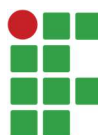




JEPEX
8ª Jornada de Ensino,
Pesquisa e Extensão
08 e 09 de outubro de 2019



INSTITUTO FEDERAL
Rio Grande do Sul
Campus Erechim

AValiação DA ESTABILIDADE DE SISTEMAS DE ENCAPSULAMENTO DE LICOPENO

Stability evaluation of lycopene encapsulation systems

POLONI, Carine Aparecida. Graduanda; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, poloniacarine@gmail.com
DOS SANTOS, Priscilla Pereira. Dra.; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, priscilla.santos@erechim.ifrs.edu.br

Resumo: O licopeno é uma molécula apolar que apresenta muitas insaturações em sua estrutura e, por isso apresenta alto potencial antioxidante. No entanto, o licopeno é instável a luz, oxigênio e calor, o que torna difícil a sua aplicação pela indústria de alimentos. Assim, o objetivo deste trabalho foi aumentar a estabilidade e aplicabilidade deste composto, por meio de sistemas de encapsulamento. As cápsulas e as emulsões foram elaboradas sob agitação, com injeção de uma fase orgânica em uma fase aquosa. Os sistemas foram armazenados em temperatura ambiente (25°C) e analisados quanto ao pH e aos parâmetros de cor. Foi possível observar que após 63 dias de estocagem a 25°C, ambos os sistemas apresentaram degradação do composto. No entanto, a degradação foi mais evidente na emulsão. Esses resultados indicam que as cápsulas são mais eficientes na proteção do licopeno quando analisadas nas mesmas condições de temperatura e estocagem que as emulsões.

Palavras chave: Licopeno. Antioxidante. Estabilidade. Lipossolúvel. Encapsulamento.

Abstract: Lycopene is an apolar molecule that has many unsaturations in its structure and therefore has a high antioxidant potential. However, lycopene is unstable in light, oxygen, and heat, making it difficult for the food industry to apply. Thus, the objective of this work was to increase the stability and applicability of lycopene through encapsulation systems. Capsules and emulsions were produced by stirring, with an injection of an organic phase into an aqueous phase. The systems were stored at room temperature (25 ° C) and analyzed for pH and color parameters. It was observed that after 63 days of storage at 25 ° C, both systems presented compound degradation. However, degradation was most evident in the emulsion. These results indicate that capsules are more efficient in protecting lycopene when analyzed under the same temperature and storage conditions as emulsions.

Keywords: Lycopene. Antioxidant. Stability. Fat soluble. Encapsulation.

1 INTRODUÇÃO

Na atualidade há grande procura por compostos benéficos a saúde, os quais proporcionem prevenção a doenças crônicas não transmissíveis (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). Neste contexto, são encontrados os compostos bioativos, que atuam como sequestrantes de espécies reativas, e deste modo auxiliam no melhor funcionamento do organismo (ZAKYNTHINOS; VARZAKAS, 2016). Entre os compostos

bioativos mais estudados pode ser citado o licopeno, molécula de caráter apolar pertencente ao grupo dos carotenoides e composta por 11 insaturações conjugadas e duas insaturações não conjugadas (SHI; LE MAGUER, 2000), o que confere a molécula alto potencial antioxidante. No entanto, estas insaturações apresentadas na estrutura do licopeno também o torna altamente instável, susceptível à isomerização e oxidação durante o processamento e armazenamento, e altamente sensível a luz e calor (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010), dificultando a sua aplicação pela indústria de alimentos.

Neste contexto, uma maneira de aumentar a estabilidade do composto e sua área de aplicação pela indústria é o uso de sistemas de encapsulamento. O encapsulamento tem como principal função proteger compostos que são susceptíveis a fatores como luz, oxigênio e calor durante a estocagem (PERUZZO, 2014). Os tipos mais empregados são o nanoencapsulamento, o microencapsulamento e a emulsão.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver sistemas de encapsulamento que conferissem maior estabilidade ao licopeno, bem como avaliar seu comportamento ao longo do período de estocagem. Os sistemas de encapsulamento utilizados neste trabalho foram elaborados com a injeção da fase orgânica (contendo cristais de licopeno purificado) sobre a fase aquosa, sendo mantida agitação constante. As amostras foram armazenadas em frasco âmbar e temperatura ambiente (25°C) e avaliadas quanto a estabilidade (parâmetros de cor L, a* e b*) e pH durante 63 dias de estocagem.

O presente artigo divide-se em Fundamentação Teórica, onde serão abordados os aspectos mais importantes sobre os compostos bioativos, em especial o licopeno. Também será discutido a importância do avanço dos sistemas de encapsulamento e como eles funcionam. Posteriormente tem-se a Metodologia, que mostrará como foram feitos os experimentos propostos, seguida pelos Resultados, onde serão apresentados e discutidos os dados obtidos com os métodos usados para obtenção, cristalização e encapsulamento do licopeno. Por último, as Considerações Finais, que demonstram quais foram as conclusões observadas do decorrer da elaboração e avaliação das amostras.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Carotenoides

Existe uma grande busca por alimentos que auxiliem na obtenção de uma alimentação mais saudável, o que impacta diretamente na saúde da população. Nestes alimentos podem ser encontradas substâncias benéficas ao organismo, que são conhecidos como compostos bioativos (HASLER, 2000). Os compostos bioativos são substâncias químicas sintetizadas naturalmente por diferentes espécies de organismos vivos.

(ZAKYNTHINOS; VARZAKAS, 2016). Alguns destes compostos vêm se destacando pelo seu alto poder de desativação de radicais livres e por sua capacidade de colorir os alimentos, sendo um deles os carotenoides.

Os carotenoides são substâncias formadas por meio de reações que ocorrem na clorofila dos vegetais. Durante o processo de amadurecimento dos frutos ocorre a degradação da clorofila, resultando no desmascaramento e síntese de carotenoides (ESKIN; SHAHIDI, 2015).

Os carotenoides são compostos constituídos por unidades de isopreno ligados cabeça-cauda, o que resulta em uma estrutura de duplas ligações conjugadas. Podem ser classificados em carotenos (hidrocarbonetos) e xantofilas (derivados oxidados), sendo comumente esterificados. Como principal exemplo de caroteno pode ser citado o licopeno, encontrado abundantemente no tomate (ESKIN; SHAHIDI, 2015), objeto de estudo deste trabalho.

2.1.1 Licopeno

O licopeno é um composto lipossolúvel, constituído por onze ligações duplas conjugadas e duas ligações duplas não conjugadas, sendo considerado o carotenoide com maior capacidade de desativação do oxigênio singlete, o que é consequência de sua alta reatividade ocasionada por sua estrutura química (SHI; LE MAGUER, 2000).

O tomate é uma das maiores fontes de licopeno, onde o composto compreende cerca de 80 a 90% dos pigmentos do fruto maduro, majoritariamente na casca (SHI; MAGUER, 2000). Além disso, cerca de 80% do licopeno alimentar é encontrado no tomate e em seus derivados, todavia a sua biodisponibilidade é baixa, sendo aumentada com processos térmicos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

O licopeno tem recebido grande atenção nos últimos anos com relação aos seus benefícios fisiológicos, devido à sua elevada capacidade de desativar espécies, tendo atuação como antioxidante em fases orgânicas, bloqueando radicais livres que prejudicam a membrana proteica (CHISTÉ *et al.*, 2014). A quantidade elevada de duplas ligações apresentadas na estrutura do licopeno o torna susceptível à isomerização e oxidação durante o processamento e armazenamento, desencadeando na degradação da molécula com posterior perda de cor e atividade biológica (PELIS; RONA; MATIOLI, 2013). Além do oxigênio, o licopeno também é altamente sensível a luz e calor (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010), o que implica na procura de métodos que aumentem sua estabilidade.

2.2 Sistemas de encapsulamento

O encapsulamento de substâncias vem ganhando mais destaque quando se fala em alimentos (BOUWMEESTER *et al.*, 2009) e tem como principal função proteger compostos

que são susceptíveis a fatores como luz, oxigênio e calor durante a estocagem (PERUZZO, 2014). Os sistemas de encapsulamento mais empregados são o nanoencapsulamento, o microencapsulamento e a emulsão.

O microencapsulamento e nanoencapsulamento consistem em partículas micrométricas e nanométricas, respectivamente, que englobam substâncias com intuito de protegê-las, aumentando sua estabilidade e vida útil durante o armazenamento. Além disso, promovem liberação gradativa dos compostos e possibilitam a aplicação de diversas substâncias em matrizes aquosas (LETCHFORD; BURT, 2007; QUINTANILLA-CARVAJAL *et al.*, 2010).

Diferente dos sistemas acima citados, a emulsão consiste em uma dispersão, ou seja, líquidos imiscíveis ou parcialmente miscíveis se encontram firmemente dispersos um no outro, como gotículas muito pequenas. São formadas por meio de ação mecânica, agitação, por exemplo, proporcionando sistemas de estabilidade intermediária, que pode ser aumentada com a utilização de agentes emulsificantes (PERUZZO, 2014).

Os compostos encapsulados e emulsionados podem ser melhor protegidos da degradação, com aumento da estabilidade e solubilidade, e deste modo, aumentando seu leque de aplicação (LETCHFORD; BURT, 2007).

3 METODOLOGIA

3.1 Extração de licopeno e obtenção dos cristais

O processo de extração se deu pela mistura de tomate maduro (40g) e acetato de etila (60mL), que permaneceu em agitação e ao abrigo de luz por uma hora. Posteriormente o extrato foi levado a um rotaevaporador para a retirada do solvente. Logo em seguida, em banho de gelo, por meio da adição de diclorometano (2mL) e etanol gelado foram obtidos os cristais de licopeno, que permaneceram no congelador por 24 horas. Depois os cristais foram secos e voltaram ao congelador para armazenamento.

3.2 Obtenção das cápsulas e emulsão de licopeno

As cápsulas de licopeno foram obtidas por meio da mistura de uma fase aquosa (78 mg de Polissorbato 80 e 33mL de água) e uma fase oleosa (100mg de Poli(caprolactona), 160mg de triacilgliceróis de cadeia média, 38mg monoesterato de sorbitano, 24mL de acetona, 3mL de etanol e cristais de licopeno). Os componentes da fase orgânica foram gotejados na fase aquosa, em agitação, mantendo-a por mais 15 minutos após o término da mistura. Em seguida o sistema de encapsulamento foi levado a um evaporador rotatório para a eliminação do etanol e da acetona. As emulsões foram obtidas da mesma maneira

que as cápsulas, com exceção do uso do polímero (Poli (caprolactona)). Ambas as formulações foram armazenadas em frascos âmbar em temperatura ambiente (25°C).

3.3 Caracterização e avaliação da estabilidade das cápsulas e emulsões de licopeno

As formulações foram analisadas imediatamente após a preparação para os parâmetros pH e análise colorimétrica. As amostras permaneceram em condição ambiente (25±1°C) em vidros âmbar para a avaliação durante o armazenamento. O pH de todas as formulações foi medido a 25°C por meio de um potenciômetro e as medições de cor foram realizadas utilizando um colorímetro portátil (Konica Minolta modelo CR 400). Os parâmetros colorimétricos foram obtidos de acordo com a Comissão Internationale de l'Eclairage (Sistema CIELAB) e foram determinados os valores de L* (luminosidade), e das coordenadas a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul).

4 RESULTADOS

4.1 Extração de licopeno e obtenção dos cristais

A extração de licopeno proporcionou um extrato de cor laranja, contendo em média 2,57mg do composto. Os cristais obtidos por meio do extrato apresentaram forte coloração alaranjada, tendendo para o vermelho, com grau de pureza de 97,83%. Resultados similares foram encontrados por Nunes e Mercadante (2004), que obtiveram cristais com pureza de 98%, utilizando a mesma metodologia deste trabalho.

4.2 Obtenção das cápsulas e emulsão de licopeno

As cápsulas e emulsões de licopeno apresentaram estabilidade aparente, ou seja, sem separação de fase, e aparência leitosa com coloração alaranjada o que se justifica pela mistura de fases (O/A). Além disso, o polímero presente nas cápsulas acentua a turbidez das formulações, dado comprovado nas análises de cor, em especial com relação ao parâmetro L, como pode ser observado na Tabela 1.

4.3 Caracterização e avaliação da estabilidade das cápsulas e emulsões de licopeno

Quanto à caracterização e estabilidade, foram analisados os parâmetros de cor e pH dos diferentes sistemas, cápsulas e emulsão. Os parâmetros de cor L, a* e b* estão relacionados à luminosidade, componente vermelho-verde e componente amarelo-azul, respectivamente. Os valores encontrados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1- Influência do tempo de armazenamento em relação aos parâmetros de cor e pH em diferentes tratamentos feitos com licopeno acondicionados à 25°C.

Temperatura de 25°C		
Parâmetro L		
Tempo	Emulsão	Cápsula
0	74,53±0,14 Ea	72,45±0,44Eb
7	77,99±0,63 Da	75,56±0,4Db
21	80,17±0,55 Ca	77,28±0,3Cb
28	80,84±0,44 BCa	78,05±0,71BCb
42	81,64±0,29 ABa	79,43±0,88ABb
63	82,37±0,15 Aa	80,83±1,51Ab
Parâmetro a*		
Tempo	Emulsão	Cápsula
0	6,53±0,58 Ab	11,31±1,36 Aa
7	-2,19±1,48 Bb	3,88±1,56 Ba
21	-6,01±1,03 Cb	0,52±0,09 Ca
28	-7,00±0,90 Cb	-0,97±0,6 Ca
42	-7,88±0,20 Cb	-3,95±1,16 Da
63	-7,70±1,18 Cb	-5,39±1,66 Da
Parâmetro b*		
Tempo	Emulsão	Cápsula
0	48,69±0,02 Ab	50,72±0,75 Aa
7	40,98±1,40 Bb	47,23±1,13 Ba
21	33,22±1,90 Cb	42,24±0,25 Ca
28	29,75±3,16 CDb	40,24±0,21 Da
42	24,92±3,26 DEb	35,15±0,04 Ea
63	20,56±2,41 Eb	30,43±0,25 Fa
pH		
Tempo	Emulsão	Cápsula
0	4,04±0,17 Aa	3,98±0,14 CDa
7	4,10±0,06 Aa	4,09±0,01 ACa
21	4,15±0,01 Aa	4,06±0,01 BCDB
28	4,14±0,14 Aa	4,20±0,11 ABa
42	4,14±0,08 Aa	4,21±0,08 Aa
63	4,01±0,13 Aa	3,90±0,01 Da

**Letras maiúsculas correspondem a diferença em relação ao tempo de armazenamento; letras minúsculas representam a diferença entre os tratamentos

Fonte: Elaborado pela autora

É possível observar que no tempo 0 todos os critérios de cor demonstraram diferença significativa entre os sistemas. O pH da emulsão e da cápsula não apresentaram diferença significativa ao longo do período de armazenamento. No entanto, os valores para cápsula deveriam ter variado no decorrer dos dias, devido a degradação do polímero (KISHORE *et al.*, 2011). Dos Santos *et al.* (2015), avaliaram nanocápsulas de licopeno obtidas com o mesmo polímero e observaram esta redução de pH nas cápsulas.

Com relação aos parâmetros de cor, inicialmente a emulsão apresentou alta luminosidade e tons vermelhos e amarelos, com L=74,53±0,14; a*=6,53±0,58; b*=48,69±0,02. Com o passar dos dias, o licopeno apresentou acentuada degradação ao final de 63 dias de estocagem, resultando em valores de L=82,37±0,15; a*=-7,70±1,18 e b*=20,56±2,41. Semelhantemente, as cápsulas deterioraram no decorrer do

armazenamento, todavia, essa degradação foi significativamente menor que a observada nas emulsões. Ao final de 63 dias de estocagem, as emulsões apresentaram maior degradação que as cápsulas.

Os resultados encontrados por Nunes e Mercadante (2004), em licopeno livre extraído de tomate, para os parâmetros de cor no tempo zero foram $L=37,1\pm 0,4$; $a^*=20,3\pm 0,4$ e $b^*=16,1\pm 0,7$ e apresentam diferenças se comparado ao licopeno encapsulado. Percebe-se que no licopeno encapsulado há maior luminosidade e vermelho mais claro, com maior intensidade no amarelo, o que é resultado da mistura de fases e presença de polímero, que deixa o meio turvo. Nas emulsões também ocorre diferença se comparado aos valores encontrados por Nunes e Mercadante (2004).

Dos Santos *et al.* (2015), no trabalho sobre encapsulamento de licopeno, encontraram $L=54,22\pm 2,33$; $a^*=14,16\pm 0,28$ e $b^*=41,06\pm 1,93$ para o composto encapsulado. Esses valores indicam menor luminosidade e cor vermelha e amarela mais acentuadas se comparado com resultados os encontrados neste trabalho, o que pode estar relacionado com a quantidade de licopeno adicionado ao sistema. No entanto, os autores tiveram resultados que demonstram alterações nos parâmetros de cor quando ocorre o encapsulamento do licopeno.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos estudos e experimentos realizados ao longo do trabalho, foi possível perceber a influência dos diferentes tipos de encapsulamento utilizados na estabilidade do licopeno. Além disso, nota-se que os sistemas de encapsulamento podem ser usados como métodos que visam aumentar a estabilidade, e conseqüentemente a vida útil do composto, uma vez que o licopeno a temperatura ambiente é rapidamente degradado por ação da luz, calor e oxigênio, enquanto que nos sistemas aqui apresentados o composto se mostrou presente após 63 dias em temperatura ambiente. Também deve ser levado em consideração que as cápsulas proporcionaram maior proteção ao licopeno, se comparado à emulsão nas mesmas condições de estocagem e temperatura. Deste modo, acredita-se que o encapsulamento pode oferecer um potencial de expansão do uso do licopeno em processos industriais, melhorando a estabilidade e solubilidade aparente do composto em diferentes alimentos.

6 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica (PROBIC-FAPERGS) e ao IFRS – *Campus* Erechim pela estrutura para realização dos experimentos.

7 REFERÊNCIAS

BOUWMEESTER, H. et al. Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 53, n. 1, p. 52-62, 2009.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos**- 4° ed – Porto Alegre: Artmed, 2010.

CHISTÉ, R. C. et al. Carotenoids inhibit lipid peroxidation and hemoglobin oxidation, but not the depletion of glutathione induced by ROS in human erythrocytes. **Life Sciences**, v. 99, n. 1–2, p. 52-60, 3// 2014. ISSN 0024-3205. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320514001611> >.

DOS SANTOS, P. P. et al. Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. **Journal of Nanoparticle Research**, v.17,n.2,p.107,2015.

ESKIN, M.; SHAHIDI, F. **Bioquímica de Alimentos**. Elsevier Brasil, 2015.

HASLER, C.M. The changing face of functional foods. **Journal of the American College of Nutrition**., v.19, n.5, p.499S-506S, 2000.

KISHORE, R. S. et al. The degradation of polysorbates 20 and 80 and its potential impact on the stability of biotherapeutics. **Pharmaceutical research**, v. 28, n. 5, p. 1194-1210, 2011.

LETCHFORD, K.; BURT, H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, n. 3, p. 259-269, 3// 2007.

NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Obtenção de cristais de licopeno a partir de descarte de tomate. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 24, n. 3, p. 440-447, 2004-09 2004. Disponível em: < www.scielo.br/pdf/cta/v24n3/21940.pdf >.

PELIS, F. M.; RONA, M. S. S.; MATIOLI, G. O Licopeno e suas contribuições na prevenção de doenças. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v. 11, n. 3, p. 5-11, 2013.

PERUZZO, L.C. **Extração, purificação, identificação e encapsulação de compostos bioativos provenientes do resíduo do processamento da indústria vinícola**. 2014. 231 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, UFSC, 2014.

QUINTANILLA-CARVAJAL, M. X. et al. Nanoencapsulation: A New Trend in Food Engineering Processing. **Food Engineering Reviews**, v. 2, n. 1, p. 39-50, 3// 2010.

SHI, J.; LE MAGUER, M. Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 20, n. 4, p. 293-334, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation**. World Health Organization, 2003.

ZAKYNTHINOS, G.; VARZAKAS, T. Carotenoids: From Plants to Food Industry. **Current Research in Nutrition and Food Science**, v. 4, n. Special Issue Carotenoid, 2016.