

# MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE JAMBO: PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E POTENCIAL DE APLICAÇÃO

A. L. M. L. da MATA<sup>1</sup>, J. L. MAIA<sup>1</sup> e B. L. de A. COSTA<sup>1</sup>, C. G. de MEDEIROS<sup>1</sup> B.P. da COSTA NETO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Engenharia Química  
E-mail para contato: juleaom@hotmail.com

**RESUMO** – A microencapsulação tem sido usada na indústria de alimentos para fornecer materiais estáveis. As antocianinas possuem alto potencial antioxidante, entretanto são fotodegradáveis. Os desafios são direcionados à busca de técnicas que façam com que este potencial permaneça ativo e biodisponível. Este trabalho tem como objetivo propor a técnica de polimerização interfacial para encapsular as antocianinas presentes no extrato do jambo vermelho. Um planejamento experimental do tipo  $2^k$  fatorial foi realizado a fim de definir as melhores condições do processo. Foram definidas as condições ideais de temperatura e agitação do sistema. As micropartículas obtidas foram caracterizadas quanto ao tamanho, morfologia e carga superficial. Os resultados obtidos, tal como diâmetro de partícula de 5,94 micrômetros e potencial Zeta de +7,03 mV, mostraram que a técnica utilizada para obtenção destas micropartículas foi satisfatória e possui potencial para aplicação na indústria de alimentos.

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas existe uma atenção direcionada para alimentos com propriedades funcionais importantes, o que tem impulsionado a indústria alimentícia a produzir alimentos com esse potencial. Entre os compostos com propriedades funcionais, encontram-se os antioxidantes, dentre eles as antocianinas (pigmentos naturais, parcialmente hidrossolúveis), as quais ajudam a proteger o organismo humano contra o estresse oxidativo que está associado a um aumento da incidência de câncer e outras doenças degenerativas (Scalbert & Williamson, 2000 apud Moreira, 2007). As antocianinas estão presentes em vários produtos hortifrutigranjeiros. O jambo, objeto deste trabalho, é um deles. Apesar disso, seu uso como aditivo alimentício ainda está restrito em função de limitações como sazonalidade e a baixa estabilidade apresentada em algumas condições de processamento como temperatura, luz e oxigênio (Stringheta, 1991).

Os desafios estão, portanto, direcionados na busca de técnicas que façam com que este potencial antioxidante das antocianinas permaneça ativo e biodisponível não só após processamento e armazenamento, mas, também, que possa ser usado como veículo para a liberação de bioativos e micronutrientes em condições e níveis adequados.

Dentro deste contexto, situam-se as técnicas de microencapsulação. Na indústria de alimentos, a microencapsulação é utilizada para fornecer ingredientes líquidos e sólidos estáveis, para preservar odores, fragrâncias, compostos bioativos, proteger os ingredientes encapsulados contra oxidação química ou de fatores do ambiente, dentre outros. Em algumas técnicas, a cápsula pode ser projetada para liberar lentamente o produto com o passar do tempo ou até que determinada condição físico-química seja alcançada (Thies, 1995). Por isso, as microcápsulas possuem um forte valor agregado com propriedades variadas e difíceis de controlar todas ao mesmo tempo.

A polimerização interfacial, técnica utilizada neste trabalho, é um método químico de microencapsulação utilizado para encapsular substâncias que têm em sua molécula uma parte hidrofílica e uma parte hidrofóbica, caso das antocianinas. Ela é formada por uma etapa de emulsificação seguida de uma etapa reativa. As reações ocorrem normalmente à temperatura ambiente.

Estudos anteriores mostraram que o extrato do corante do jambo (fruto de casca avermelhada e polpa branca abundante na região nordeste, contendo uma única grande semente de formato esférico em seu interior) possui uma atividade antioxidante superior a 85% e os resultados obtidos para a composição de fenólicos totais na casca indicam a possibilidade de sua utilização como fonte de antioxidantes naturais. (Azevedo, 2010).

Este trabalho teve como objetivo principal propor uma técnica de microencapsulação para preservar e armazenar por mais tempo as antocianinas presentes no extrato do corante do jambo vermelho.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Materiais**

Quitosana micronizada de baixa massa molar (material de parede), - Sigma-Aldrich; Tween 80 – Oxiteno, Span 80 - Sigma-Aldrich, Isocianato (MDI) (agente reticulante) - Sigma-Aldrich; óleo de soja comercial, extrato do corante do jambo, antocianina *Cyanidin-3-glucoside*, Sigma- Aldrich, membranas de diálise, tampão fosfato padronizado - Sigma-Aldrich, ácido acético glacial, acetona, etanol, água destilada.

### **2.2 Métodos**

2.2.1 Preparação das microcápsulas: A preparação das microcápsulas envolve duas etapas: a) Obtenção da microcápsula em “branco” ou “vazia”; b) Inserção do ativo dentro da microcápsula obtida. O método empregado para a obtenção das microcápsulas foi a polimerização interfacial precedida por uma etapa de emulsificação e evaporação do solvente. O processo foi realizado em batelada sob agitação contínua e com controle da temperatura. Todos os experimentos foram feitos em triplicata. A polimerização interfacial utiliza uma solução aquosa e outra orgânica preparadas isoladamente e, em seguida, misturadas com agitação mecânica intensa para garantir a

formação das microcápsulas por meio da existência de uma fase hidrofílica (solução aquosa) e uma hidrofóbica (solução orgânica). Após a obtenção desta microcápsula vazia, a fase seguinte do processo consiste em inserir o ativo no interior da mesma e caracterizá-la.

O planejamento experimental utilizado neste trabalho foi do tipo  $2^k$ , onde K é o número de variáveis independentes: quantidade de quitosana, quantidade de óleo e quantidade de isocianato (MDI). O diâmetro da partícula foi escolhido como variável resposta por ser um dos fatores mais relevantes quando se quer delinear o uso em alimentos.

Com base no planejamento experimental proposto, foram realizados 8 ensaios com três repetições no ponto central (ensaios 9, 10 e 11). As variáveis independentes, em dois níveis, foram arranjadas segundo as 8 combinações previstas pelo planejamento experimental e no nível médio correspondente ao ponto central. A matriz experimental baseada no planejamento fatorial encontra-se ilustrada na Tabela 1.

**Tabela 1. - Planejamento experimental  $2^3$  – matriz experimental e variável resposta**

Ensaio	Quitosana (g)	Óleo (mL)	Isocianato (g)	Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )
1	-1	-1	-1	4,15
2	-1	-1	1	52,06
3	-1	1	-1	150,40
4	-1	1	1	19,66
5	1	-1	-1	5,94
6	1	-1	1	22,63
7	1	1	-1	7,11
8	1	1	1	16,19
9	0	0	0	16,73
10	0	0	0	23,36
11	0	0	0	14,61

Com base em experimentos preliminares, foram definidos os níveis das variáveis independentes, apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2 -. Níveis das variáveis independentes**

	-1	0	1
Quitosana (em gramas)	0,5	0,75	1
Óleo de soja (em mililitros)	1,5	2,5	3,5
Isocianato (MDI) (em gramas)	0,1	0,25	0,4

Estes ensaios foram realizados sem adição do material a ser encapsulado, pretendendo-se a partir da análise estatística dos resultados para a variável resposta, encontrar as condições que promovam a obtenção de partículas com menor diâmetro.

Uma solução hidrofílica e outra hidrofóbica foram preparadas, mantendo-se para cada experimento as quantidades de quitosana, óleo de soja e isocianato definidas na matriz experimental. Para a solução aquosa, utilizaram-se os seguintes materiais: Quitosana, Tween 80, Água destilada, Ácido Acético. Para a solução oleosa, utilizou-se: Span 80, Isocianato, Óleo de soja, Acetona. Para cada ensaio realizado, as duas fases são misturadas no reator sob agitação e aquecimento controlados. A análise estatística foi realizada usando o *software* STATISTICA (Statsoftware, USA). Em seguida foram realizados ensaios em triplicata com estas condições adicionando-se como princípio ativo, o extrato de jambo ou o padrão de antocianina.

#### 2.2.2 Caracterização das micropartículas:

Tamanho médio e distribuição de tamanho: A distribuição granulométrica das micropartículas obtidas foi determinada em aparelho Malvern Mastersizer/E (Malvern Instruments, Inglaterra). O tamanho médio das partículas foi expresso com o diâmetro médio de Sauter ( $D_{3,2}$ ).

Morfologia: A análise morfológica das micropartículas foi realizada utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e microscopia óptica.

Potencial Zeta: O Potencial Zeta é uma medida da estabilidade de uma dispersão. Quanto mais elevado seu valor numérico, mais estável é a dispersão. Neste trabalho as microcápsulas foram dispersas em água deionizada a pH 6,0 e a carga superficial foi medida por *laser doppler* anemômetro usando o Zetamaster (Malvern, UK).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

#### **3.1 Ensaios Preliminares e Planejamento Experimental**

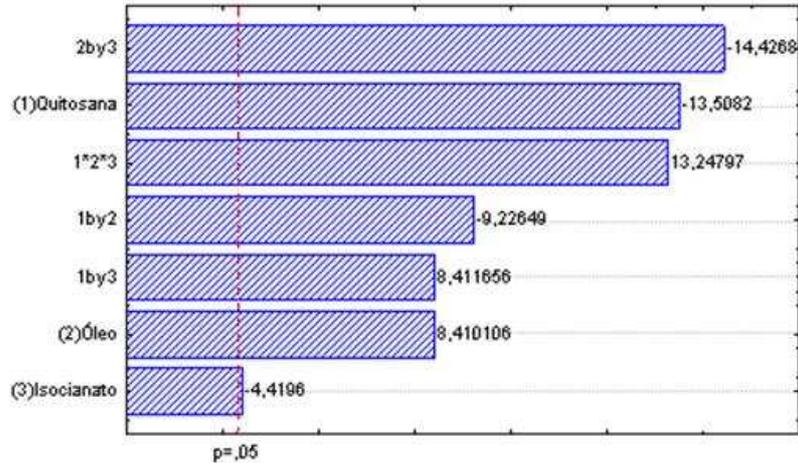
A partir da análise estatística dos resultados avaliou-se a influência das variáveis independentes na obtenção das micropartículas, bem como se propôs um modelo que representasse o diâmetro médio em função destas variáveis e das interações entre as mesmas. Os resultados do planejamento experimental se encontram na Tabela 1.

Estes dados foram submetidos a uma regressão linear utilizando o Statistica 7.0, onde foi possível calcular os efeitos de cada variável (Tabela 3).

**Tabela 3 - Fatores e níveis para as variáveis codificadas definidas**

	<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
Quitosana (g)	0,5	0,75	1
Óleo de soja (mL)	1,5	2,5	3,5
Isocianato (MDI) (g)	0,1	0,25	0,4

A variável quantidade de quitosana foi a estatisticamente mais significativa para um nível de 95% de confiança. Isto pode ser constatado através do gráfico de Pareto (Figura 1).



**Figura: 1 - Gráfico de Pareto**

Com a regressão dos dados, obteve-se um modelo matemático para o cálculo do diâmetro da partícula (Equação 1):

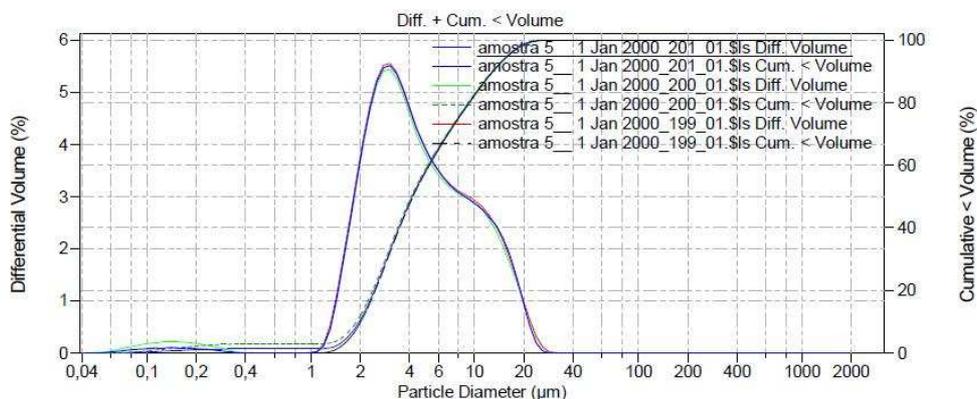
$$\begin{aligned}
 \text{Diâmetro} = & 30,2582 - 21,8000 * \text{quitosana} + 13,5725 * \text{oleo} - 7,1325 * \text{Isocianato} - 14,8900 * \text{quitosana} * \text{oleo} \\
 & + 13,570 * \text{quitosana} * \text{isocianato} - 23,2825 * \text{oleo} * \text{isocianato} + 21,3800 * \text{quitosana} * \text{isocianato} * \text{oleo}
 \end{aligned}$$

(1)

O coeficiente de correlação  $R^2$  ajustado para o modelo apresentado pela Equação 1 foi de 0,96366, o que demonstra uma regressão satisfatória.

### 3.2-Tamanho médio e distribuição de tamanho

Foram realizadas análises de tamanho médio e distribuição de tamanho para todos os ensaios de micropartículas de quitosana sem a incorporação do ativo. O ensaio 5 apresentou a melhor condição operacional e portanto, todos os resultados abaixo apresentados referem-se a este ensaio. A Figura 2 apresenta o resultado da distribuição de tamanho e índice de dispersão para estas condições.

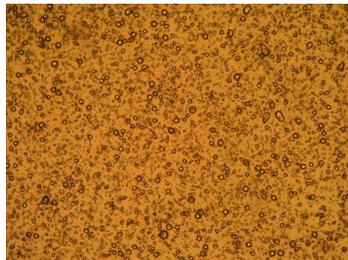


**Figura 2 - Tamanho médio e distribuição de tamanho das micropartículas de quitosana/MDI (ensaio 5)**

Os valores encontrados (5,920 $\mu$ m, 5,868 $\mu$ m e 6,019 $\mu$ m) são satisfatórios para este trabalho, pois apresentam diâmetro compatível com o utilizado na indústria de alimentos e são superiores aos encontrados na literatura (300nm e 600nm), que também utilizaram quitosana como material de parede (Alvarez-Román *et al.*, 2001; Alvarez-Román *et al.*, 2004; Olvera-Martínez *et al.*, 2005; Jiménez *et al.*, 2004; Verna *et al.*, 2003).

### 3.3-Morfologia

A microscopia ótica foi utilizada para verificar a formação de micropartículas em suspensão durante os ensaios. As Figuras 3a e 3b mostram a dispersão das micropartículas em formação sem e com incidência direta de feixe de luz de fibra óptica respectivamente. Quando as partículas estão formadas não permitem a penetração da luz, apresentando-se sólidas.



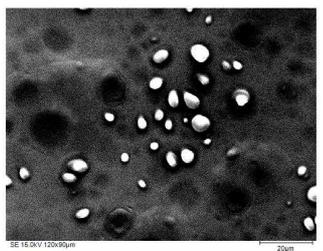
(a) Micropartículas sem luz polarizada



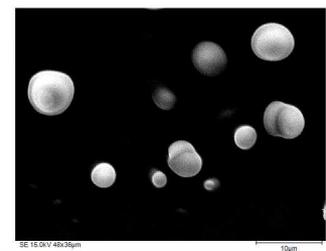
(b) Micropartículas sob luz polarizada

**Figura 3 - Microscopia ótica das micropartículas de quitosana/MDI (100x)**

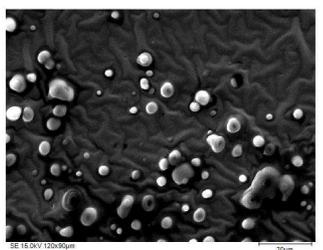
A microscopia eletrônica de varredura mostra a morfologia das partículas vazias e das partículas contendo o extrato de jambo encapsulado (Figura 4).



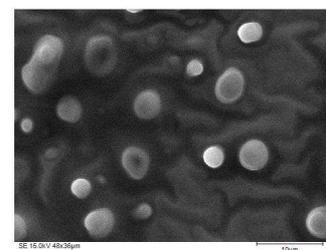
Micropartículas vazias (1000x)



Micropartículas vazias (2500x)



Micropartículas contendo extrato de jambo (1000x)



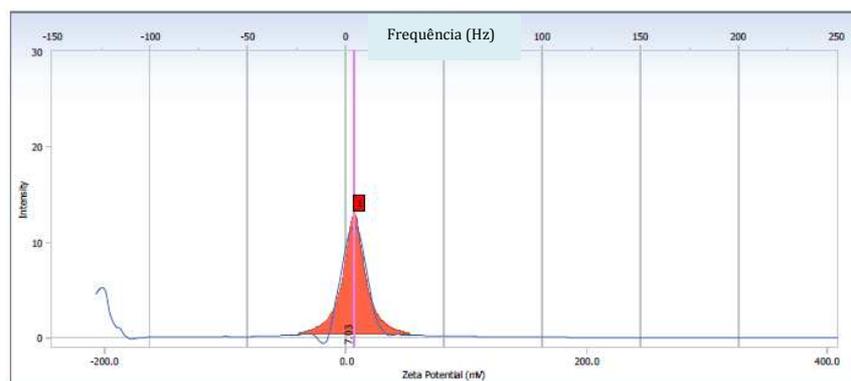
Micropartículas contendo extrato de jambo (2500x)

**Figura 4 - Microscopia eletrônica de varredura das partículas com o sem extrato de jambo.**

Como observado nas fotos da Figura 4, as micropartículas tem formato predominantemente arredondado e pouco variável, com granulometria compatível com a que foi determinada por granulometria laser. Além disso, apresentam morfologia semelhante quando se comparam as partículas vazias com as que têm o extrato microencapsulado.

### 3.4-Potencial Zeta

O potencial Zeta das micropartículas vazias foi determinado através da média de quinze repetições sendo (Figura 5). Observa-se que as partículas têm carga superficial positiva, da ordem de + 7,03 mV (amostra do ensaio 5). O potencial Zeta positivo encontrado na superfície das partículas é devido às características catiônicas das cadeias de quitosana em pH baixo. Com um aumento na quantidade de quitosana, há um excesso de íons  $\text{NH}_3^+$ , em relação aos grupamentos  $\text{COO}^-$  o que resulta em micropartículas com valores maiores de potencial Zeta, tal qual estabeleceu Aouada, (2009). Conclui-se então que a emulsão formada neste trabalho é estável.



**Figura 5 - Potencial Zeta das micropartículas vazias**

## 4. CONCLUSÕES

Este trabalho teve como objetivo principal propor uma técnica de microencapsulação para preservar e armazenar por mais tempo as antocianinas presentes no extrato do jambo vermelho.

Foram obtidas microcápsulas vazias de quitosana e microcápsulas contendo o corante do extrato do jambo utilizando a técnica de polimerização interfacial.

A morfologia obtida indicou predominantemente característica esférica com pouca variação, o que indica boa reprodutibilidade do trabalho, aplicável em maior escala. A obtenção das microcápsulas com tamanhos diferentes foi satisfatória para posterior aplicação em diferentes áreas, principalmente na indústria de alimentos.

O diâmetro obtido com as condições ideais de ensaio apresentou-se satisfatório para a indústria de alimentos, que em geral, utiliza partículas da ordem de 2 a 100  $\mu\text{m}$ , dependendo da aplicação. O potencial Zeta apontou que as emulsões com e sem o extrato são estáveis, o que favorece boa vida de prateleira.

A microencapsulação das antocianinas do corante do extrato do jambo pode ser portanto, de grande utilidade para a indústria alimentícia por ser ainda pouco explorada.

## 5. REFERÊNCIAS

- ALVAREZ-ROMÁN, R. et al., Biodegradable polymer nanocapsules containing a sunscreen agent: preparation and photoprotection. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 52, p. 191-195, 2001.
- ALVAREZ-ROMÁN, R. et al., Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, v. 99, p. 53-62, 2004.
- AZEVEDO, J. C. S. de. Estratégias de Obtenção do Corante do Jambo-Vermelho (*Syzygium malaccense*) e Avaliação de sua Funcionalidade. Dissertação (Mestrado). PPGEQ-UFRN. 2010.
- AOUADA, M.R.M. Aplicação de nanopartículas em filmes utilizados em embalagens para alimentos Tese (Doutorado). São Carlos: UFSCAR, 2009.
- COSTA NETO, B.P. Desenvolvimento de sistemas micro e nanoestruturados de quitosana/MDI para aplicações cosméticas. Dissertação (Mestrado). PPGEQ-UFRN. 2010.
- JIMÉNEZ, M. M et al., M. C. Influence of encapsulation on the in vitro percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 272, p. 45-55, 2004.
- MOREIRA, G. E. G. Obtenção e caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola. 72p. Dissertação (Mestrado), PPGEQ-UFRN. 2007.
- MÜLLER-GOYMAN, C.C. Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and a nanoparticles for topical administration. *European Journal of Pharmaceutics Biopharmaceutics*, v. 58, p. 343-346, 2004.
- OLVERA-MATÍNEZ, B. et al., Preparation of polymeric nanocapsules containing octyl methoxycinnamate by the emulsification-diffusion technique: penetration across the stratum corneum. *Journal of Pharmaceutics Sciences*, v. 94, n.7, p. 1552-1559, 2005.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, v.130, n.8 (supl.), 2000.
- STRINGHETA, P.C., Identificação da Estrutura e Estudos da Estabilidade das Antocianinas Extraídas da Inflorescência do Capim Gordura. Tese (Doutorado) em Ciência dos Alimentos. Unicamp. Brasil, 1991.
- THIES, C. *How to make microcapsules*. St Louis, Missouri: Lecture and Laboratory, 1995
- VERNA et al., Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. *Internacional Journal of Pharmaceutics*, v. 258, p. 141-151, 2003.