

ELABORAÇÃO DE LIPOSSOMAS PARA ENCAPSULAÇÃO DE UMA FONTE PROTEICA

MACHADO, Adriana Rodrigues¹; ASSIS, Leticia Marques de¹; KROLOW, Matheus Zorzoli²; BADIALE- FURLONG, Eliana¹; SOUZA-SOARES, Leonor Almeida de¹

¹ Laboratório de Ciência de Alimentos -Universidade Federal do Rio Grande - *E-mail:* adriso@hotmail.com

² Departamento de Química Inorgânica-Instituto de Química-Universidade Federal do Rio Grande do Sul - *E-mail:* leonor.souzasoares@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As principais nanoestruturas utilizadas para encapsulação de substâncias ativas são os lipossomas, as ciclodextrinas, as nanopartículas poliméricas e as nanopartículas lipídicas, como a lecitina de soja. A lecitina bruta é a designação dada a uma mistura de glicolípidos, triglicéridos e fosfolípidos, por exemplo: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol. No entanto, em bioquímica, o termo lecitina é, usualmente, utilizado como sinônimo de fosfatidilcolina pura, um fosfolípido que constitui o principal componente da fração fosfatada que se obtém da gema de ovo ou de grãos de soja, de onde é extraída por meios mecânicos ou químicos, utilizando hexano (MERTINS, 2004). Os lipossomas foram utilizados para desenvolver este estudo, onde uma das alternativas para a nanoencapsulação de ingredientes alimentícios são os lipossomas, uma das técnicas que tem sido desenvolvida amplamente nos últimos 20 anos pela indústria farmacêutica e cosmética. Lipossomas, ou vesículas de fosfolípidos, são estruturas esféricas compostas por bicamadas lipídicas que encapsulam parte do meio em que se encontram. São formadas predominantemente por moléculas anfifílicas, insolúveis em água, que quando em ambientes aquosos formam dispersões coloidais (LASIC, 1993).

Uma importante característica da encapsulação em lipossomas é que ela pode facilmente permitir o controle da liberação dos compostos encapsulados, dependendo das condições de temperatura, pH e presença de íons ao que o alimento é submetido.

A caseína comercial, produzida por meio da precipitação ácida, é uma das principais proteínas com funcionalidade tecnológica em alimentos, foi utilizada neste processo de encapsulação como núcleo.

O objetivo do trabalho foi nanoencapsular através de lipossomas uma fonte protéica, como a caseína.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da fonte proteica e material de parede

A caseína e a lecitina de soja foram obtidas no comércio local da cidade de Pelotas-RS.

Elaboração dos lipossomas e Liofilização do material encapsulado

Para a encapsulação da caseína preparam-se os lipossomas e amostra controle (somente lipossoma) pelo método de Hidratação do Filme Lipídico, conforme MALHEIROS (2010), que consiste em adicionar em balão de fundo redondo para evaporador rotatório, 5g de um composto fonte de fosfolipídio, Lecitina, dissolvido em 500 mL clorofórmio. Agitou-se por 1 minuto até completa dispersão e em seguida o clorofórmio foi removido em evaporador rotatório sob vácuo, a 62°C, até que fosse observado um filme de lipídios depositado no fundo do balão. Paralelamente preparou-se a amostra, através da dispersão da caseína em tampão fosfato pH 7,0, e levou-se ao homogeneizador Ultra-turrax a 10.000 rpm por 20 minutos.

A liofilização foi realizada através do método de desidratação por sublimação do produto congelado a -80°C por 48 horas, por meio do liofilizador de bancada modelo FD 5505, apenas para determinação da microscopia eletrônica de varredura.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espalhamento dinâmico de luz (EDL)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para a caracterização da superfície das nanoestruturas lipídicas, a fim de se obter evidências sobre a dispersão das nanopartículas na matriz lipídica, utilizando-se microscópio Shimadzu, modelo SSX-550, que possui vácuo e EDS acoplados.

Para a determinação do tamanho médio das partículas, utilizou-se o método segundo MERTINS (2008), em um equipamento com comprimento de onda de 632,8 nm, modelo 127 da Spectra-physics acoplado a um goniômetro BI-200M versão 2.0 e com correlador digital BI-9000AT da Brookhaven Instruments.

Composição centesimal

As determinações de umidade, cinzas, lipídios e proteínas da caseína *in natura* e encapsulada foram realizadas segundo as normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.

Para as análises estatísticas foi utilizada a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey com nível de significância $<0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados obtidos no tamanho médio e polidispersão do controle, caseína pura e encapsulada.

Tabela 1. Tamanho médio e polidispersão do controle, caseína pura, lipossomas de caseína, elaborados pelo método Ultra-turrax.

Analises	Controle	C.P.	C.Enc.
Tamanho médio (nm)	203,07 ^b	195,6 ^b	263,75 ^a
Polidispersão	0,194 ^a	0,429 ^b	0,444 ^b

OBS.: Controle-lipossoma; C.P.-Caseína Pura; C.Enc.-Caseína encapsulada; Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($<0,05$).

Comparando-se as amostras de caseína encapsuladas com caseína pura e controle, observou-se que houve diferença estatística nas amostras analisadas, assim verificou-se que a caseína encapsulada apresentou maior tamanho das partículas em relação à amostra pura e ao filme lipídico, os quais passaram pelo mesmo processo de ultra-turrax.

Já com relação à polidispersão observada, constata-se que não houve diferença significativa entre as amostras com caseína, porém o controle diferiu de ambas as amostras analisadas. As figuras abaixo representam as micrografias da caseína pura e encapsulada em lipossomas.

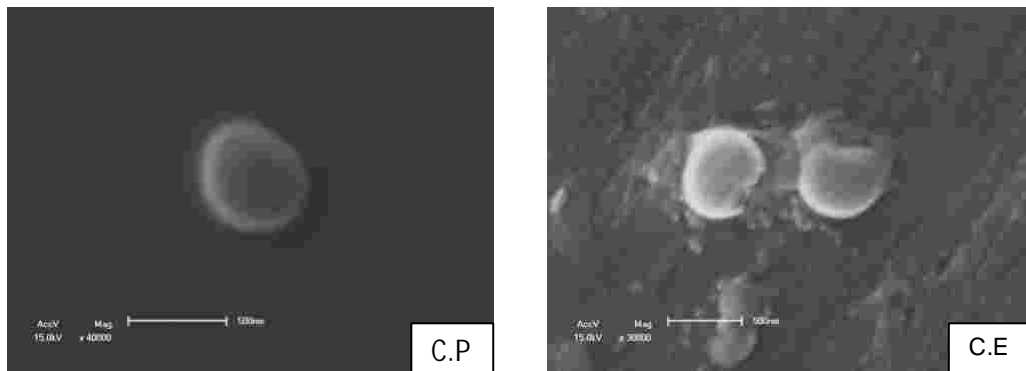


Figura 1: Micrografia da Caseína pura (C.P) e Caseína encapsulada liofilizada (C.E) pelo método ultra- turrax.

Comparando a micrografia com o tamanho das partículas observa-se que ambas as amostras liofilizadas apresentaram tamanho nanométrico. Conforme CACELA e colaboradores (2006) a vantagem da liofilização reside no aumento da meia vida da formulação lipossômica, pela sua maior estabilidade em estado seco, podendo ser reconstituída com o veículo na hora da administração.

A Tabela 2 apresenta a composição centesimal da caseína pura e encapsulada liofilizada.

Tabela 2: Composição centesimal da caseína pura e caseína encapsulada liofilizada (% base seca)

Análises	Caseína pura	Caseína encapsulada
Umidade	10,51±1,64 ^b	18,01±7,41 ^a
Proteínas	77,33±1,01 ^a	2,75±0,31 ^b
Cinzas	2,02±0,02 ^b	22,93±2,63 ^a
Lipídios	0,30±0,03 ^b	19,31±7,55 ^a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (<0,05).

Na Tabela 2 todos os parâmetros avaliados diferiram estatisticamente, sendo o teor de umidade referente à caseína liofilizada foi de 18,01%, estando este, acima do comparado com a legislação encontrada para produtos liofilizados (Resolução CNNPA nº 12) que estabelece que os produtos liofilizados obtenham máximo de 5% de umidade (BRASIL, 2011). Isso se deve, provavelmente, aos

materiais que compunham a matéria-prima para o que foi liofilizado, como o lipossoma para elaboração das cápsulas. Com os resultados demonstrados na tabela 2, confirma-se o alto teor lipídico da caseína encapsulada, devido ao filme lipídico como material de parede. A quantidade de cinzas encontrada na amostra de caseína encapsulada se deve ao tampão fosfato que auxilia na homogeneização da mesma com o lipossoma. O baixo teor protéico refere-se à quantidade de caseína que pode ser incorporada na cápsula.

4. CONCLUSÕES

Pela metodologia utilizada foi possível obter partículas protéicas de Caseína na escala nanométrica, e provavelmente sua encapsulação em lipossomas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOSS, E. A. **Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel**. 2004.107f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Curso de Pós-graduação em Engenharia Química; Universidade Estadual de Campinas.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – CNNPA n.12, de 24/07/1978 – **Dispõe sobre normas técnicas especiais**. Acesso em 10 de julho de 2011. Online. Disponível em: www.anvisa.gov.br.

CACELA, C.; HINCHA, D. K., Low amounts of sucrose are sufficient to depress the phase transition temperature of dry phosphatidylcholine, but not for lyoprotection of liposomes. *Biophys. J. Bethesda*. 2006, v. 90, p.2831–2842.

LASIC, D. D. **Liposomes: from physics to applications**. 1^a ed. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., cap.3, p.63-90, 1993.

MERTINS, O. **Desenvolvimento e Caracterização de Nanovesículas Lipossômicas Compósitas de Fosfatidilcolina de Lecitina de Soja e Quitosana**. Dissertação de Mestrado em Química, UFRGS, Porto Alegre, 2004.