ-MASCARAQUE *et al*, 2017). Neste 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, em que se tem a compreensão dos impactos das variáveis do sistema nas características dos lipossomas e a fenomenologia envolvida (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 (TONIAZZO *et al*, 2015).

As caracterizações das partículas foram realizadas considerando o diâmetro hidrodinâmico médio e o índice de polidispersidade (PDI) das nanopartículas que foram avaliadas por meio da técnica de espalhamento de luz dinâmico (Dynamic Light Scattering – DLS). O diâmetro hidrodinâmico é definido como sendo o diâmetro de uma esfera rígida que difunde com a mesma velocidade da partícula que está sendo examinada pelo espalhamento de luz dinâmico (DIALETACHI, 2017). 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.

O índice de polidispersidade é a razão que correlaciona a variância amostral com o quadrado do diâmetro hidrodinâmico médio das partículas em uma curva de distribuição. Partículas suspensas em um meio líquido nunca estão em estado estacionário, movimentando-se constantemente. Esse movimento, denominado movimento Browniano, ocorre devido à colisão das moléculas do líquido que circundam a partícula. Partículas maiores se movimentam mais lentamente que as menores em uma mesma temperatura (DIALETACHI, 2017).

METODOLOGIA

Para a produção das partículas, foi empregado o método de injeção de etanol, de acordo com Zômpero (2013). O lipídio é disperso 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 temperaturas na faixa de 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, com vazão aproximada de 30 mL/min (ZÔMPERO, 2013). Na produção de lipossomas com óleo, o óleo era dissolvido no etanol e variou-se de 5 até 17% (m/m) a quantidade de óleo em relação à massa de lipídios.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

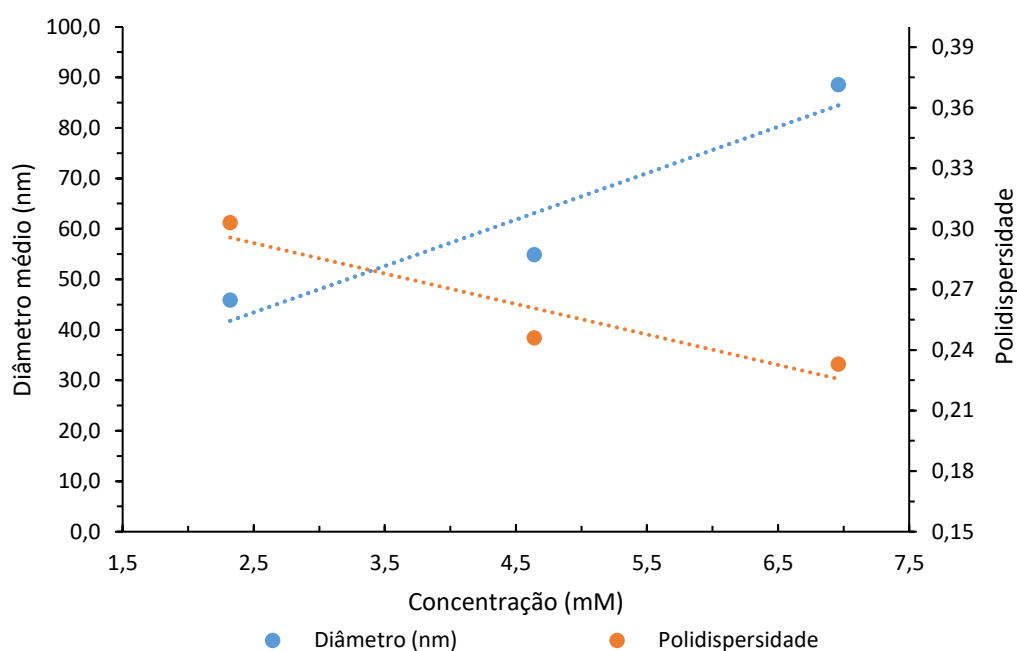
A Tabela 1 apresenta os dados de produção e da caracterização de lipossomas em 3 concentrações diferentes anteriormente à incorporação do óleo. A variação de temperatura (T) foi mantida entre 50-60 °C e, devido à limitação de equipamento, sob baixa agitação, conforme descrito por Zômpero (2015). Na Tabela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

Tabela 1 – Caracterização físico-química da produção de lipossomas

Concentração (mM)	Diâmetro ± DP (nm) ^a	Polidispersidade ± DP
2,32	45,89 ± 16,74	0,303 ± 0,010
4,64	54,89 ± 19,72	0,246 ± 0,004
6,96	88,57 ± 13,13	0,233 ± 0,004

^a Diâmetro médio analisado em número de partículas
 Fonte: Autoria Própria (2020).

Figura 1 – Gráfico de Diâmetro Médio e Polidispersidade



Fonte: Autoria Própria (2020).

O parâmetro de polidispersidade indica como as partículas de uma amostra são semelhantes, quanto menor esse valor em uma análise, mais homogênea será essa amostra. Com o aumento da concentração de lipídeo, observa-se também o aumento do diâmetro médio das partículas e a diminuição da polidispersidade, o que indica que as partículas se organizam de forma mais homogênea quando em maior concentração.

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 lipídeo presente. Para o preparo dos lipossomas e encapsulação do óleo, manteve-se a temperatura na faixa de transição de fase do lipídeo, entre 50 e 60 °C e, devido à limitação de equipamento, a agitação foi mantida baixa e constante, de modo que fosse a mesma para todas as amostras preparadas. Na Tabela 2 estão dispostos os resultados obtidos dos diâmetros médios das amostras em cada concentração e da polidispersidade dos lipossomas com seus respectivos desvios padrão (DP), também é possível comparar o comportamento dos lipossomas com e sem óleo nas diferentes concentrações estudadas.

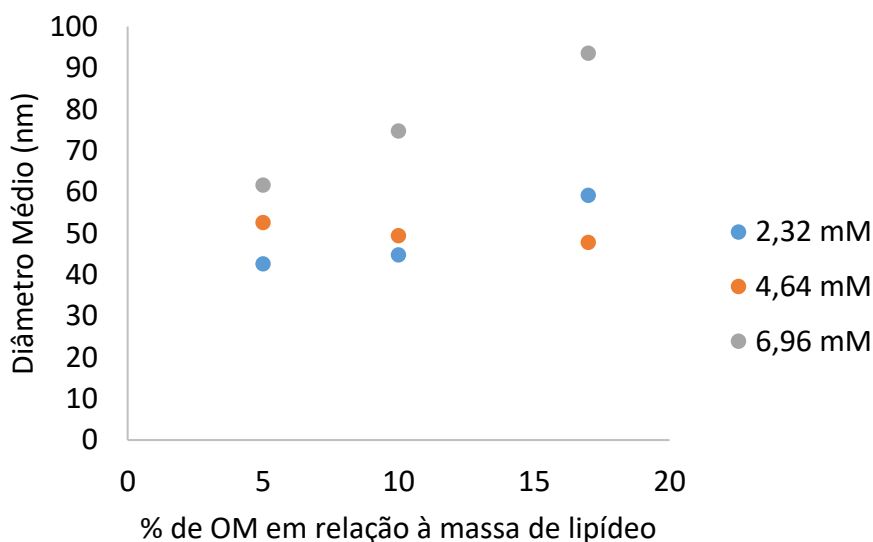
Tabela 2 – Caracterização físico-química dos lipossomas com óleo de maracujá

Concentração (mM)	% de óleo	Diâmetro ± DP (nm) ^a	Polidispersidade ± DP
2,32	0	45,89 ± 16,74	0,303 ± 0,010
	5	42,64 ± 6,26	0,344 ± 0,006
	10	44,80 ± 8,29	0,332 ± 0,018
	17	59,18 ± 5,12	0,266 ± 0,003
4,64	0	54,89 ± 19,72	0,246 ± 0,004
	5	52,65 ± 10,02	0,253 ± 0,008
	10	49,44 ± 5,94	0,202 ± 0,002
	17	47,83 ± 10,82	0,227 ± 0,005
6,96	0	88,57 ± 13,13	0,233 ± 0,004
	5	61,67 ± 7,84	0,224 ± 0,015
	10	74,78 ± 13,96	0,213 ± 0,012
	17	93,55 ± 14,41	0,201 ± 0,013

^a Diâmetro médio analisado em número de partículas
 Resultado representa média ± D.P., n=3 (experimentos independentes)
 Fonte: Autoria Própria (2020)

Diante dos resultados obtidos de diâmetro médio calculado a partir do número de partículas, foi possível comprovar que a tendência em termos de diâmetro médio é observar o aumento conforme o aumento de concentração de lipídeo e de concentração de óleo (GÓMEZ-MASCARAQUE *et al*, 2017). Na Figura 2 é apresentado o comportamento do diâmetro em relação à concentração de lipídeo e à quantidade de óleo.

Figura 2 – Comportamento do diâmetro médio em relação ao número de partículas



Fonte: Autoria Própria (2020)

Com essa figura, observa-se uma tendência de que em concentrações relativamente baixas (2,32 mM) e altas (6,96 mM), o diâmetro médio apresenta o mesmo comportamento linear, conforme se aumenta a concentração de lipídeo,

há o aumento do diâmetro médio, e o oposto ocorre para concentrações médias (4,64 mM), quando se observa que o tamanho das partículas apresenta um leve decréscimo.

Oliveira (2017), utilizando o método de anti-solvente supercrítico (SAS), encapsula óleo da semente de maracujá com o biopolímero PLGA (L-ácido láctico-co-ácido glicólico). Este estudo sugere que o resultado do encapsulamento SAS é melhor a 35°C, uma vez que partículas de menor tamanho e maior eficiência de aprisionamento foram obtidas. Comparativamente, as partículas formadas tiveram uma variação de tamanho entre 721 a 1498 nm (Oliveira, 2017), valores que estão bem acima dos que foram obtidos nesse trabalho.

Os dados da Tabela 2 foram analisados estatisticamente mediante o teste t-student utilizando-se os diâmetros médios calculados a partir do número de partículas em uma amostra e uma das comparações feitas, em cada caso, é mostrada no Quadro 1.

Quadro 1 – Teste t realizado analisando as amostras em relação ao número de partículas

Parâmetros	2,32 mM	4,64 mM
Média	59,1833	47,8333
Variância	39,2521	175,6585
Observações	3	3
Hipótese da Diferença de Média	0	
GL	4	
Stat t	1,34099	
P(T<=t) bi-caudal	0,25100	
t crítico bi-caudal	2,131847	

Fonte: Autoria própria (2020).

Uma forma de concluir sobre o teste t é observar o valor do t crítico (tabelado), no caso 2,131847, que corresponde ao valor bicaudal tabelado com 10% de significância e 4 graus de liberdade (GL). Se o valor calculado (Stat t) estiver na região de rejeição, ou seja, se o valor calculado for maior em módulo que o valor tabelado, conclui-se que existe diferença estatisticamente significativa, entre as variáveis. Para os diâmetros médios analisados em termo de número de partículas, não é possível afirmar que houve diferença significativa entre os diâmetros médios das amostras.

CONCLUSÃO

O estudo da utilização do óleo da semente de maracujá na indústria farmacêutica é promissor e a nanoencapsulação em lipossomas para proteção e transporte deste composto tem potencial de aplicação, já que as cápsulas têm estrutura semelhante à da membrana celular, sendo biocompatíveis com o organismo e possibilitando a liberação controlada.

Com os resultados obtidos foi observado que com o aumento da concentração do lipídeo houve uma tendência de aumento no diâmetro médio das partículas e o inverso ocorreu para a polidispersidade, que diminuiu com o aumento da concentração, o que é satisfatório, pois isso indica que com o aumento do diâmetro médio, possivelmente aumenta a quantidade de óleo encapsulado e também aumenta a homogeneidade das partículas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UTFPR pelo auxílio financeiro individual na forma de bolsa e ao conceder espaço e materiais para realização desta pesquisa. Agradeço também à Universidade Estadual de Campinas por contribuir nas análises das partículas.

REFERÊNCIAS

ABDENNACER, B. et al. Determination of phytochemicals and antioxidant activity of methanol extracts obtained from the fruit and leaves of Tunisian *Lycium intricatum* Boiss. **Food Chemistry**, v. 174, p. 577–584, 2015.

BATISTA, CINTHIA MEIRELES; CARVALHO, CÍCERO MORAES BARROS; MAGALHÃES, NEREIDE STELA SANTOS. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 2, p. 167-179, 2007.

DIALETACHI, Eva Lemmi Giovanini. Espalhamento dinâmico de luz em sistemas coloidais diluídos. 2017. Dissertação (Mestrado em Física) - Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

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.

HOSSEINI, S. F. et al. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 50–56, 2013.

JAMIL, B. et al. Encapsulation of Cardamom Essential Oil in Chitosan Nanocomposites: In-vitro Efficacy on Antibiotic-Resistant Bacterial Pathogens and Cytotoxicity Studies. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1580, 2016.

OLIVEIRA, D. A., MEZZOMO, N., GOMES, C., FERREIRA, S. R. S. Encapsulation of passion fruit seed oil by means of supercritical antisolvent process. **The Journal of Supercritical Fluids**. 2017.

SOUZA, W. A. **Métodos de preparação e caracterização de sistemas fármaco-HP β CD-lipossomas furtivos**. 43p. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2018.

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. et al. Hybrid encapsulation structures based on β -carotene-loaded nanoliposomes within electrospun fibers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 134, p. 475–482, 2015.

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.