



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
NANODISPERSÕES DE β -CAROTENO COM FARINHA
DE ALBEDO DE MARACUJÁ E PECTINA CÍTRICA
COMERCIAL COMO AGENTES ENCAPSULANTES**

PRISCILLA QUÊNIA MUNIZ BEZERRA

SALVADOR, 2017

Modelo de ficha catalográfica fornecido pelo Sistema Universitário de Bibliotecas da UFBA para ser confeccionada pelo autor

Quenia Muniz Bezerra, Priscilla
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANODISPERSÕES DE ?-
CAROTENO COM FARINHA DE ALBEDO DE MARACUJÁ E PECTINA CÍTRICA
COMERCIAL COMO AGENTES ENCAPSULANTES / Priscilla Quenia Muniz
Bezerra. -- Salvador-Bahia, 2017.
82 f. : il

Orientadora: Itaciara Larroza Nunes.
Coorientadora: Karina Teixeira Magalhães Guedes.
Dissertação (Mestrado - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
DE ALIMENTOS) -- Universidade Federal da Bahia, UNIVERSIDADE
FEDERAL DA BAHIA FACULDADE DE FARMÁCIA, 2017.

1. Nanotecnologia. 2. Encapsulamento. 3. Carotenoides. 4.
Pectina. 5. Spirulina sp. I. Larroza Nunes, Itaciara. II.
Teixeira Magalhães Guedes, Karina . III. Título.

PRISCILLA QUÊNIA MUNIZ BEZERRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
NANODISPERSÕES DE β -CAROTENO COM FARINHA
DE ALBEDO DE MARACUJÁ E PECTINA CÍTRICA
COMERCIAL COMO AGENTES ENCAPSULANTES**

Orientador (a): Profa. Dra. Itaciara Larroza Nunes

Co-orientador (a): Dra. Karina Teixeira Magalhães Guedes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do grau de mestre.

SALVADOR, 2017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por guiar e prosperar os meus caminhos e por sempre me fazer forte diante das provações.

A minha mãe Rosely e meu irmão Leonardo, por todo amor incondicional e inúmeros gestos de carinho, atenção e incentivo.

A toda minha família, que são meus maiores incentivadores e responsáveis por tudo que sou. Obrigada pelo amor, carinho e atenção diária!

As minhas queridas amigas e tias do coração Noélia e Dona Neide, por sempre me acolherem carinhosamente e torcerem pelo meu progresso.

A Luan, por todo apoio, pelo carinho, paciência, amizade, que sem medir esforços sempre me apoiou quando precisei.

A minha orientadora, Itaciara, pela paciência, carinho, dedicação, ensinamentos e pelo exemplo de mulher e profissional que tanto admiro.

A todos meus amigos, em especial, Márcia e Ícaro pelo apoio, carinho e atenção.

As minhas companheiras Larissa, Elaine Janaína, Camila, pelo apoio e parceria.

Aos meus amigos de mestrado, em especial, Lucas e Ívia, pelo incentivo, carinho e por serem tão parceiros nesta etapa.

Aos alunos de iniciação científica Ruan, Daniel, Isaac, Rafaela, Betina, agradeço imensamente a ajuda em cada fase deste trabalho.

Aos técnicos dos laboratórios da ENUFBA, em especial Luis e Ary, pela colaboração e apoio.

A toda equipe do SENAI, em especial Bruna e Ingrid pelo apoio e receptividade.

A todos do LAPESCA, especialmente à professora Janice e Carol, por ceder, sempre que precisei o laboratório para a realização de algumas das minhas análises. Muito obrigada!

Ao técnico do laboratório multiuso-Faculdade de Farmácia-UFBA, Leonardo pela paciência e ajuda em algumas análises.

A professora Ingrid Graça pelos ensinamentos compartilhados e auxílio na interpretação das análises de FTIR.

Ao professor Alessandro na contribuição para realização das análises de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

A Valdinei, técnico do laboratório de Química Industrial- UFBA, pela colaboração nas análises de tamanho de partícula e potencial zeta.

Aos funcionários dos laboratórios da ENUFBA, em especial Vivaldo e Nice, pela colaboração e carinho.

A coordenação do PGALI e a secretária Priscila, pela colaboração e por sempre se mostrarem solícitos a tudo que precisei.

Ao CNPq e FAPESB pelo apoio financeiro do projeto e bolsa do mestrado, respectivamente.

E, finalmente, a todos que contribuíram de alguma forma para que eu concluísse mais essa etapa em minha vida.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

Resumo	
1. Introdução	12
2. Objetivos	16
2.1. Objetivo geral	16
2.2. Objetivos específicos	16
CAPÍTULO I	17
Revisão de literatura	17
1. Carotenoides	18
2. Microalga <i>Spirulina</i> sp. como fonte de carotenoides	19
3. Nanoencapsulamento	20
4. Pectina	25
4.1. Fontes	27
4.1.1. Maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i>)	28
Referências	32
CAPÍTULO II	40
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANODISPERSÕES DE β -CAROTENO COM FARINHA DE ALBEDO DE MARACUJÁ E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL COMO AGENTES ENCAPSULANTES	40
Resumo	41
Abstract	41
Introdução	42
Material e Métodos	44
Materiais	44
Preparo da Farinhado Albedo do Maracujá	44
Determinação do Teor de Pectina na Farinha do Albedo do Maracujá	45
Determinação do Grau de Esterificação (DE) da Pectina Presente na Farinha do Albedo do Maracujá Amarelo e na Pectina Cítrica Comercial	45
Análise de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	46
Obtenção e Quantificação do Extrato Rico em β-caroteno	46
Preparo das Nanodispersões Ricas em β-caroteno	46
Caracterização das Nanodispersões	47
<i>Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)</i>	47

<i>Tamanho de Partícula, Índice de polidispersibilidade (PDI) e Potencial Zeta</i>	47
<i>Viscosidade, pH e Cor</i>	47
<i>Atividade Antioxidante Através do Radical DPPH</i>	48
<i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)</i>	48
<i>Eficiência de Encapsulamento (EE)</i>	49
Estabilidade	49
Análise Estatística	50
Resultados e Discussão	50
Conclusão	64
AGRADECIMENTOS	64
REFERÊNCIAS	65
APÊNDICE	72

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Mecanismo de clivagem do β -caroteno.....	19
Figura 2. Representação esquemática de nanopartículas (a) e nanoesferas (b).....	21
Figura 3. Representação esquemática da síntese de nanocápsulas pelo método de deslocamento de solvente. 1 - Fase orgânica (polímero, componente de interesse e solvente orgânico); 2- Fase aquosa (água, estabilizante); 3- Injeção da fase orgânica na fase aquosa.....	22
Figura 4. Estruturas de ácido D-galacturônico unidas por ligações covalentes α (1 \rightarrow 4).....	26
Figura 5. Representação hipotética da estrutura pécica.....	27
Figura 6. Características botânicas do maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i>).....	29

CAPÍTULO II

Figura 1. Espectros FTIR comparativos entre a farinha do albedo do maracujá amarelo e pectina cítrica comercial.....	52
Figura 2. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das nanopartículas analisadas imediatamente após obtenção: a. Farinha de albedo + Extrato; b. Farinha de albedo + β -caroteno; c. Pectina comercial + β -caroteno e d. Pectina cítrica comercial + Extrato.....	54
Figura 3. Carotenoides majoritários do extrato de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18. 1. Zeaxantina (28 %), 2. all- <i>trans</i> - β -caroteno (52 %) e 3. 9- <i>cis</i> - β -caroteno (12 %) (identificação tentativa por tempo de retenção e características do espectro).....	62
Figura 4. Retenção de carotenoides: a. Nanodispersões formuladas com farinha de albedo do maracujá amarelo b. Nanodispersões formuladas com pectina cítrica comercial durante armazenamento de 60 dias (4 °C).....	63

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Polímeros mais utilizados na obtenção de nanopartículas poliméricas de pigmentos naturais por deslocamento de solvente.....	23
Tabela 2: Composição química da farinha da casca de maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i>).....	30
Tabela 2: Interesse tecnológico da farinha da casca do maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i>).....	56

CAPÍTULO II

Tabela 1. Distribuição do tamanho médio das partículas, índice de polidispersibilidade (PdI) e potencial zeta das nanodispersões rica em β -caroteno analisadas imediatamente após obtenção.....	54
Tabela 2: Distribuição do tamanho médio das partículas, índice de polidispersibilidade (PdI) e potencial zeta das nanodispersões rica em β -caroteno ao longo de 60 dias de armazenamento (4 °C).....	56
Tabela 3: Caracterização das nanodispersões de β -caroteno quanto à viscosidade, pH, cor e atividade antioxidante analisadas durante 60 dias de armazenamento refrigerado (4 °C).....	59

APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

Esta dissertação encontra-se dividida em: Resumo; Abstract; Introdução Geral; Objetivos (geral e específicos); Capítulo I: Revisão Bibliográfica e Capítulo II: Desenvolvimento e Caracterização de Nanodispersões de β -caroteno com Farinha de Albedo de Maracujá e Pectina cítrica Comercial como Agentes Encapsulantes.

RESUMO

Os pigmentos naturais a cada dia tornam-se alvo de investigação, com destaque para os carotenoides, presentes na biomassa de diversas microalgas, tais como *Spirulina* sp. Esses pigmentos apresentam instabilidade ao oxigênio, luz, pH e altas temperaturas, sendo o nanoencapsulamento uma alternativa para sua preservação. Polímeros naturais são pouco utilizados nessa tecnologia, o que limita a incorporação destas nanopartículas em alimentos. Nesse contexto, a farinha do albedo do maracujá amarelo apresenta-se como alternativa de material encapsulante por conter quantidade expressiva de pectina. Assim, o objetivo desse estudo foi obter nanodispersões ricas em β -caroteno natural (extrato obtido de *Spirulina* sp. LEB 18) e sintético, por deslocamento de solvente, comparando o efeito da farinha do albedo de maracujá amarelo e da pectina cítrica comercial como agentes encapsulantes nas suas características físico-químicas e estabilidade durante armazenamento refrigerado. Foram produzidas 4 formulações ($\cong 130 \mu\text{g/mL}$): A= Farinha de albedo + Extrato; B= Farinha de albedo + β -caroteno; C: Pectina comercial + β -caroteno e D: Pectina comercial + Extrato. Estas foram caracterizadas quanto ao tamanho de partícula, potencial zeta, índice de polidispersão (PdI), viscosidade, pH, cor (escala CIELab), eficiência de encapsulação, Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), atividade antioxidante e estabilidade durante 60 dias de armazenamento (4°C). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey (5 % de probabilidade). O diâmetro médio das partículas, independente do polímero utilizado foi de $84,40 \pm 1,20$ nm (tempo 0) e após armazenamento $82,29 \pm 0,51$ a $86,83 \pm 0,50$ nm e $82,94 \pm 0,35$ a $91,26 \pm 0,79$ nm para as formulações contendo farinha e pectina comercial, respectivamente. Os dois materiais poliméricos desempenharam papel estabilizante, mesmo sem o uso de surfactante, demonstrando prevenção à floculação das partículas, uniformidade no tamanho (PdI entre $0,113 \pm 0,01$ e $0,186 \pm 0,00$) e eficiência de encapsulamento próximas a 100 %, boa atividade antioxidante e melhor retenção de carotenoides para as formulações contendo o extrato. Os resultados obtidos demonstram o possível uso da farinha do albedo do maracujá amarelo na obtenção de nanodispersões ricas em β -caroteno, pelo método de deslocamento de solvente, com a manutenção do baixo custo da técnica e viabilidade na substituição de polímeros comerciais.

Palavras-chave: nanopartícula, encapsulamento, carotenoides, pectina, *Spirulina* sp.

ABSTRACT

The natural pigments are becoming a target for research, especially the carotenoids, present in the biomass of various microalgae, such as *Spirulina* sp. These pigments present instability to oxygen, light, pH and high temperatures, and nanoencapsulation is an alternative for their preservation. Natural polymers are little used in this technology, which limits the incorporation of these nanoparticles in food. In this context, the yellow passion fruit albedo flour presents as an alternative of encapsulating material because it contains an expressive amount of pectin. Thus, the objective of this study was to obtain nanodispersions rich in natural β -carotene (extract obtained from *Spirulina* sp.) and synthetic, by displacement of solvent, comparing the effect of yellow passion fruit albedo flour and commercial pectin as encapsulating agents in their characteristics Physical-chemical properties and stability during refrigerated storage. Four formulations ($\cong 130 \mu\text{g} / \text{mL}$) were produced: A = albedo flour + Extract; B = albedo flour + β -carotene; C: Commercial pectin + β -carotene and D: Commercial pectin + Extract. These were characterized in terms of size particle, potential zeta, polydispersity index (PDI), viscosity, pH, color (CIELab scale), encapsulation efficiency, Transmission Electron Microscopy (TEM), antioxidant activity and stability for 60 days storage (4 °C). The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) and Tukey averages comparison test (5% probability). The average particle diameter, regardless of the polymer used was $84.40 \pm 1.20 \text{ nm}$ (time zero) and after storage $85.06 \pm 1.70 \text{ nm}$. The two polymer materials played a stabilizing role, even without the use of surfactant, demonstrating prevention of flocculation and particle aggregation, uniformity in size (PDI between 0.113 ± 0.01 and 0.186 ± 0.00) and encapsulation efficiency close to 100%, good antioxidant activity and better carotenoid retention for the formulations containing the extract (78.25 ± 0.20 and $65.45 \pm 0.01\%$, respectively). The results obtained demonstrate the possible use of yellow passion fruit albedo flour to obtain nanodispersions rich in β -carotene, by the solvent displacement method, with the maintenance of the low cost of the technique and viability in the substitution of commercial polymers

Keywords: Nanoparticle, encapsulation, carotenoids, pectin, *Spirulina* sp.

1. Introdução Geral

Os corantes naturais estão entre as principais classes de aditivos imprescindíveis para a indústria alimentícia na conquista de consumidores, pois a cor é muito importante para a aceitação do alimento (LARSEN, 2008). Dentre os aditivos, destacam-se os carotenoides, por ser um corante natural amplamente utilizado, não apenas com a finalidade de atribuir cor, como também por sua versatilidade de funções e benefícios para a saúde humana (VÍLCHEZ, et al., 2011; ZHANG, et al., 2014; FIEDOR, e BURDA, 2014).

Os carotenoides são sintetizados por plantas, animais e microrganismos, dentre estes, a microalga *Spirulina* sp., que de acordo com as condições de cultivo, produz quantidades expressivas de carotenoides (β -caroteno, zeaxantina e β -criptoxantina), podendo atuar como fonte alternativa para a produção desses pigmentos em escala comercial e industrial (RAS et al., 2013; CHRISTAKI et al., 2013; ERDOĞAN, et al., 2015).

Contudo, como a maioria dos pigmentos naturais, os carotenoides apresentam-se menos estáveis a fatores como oxigênio, luz, pH, alta temperatura, entre outros. Assim, é crescente a busca por novas formulações que visam manter as propriedades destes corantes como ferramenta atrativa para indústria, dentre elas, a técnica de nanoencapsulamento (partículas com dimensões inferiores a 1000 nm) (SANTOS et al., 2016), uma vez que, muitos estudos relatam o potencial desta tecnologia na preservação das propriedades bioativas e melhor dispersibilidade destes compostos em água para melhor incorporação em alimentos (RIBEIRO et al., 2008; GUTIÉRREZ et al., 2013; SANTOS et al., 2015; ZHANG et al., 2016; SANTOS et al., 2016).

Dentre as diferentes técnicas de nanoencapsulamento, o método de deslocamento de solvente (deposição interfacial do polímero pré-formado ou nanoprecipitação) vem sendo amplamente utilizado, uma vez que, apresenta vantagens de aplicação a baixo custo, boa reprodutibilidade e eficiência (MORA-HUERTAS et al., 2011). Além disso, de acordo com a aplicabilidade, esta técnica permite a escolha de polímeros de caráter natural ou sintético (SANTOS et al., 2016; YADAV et al., 2014), sendo mais utilizados os poliésteres poli (ácido lático) PLA, poli (lactídeo-co-glicolídeo) PLGA e o poli (ϵ -caprolactona) PCL (RIBEIRO et al., 2008; SANTOS et al., 2016).

O uso de polímeros naturais na obtenção de nanopartículas ricas em carotenoides é desejável, para possibilitar sua aplicação na indústria de alimentos. Nesse sentido, a

pectina, apresenta destaque por sua boa interação com os carotenoides (VERRIJSEN et al., 2015; CERVANTES-PAZ et al., 2016), e por compor ampla variedade de alimentos, como vegetais e frutas (principalmente nas cascas) (CANTERI et al., 2012; LIEW, CHIN e YUSOF, 2014; SEIXAS et al., 2014; CHAN et al., 2017).

Dentre os produtos ricos em pectina, a casca do albedo do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*), na forma de farinha, pode apresentar potencial tecnológico, com diferentes aplicações na área de alimentos como agente espessante, estabilizante e gelificante, ingrediente funcional em alimentos e na produção de embalagens (NASCIMENTO, et al., 2012; PINELI et al., 2015; COELHO et al., 2017) entretanto, seu uso como material polimérico na obtenção de nanopartículas ainda não foi explorado.

Nesse contexto, diante da potencialidade biotecnológica dos extratos de carotenoides microalgais e da ausência de estudos que confirmam a estes compostos os benefícios do nanoencapsulamento para aplicação em alimentos, o objetivo do presente trabalho foi obter nanodispersões ricas em β -caroteno natural (extrato obtido de *Spirulina* sp. LEB 18) e sintético, produzidas por deslocamento de solvente, utilizando farinha do albedo de maracujá amarelo e pectina cítrica comercial como agentes encapsulantes, além de determinar suas características físico-químicas e estabilidade sob armazenamento refrigerado, a fim de verificar o potencial deste subproduto natural como possível substituto aos polímeros comerciais.

Referências

CANTERI, M. H. G., MORENO, L., WOSIACKI, G., AGNES, P., & SCHEER, A. P. Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. **Polímeros**, v. 22, p. 149-157, 2012.

CERVANTES-PAZ, B., ORNELAS-PAZ, J. J., PEREZ-MARTÍNEZ, J. D., HERNANDEZ, J. R., ZAMUDIO-FLORES, P.B., RIOS-VELASCO, C., IBARRA-JUNQUERA, V., & RUIZ-CRUZ, S. Effect of pectin concentration and properties on digestive events involved on micellarization of free and esterified carotenoids. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 580-588, 2016.

CHAN, S. Y., CHOOA, W. S., YOUNGA, D. J., & LOH, X. J. Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. **Carbohydrate Polymers**, v. 161, p. 118-139, 2017.

CHRISTAKI, E., BONOS, E., GIANNENASA, I., & FLOROU-PANERIA, P. Functional properties of carotenoids originating from algae. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 5-11, 2013.

COELHO, E. M., GOMES, R. G., MACHADO, B. A. S., OLIVEIRA, R. S., LIMA, M. S., AZEVEDO, L. S., & UMSZA GUEZ, M. A. Passion fruit peel flour e technological properties and application in food products. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 158-164, 2017.

ERDOĞAN, A., ÇAĞIR, A., DALAY, M. C., & EROĞLU, A.E. Composition of Carotenoids in *Scenedesmus protuberans*: Application of Chromatographic and Spectroscopic Methods. **Food Analytical Methods**, v. 8, p. 1970-1978, 2015.

FIEDOR, J., & BURDA, K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. **Nutrients**, v. 6, p. 466-488, 2014.

GUTIÉRREZ, F. J., ALBILLOS, S. M., CASAS-SANZ, E., CRUZ, Z., GARCIA-ESTRADA, C., GARCIA-GUERRA, A., GARCIA-REVERTER, J., GARCIA-SUAREZ, M., GATON, P., GONZALEZ-FERRERO, C., OLABARRIETA, I., OLASAGASTI, M., RAINIERI, S., RIVERA-PATINO, D., ROJO, R., ROMO-HUALDE, A., SAIZ-ABAJO, M., & MUSSONS, M. Methods for the nanoencapsulation of β -carotene in the food sector. **Trends in Food Science & Technology**, v. 32, p. 73-83, 2013.

LARSEN, J. C. Legal and Illegal Colours. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. 64-69, 2008.

LIEW, S. Q., CHIN, N. L., & YUSOF, Y. A. Extraction and characterization of pectin from passion fruit peels. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 231-236, 2014.

MORA-HUERTAS, C. E., FESSI, H., & ELAISSARI. Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification–diffusion methods Critical comparison. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 163, p. 90-122, 2011.

NASCIMENTO, T. A., CALADO, V., & CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v. 49, p. 588-595, 2012.

PINELI, L. DE O., RODRIGUES, J. DA. S. Q., COSTA, A. M., LIMA, H. C. DE, CHIARELLO, M. D., & MELO, L. Antioxidants and sensory properties of the infusions of wild *passiflora* from Brazilian savannah: Potential as functional beverages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 1500-1506, 2015.

RAS, M., STEYER J. P., & BERNARD, O. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. **Reviews Environmental Science and Biotechnology**, v. 12, p. 153-164, 2013.

RIBEIRO, H. S., CHU, B., ICHIKAWA. S., & NAKAJIMA. M. Preparation of nanodispersions containing β -carotene by solvent displacement method. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 12-17, 2008.

SANTOS P. P., FLORES, S. H., RIOS, A. O., & CHISTÉ, R. C. Biodegradable polymers as wall materials to the synthesis of bioactive compound nanocapsules. **Trends in Food Science & Technology**. v. 53 p. 23-33, 2016.

SANTOS, P. P., PAESE, K., STANISC, S., GUTERRES, S. S., POHLMANN, A. R., COSTA, T. H., FLÔRES, S. H., & RIOS, A. O. Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 15, p. 1-11, 2015.

SEIXAS, F. L., FUKUDA, D. L., TURBIANI, F. R. B., GARCIA, P. S., PETKOWICZ, C. L. DE O., JAGADEVAN, S., & GIMENES, M. L. Extraction of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) by microwave-induced heating. **Food Hydrocolloids**, v. 38, p. 186-192, 2014.

VERRIJSEN, T. A.J., VERKEMPINCK, S. H. E., CHRISTIAENS, S., VAN LOEY, A. M., & HENDRICKX. M. E. The effect of pectin on in vitro β -carotene bioaccessibility and lipid digestion in low fat emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 73-81, 2015.

VÍLCHEZ, C., FORJÁN, E., CUARESMA, M., BÉDMAR, F., GARBAYO, I., & VEGA, J.M. Marine carotenoids: Biological functions and commercial applications. **Marine Drugs**, v. 9, p. 319-333, 2011.

YADAV, D., & KUMAR, N. Nanonization of curcumin by antisolvent precipitation: Process development, characterization, freeze drying and stability performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 477, p. 564-577, 2014.

ZHANG, J., SUN, Z., SUN, P., CHEN, T., & CHEN, F. Microalgal carotenoids: Beneficial effects and potential in human health. **Food & Function**, v. 5, p. 413-425, 2014.

ZHANG, Z., ZHANG, R., & MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of β -carotene in alginate-based hydrogel beads: Impact on physicochemical stability and bioaccessibility. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 1-10, 2016.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

- ✓ O objetivo do presente trabalho foi obter nanodispersões ricas em β -caroteno natural (extrato obtido de *Spirulina* sp. LEB 18) e sintético, produzidas por deslocamento de solvente, utilizando farinha do albedo de maracujá amarelo e pectina cítrica comercial como agentes encapsulantes, além de determinar suas características físico-químicas e estabilidade sob armazenamento refrigerado, a fim de verificar o potencial deste subproduto natural como possível substituto aos polímeros comerciais.

2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Obter a farinha da casca do albedo do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) e caracterizá-la quanto ao teor de pectina;
- ✓ Determinar o grau de esterificação (DE) da pectina presente na farinha do albedo do maracujá amarelo e da pectina cítrica comercial;
- ✓ Obter o extrato de carotenoides a partir da microalga *Spirulina* sp. LEB 18
- ✓ Produzir nanodispersões ricas em β -caroteno natural (extrato obtido de *Spirulina* sp. LEB 18) e sintético, pelo método de deslocamento de solvente, comparando o efeito da farinha do albedo de maracujá amarelo e da pectina cítrica comercial como agentes encapsulantes;
- ✓ Caracterizar as nanodispersões quanto ao tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polispersibilidade (PdI), viscosidade, pH, cor e atividade antioxidante;
- ✓ Determinar os carotenoides majoritários do extrato da microalga *Spirulina* sp. LEB 18, conteúdo total presente nas nanodispersões e na fase aquosa;
- ✓ Avaliar a estabilidade das nanodispersões durante armazenamento (60 dias, 4 °C) em relação ao tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polispersibilidade (PdI), viscosidade, pH, cor, atividade antioxidante e retenção de carotenoides;
- ✓ Determinar a eficiência do encapsulamento e caracterizar a morfologia das nanopartículas obtidas.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

1. Carotenoides

Os carotenoides são considerados compostos apolares ou lipofílicos, biossintetizados por plantas, algas, bactérias, fungos, leveduras e insetos. Podem ser divididos em dois grupos principais: os carotenos, que são pigmentos livres de oxigênio em suas cadeias hidrocarbônicas (β -caroteno, α -caroteno, licopeno, dentre outros) e as xantofilas, que são hidrocarbonetos com derivados oxigenados (luteína, zeaxantina, criptoxantina, dentre outros) (BARBOSA FILHO et al., 2008; PIRES et al., 2008; CHRISTAKI et al., 2013).

Estes pigmentos naturais possuem uma longa cadeia de hidrocarbonetos (podendo apresentar de 9 a 15 ligações conjugadas) e são estruturalmente formados por 40 átomos de carbono (tetraterpenos), formados por oito unidades isoprenoides de cinco carbonos (C5) passíveis à ciclização, hidrogenação, desidrogenação, migração de duplas ligações, rearranjo, isomerização, entre outras, que contribuem para síntese de outras estruturas de carotenoides (BARBOSA FILHO et al., 2008).

A longa cadeia de hidrocarbonetos e o elevado grau de instauração que constituem a estrutura química dos carotenoides reduzem a sua biodisponibilidade, e os tornam propensos à isomerização e oxidação. Altas temperaturas, pHs ácidos, luz, oxigênio e enzimas, por exemplo, podem promover a isomerização *trans* - *cis*, o que limita sua ampla aplicabilidade em escala industrial (RODRIGUEZ-AMAYA & KIMURA, 2004; AMBRÓSIO et al., 2006).

Apesar de serem conhecidos mais de 600 tipos de carotenoides, somente poucos são utilizados comercialmente: β -caroteno (pigmento amarelo), astaxantina e, com menor frequência, luteína, zeaxantina e licopeno. Suas principais aplicações são como corantes de alimentos, cosméticos ou alimentação animal. Suas propriedades nutricionais e relevância terapêutica relacionam-se com a ação de pró-vitamina A e outras propriedades intrínsecas, como a ação antioxidante (capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio, como o radical peroxil (ROO•) e o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$)) e antiinflamatória (SOUZA, 2012).

A atividade de pró-vitamina A atribuída a alguns carotenoides limita-se a presença daqueles que possuem um anel β -ionona não substituído e uma cadeia poliênica com no mínimo 11 C (β -caroteno, α -caroteno, e β -criptoxantina). Com destaque para o β -caroteno, pois é o único carotenoide que apresenta dois radicais β -ionona (Fig 1) (AISSA, 2010; RODRIGUEZ-AMAYA, 2010).

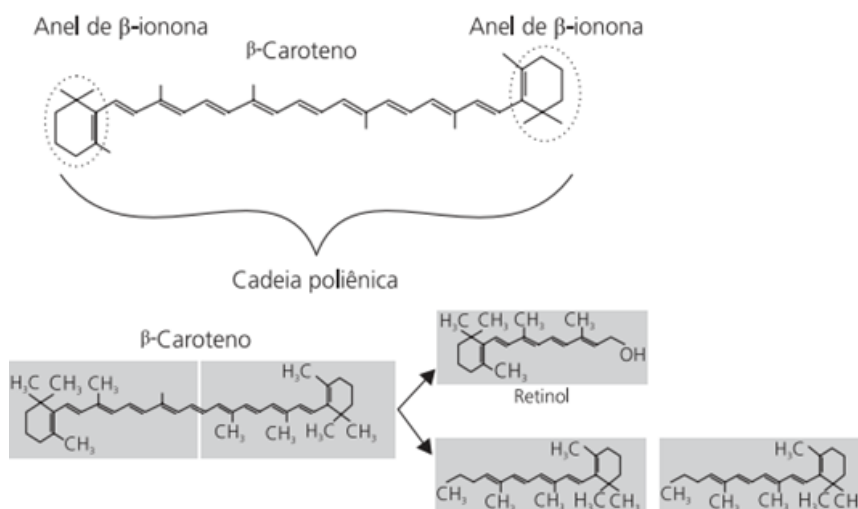


Figura 1. Mecanismo de clivagem do β -caroteno. Fonte: Adaptada de AMBRÓSIO et al., 2006.

O interesse comercial pelos carotenoides (mercado mundial de US \$ 1,2 bilhões em 2010 e tendendo a US \$ 1,4 bilhões até 2018) é evidenciado em vários estudos pelo seu potencial tecnológico associado ao seu poder corante e caráter funcional (RIBEIRO et al., 2008; BBC-RESEARCH, 2011; ZHANG et al., 2016). Assim, busca-se por novas fontes desses compostos, com destaque para as microalgas do gênero *Spirulina* sp., que tem sido alvo de interesse nos últimos anos por sua versatilidade de funções associada à sua importante composição química e nutricional, que de acordo com as condições de cultivo e fatores climáticos, podem produzir quantidades expressivas de carotenoides (CHRISTAKI et al., 2013; VAZ, et al., 2016).

2. Microalga *Spirulina* sp. como fonte de carotenoides

A *Spirulina* sp. é uma cianobactéria filamentosa de cor verde azulada, encontrada em locais como solos, pântanos, lagos alcalinos e águas salobras, marinhas e doces, de importante composição química e nutricional (DERNER et al., 2006; AMBROSI et al., 2008). Esta característica lhe confere ampla aplicabilidade nos diversos setores da economia, do qual exploram seus atributos biotecnológicos na obtenção de compostos bioativos, biocombustíveis, no tratamento de águas residuais, enriquecimento

nutricional de produtos alimentares, entre outros (VAZ, et al., 2016).

A *Spirulina* sp., destaca-se por apresentar boa produção quantidade de carotenoides em sua biomassa, em especial, β -caroteno, β -criptoxantina e zeaxantina (MALA et al., 2010; CHU et al., 2010). Mas, esta biossíntese pode variar de acordo com as condições do meio de cultivo, fatores ambientais e luminosidade (PIRES et al., 2008; VALDUGA et al., 2009), o que torna viável considerar esta alga mais uma alternativa para produção em escala comercial destes compostos (CHRISTAKI et al. 2013).

Diante da versatilidade de funções e aplicabilidade biotecnológica dos carotenoides, a literatura tem relatado as vantagens em otimizar o cultivo desta microalga na obtenção destes pigmentos, uma vez que possuem baixo custo de produção e rápida taxa de crescimento, quando comparado com os similares de vegetais e animais (VALDUGA et al., 2009; BENAVENTE-VALDÉS et al., 2016).

Cabe ressaltar a baixa disponibilidade e alta instabilidade dos carotenoides, principalmente na sua forma cristalina, que limitam sua aplicabilidade em escala industrial (QIAN et al., 2012). Nesse contexto, a fim de atribuir maior estabilidade a estes compostos e ampla incorporação destes na indústria, principalmente de alimentos, nos últimos anos a nanotecnologia de encapsulamento apresenta-se como uma alternativa na proteção destas substâncias (RIBEIRO et al., 2008; GUTIÉRREZ et al., 2013; SANTOS et al., 2015; SANTOS et al., 2016; ZHANG et al., 2016).

3. Nanoencapsulamento

A tecnologia de encapsulamento em escala nanométrica relaciona-se à síntese, caracterização e aplicação de partículas com dimensões inferiores a 1000 nm que, a depender do método de obtenção, podem ser expressas tanto como nanocápsulas quanto nanoesferas (KONAN et al., 2002; SANGUANSRI & AUGUSTIN 2006; ZHANG et al., 2016). As nanocápsulas permitem o confinamento do composto encapsulado em uma cavidade envolvida por uma membrana polimérica, diferente das nanoesferas que apresentam o composto disperso na matriz polimérica (COUVREUR et al., 1995) (Fig 2). Nesse grupo, as nanopartículas poliméricas destacam-se devido à sua alta estabilidade, alta eficiência de encapsulamento, maior facilidade de produção em larga escala e por melhor atuação na liberação controlada de compostos encapsulados e preservação de compostos bioativos (micronutrientes, polifenóis, enzimas, antioxidantes) (TEIXEIRA et al., 2008).

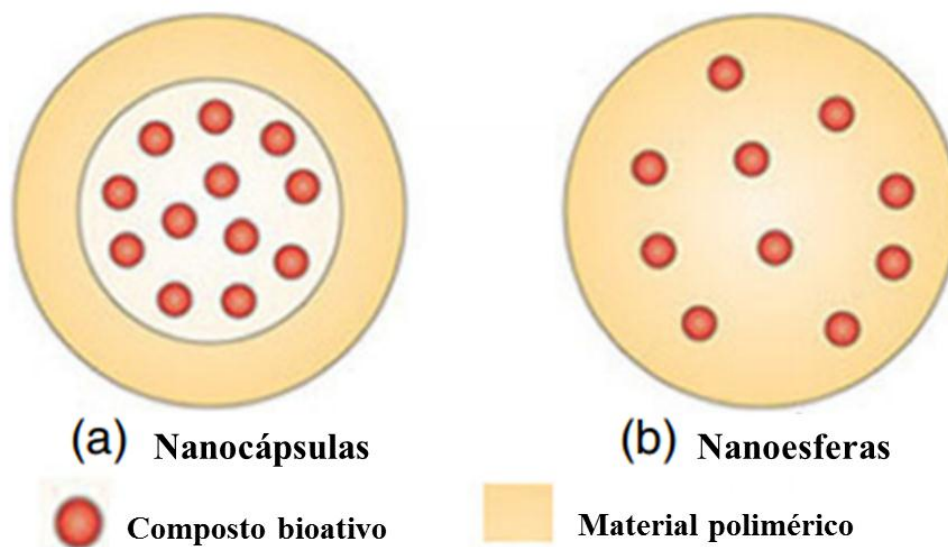


Figura 2. Representação esquemática de nanopartículas (a) e nanoesferas (b) Fonte: ORIVE et al., 2009.

Nanopartículas poliméricas são sistemas vesiculares em que os compostos específicos, solubilizados em um núcleo aquoso ou lipídico, são cobertos por uma única membrana polimérica (material de parede) (COUVREUR, et al., 2002). Estas podem ser sintetizadas por diferentes técnicas (SANTOS et al., 2016) contudo, a técnica por deslocamento de solvente (também chamada de deposição interfacial do polímero pré-formado ou nanoprecipitação) vem sendo amplamente aplicada para encapsular compostos bioativos, dentre eles o β -caroteno (RIBEIRO et al., 2008; SILVA et al., 2011; KIM et al., 2013; SILVA et al., 2016; SANTOS et al., 2016), por vantagens de custos, eficiência e facilidade do método (MORA-HUERTAS et al., 2011).

A síntese consiste em uma fase orgânica composta, em sua maioria, de uma mistura de solventes, polímero (o agente encapsulante: sintético, semissintético ou natural), do composto a ser encapsulado, e da fase aquosa que consiste de água. Se necessário, um surfactante é adicionado em ambas às fases. A fase orgânica é então dispersa na fase aquosa e posteriormente o solvente é removido por extração ou evaporação e as nanopartículas são formadas (Fig 3) (MUSYANOVYCH, et al., 2008; LEIMANN et al., 2012; SANTOS et al., 2016).

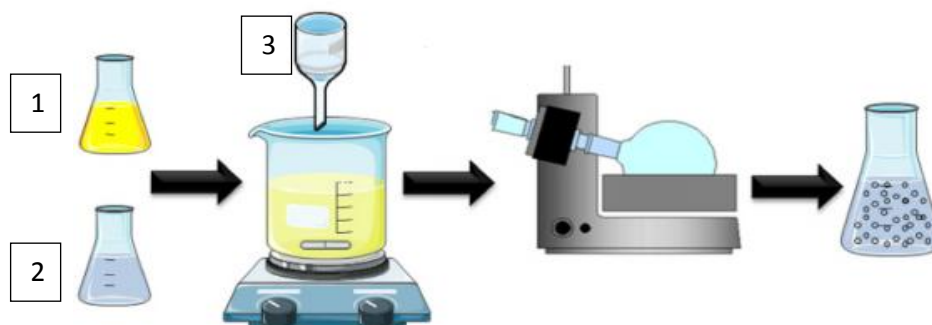


Figura 3. Representação esquemática da síntese de nanocápsulas pelo método de deslocamento de solvente. 1 - Fase orgânica (polímero, componente de interesse e solvente orgânico); 2- Fase aquosa (água, estabilizante); 3- Injeção da fase orgânica na fase aquosa. Fonte: SANTOS et al., 2016.

As nanopartículas poliméricas podem apresentar em sua constituição, tanto polímeros sintéticos quanto naturais, contudo, se a aplicação pretendida for à indústria alimentícia e farmacêutica, torna-se imprescindível a utilização de materiais Generally Recognized as Safe (GRAS), caracterizados como seguros, tais como polissacarídeos (pectina, goma arábica e xantana), proteínas alimentares (zeína, caseína), emulsionantes (lecitina, *Tweens*, *Spans*) (HUANG et al., 2010), bem como, polímeros sintéticos biodegradáveis (poli (ácido láctico) (PLA) e copolímeros, poli (lactido-co-glicolido) (PLGA); e poli (caprolactona- ϵ) (PCL) (SANTOS et al., 2016).

Apesar da viabilidade do uso de polímeros naturais, estudos recentes relatam que os polímeros mais empregados, associando à técnica de nanoencapsulamento de pigmentos naturais pelo método de deslocamento de solvente, são os poliésteres poli (ácido láctico) PLA, poli (lactídeo-co-glicolídeo) PLGA e o poli (ϵ -caprolactona) PCL (Tabela 1), sendo sua escolha justificada por apresentarem boa biodegradabilidade, biocompatibilidade e ausência de toxicidade, contudo já observa-se neste cenário nanotecnológico a crescente busca por polímeros cada vez mais biodegradáveis, naturais e aplicáveis na indústria alimentícia, tal como a pectina (DEEPAK et al., 2009; SHAKERI et al., 2014; YADAV et al., 2014; SANTOS et al., 2016).

Tabela 1. Polímeros mais utilizados na obtenção de nanopartículas poliméricas de pigmentos naturais por deslocamento de solvente.

Polímero	Componente encapsulado	Técnica empregada	Tamanho de partícula (nm)	PdI	Potencial Zeta (mV)	Eficiência de encapsulamento (%)	Referência
PCL	Curcumina	Deslocamento de solvente*	27	0,09	12,9	99,16	GOU et al., 2011
	Curcumina	Deslocamento de solvente*	198 ± 6	0,10 ± 0,01	-7,8 ± 0,7	100,00 ± 0,00	CORADINI et al., 2014
	Licopeno	Deslocamento de solvente*	193 ± 4,7	0,06 ± 0,02	-12,59 ± 3,62	95,12 ± 0,42	SANTOS et al., 2015
	Luteína, α -caroteno, β -caroteno (natural) (BALNs) e β -caroteno sintético (BNs)	Deslocamento de solvente*	166,53 ± 4,71 (BALNs) e 190,90 ± 7,87 (BNs)	0,08 ± 0,01 (BALNs) e 0,47 ± 0,03 (BNs)	-18,37 ± 2,06 (BALNs) e -9,08 ± 1,23 (BNs)	99,65 (BALNs) e 99,75 (BNs)	SILVA et al., 2016
	Bixina	Deslocamento de solvente*	195 ± 27	0,098 ± 0,03	-25,85 ± 6,58	98,63	LOBATO et al., 2013
	Curcumina	Deslocamento de solvente*	99,07	0,18	-5,58	83,00 ± 1,29	MANJILI et al., 2016
PLA	β -caroteno (natural e sintético)	Deslocamento de solvente*	≈ 150 a 800	Não relatado	-31,1 ± 2,1 a -23,8 ± 4,6 (sintético) e +4,8 ± 1,2 a +9,1 ± 2,8 (natural).	Não relatado	CAO-HOANG et al., 2011

Polímero	Componente encapsulado	Técnica empregada	Tamanho de partícula (nm)	PdI	Potencial Zeta (mV)	Eficiência de encapsulamento (%)	Referência
PLGA	Curcumina	Deslocamento de solvente*	80,9	Não relatado	-42,4	97,5	ANAND et al., 2010
PLA e PLGA	β -caroteno	Deslocamento de solvente*	74 – 77	Não relatado	Não relatado	Não relatado	RIBEIRO et al., 2008
PLA e PVA	Curcumina	Deslocamento de solvente*	\approx 120	Não relatado	-30	100	VERDERIO et al., 2013
GANTREZ®	Curcumina	Deslocamento de solvente*	532,2 \pm 15,2	0,32 \pm 0,11	-30,5 \pm 1,2	84,1 \pm 0,3	D'SOUZA E DEVARAJAN, 2016
CS, WPC, WPI	β -caroteno	Deslocamento de solvente*	13-171 (CS) 1730 (WPC) 201 (WPI)	Não relatado	-31 (CS) -15 (WPC) -16 (WPI)	Não relatado	CHU et al., 2007

Fonte: autoria própria, 2016. PCL: poli (ϵ -caprolactona); PLA: poli (ácido lático); PLGA: poli (ácido lático-co-ácido glicólico); PVA: álcool polivinílico; GANTREZ®: poli (metil vinil éter-co-maleicanhydride); CS=Caseinato de sódio; WPC=proteína do soro do leite concentrado; WPI=proteína do soro do leite isolado; PdI=Índice de polispersibilidade.

*Também chamada de deposição interfacial do polímero pré-formado ou nanoprecipitação

4. Pectina

A pectina é um polissacarídeo aniônico, de cadeia principal linear formada por repetidas unidades de ácido D-galacturônico unidos por ligações covalentes α (1 \rightarrow 4), com grupos carboxílicos de variável grau de esterificação, formadas por três principais frações: fração linear (homogalacturonana (HG)) e ramificadas conhecidas (ramnogalacturonana I (RG-I) e ramnogalacturonana II (RG-II) (WILLATS, KNOX & MIKKELSEN, 2006) (Fig 4).

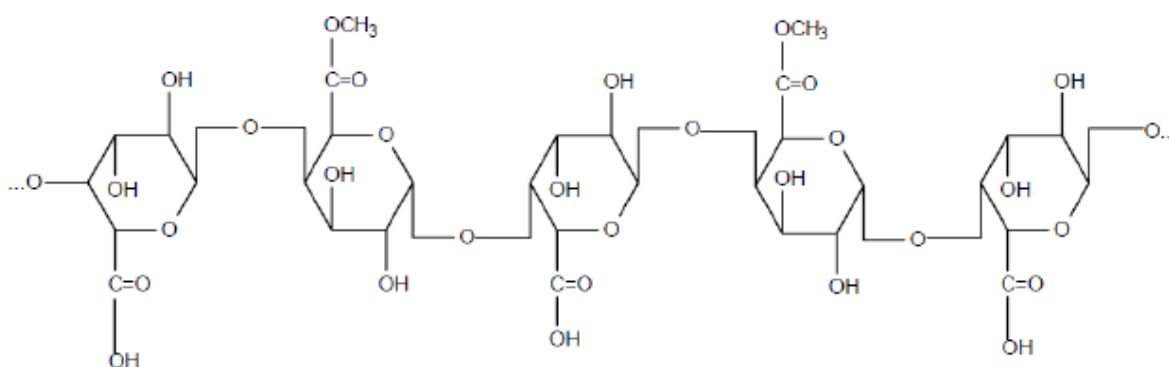


Figura 4: Estruturas de ácido D-galacturônico unidas por ligações covalentes α (1 \rightarrow 4).

As homogalacturonanas (HG) (mais abundante polissacarídeo pectico: 60-65% do total da pectina) apresentam em sua cadeia linear unidades de α -D-galactopiranosilurônico em ligações 1 \rightarrow 4, e grupos carboxilas parcialmente esterificados (BUCHANAN, GRUISSEM & JONES, 2000; WILLATS, KNOX & MIKKELSEN, 2006).

A ramnogalacturonana I (RG-I) (segundo polissacarídeo mais abundante: 20-35% da pectina) constitui em sua cadeia ramificada repetições de dissacarídeos de ácido galacturônico e ramnose, possuindo cadeias laterais de diferentes açúcares (principalmente arabinanas e galactanas (ligações: C-4)) (BUCHANAN, GRUISSEM & JONES, 2000). Já a ramnogalacturonana II (RG-II) apresenta-se como o polissacarídeo menos expressivo (10% da pectina) e estruturalmente mais complexo, formado por ácido galacturônico e cadeias laterais de até 12 diferentes tipos de açúcares, apiose ácido acético, ácido 3-deoxi-lixo-2-heptulosárico (DHA) e ácido 3 deoxi-mano-2-octulosônico (KDO) (VIDAL et al., 2000; BUCHANAN, GRUISSEM & JONES, 2000; GULFI, ARRIGONI & AMADÒ, 2007).

A partir de novos estudos, pode-se obter uma alternativa de modelo estrutural das substâncias pécicas, no qual a HG apresenta-se como cadeia lateral da RG-I (WILLATS et al., 2006) (Fig 5).

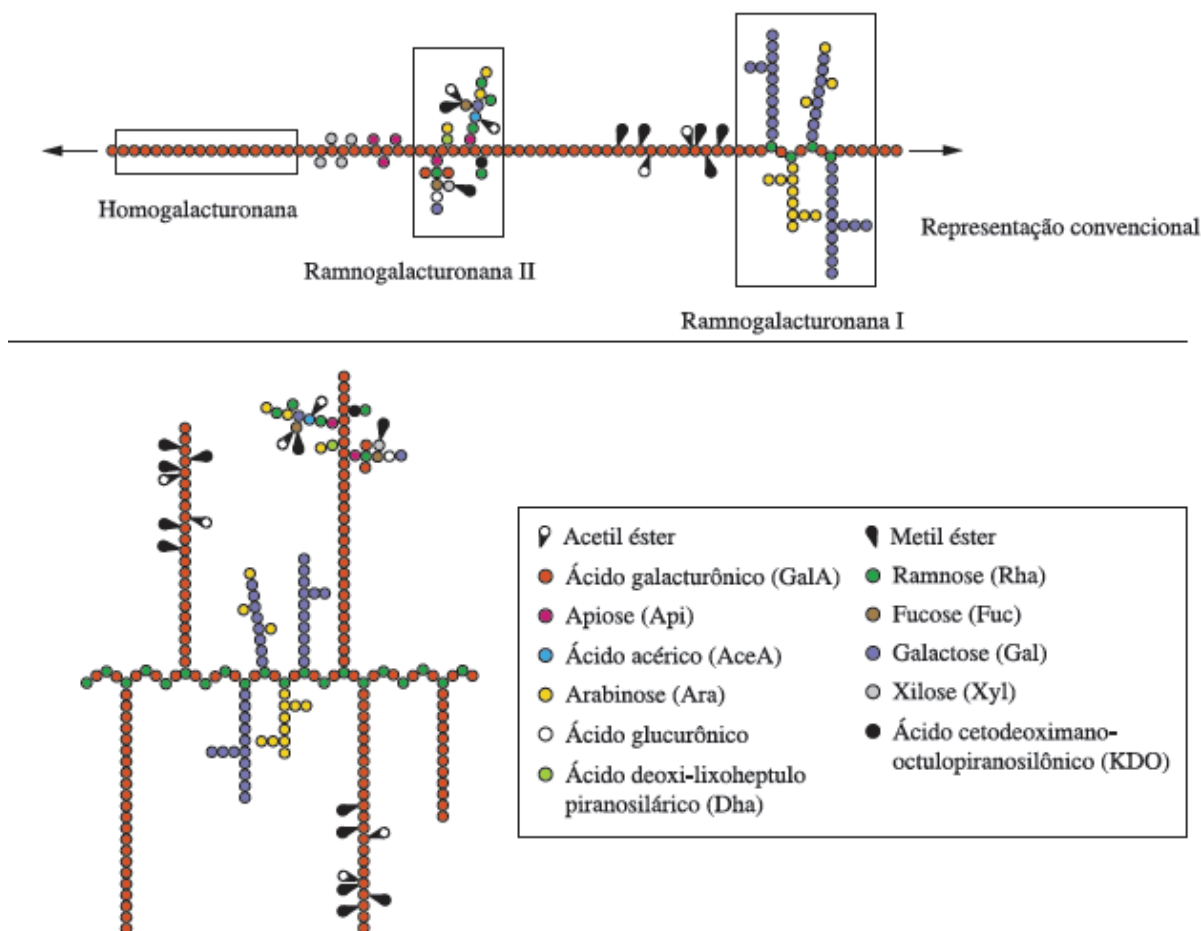


Figura 5: Representação hipotética da estrutura pécica.

Fonte: CANTERI et al. (2012).

Além da importância sobre a estrutura da pectina, faz-se necessário analisar o poder de formar gel desta substância através da análise do percentual de grupamentos esterificados das suas cadeias (grau de esterificação ou DE), uma vez que, esta propriedade direciona sua aplicabilidade tecnológica (CANTERI et al. 2012). Assim, a pectina pode ser classificada como de alta metoxilação (HM ou AM) (com percentual de grupamentos esterificados na cadeia superior a 50%) ou de baixa metoxilação (LM ou BM), com DE inferior a este percentual. Contudo, esta capacidade gelificante pode estar associado com outros fatores interdependentes, como a massa molar,

heterogeneidade, pH, grau de amidação, presença de açúcares e outros (VIDECOQ et al., 2011; CANTERI et al., 2012). Além desta característica, esse material péctico apresenta caráter, emulsionante, estabilizador e espessante (BREJNHOLT, 2009; CODEX ALIMENTARIUS, 2005) que lhe confere ampla aplicabilidade na indústria de alimentos (JOUDAKI et al., 2013), farmacêutica (GÜNTER & POPEYKO, 2016) e de cosméticos (LUPI et al., 2014). De acordo com o Comitê FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA), a pectina é considerada um aditivo seguro, sem limite de ingestão diária aceitável (Codex Alimentarius No. 440), biodegradável e de fácil obtenção (CHAN et al., 2017), apresentando desta forma, características atrativas, favoráveis à sua incorporação como material polimérico em produtos alimentares.

4.1. Fontes

As substâncias pécticas estão presentes em várias espécies de alimentos, principalmente nas frutas e vegetais, tendo o seu teor variável a depender da origem botânica do produto vegetal, condições climáticas e de cultivo (CANTERI et al., 2012).

A pectina de maior comercialização é principalmente extraída de cascas de frutos cítricos (85,5 %), bagaço de maçã (14,0 %) e, em menor escala, polpa de beterraba (0,5%) (STAUNSTRUP, 2009; CIRIMINNA et al., 2015). Os métodos utilizados para extração da pectina vão desde os tradicionais com utilização de ácidos orgânicos (ácido acético, cítrico, láctico, málico e tartárico (YAPO, 2009a; YAPO, 2009b; CHAN & CHOO, 2013; JAMSAZZADEH KERMANI et al., 2014), até os mais modernos como a técnica de Ultrassom (GRASSINO, et al., 2016), Ultra alta pressão (GUO et al., 2012), Micro-ondas (HOSSEINI, KHODAIYAN & YARMAND, 2016), Campo elétrico e Ondas eletromagnéticas (ZOUAMBIA, et al., 2016). Contudo, a depender da técnica de extração utilizada, as características estruturais e físico-químicas da pectina podem sofrer alterações (GUO et al., 2012; WANG et al., 2015). Assim, analisar as vantagens e desvantagens de cada método torna-se imprescindível, a fim de minimizar a produção de resíduos e alto consumo de energia, preservar as características da pectina e elevar o rendimento do processo.

Há uma busca crescente da utilização de subprodutos ricos neste material péctico (BREJNHOLT, 2009). Dentre as fontes viáveis, se destaca a casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) (LIEW, CHIN & YUSOF, 2014; SEIXAS, et al., 2014), que apresenta grande potencial tecnológico, principalmente como espessante,

estabilizante e gelificante (COELHO et al., 2017), ingrediente funcional em alimentos (PINELI et al., 2015), e na produção de embalagens (NASCIMENTO, et al., 2012).

4.1.1. Maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims. *flavicarpa*)

O maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) é uma fruta tipicamente originária de países tropicais da América do Sul, do qual o Brasil, por possuir condições favoráveis de cultivo, apresenta-se como o maior produtor (12 a 15 toneladas por hectare) exportador e consumidor deste produto, o que contribui para expansão do setor agrícola do país (IBGE, 2014), contudo alguns fatores como: elevado custo da mão de obra e de fertilizantes e surgimento de novas pragas impedem maior produção desta fruta (SÃO JOSÉ & PIRES, 2011; PIRES et al., 2011).

No Brasil, a região Nordeste é a maior produtora do maracujá, principalmente do maracujá amarelo (Bahia (65,3 %), Ceará (24,7 %), Sergipe (5,3 %) e Pernambuco (2 %), seguido pelas regiões Sudeste, Norte, Sul e Centro-Oeste. Sendo a Bahia no ano de 2014, responsável por mais de 30 mil hectares de área plantada (12,434 Kg/hectare: 381 mil toneladas do fruto) (IBGE, 2014).

Em análise botânica, o maracujá amarelo apresenta forma ovoide, raramente fusiforme, e quando maduros, sua casca (epicarpo) possui coloração amarela e brilhante (peso entre 70 e 130g). Seu interior é revestido pelo albedo (mesocarpo) que armazena uma polpa (endocarpo) de coloração amarela e consistência gelatinosa (arilo) (Fig 6) (BRUCKNER & PINCANÇO, 2001).

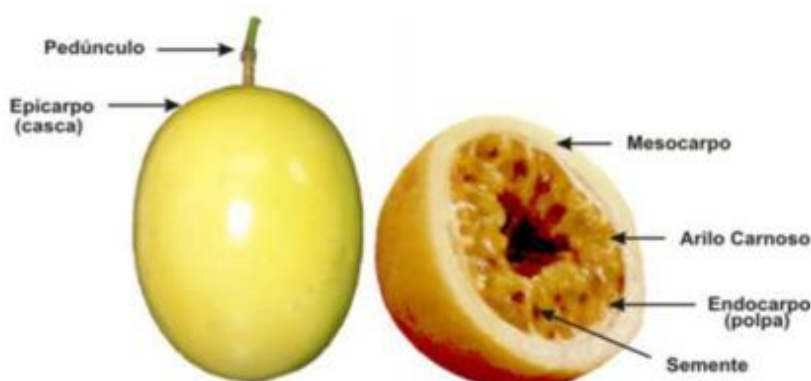


Figura 6. Características botânicas do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*). Fonte: Federação da Agricultura do Estado do Paraná (FAEP), 2010.

A relevância econômica para o Brasil do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) é evidenciada com a produção de sucos concentrados, sendo exportados cerca de 76 % da produção nacional para Holanda, Estados Unidos, Porto Rico, Japão e Alemanha (MELETTI, 2011). Contudo, a literatura documenta recentes trabalhos que demonstram o aproveitamento dos resíduos industriais a partir da utilização das cascas deste produto que se destaca por apresentar mais da metade do peso da fruta (50,5 %). Interesse este atribuído às quantidades expressivas de pectina que compõe essa matriz (NASCIMENTO, et al., 2012; PINELI et al., 2015; COELHO et al., 2017).

No Brasil, 54 mil toneladas/ano de resíduos industriais a partir da casca e sementes do maracujá amarelo são geradas (LÓPEZ-VARGAS et al., 2013), entretanto, sua boa composição química (Tabela 2) e nutricional (vitamina C, cálcio, fósforo e vitaminas do complexo B (B1 e B2)) (CAMPOS & SANTOS, 2011) agregam valor a este subproduto, podendo esta composição sofrer variações de acordo com o estágio de maturação e condições de cultivo.

Tabela 2: Composição química da farinha da casca de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*)

Variáveis	Farinha de cascas do maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i>)					
	LOPES –VARGAS et al., 2013	CAZARIN et al., 2014	HERNANDEZ-SANTOS et al., 2015	SANTOS et al., 2015	OLIVEIRA et al., 2016	COELHO et al., 2017
Umidade (%)	-	9,48 ± 0,26	-	5,73	4,75 ± 0,66	6,40 ± 0,02
Cinzas (%)	8,08	6,88 ± 0,02	6,44 ± 0,14	6,62 ± 0,02	7,24 ± 0,09	7,14 ± 0,02
Proteína (N x 6,25)	0,35	3,94 ± 0,18	4,62 ± 0,16	8,93 ± 0,00	7,88 ± 0,52	3,85 ± 0,03
Lipídeos (%)	1,00	0,31 ± 0,01	0,64 ± 0,02	1,45 ± 0,1	0,98 ± 0,15	0,85 ± 0,00
Fibra Total (%)	71,79	65,22 ± 0,27	57,63 ± 2,72	53,94 ± 0,03	63,98 ± 0,11	61,32 ± 0,65
Fibra Insolúvel (%)	52,34	48,12 ± 1,10	46,18 ± 3,76	39,06 ± 0,03	-	38,48 ± 1,17
Fibra Solúvel (%)	19,45	17,11 ± 1,36	11,75 ± 1,21	14,87 ± 0,01	-	22,00 ± 1,13
Pectina (%)	-	-	-	-	13,54 ± 1,01	16,42 ± 0,45

O interesse tecnológico na utilização da farinha da casca do maracujá amarelo é evidenciado em recentes estudos, entretanto, percebe-se que seu uso como material polimérico encapsulante na obtenção de nanopartículas ainda não foi explorado (Tabela 3).

Tabela 3: Interesse tecnológico da farinha da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*)

Autor	Objetivo/produto	Resultados
NASCIMENTO et al., 2012	Produção e caracterização filmes flexíveis.	Filmes duros, mais fortes e flexíveis.
LÓPEZ-VARGAS et al., 2013	Determinação da composição química, propriedades físico-químicas, tecnológicas, microbiológicas, teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante da farinha para a utilização como um ingrediente natural alimentar.	A boa composição química, sendo rica em fibras, elevado potencial antioxidante e capacidade antibacteriana.
SEIXAS et al., 2014	Análise da extração de pectina sob aquecimento induzido por micro-ondas.	A pectina apresentou melhores propriedades: alta massa molar, alto grau de esterificação e alto teor de ácidos urônicos.
SANTOS et al., 2015	Avaliação a influência de diferentes combinações de soro em pó, quirera de arroz e farinha da casca de maracujá sobre as características físicas, químicas e funcionais.	O cereal matinal produzido com a farinha da casca do maracujá era mais rico em fibras dietéticas, mas a expansão do cereal foi menor, e a cor mais escura.
PERINA et al., 2015	Produção de um novo iogurte funcional	O produto formulado com farinha da casca de maracujá apresentou diminuição na firmeza.
OLIVEIRA et al., 2016	Investigação do potencial de pressão elevada para extrair a pectina	Alto rendimento e ótimos resultados para grau de esterificação e teor de ácido galacturônico.
OLIVEIRA et al., 2016	Determinação das propriedades físico-químicas, tecnológicas, fitoquímicas e morfológicas da farinha para uso como ingredientes alimentares naturais.	A farinha do maracujá amarelo apresentou boa composição química, rica em fibras dietéticas e contendo bons níveis de compostos fenólicos.
COELHO et al., 2017	Avaliação/comparação das propriedades tecnológicas das amostras de farinha com aditivos comerciais no que diz respeito ao seu espessamento, estabilizantes, agentes emulsionantes e poder de gelificação.	A farinha da casca de maracujá amarelo pode ser usada para substituir os hidrocoloides comerciais estudados por apresentarem características técnicas semelhantes no que respeita à sua estabilização, emulsionante, espessante e poder gelificante.

Referências

- AISSA, A. F. Avaliação da atividade antimultagênica do β -caroteno microencapsulado em células de rato tratados com o antitumoral doxorrubicina empregando os ensaios de micronúcleo e cometa. 2010. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Toxicológicas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.
- AMBROSI, M. A., REINEHR, C. O., BERTOLIN, T. E., COSTA, J. A. V., & COLLA, L. M. Propriedades de saúde da microalga *Spirulina*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, p. 115-123, 2008.
- AMBRÓSIO, C. L. B., CAMPOS, F. A. C. S., & FARO, Z. P. de. Carotenoides como alternativa contra hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, v. 19, p. 233-243, 2006.
- ANAND, P., NAIR, H. B., SUNG, B., KUNNUMAKKARA, A. B., YADAVA, V. R., TEKMAL, R. R., & AGGARWAL, B. B. Design of curcumin-loaded PLGA nanoparticles formulation with enhanced cellular uptake, and increased bioactivity in vitro and superior bioavailability in vivo. **Biochemical Pharmacology**, v. 79, p. 330-338, 2010.
- BARBOSA-FILHO, J. M., ALENCAR, A. A., NUNES, X. P., TOMAZ, A. C. A., SENA-FILHO, J. G., ATHAYDE-FILHO, P. F., SILVA, M. S., SOUZA, M. F.V., & CUNHA, E.V. L. Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: A twentieth century review. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, p. 135-154, 2008.
- BBC-RESEARCH. The Global Market for Carotenoids, 2011.
- BENAVENTE-VALDÉSA, J. R., AGUILARA, C., CONTRERAS-ESQUIVELA, J. C., MÉNDEZ-ZAVALAB, A., & MONTAÑEZ, J. Strategies to enhance the production of photosynthetic pigments and lipids in chlorophyceae species. **Biotechnology Reports**, v. 10, p. 117-125, 2016.
- BREJNHOLT, S. M. Pectin. In Food stabilisers, thickeners and gelling agents. p. 237-265, 2009. Wiley-Blackwell.
- BRUCKNER, C. H., & PINCANÇO, M. C. Maracujá: tecnologia de produção pós colheita, agroindústria e mercado. Editora C. Continentes, Porto Alegre, 2001.
- BUCHANAN, B., GRUISSEM, W., & JONES, R.L. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. Rockville: **American Society of Plant Physiologists**, p. 1408, 2000.
- CAMPOS, G.A. & SANTOS, D. Maracujá. Palmas, Fundação Universidade de Tocantins – UNITINS. Guia Técnico, p. 12, 2011.
- CANTERI, M. H. G., MORENO, L., WOSIACKI, G., AGNES, P., & SCHEER, A. P. Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. **Polímeros**, v. 22, p. 149-157, 2012.

CAO-HOANG, L., FOUGÉRE, R., & WACHÉ, Y. Increase in stability and change in supramolecular structure of β -carotene through encapsulation into poly lactic acid nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 124, p. 42-49, 2011.

CAZARIN, C. B. B., DA SILVA, J. K., COLOMEU, T. C., ZOLLNER, R. L., & MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural**, v.44, p.1699-1704, 2014.

CHAN, S. Y., CHOOA, W. S., YOUNGA, D. J., LOH, X. J. Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. **Carbohydrate Polymers**, v. 161, p. 118-139, 2017.

CHAN, S.-Y., & CHOO, W.-S. Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3752-3758, 2013.

CHRISTAKI, E., BONOS, E., GIANNENASA, I., & FLOROU-PANERIA, P. Functional properties of carotenoids originating from algae. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 5-11, 2013.

CHU, B., ICHIKAWA, S., KANAFUSA, S., & NAKAJIMA, M. Preparation and Characterization of β -Carotene Nanodispersions Prepared by Solvent Displacement Technique. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 6754-6760, 2007.

CHU, W. L., LIM, Y. W., RADHAKRISHNAN, A. K., & LIM, P. E. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. **BioMed Central Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, p. 3-8, 2010.

CIRIMINNA, R., CHAVARRÍA-HERNÁNDEZ, N., INÉS RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, A., & PAGLIARO, M. Pectin: A new perspective from the biorefinery standpoint. **Biofuels Bioproducts and Biorefining**, v. 9, p. 368-377, 2015.

COELHO, E. M., GOMES, R. G., MACHADO, B. A. S., OLIVEIRA, R. S., SANTOS LIMA, M., AZEVEDO, L. C., & UMSZA GUEZ, M.A. Passion fruit peel flour e Technological properties and application in food products. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 158-164, 2017.

CORADINI, K., LIMA, F. O., OLIVEIRA, C. M., CHAVES, P. S., ATHAYDE, M. L., CARVALHO, L. M., & BECK, R. C. R. Co-encapsulation of resveratrol and curcumin in lipid-core nanocapsules improves the in vitro antioxidant effects. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 88, p. 178-185, 2014.

COUVREUR, P., BARRATT, G., FATTAL, E., & VAUTHIER, C. Nanocapsule technology: a review. **Therapeutical Drug Carrier Systems**, v. 19, p. 99-134, 2002.

COUVREUR, P., DUBERNET, C., & PUISIEUX, F. Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 41, p. 2-13, 1995.

- D'SOUZA, A. A., & DEVARAJAN, P. V. Bioenhanced oral curcumin nanoparticles: Role of carbohydrates, **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 1251-1258, 2016.
- DEEPAK, V., PANDIAN, S. R. K., KALISHWARALAL, K., & GURUNATHAN, S. Purification, immobilization, and characterization of nattokinase on PHB nanoparticles. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 6644-6646, 2009.
- DERNER, R. B., OHSE, S., VILLELA, M., CARVALHO, S. M. de, & FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1959-1967, 2006.
- FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA DO ESTADO DO PARANÁ (FAEP). Cartilha on line, disponível em: www.faep.com.br/comissoes/frutas/maracuja.htm. Acesso em: 02/03/2017.
- GOU M., MEN K., SHI H., XIANG M., ZHANG J., SONG J., LONG J., WAN Y., LUO F., ZHAO X., & QIAN Z. Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy in vitro and in vivo. **Nanoscale**, v. 3, p. 1558-1567, 2011.
- GRASSINO, A. N., BRNCIC, M., VIKIC-TOPIC, D., ROCA, S., DENT, M., & BRNCIC, S. R. (2016). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. **Food Chemistry**, v.198, p. 93-100, 2016.
- GULFI, M., ARRIGONI, E., & AMADÒ, R. In vitro fermentability of pectin fraction rich in hairy regions. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 410-416, 2007.
- GÜNTER, E. A., & POPEYKO, O. V. Calcium pectinate gel beads obtained from callus cultures pectins as promising systems for colon-targeted drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 490-499, 2016.
- GUO, X., HAN, D., XI, H., RAO, L., LIAO, X., HU, X., & WU, J. Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: A comparison. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 441-448, 2012.
- GUTIÉRREZ, F. J., ALBILLOS, S. M., CASAS-SANZ, E., CRUZ, Z., GARCIA-ESTRADA, C., GARCIA-GUERRA, A., GARCIA-REVERTER, J., GARCIA-SUAREZ, M., GATON, P., GONZALEZ-FERRERO, C., OLABARRIETA, I., OLASAGASTI, M., RAINIERI, S., RIVERA-PATINO, D., ROJO, R., ROMO-HUALDE, A., SAIZ-ABAJO, M., & MUSSONS, M. Methods for the nanoencapsulation of β -carotene in the food sector. **Trends in Food Science & Technology**, v. 32, p. 73-83, 2013.
- HERNÁNDEZ-SANTOS, B., VIVAR-VERA, M. A., RODRÍGUEZ-MIRANDA, J., HERMAN-LARA, E., TORRUCO-UCO, J. G., ACEVEDO-VENDRELL, O., & MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, C. E. Dietary fibre and antioxidant compounds in passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) peel and depectinised peel waste. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, p. 268-274, 2015.
- HOSSEINI, S. S., KHODAIYAN, F., & YARMAND, M. S. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 140, p. 59-65, 2016.

HUANG, Q., YU, H., & RU, Q. Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. **Journal of Food Science**, v. 75, p. 50-57, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2014. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=ba&tema=lavorapermanente2014>>. Acesso em: 4 de junho de 2015.

JAMSAZZADEH KERMANI, Z., SHPIGELMAN, A., KYOMUGASHO, C., VAN BUGGENHOUT, S., RAMEZANI, M., VAN LOEY, A. M., & HENDRICKX, M. E. (2014). The impact of extraction with a chelating agent under acidic conditions on the cell wall polymers of mango peel. **Food Chemistry**, v. 161, p. 199-207, 2014.

JOUDAKI, H., MOUSAVI, M., SAFARI, M., RAZAVI, S. H., EMAM-DJOMEH, Z., & GHARIBZAHEDI, S. M. T. A practical optimization on salt/high-methoxyl pectin interaction to design a stable formulation for Doogh. **Carbohydrate Polymers**, v. 97, p. 376-383, 2013.

KIM, J., SEO, T., & LIM, S. Preparation of aqueous dispersion of β -carotene nanocomposites through complex formation with starch dextrin. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 256-263, 2013.

KONAN, Y. N., GURNY, R., & ALLÉMANN, E. Preparation and characterization of sterile and freeze-dried sub-200 nm nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 233, p.239-252, 2002.

LEIMANN, F. V., BIZ, M. H., MUSYANOVYCH, A., SAYER, C., LANDFESTER, K., & ARAÚJO, P. H. H. Hydrolysis of poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 128, p. 3093–3098, 2012.

LIEW, S. Q., CHIN, N. L., & YUSOF, Y. A. Extraction and characterization of pectin from passion fruit peels. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p.231-236, 2014.

LOBATO, K. B. S. Characterisation and stability evaluation of bixin nanocapsules. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3906-3912, 2013.

LOPEZ-VARGAS, J. H., FERNANDEZ-LOPEZ, J., PEREZ ALVAREZ, J. A., & VIUDA-MARTOS, M. Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) co-products. **Food Research International**, v. 51, p. 756-763, 2013.

LUPI, F. R., GABRIELE, D., SETA, L., BALDINO, N., DE CINDIO, B., & MARINO, R. Rheological investigation of pectin-based emulsion gels for pharmaceutical and cosmetic uses. **Rheologica Acta**, v. 54, p. 41-52, 2014.

MALA, R., KARTHIK, V., SAKTHISELVAN, S., & SARAVANABABU, S. Milking of *Spirulina platensis* for the production of carotenoids by aqueous two phase bioreactor systems. **International Journal of Chemical Sciences**, v. 8, p. 84-91, 2010.

MANJILI, H. K., SHARAFI, A., DANAFAR, H., HOSSEINI, M.; RAMAZANIC, A., & GHASEMI, M. H. Poly (copropactone)-poly (ethylene-glycol)-poly(coprolactone) (PCL-PEG-PCL) nanoparticles: a valuable and efficient system for in vitro and in vivo delivery of curcumin. **Royal Society of Chemistry**, v. 6, p. 14403–14415, 2016.

MELETTI, L.M.M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 083-091, 2011.

MORA-HUERTAS, C. E., FESSI, H., & ELAISSARI. Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification–diffusion methods Critical comparison. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 163, p. 90-122, 2011.

MUSYANOVYCH, A., SCHMITZ-WIENKE, J., MAILÄNDER, V., WALTHER, P., & LANDFESTER, K. Preparation of biodegradable polymer nanoparticles by miniemulsion technique and their cell interactions. **Macromolecular Bioscience**, 8, 127–139, 2008.

NASCIMENTO, T. A., CALADO, V., & CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v. 49, p. 588-595, 2012.

OLIVEIRA, C. F., GURAK, P. D., CLADERA-OLIVERA, F. & MARCZAK, L. D. F. Evaluation of physicochemical, technological and morphological characteristics of powdered yellow passion fruit peel. **Food Research Journal**, v. 23, p. 1653-1662, 2016.

OLIVEIRA, C. F., GURAK, P. D., CLADERA-OLIVERA, F., MARCZAK, L. D. F., & KARWE, M. Combined Effect of High-Pressure and Conventional Heating on Pectin Extraction from Passion Fruit Peel. **Food Bioprocess Technol**, v. 9, p. 1021–1030, 2016.

OLIVEIRA, L. F. DE, NASCIMENTO, M. R. F., BORGES, S. V., RIBEIRO, P. C. DO N., & RUBACK, V. R. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá amarelo (*passiflora edulis f. flavicarpa*) para produção de doce em calda. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 259e262, 2002.

ORIVE, G., ANITUA, E., PEDRAZ, J. L., & EMERICH, D. F. Biomaterials for promoting brain protection, repair and regeneration. **Nature Reviews Neuroscience**, v.10, p. 682-692, 2009.

PERINA, N.P., D. GRANATO, C. HIROTA, A.G. CRUZ, C.S.B. BOGSAN, M.N. & OLIVEIRA. Effect of vegetal-oil emulsion and passion fruit peel-powder on sensory acceptance of functional yogurt. **Food Research International**, v. 70, p. 134–141, 2015.

PINELI, L. DE O., RODRIGUES, J. DA. S. Q., COSTA, A. M., LIMA, H. C. DE, CHIARELLO, M. D., & MELO, L. Antioxidants and sensory properties of the infusions of wild *passiflora* from Brazilian savannah: Potential as functional beverages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 1500-1506, 2015.

PIRES, K. M. S., ALENCAR, D. B. de, SOUSA, M. B. de, SAMPAIO, A. H., & SAKER-SAMPAIO, S. Teores de α -caroteno e β -caroteno em macroalgas marinhas desidratadas. **Revista de Ciência Agronômica**, v. 39, p. 257-262, 2008.

PIRES, M. M.; GOMES, A.D.A.S.; MIDDLEJ, M.M.B.C.; SÃO JOSÉ, A.R.; ROSADO, P.L.; & PASSOS, H.D.B. Caracterização do mercado de maracujá. In: PIRES, M. M.; SÃO JOSÉ, A.R.; CONCEIÇÃO, A. O. (Eds.) Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade. Ilhéus, Editus. p. 21- 67. 2011.

QIAN, C., DECKER, E. A., XIAO, H., & MCCLEMENTS, D. J. Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1221–1229, 2012.

RIBEIRO, H.S., CHU, B., ICHIKAWA. S., & NAKAJIMA. M. Preparation of nanodispersions containing β -carotene by solvent displacement method. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 12-17, 2008.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B & KIMURA, M. Harvest plus handbook for carotenoid analysis. **Washington, DC e Cali: International Food Policy Research Institute e International Center for Tropical Agriculture**, p.58, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids - A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 726-740, 2010.

SANGUANSRI, P., & AUGUSTIN, M. A. Nanoscale materials development—a food industry perspective. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, p. 547-556, 2006.

SANTOS P. P., FLORES, S.H., RIOS, A. O., & CHISTÉ, R. C. Biodegradable polymers as wall materials to the synthesis of bioactive compound nanocapsules. **Trends in Food Science & Technology**, v. 53 p. 23-33, 2016.

SANTOS, P. A., CALIARI, M., JUNIOR, M. S. S., VIANA, L. F., & LEITE, N. D. Whey Powder, Broken Rice Grains and Passion Fruit Peel Flour in Extruded Breakfast Cereals: Physical, Chemical and Functional Characteristics. **Food Science and Technology Research**, v. 21, p. 317-325, 2015.

SANTOS, P. P., PAESE, K., STANISC, S., GUTERRES, S. S., POHLMANN, A. R., COSTA, T. H., FLÔRES, S. H., & RIOS, A. O. Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 15, p. 1-11, 2015.

SÃO JOSÉ, A.R. & PIRES, M. M. Aspectos gerais da cultura do maracujá no Brasil. In: PIRES, M. M., SÃO JOSÉ, A.R., & CONCEIÇÃO, A. O. (Eds.) Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade. Ilhéus, Editus, 2011. p. 13-19.

SEIXAS, F.L., FUKUDA, D.L., TURBIANI, F.R.B., GARCIA, P.S., & PETKOWICZ, C.L.O., JAGADEVAN, S., & GIMENES, M. L. Extraction of pectin from passion fruit

peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) by microwave-induced heating. **Food Hydrocolloids**, v. 38, p. 186-192, 2014.

SHAKERI, F., SHAKERI, S., & HOJJATOLESLAMI, M. Preparation and Characterization of Carvacrol Loaded Polyhydroxybutyrate Nanoparticles by Nanoprecipitation and Dialysis Methods. **Journal of Food Science**, v. 79, p. 697-715, 2014.

SILVA, H. D., CERQUEIRA, M. A., SOUZA, B. W. S., RIBEIRO, C., AVIDES, M.M C., QUINTAS, M. A. C., COIMBRA, J. S. R., CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G., & VICENTE, A. A. Nanoemulsions of β -carotene using a highenergy emulsification-evaporation technique. **Journal of Food Engineering**, v, 102, p. 130-135, 2011.

SILVA, M. M., NORA, L., CANTILLANO, R. F. F., PAESE, K., GUTERRES, S. S., POHLMANN, A. R., COSTA, T. M. H., &RIOS, A. O. The Production, Characterization, and the Stability of Carotenoids Loaded in Lipid-Core Nanocapsules. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, p. 1148–1158, 2016.

SOUZA, M. M. Potencial antifúngico e antioxidante dos extratos fenólicos de *Chlorella* sp. e *Spirulina platensis* e a capacidade desta de inibir a síntese de aflatoxinas. 2012. 165 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Escola de Química de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, 2012.

STAUNSTRUP, J. Citrus pectin production and world market. The international citrus & beverage conference, 2009.

TEIXEIRA, Z., DURÁN, N., & GUTERRES, S.S. Annatto Polymeric Microparticles: Natural Product Encapsulation by the Emulsion–Solvent Evaporation Method. **Journal of Chemical Education**, v. 85, p. 946-947, 2008.

VALDUGA, E., TATSCH, P. O., TIGGEMANN, L., TREICHEL, H., TONIAZZO, G., ZENI, J., DI LUCCIO, M., &FÚRIGO JÚNIOR, A. Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Química Nova**, v. 32, p. 2429-2436, 2009.

VAZ, B. S., MOREIRA, J. B., MORAIS, M. G., & COSTA, J. A. V. Microalgae as a new of bioactive compounds in food supplements. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 73-77, 2016.

VERDERIO, P., BONETTI, P., COLOMBO, M., PANDOLFI, L., & PROSPERI, D. Intracellular drug release from curcumin-loaded PLGA nanoparticles induces G2/M block in breast cancer cells. **Biomacromolecules**, v. 14, p. 672–682, 2013.

VIDAL, S., DOCO, T., WILLIAMS, P., PELLERIN, P., YORK, W.S., & O'NEIL, M.A. Structural characterization of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II: evidence for the backbone location of the aceric acid-containing oligoglycosyl side chain. **Carbohydrate Research**, v. 326, p. 277 - 294, 2000.

VIDECOQ, P., GARNIER, C., ROBERT, P., BONNIN, E. Influence of calcium on pectin methylesterase behaviour in the presence of medium methylated pectins. **Carbohydrate Polymers**, v, 86, p. 1657-1664, 2011.

WANG, W., MA, X., XU, Y., CAO, Y., JIANG, Z., DING, T. & LIU, D. Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. **Food Chemistry**, v. 178, p. 106-114, 2015.

WILLATS, W. G. T., KNOX, J. P., & MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97-104. 2006.

YADAV, D., & KUMAR, N. Nanonization of curcumin by antisolvent precipitation: Process development, characterization, freeze drying and stability performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 477, p. 564–577, 2014.

YAPO, B. M. Biochemical characteristics and gelling capacity of pectin from yellow passion fruit rind as affected by acid extractant nature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57(4), p. 1572–1578, 2009a.

YAPO, B. M. Pectin quantity, composition and physicochemical behaviour as influenced by the purification process. **Food Research International**, v. 42, p.1197-1202, 2009b.

YI, J., LAM, T. I., YOKOYAMA, W., CHENG, L.W., & ZHONG, F. Cellular Uptake of β -Carotene from Protein Stabilized Solid Lipid Nanoparticles Prepared by Homogenization–Evaporation Method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 1096-1104, 2014.

ZHANG, Z., RUOJIE, Z., & MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of b-carotene in alginate-based hydrogel beads: Impact on physicochemical stability and bioaccessibility. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 1-10, 2016.

ZOUAMBIA, Y., YOUCEF ETTOUMI, K., KREA, M., & MOULAI-MOSTEFA, N. A new approach for pectin extraction: Electromagnetic induction heating. *Arabian Journal of Chemistry*, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.011>.

CAPÍTULO II

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANODISPERSÕES DE β -CAROTENO NATURAL OBTIDO DE *SPIRULINA* SP. E SINTÉTICO COM FARINHA DE ALBEDO DE MARACUJÁ E PECTINA CÍTRICA COMERCIAL COMO AGENTES ENCAPSULANTES

Nas normas da revista *Food and Bioprocess Technology*

Resumo

A farinha do albedo do maracujá amarelo apresenta-se como alternativa de material encapsulante natural de carotenoides por ser fonte de pectina. O objetivo desse estudo foi obter nanodispersões ricas em β -caroteno natural (extrato obtido de *Spirulina* sp. LEB 18) e sintético, por deslocamento de solvente, comparando o efeito da farinha do albedo de maracujá amarelo e da pectina comercial como agentes encapsulantes nas suas características físico-químicas e estabilidade durante armazenamento refrigerado. Foram produzidas 4 formulações ($\cong 130 \mu\text{g/mL}$): A= Farinha de albedo + Extrato; B= Farinha de albedo + β -caroteno; C: Pectina comercial + β -caroteno e D: Pectina comercial + Extrato. Estas foram caracterizadas quanto ao tamanho de partícula, potencial zeta, índice de polidispersão, viscosidade, pH, cor (escala CIELab), eficiência de encapsulação, Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), atividade antioxidante, estabilidade e retenção de carotenoides durante 60 dias de armazenamento (4°C). Independente do polímero utilizado, o diâmetro médio das partículas no tempo zero foi de $84,40 \pm 1,20 \text{ nm}$ e após armazenamento variou de $82,29 \pm 0,51$ a $86,83 \pm 0,50 \text{ nm}$ e de $82,94 \pm 0,35$ a $91,26 \pm 0,79 \text{ nm}$ para as formulações contendo farinha e pectina comercial, respectivamente. Os dois materiais poliméricos desempenharam papel estabilizante, com uniformidade no tamanho das partículas e eficiência de encapsulação próximas a 100 %, boa atividade antioxidante ($92,79 \pm 0,03$ a $59,41 \pm 0,08 \%$) e melhor retenção de carotenoides para as formulações A e D, respectivamente ($58,78 \pm 0,02$ e $60,33 \pm 0,03 \%$ (zeaxantina) e $63,25 \pm 0,01$ e $65,45 \pm 0,01 \%$ (all-*trans*- β -caroteno). Os resultados obtidos demonstram a viabilidade do aproveitamento da farinha do albedo do maracujá amarelo como polímero natural na obtenção de nanodispersões ricas em β -caroteno, evidenciando uma alternativa promissora e de baixo custo para substituição de polímeros comerciais.

Palavras-chave Nanopartículas. Encapsulamento. Carotenoides. Antioxidantes. *Spirulina* sp.

Abstract

Yellow passion fruit albedo flour presents as an alternative of natural encapsulating material of carotenoids as a source of pectin. The objective of this study was to obtain nanodispersions rich in natural β -carotene (extract obtained from *Spirulina* sp. LEB 18) and synthetic by solvent displacement, comparing the effect of yellow passion fruit albedo flour and commercial pectin as encapsulating agents in their physical-chemical characteristics and stability during refrigerated storage. Four formulations ($\cong 130 \mu\text{g/mL}$) were produced: A = albedo flour + extract; B = albedo flour + β -carotene; C: Commercial pectin + β -carotene and D: Commercial pectin + Extract. These were characterized in terms of particle size, zeta potential, polydispersity index, viscosity, pH, color (CIELab scale), encapsulation efficiency, Transmission Electron Microscopy (TEM), antioxidant activity, stability and retention of carotenoids during 60 days of storage temperature (4°C). Regardless of the polymer used, the mean particle diameter at time zero was $84.40 \pm 1.20 \text{ nm}$ and after storage ranged from 82.29 ± 0.51 to $86.83 \pm 0.50 \text{ nm}$ and 82.94 ± 0.35 to $91.26 \pm 0.79 \text{ nm}$ for commercial flour and pectin containing formulations, respectively. The two polymer materials played a stabilizing

role, with particle size uniformity and encapsulation efficiency close to 100 %, good antioxidant activity (92.79 ± 0.03 to 59.41 ± 0.08 %) and better carotenoid retention for formulations A and D, respectively (58.78 ± 0.02 and 60.33 ± 0.03 % (zeaxanthin) and 63.25 ± 0.01 and 65.45 ± 0.01 % (all-trans- β). The results obtained demonstrate the feasibility of using yellow passion fruit albedo flour as a natural polymer to obtain β -carotene-rich nanodispersions, evidencing a promising and low-cost alternative for the replacement of commercial polymers.

Keywords Nanoparticles. Encapsulation. Carotenoids. Antioxidants. *Spirulina* sp.

Introdução

Os carotenoides são pigmentos naturais de elevado interesse comercial (mercado mundial de US \$ 1,2 bilhões em 2010 e tendendo a US \$ 1,4 bilhões até 2018) responsáveis pela cor e propriedades bioativas de diversos alimentos, sendo sintetizados por plantas, animais e micro-organismos (BBC-Research, 2011; Rodrigo-Baños et al. 2015). Entre os últimos destaca-se a microalga *Spirulina* sp., por produzir quantidades expressivas de carotenoides, dentre os quais β -caroteno, zeaxantina e β -criptoxantina (Christaki et al. 2013).

Contudo, a longa cadeia de hidrocarbonetos e o elevado grau de instauração que constituem a estrutura química dos carotenoides reduzem a sua biodisponibilidade, solubilidade em água, além de aumentar a sensibilidade à luz, pH, oxigênio e altas temperaturas, limitando a sua aplicabilidade industrial (Jehlička e Oren, 2013) . Esses fatores podem ser minimizados com o nanoencapsulamento desses compostos (Santos et al. 2016).

O potencial tecnológico do encapsulamento de carotenoides em escala nanométrica (partículas com dimensões inferiores a 1000 nm) é demonstrado por modificações e melhoramento das suas propriedades químicas (Santos et al. 2016; Zhang et al. 2016), o que possibilita melhor manipulação/incorporação e diluição homogênea em outras matrizes alimentares (Silva et al. 2016), além de preservação das suas propriedades bioativas ao longo do processamento e armazenamento (Ribeiro et al. 2008; Gutiérrez et al. 2013; Santos et al. 2015).

Diferentes metodologias têm sido aplicadas para o nanoencapsulamento de carotenoides (Silva e Cerqueira, 2011; Gutiérrez et al. 2013;), com destaque para o deslocamento de solvente (também chamada de deposição interfacial do polímero pré-formado ou nanoprecipitação), que é uma técnica considerada de baixo custo, elevada

eficiência de processo e boa reprodutibilidade (Mora-Huertas et al. 2011). Apesar de conferir essas vantagens, a técnica de deslocamento de solvente demanda uso de surfactantes (muitas vezes de caráter tóxico) e polímeros sintéticos como, os poliésteres poli (ácido láctico) PLA, poli (lactídeo-co-glicolídeo) PLGA e o poli (ϵ -caprolactona) PCL (Ribeiro et al. 2008; Santos et al. 2016), por apresentarem boa biodegradabilidade, biocompatibilidade, ausência de toxicidade, entre outros. Contudo, observa-se uma crescente busca por polímeros naturais, cada vez mais biodegráveis e aplicáveis na indústria alimentícia (Deepak et al. 2009; Shakeri et al. 2014; Santos et al. 2016).

A literatura disponibiliza muitas informações sobre a viabilidade, tendências e benefícios de extratos de carotenoides obtidos de microalgas (Rodrigo-Baños et al. 2015), contudo, não há estudos que fundamentem suas funcionalidades na forma encapsulada. Nanoencapsulados de carotenoides são produzidos, em sua maioria, com estes pigmentos na forma isolada (Ezhilarasi et al. 2013; Yi et al. 2015), no entanto, sabe-se da importância da associação destes compostos, tendo em vista os benefícios do efeito sinérgico (Linnewiel-Hermoni et al. 2015; Silva et al. 2016). Esse efeito foi evidenciado por Silva e colaboradores (2016) que relataram maior retenção de β -caroteno para nanoemulsões contendo extrato natural de cenoura (β -caroteno, α -caroteno e luteína) ($67,62 \pm 7,77$ %) do que β -caroteno sintético ($11,69 \pm 1,65$ %), após 100 dias de armazenamento (4 °C), produzidas pela técnica de deposição interfacial do polímero sintético pré-formado poli (ϵ -caprolactona) (PCL).

Para que nanopartículas possam ser utilizadas em alimentos é necessário que sejam preparadas com constituintes reconhecidos como seguros (Generally Recognized as Safe-GRAS). Um exemplo é a pectina, substância amorfa, de caráter gelificante, emulsionante ou estabilizante, não tóxica, de boa interação com os carotenoides (Codex Alimentarius, 2015; Verrijssen et al. 2015; Cervantes-Paz et al. 2016), presente principalmente nas cascas de vegetais e frutos, como no albedo do maracujá amarelo (Liew, Chin e Yusof, 2014; Seixas et al. 2014; Chan et al. 2017). De acordo com a Bomgardner (2013), empresas multinacionais como CP Kelco, a Cargill, Calleva, DSM Yantai Andre Pectina, Dupont, entre outras, há anos investem neste material péctico e no ano de 2013 movimentaram o mercado global de hidrocolóides com a venda de aproximadamente \$ 850 milhões de pectinas.

O maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*), entre as diferentes espécies do maracujazeiro, é a mais comercializada mundialmente (Kishore et al. 2011) na forma *in natura* (ou polpa concentrada) e de suco e doces (Nascimento, et al. 2012).

Durante a etapa de processamento deste fruto são geradas aproximadamente 54 mil toneladas de resíduos (sementes e cascas) (Lópes-Vargas et al. 2013).

Dentre os subprodutos, o albedo do maracujá amarelo, por conter quantidade significativa de pectina, tem sido utilizado na forma de farinha como a gente espessante, estabilizante e gelificante (Coelho et al. 2017), como ingrediente funcional em alimentos (Pineli et al. 2015), e na produção de embalagens (Nascimento, et al. 2012), mas não foi relatado como encapsulante de pigmentos.

Assim, o presente estudo teve como objetivo obter nanodispersões ricas em β -caroteno natural (extrato obtido de *Spirulina* sp. LEB 18) e sintético, produzidas por deslocamento de solvente, utilizando farinha do albedo de maracujá amarelo e pectina cítrica comercial como agentes encapsulantes, bem como determinar suas características físico-químicas e a estabilidade sob armazenamento refrigerado, a fim de verificar o potencial deste subproduto natural como possível substituto aos polímeros comerciais.

Material e Métodos

Materiais

Maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) foi adquirido em estabelecimento comercial de Salvador, Brasil. A pectina cítrica comercial (> 74 % de ácido galacturônico) e os padrões de β -caroteno (≥ 97 % de pureza) e zeaxantina (> 95 % de pureza) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi cedida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Brasil.

Preparo da Farinha do Albedo do Maracujá

A obtenção da farinha seguiu o método proposto por Oliveira et al. (2002), com modificações. Os maracujás foram descascados e o albedo (mesocarpo) foi cortado (pedaços de $\cong 1$ cm), seco em estufa de circulação de ar a 50 °C por 8 h (Quimis®, Modelo Q3/4M243, Diadema, SP, Brasil) até umidade de $6,35 \pm 0,17$ %, triturado em processador (Orbegozo®, modelo MO3250, Orbegozo, Espanha) e armazenado em embalagem plástica a temperatura ambiente até o preparo das nanodispersões.

Determinação do Teor de Pectina na Farinha do Albedo do Maracujá

A extração da pectina da farinha do albedo do maracujá foi realizada, em triplicata, de acordo com o método proposto por Canteri-Schemin et al. (2005), com modificações. Uma solução contendo ácido cítrico (0,002 % v/v) foi adicionada à farinha do albedo do maracujá amarelo (soluto/solvente 1: 50), e a mistura condicionada a refluxo em soxhlet (Tecnal, modelo TE-044, Piracicaba, Brasil) (97 °C/ 1 h). O extrato ácido quente foi filtrado em tecido de malha de 1 mm, o filtrado contendo a pectina resfriado à 4 °C e, então, centrifugado (Tecnal, modelo 206 - Baby I, São Paulo, Brasil) (30 min/ 2218xg). A pectina foi, então, obtida por precipitação, pela adição de etanol absoluto (1:2 v/v), seguida de repouso por 1 h (Kalapathy e Proctor 2001). A pectina precipitada foi filtrada (membrana 0,22 µm, Millipore, Barueri, SP, Brasil), lavada com etanol absoluto, seca em estufa de circulação de ar (Quimis®, Modelo Q3/4M243, Diadema, SP, Brasil) (45 °C/ 24 h), moída (Orbegozo® modelo MO3250, Orbegozo, Espanha) e pesada. O porcentual de pectina foi calculado de acordo com a Eq. 1.

$$\% \text{ de pectina} = \text{Massa pectina (g)} / \text{Massa da amostra (g)} \times 100 \quad (1)$$

Determinação do Grau de Esterificação (DE) da Pectina Presente na Farinha do Albedo do Maracujá Amarelo e da Pectina Cítrica Comercial

O DE presente na farinha do albedo do maracujá amarelo e na pectina cítrica comercial foi determinado, em triplicata, por titulação seguindo o método de Bocek e colaboradores (2001), com modificações. Cada amostra (0,05 g) foi solubilizada em 100 mL de água destilada contendo etanol absoluto (2 mL) em incubadora tipo shaker (Cientec, modelo CT 712, São Carlos, São Paulo) (50 °C/ 2 h, sem agitação). Cada solução foi titulada (NaOH 0,05 M) até pH 8,5 (pHmetro Tecnopron, modelo mpA-210, São Paulo, Brasil), registrando-se o volume gasto (Volume inicial= V1). Posteriormente, 10 mL de solução de NaOH 0,05 M foram adicionados e as amostras mantidas em repouso em estufa (Quimis®, modelo Q317M, Diadema, SP, Brasil) (15 min/ 30 °C). Em seguida as soluções foram neutralizadas adicionando-se o mesmo volume de HCl 0,5 M. O excesso de HCl foi titulado com NaOH 0,05 M, o volume final foi registrado (V2), e o DE foi calculado conforme a Eq. 2.

$$\% \text{ DE} = [V2/ V1 + V2] \times 100 \quad (2)$$

Análise de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR da farinha de albedo do maracujá amarelo e da pectina cítrica comercial foram obtidos no modo absorbância por meio de um espectrômetro (Perkin Elmer Spectrum Two™, modelo 02481, Street Waltham, MA, EUA), utilizando pastilhas de KBr. As aquisições foram feitas em temperatura ambiente, na faixa de 4000-400 cm^{-1} , acumulando 8 leituras, e resolução de 1 cm^{-1} . A critério de comparação com o método de titulação, e para maior confiabilidade dos resultados, o DE dos materiais poliméricos foi estimado de acordo com a metodologia proposta por Monsoor et al. (2001) (Eq. 3) relacionando a razão da área da banda referente à carboxila esterificada pela área total da banda referente à carboxila.

$$\text{DE} = [\text{ABGCE}/\text{ABGCE} + \text{ABGCNE}] \times 100 \quad (3)$$

Em que, ABGCE é a área da banda referente ao Grupo dos Carboxílicos Esterificados e ABGCNE é a área da banda referente ao Grupo dos Carboxílicos não Esterificados.

Obtenção e Quantificação do Extrato Rico em β -caroteno

A partir da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi obtido o extrato rico em β -caroteno. As amostras foram liofilizadas (0,5 g) e posteriormente submetidas a 5 extrações em shaker (CT 712, Cientec, São Carlos, São Paulo) por 30 min a temperatura de 35 °C, com etanol como solvente e saponificação simultânea com KOH etanólico 10 %. O extrato foi transferido para éter de petróleo, lavado com água destilada para remoção do álcali para posterior leitura em espectrofotômetro a 450 nm (Perkin-Elmer, Lambda 25, Ayer Rajah Crescent, Singapore) (dados não publicados). Os extratos foram expressos em $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno usando o coeficiente de absorvidade ($A^{1\%}_{1\text{cm}}$) de 2592 (Rodriguez-Amaya e Kimura, 2004). Os extratos foram concentrados em evaporador rotativo (35 °C) (Tecnal, modelo 211, São Paulo, SP, Brasil) e secos em atmosfera de N_2 para posterior obtenção das nanodispersões.

Preparo das Nanodispersões Ricas em β -caroteno

Foram preparadas quatro nanodispersões (A= Farinha de albedo + Extrato; B= Farinha de albedo + β -caroteno; C: Pectina comercial + β -caroteno e D: Pectina comercial +

Extrato) utilizando o método de deslocamento de solvente adaptado de Ribeiro et al. (2008), com modificações.

Cada polímero (0,5 g) foi dissolvido em 100 mL de acetona, e submetido à agitação magnética (Agitador mecânico IKA®, modelo RW 20, Staufen, Alemanha) a 600 rpm /15 min. As soluções resultantes foram filtradas para remover componentes insolúveis (membrana 0,22 µm, Millipore, Barueri, SP, Brasil). Em seguida, foi adicionado o pigmento ($\cong 130$ µg) a cada solução polimérica, e a solução submetida à agitação (600 rpm/15 min) (Agitador mecânico IKA®, modelo RW 20, Staufen, Alemanha). A cada solução, foram lentamente introduzidos (gota a gota) 25 mL de água destilada sob agitação magnética (900 rpm) (Agitador mecânico IKA®, modelo RW 20, Staufen, Alemanha). A cada dispersão resultante foram acrescentados 70 mL de água destilada com agitação por 30 min. O solvente foi eliminado em evaporador rotativo (35 °C) (Tecnal, modelo 211, São Paulo, SP, Brasil), resultando um volume final de 95 mL.

Caracterização das Nanodispersões

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A análise morfológica das nanopartículas foi realizada em Microscópio Eletrônico de Transmissão (JEOL®, JEM 1230, Tóquio, Japão) utilizando o método de contraste negativo. As amostras foram transferidas para uma grade de níquel (200 mesh) até completa secagem (10 min). Posteriormente, 5 µL de solução de ácido fosfotúngstico 1 % foi adicionada e a amostra foi submetida à análise em 600 Kv.

Tamanho de Partícula, Índice de Polidispersibilidade (PDI) e Potencial Zeta

O diâmetro médio das nanopartículas e o índice de polidispersibilidade (PDI) das nanodispersões foram determinados pela técnica de espalhamento de luz (Dynamic Light Scattering – DSL) (Zetasizer® Nano-ZS, Malvern, Worcestershire, Reino Unido). O potencial zeta foi determinado pela análise de mobilidade eletrosmótica (Zetasizer® Nano-ZS, Malvern, Worcestershire, Reino Unido).

Viscosidade, pH e Cor

Os parâmetros de cor foram analisados em colorímetro (Konica Minolta®, modelo CR-400, Singapura) utilizando-se a escala CIELab, adotando os parâmetros L* a* e b*

O pH das nanodispersões foi mensurado a 25 °C usando o medidor de pH (Tecnopron®, modelo mpA-210, São Paulo, Brasil).

A viscosidade das nanodispersões foi determinada em viscosímetro digital (Brookfield®, modelo LVDV-I Prime, Boston, USA), empregando-se o “spindle” n° 62, a 20 rpm por 1 minuto, com a temperatura da amostra igual a 21 °C. Os resultados foram expressos em cP.

Atividade Antioxidante Através do Radical DPPH

A atividade antioxidante das nanodispersões foi determinada através do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) utilizando a metodologia de Brand-Williams et al. (1995), com modificações. A amostra (1 mL) foi dissolvida em 3 mL de solução metanólica de DPPH 1 µM e a mistura submetida a agitação em vórtex (Phoenix AP-59, São Paulo, Brasil) por 10 segundos. Após 30 min de incubação no escuro e à temperatura ambiente, a redução do radical livre DPPH foi mensurada pela leitura da absorbância em 517 nm. Nanodispersões contendo apenas os materiais poliméricos foram utilizadas como controle. O resultado final foi expresso como porcentual de inibição do radical (Eq. 4).

$$\text{Atividade (\%)} = [(A_{\text{controle}} - A_{\text{teste}})/A_{\text{controle}}] \times 100 \quad (4)$$

Em que: A_{controle} é a absorbância da solução de DPPH sem adição da amostra e A_{teste} é a absorbância da solução do DPPH adicionada da amostra

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os carotenoides majoritários do extrato da microalga *Spirulina* sp. LEB 18, conteúdo de β-caroteno nas nanodispersões e na fase aquosa foram determinados por CLAE (Waters Alliance 2695, Milford, MA, USA) em equipamento com bomba de solvente quaternária, degaseificador e detector de arranjo de diodos (Waters 2487, Milford, MA, USA), utilizando coluna C₃₀ de fase reversa polimérica (250 mm x 4,6 mm d.i., 3 µm; YMC, Japão) a 33 °C. O gradiente de eluição com fluxo de 1 mL/min consistiu de água/metanol/éter tert-metil butílico (MTBE), a partir de 5:90:5 e atingindo 0:95:5 em 12 min, 0:89:11 em 25 min, 0:75:25 em 40 min e, por fim, 0:50:50 depois de 50 min (Nunes e Mercadante 2007; Zanatta e Mercadante 2007). Os cromatogramas foram processados em comprimento de onda de 450 nm.

Antes da injeção, para a determinação do conteúdo de β -caroteno total, as nanodispersões (1 mL) foram submetidas à 3 extrações sucessivas com metanol/n-hexano (1:2, v/v) em centrífuga (10 min/ 2218xg) (Tecnal, modelo 206 - Baby I, São Paulo, Brasil), de acordo com a metodologia de Yi et al. (2014), com modificações. Os sobrenadantes foram combinados, secos em atmosfera de N_2 e diluídos em MTBE, filtrados em membrana Millex de PTFE (0,22 μ m, Millipore, Barueri, SP, Brasil) e injetados.

Para quantificação do β -caroteno foi construído uma curva analítica com coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9995, traçando as áreas dos picos de seis soluções contendo diferentes concentrações do pigmento (3 a 190 μ g/ mL), previamente quantificadas em espectrofotômetro UV/Vis (Perkin-Elmer, Lambda 25, Ayer Rajah Crescent, Singapore). Todos os solventes utilizados foram de grau cromatográfico e previamente filtrados em membrana Millex de PTFE (0,45 μ m, Millipore, Barueri, SP, Brasil).

Padrão de zeaxantina foi utilizado para co-cromatografia e identificação do pigmento nas amostras. A quantificação da mesma foi realizada por porcentagem de área.

Eficiência de Encapsulamento (EE)

A (EE) foi determinada pelo método descrito por Khayata et al. (2012), com modificações. O conteúdo de β -caroteno na fase aquosa das nanodispersões foi obtido através da injeção por CLAE do filtrado resultante do processo ultrafiltração/centrifugação (Amicon® Ultra 0,5/30 kDa. Millipore, Irlanda) de 1 mL da solução contendo as nanopartículas (30 min/ 1400xg). O resultado foi obtido através da divisão entre a diferença do conteúdo total de β -caroteno na nanodispersões e o conteúdo na fase aquosa, e multiplicando os resultados por 100 (Venturini et al. 2011).

Estabilidade

As quatro formulações (A= Farinha de albedo + Extrato; B= Farinha de albedo + β -caroteno; C: Pectina comercial + β -caroteno e D: Pectina comercial + Extrato) foram avaliadas durante 60 dias de armazenamento a 4 °C em embalagem de vidro protegidas da luz, quanto ao tamanho de partícula, potencial zeta, PdI, viscosidade, pH, cor (escala CIELab), retenção de carotenoides e atividade antioxidante.

Análise Estatística

Os resultados referentes ao tamanho de partícula, PDI, potencial zeta, viscosidade, pH, cor, bem como a estabilidade durante o armazenamento (0, 15, 30, 45, 60 dias) foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). O experimento consistiu em 4 tratamentos com análises individuais para cada repetição (total de 3 repetições), conduzida no mínimo em triplicata (valores de média para cada repetição). Para a análise dos dados foi utilizado o Software SPSS® 13.0. O programa ORIGIN® 8.0 foi utilizado para produção das figuras.

Resultados e Discussão

Caracterização dos Materiais Pécnicos da Farinha do Albedo do Maracujá e da Pectina Cítrica Comercial

A farinha do albedo do maracujá amarelo apresentou em média $15,05 \pm 0,00$ % de pectina, semelhante aos valores relatados por Oliveira e colaboradores (2016) ($14,34 \pm 0,45$ %), bem como por Liew et al. (2014) e Seixas et al. (2014) que obtiveram valores de 14,60 e 13,00 %, respectivamente para farinha da casca de maracujá amarelo (epicarpo e mesocarpo). Essas pequenas variações podem ser devido a condições de cultivo, grau de maturação, condições de armazenamento e processamento do fruto, obtenção da farinha, bem como técnica de extração utilizada (de Oliveira et al. 2016; Adetunji et al. 2017).

O DE da pectina está associado à relação entre o número de grupos galacturônicos totais e esterificados presentes em sua molécula (Farris et al. 2009), permitindo classificá-las como de baixo ($DE < 50$ %) e alto grau de esterificação ($DE > 50$ %). Dessa forma, o aumento no valor global deste grau condiciona as propriedades gelificantes desta substância, que também pode ser afetado por fatores como, massa molar, pH, grau de amidação, presença de açúcares e outros solutos, propriedades estas que direcionam sua aplicabilidade tecnológica, pois influenciam a tensão superficial e a formação de emulsão (Canteri et al. 2012; Müller-Maatsch, Caligiani, Tedeschi, Elst e Sforza, 2014).

Os valores obtidos para o DE da farinha do albedo do maracujá amarelo e pectina cítrica comercial foram de $43,09 \pm 0,00$ % e $52,85 \pm 0,01$ %, respectivamente, em função das diferentes fontes. As condições utilizadas no método de extração da pectina

da farinha do albedo do maracujá podem ter contribuído para essa diferença, pois pH, temperatura e tempo de extração podem interferir na obtenção de pectinas de diferentes graus de esterificação (Yapo, 2009a, Yapo, 2009b ; Canteri et al. 2012; de Oliveira et al. 2016; Chan et al. 2017). Amostras de farinha da casca do maracujá amarelo (epicarpo e mesocarpo) estudadas por Liew et al. (2014) apresentaram valor de DE similar (41,67 %) ao do presente estudo.

Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)

Os espectros obtidos por FTIR da farinha do albedo do maracujá amarelo e da pectina cítrica comercial apresentaram perfis similares nas bandas de absorção nas mesmas regiões dos seus espectros (Fig. 1). Pode-se observar uma banda larga e intensa na região de 3438 cm^{-1} (Fig. 1), absorção esta justificada pelo estiramento O-H das ligações de hidrogênio intramolecular de ácido galacturônico dos polímeros (Umoren et al. 2015).

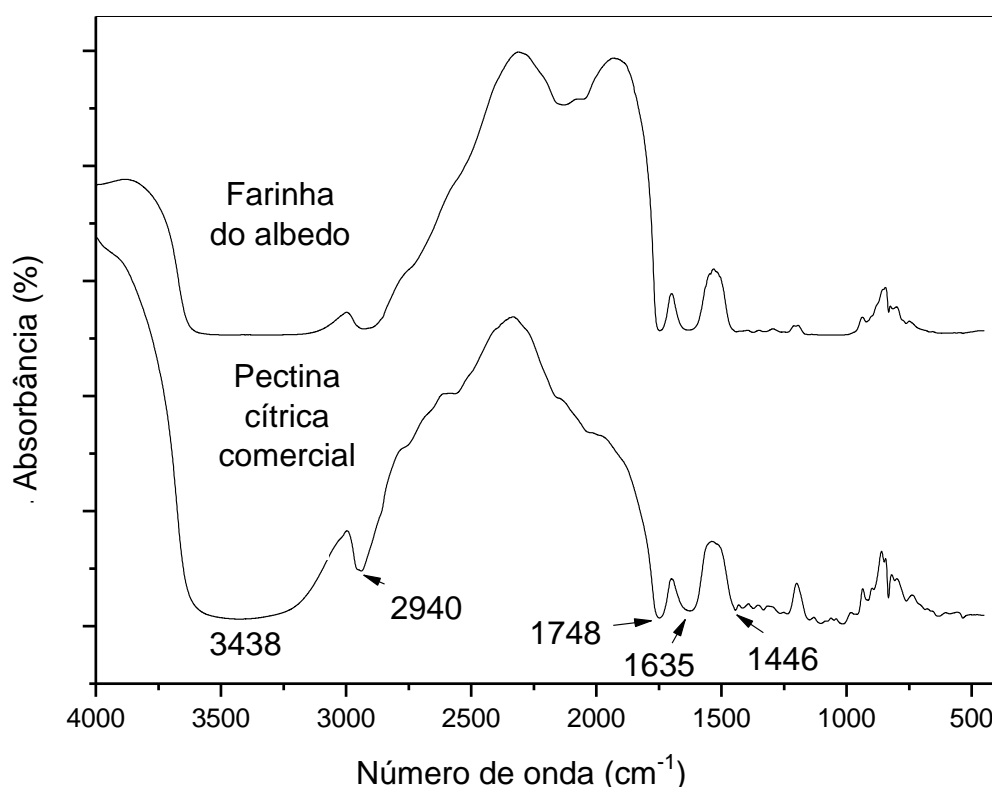


Fig. 1 Espectros FTIR comparativos entre a farinha do albedo do maracujá amarelo e pectina cítrica comercial.

Na região de 2940 cm^{-1} pode ser observada a absorção referente ao estiramento C-H do grupo CH_2 (Gnanasambandam e Proctor 2000; Zhou et al. 2016a, Zhou et al. 2016b).

Duas bandas em 1635 cm^{-1} e 1446 cm^{-1} são atribuídas às vibrações da estrutura $\text{O}=\text{C}-\text{O}$ (Umoren, 2015); enquanto a banda em 1748 cm^{-1} pode ser atribuída à vibração referente ao estiramento dos grupos carbonilas esterificadas, bandas estas características da molécula da pectina. (Umoren et al. 2015) (Fig. 1). Utilizando esta mesma técnica, Chang e colaboradores (2017) observaram eventos similares (nas regiões 3349 , 1604 e 1734 cm^{-1}) ao analisarem o mesmo padrão de pectina cítrica comercial utilizada no presente estudo.

Vários são os métodos aplicados a fim de determinar o porcentual dos grupos esterificados (DE) (Canteri et al. 2012). Entretanto, estudos relatam resultados positivos utilizando espectroscopia de infravermelho (FTIR) (Bichara et al. 2016). Os resultados por FTIR dos materiais em estudo foram $40,11\%$ e $50,84\%$ para a farinha do albedo do maracujá amarelo e pectina comercial, respectivamente. Esses resultados foram similares aos obtidos no presente estudo utilizando o método de titulação ($43,09\%$ e $52,85\%$) para a farinha do albedo do maracujá amarelo e pectina cítrica comercial, respectivamente.

A presença de moléculas ativas na superfície da pectina contribui para as suas propriedades de emulsificação (Burapapadh et al. 2010). Além disso, a pectina tem a capacidade de reduzir a tensão interfacial entre as partículas, retardando a agregação e aumentando as forças de repulsão entre estas (Sriamornsak et al. 2005), podendo ser efetiva na preparação de emulsões.

Burapapadh e colaboradores (2010) relataram que as melhores propriedades de nanoemulsões contendo o fármaco itaconazol (ITZ), preparadas por homogeneização simples, foram obtidas utilizando pectina com maior DE (70) por esta apresentar maior conteúdo de moléculas hidrofóbicas na estrutura em relação às pectinas com menor DE (38 e 29). Entretanto, os autores também atribuíram a capacidade emulsificante à pectina de baixo valor de DE (38), demonstrando a importância dessa determinação.

Caracterização das Nanodispersões

Morfologia das Nanopartículas

A MET vem sendo utilizada para melhor análise morfológica de nanopartículas (Santos et al. 2015; Silva et al. 2016). No presente estudo foram observadas em todas as formulações partículas esféricas com tamanhos uniformes, ausência de agregação entre

as mesmas, e delimitação definida promovida pelos materiais poliméricos que circundaram cada partícula (Fig.2).

Hu et al. (2015) e Silva et al. (2016) utilizando a mesma técnica e condições de caracterização morfológica do presente estudo verificaram formatos similares para nanopartículas de cúrcuma/zeína e pectina, e nanopartículas contendo extrato de cenoura/PCL e padrão de β -caroteno/PCL, respectivamente.

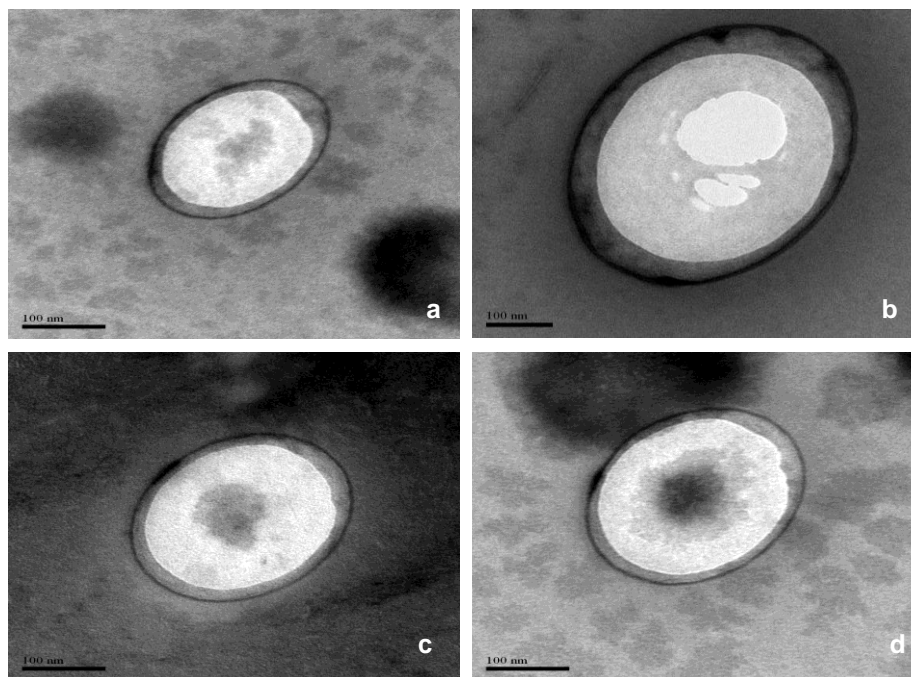


Fig.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das nanopartículas analisadas imediatamente após obtenção: a. Farinha de albedo + Extrato; b. Farinha de albedo + β -caroteno; c. Pectina comercial + β -caroteno e d. Pectina cítrica comercial + Extrato. (X 6000)

Tamanho Médio das Partículas, Índice de Polidispersibilidade (PDI) e Potencial Zeta das nanodispersões

Com base nos resultados apresentados na Tabela 1, logo após obtenção das nanodispersões, pode-se observar uma associação positiva da técnica de deslocamento de solvente com os materiais poliméricos e pigmentos utilizados, uma vez que resultaram em partículas com tamanho médio de $84,40 \pm 1,20$ nm, dentro da faixa preconizada pela literatura para esta técnica (dimensões inferiores a 100 nm). Esse diâmetro também se enquadra nos limites relatados em estudos similares, em sua

maioria polímeros sintéticos e o β -caroteno comercial (9-193 nm) (Ribeiro et al. 2008; Silva et al. 2011; Kim et al. 2013; Santos et al. 2015; Silva et al. 2016).

Destaca-se o trabalho de Silva e colaboradores (2016) por ser o único a incorporar em umas das suas formulações com o polímero sintético poli (ϵ -caprolactona) (PCL) uma mistura de carotenoides naturais obtidos de extrato de cenoura (β -caroteno, α -caroteno e luteína) avaliando a estabilidade das nanopartículas ($142,33 \pm 5,69$ nm em 100 dias de armazenamento (4°C)).

No tempo 0, o diâmetro das partículas foi similar aos menores diâmetros obtidos por Yi et al. (2014) que variaram entre 75 a 162,4 nm e 88,5 a 190,9 nm quando usado caseinato de sódio e isolado proteico de soro do leite, como polímeros para nanoencapsular β -caroteno sintético por homogeneização-evaporação de solvente. Partículas maiores (150 nm) foram produzidas pelo mesmo método por Cao-Hoang et al. (2011), adotando o poli ácido láctico (PLA) como polímero no encapsulamento do mesmo carotenoide.

Tabela 1 Distribuição do tamanho médio das partículas, índice de polidispersibilidade (PdI) e potencial zeta das nanodispersões rica em β -caroteno analisadas imediatamente após obtenção.

	Diâmetro médio (nm \pm DP)	PdI (DP)	Potencial zeta (mV \pm DP)
Dispersões			
A	$84,22 \pm 3,17^a$	$0,123 \pm 0,01^b$	$-41,36 \pm 1,43^b$
B	$82,38 \pm 0,54^a$	$0,113 \pm 0,01^b$	$-43,64 \pm 1,83^b$
C	$85,25 \pm 0,28^a$	$0,173 \pm 0,01^a$	$-24,57 \pm 0,66^a$
D	$84,37 \pm 0,12^a$	$0,170 \pm 0,01^a$	$-27,39 \pm 0,86^a$

A= Farinha de albedo+ Extrato, B= Farinha de albedo + β -caroteno, C= Pectina + β -caroteno, D=Pectina + Extrato. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significante entre as nanodispersões ($p \leq 0,05$)

Conforme os resultados da Tabela 1, todas as formulações apresentaram uniformidade de distribuição no diâmetro das partículas, pois valores de PdI entre 0,1 e 0,25 estão na faixa de melhor homogeneidade (Patravale et al. 2004). Menor homogeneidade no tamanho das partículas foi observada por Yi et al. (2014), ao avaliarem nanopartículas de β -caroteno sintético pela técnica de homogeneização- evaporação de solvente utilizando caseinato de sódio ($0,449 \pm 0,152$), isolado proteico de soro de leite ($0,351 \pm 0,00$) e isolado proteico de soja ($0,471 \pm 0,00$), na concentração

de 1,25 % de cada polímero. Os autores atribuem este elevado resultado às características dos polímeros utilizados que poderiam estar contribuindo na obtenção de partículas menos uniformes.

O potencial zeta pode ser exibido pela superfície das partículas no material e configura-se como indicador de estabilidade em dispersões coloidais (Tiede et al. 2008). Os resultados deste parâmetro para as nanodispersões produzidas diferiram de acordo com o tipo de polímero utilizado, fato este que pode estar relacionado com o grau de esterificação da pectina nos materiais poliméricos em estudo.

Imediatamente após obtenção, as nanodispersões apresentaram elevado número de cargas negativas, principalmente as formuladas com a farinha do albedo do maracujá ($-41,36 \pm 1,43$ a $-43,64 \pm 1,83$), e estas diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) das preparadas com a pectina cítrica comercial ($-24,57 \pm 0,66$ a $-27,39 \pm 0,86$). Este elevado potencial negativo das nanodispersões com farinha do albedo do maracujá pode possivelmente ser justificado pela maior quantidade de grupamentos carboxilas que não foram substituídos pelo grupo metila, desta forma, quanto menor o (DE), mais partículas carregadas negativamente serão formadas (Chan et al. 2017; Burapapadh et al. 2010; Canteri et al. 2012).

Cao-Hoang et al. (2011) obtiveram duas formulações valores semelhantes de potencial zeta ($-28,8 \pm 4,6$ e $-31,1 \pm 2,1$) para nanopartículas de β -caroteno sintético obtidas por deslocamento de solvente e valores superiores ($+4,8 \pm 1,2$ e $+9,1 \pm 2,28$) para partículas produzidas com β -caroteno natural, utilizando PLA como polímero. A maior tendência ao potencial negativo foi associada aos grupamentos carboxílicos resultantes das hidrólises da cadeia do polímero utilizado (Mosqueira et al. 2000).

Ao longo dos 60 dias de armazenamento ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$), o diâmetro médio das nanopartículas foi de $82,29 \pm 0,51$ a $86,83 \pm 0,50$ nm e $82,94 \pm 0,35$ a $91,26 \pm 0,79$ nm para as formulações contendo farinha do albedo e pectina cítrica comercial, respectivamente, havendo diferença significativa ($p \leq 0,05$), contudo, mantiveram dimensões em escala nanométrica (Tab. 2).

Tabela 2 Distribuição do tamanho médio das partículas, índice de polidispersibilidade (PdI) e potencial zeta das nanodispersões rica em β -caroteno ao longo de 60 dias de armazenamento (4 °C).

Tempo (Dias)	Emulsões	Diâmetro médio (nm \pm DP)	PdI (DP)	Potencial zeta (mV \pm DP)
15	A	83,25 \pm 0,55 ^{bA}	0,146 \pm 0,00 ^{abA}	-39,18 \pm 2,04 ^{bA}
	B	82,29 \pm 0,51 ^{bA}	0,123 \pm 0,00 ^{cA}	-42,48 \pm 2,48 ^{bA}
	C	87,50 \pm 0,48 ^{aB}	0,153 \pm 0,00 ^{aA}	-21,02 \pm 1,80 ^{aB}
	D	85,07 \pm 0,61 ^{aA}	0,140 \pm 0,00 ^{bA}	-22,52 \pm 1,68 ^{aB}
30	A	84,31 \pm 0,44 ^{bA}	0,130 \pm 0,01 ^{bA}	-25,84 \pm 2,09 ^{abB}
	B	85,93 \pm 0,59 ^{bAB}	0,153 \pm 0,00 ^{aAB}	-20,91 \pm 2,56 ^{bB}
	C	86,15 \pm 0,47 ^{aB}	0,160 \pm 0,01 ^{aA}	-22,44 \pm 1,87 ^{bB}
	D	82,94 \pm 0,35 ^{cB}	0,116 \pm 0,00 ^{bA}	-26,82 \pm 4,72 ^{aB}
45	A	85,90 \pm 0,54 ^{aAB}	0,180 \pm 0,01 ^{aB}	-20,04 \pm 2,39 ^{bB}
	B	84,89 \pm 0,92 ^{aB}	0,156 \pm 0,00 ^{bB}	-21,23 \pm 2,94 ^{aB}
	C	85,36 \pm 0,55 ^{aB}	0,150 \pm 0,01 ^{bB}	-18,19 \pm 1,57 ^{aB}
	D	86,97 \pm 0,68 ^{aA}	0,186 \pm 0,00 ^{aAB}	-17,21 \pm 2,24 ^{aB}
60	A	84,12 \pm 0,52 ^{dB}	0,150 \pm 0,00 ^{bB}	-10,09 \pm 2,00 ^{aB}
	B	86,83 \pm 0,50 ^{cA}	0,160 \pm 0,01 ^{bB}	-15,52 \pm 1,37 ^{bB}
	C	91,26 \pm 0,79 ^{aA}	0,186 \pm 0,00 ^{aA}	-13,76 \pm 1,57 ^{abB}
	D	88,43 \pm 0,53 ^{bA}	0,180 \pm 0,01 ^{aB}	-17,22 \pm 1,87 ^{cB}

A= Farinha de albedo+ Extrato, B= Farinha de albedo + β -caroteno, C= Pectina + β -caroteno, D=Pectina + Extrato. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as nanodispersões ($p \leq 0,05$) e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as nanodispersões ao longo do tempo ($p \leq 0,05$)

Diâmetros maiores (193 \pm 4,7 nm) foram observados por Santos e colaboradores, 2015, para nanoemulsões de licopeno, obtidas por deposição interfacial do polímero sintético PCL poli (ϵ -caprolactona), sem alteração significativa durante o armazenamento (28 dias, 25 °C).

Silva et al. (2011) obtiveram nanoemulsões incorporadas de β -caroteno e observaram, após 21 dias de armazenamento (4 °C), aumento e diminuição significativa no tamanho de partículas para duas formulações (10,27 \pm 1,85 a 265,47 \pm 120,86nm e 228,63 \pm 0,01 a 120,57 \pm 29,69 nm) utilizando o método de emulsificação- evaporação de solvente, atribuindo esta instabilidade à influência do movimento browniano e evaporação incompleta do solvente utilizado, respectivamente. Assim, o material polimérico, os compostos encapsulados, e os solventes utilizados, podem interferir nas propriedades físico-químicas das nanopartículas formadas (Silva, et al. 2016).

As nanodispersões obtidas no presente estudo podem apresentar boa aplicabilidade, uma vez que, resultaram em estruturas uniformes (PdI = 0,123 \pm 0,00 a 0,186 \pm 0,00) e de menores dimensões (maior superfície de contato), conferindo melhores

características que podem interagir mais facilmente com outros compostos quando inseridos em matrizes de interesse (Fontanive et al. 2014).

O uso da pectina como biopolímero no encapsulamento de compostos bioativos é evidenciado apenas utilizando o método de complexação deste material péctico com uma proteína (β -lactoglobulina, zeína, caseína, entre outras), e, resultados promissores para aplicação industrial têm sido documentados (Hu et al. 2015, Jones et al. 2010). É evidente a ausência de estudos que apliquem a técnica de deslocamento de solvente associando materiais pécticos como encapsulantes, porém, os resultados de PDI apresentados no presente trabalho assemelham-se a outros que utilizaram esta técnica, carotenoides como material encapsulado, polímeros sintéticos e diferentes tempos de armazenamento (Chu et al. 2008; Ribeiro et al. 2008), demonstrando a viabilidade do método e dos materiais aplicados.

Com relação ao potencial zeta, no período de 30 dias de armazenamento, apenas as nanodispersões formuladas com farinha (A e B), apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$), mantendo-se estáveis após este período (Tab. 2). Apenas após 45 dias de armazenamento (4 °C), pode-se observar aumento, não significativo deste potencial para todas as formulações, demonstrando prevenção à floculação e agregação das partículas, permitindo que as emulsões continuem estáveis (Mohanraj e Chen 2006).

Alterações semelhantes para este parâmetro foi observado por Silva e colaboradores (2016) ao analisarem o efeito do armazenamento (100 dias, 4 °C) de nanodispersões incorporadas de mistura de carotenoides naturais obtidos a partir do extrato de cenoura (β -caroteno, α -caroteno e luteína) ($-23,93 \pm 0,55$ a $-18,37 \pm 2,06$) e β -caroteno ($-10,33 \pm 2,01$ a $-9,08 \pm 1,23$), por deposição interfacial do polímero (PCL) pré-formado.

A técnica de encapsulamento por deslocamento de solvente requer, em sua maioria, o uso de surfactantes, polieletrólitos, entre outras substâncias, para promoção de maior estabilidade das partículas produzidas e melhor interação de todos constituintes na formulação (Silva e Cerqueira 2016; Cao-Hoang et al. 2011). Entretanto, os materiais poliméricos utilizados no presente estudo dispensam o uso destas substâncias (quase sempre de caráter sintético e de alto custo), pois apresentam características emulsionantes, atuando como estabilizantes naturais (Sriamornsak et al. 2005).

Os resultados da viscosidade, pH, cor e atividade antioxidante estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 Caracterização das nanodispersões de β -caroteno quanto à viscosidade, pH, cor e atividade antioxidante analisadas durante 60 dias de armazenamento refrigerado (4 °C).

Tempo (Dias)	Nanodispersões	Viscosidade	pH	Parâmetros de cor			Atividade
		(Cp)		L*	a*	b*	antioxidante (%)
0	A	2,60 ± 0,01 ^{bd}	6,14 ± 0,03 ^{aA}	27,86 ± 0,01 ^{ad}	-0,21 ± 0,00 ^{bA}	14,72 ± 0,03 ^{aA}	92,79 ± 0,03 ^{aA}
	B	2,57 ± 0,01 ^{bd}	6,02 ± 0,03 ^{aA}	27,29 ± 0,07 ^{cd}	0,47 ± 0,03 ^{aA}	6,46 ± 0,02 ^{cA}	92,56 ± 0,03 ^{bA}
	C	2,66 ± 0,01 ^{ad}	4,67 ± 0,03 ^{bA}	27,49 ± 0,01 ^{bd}	0,43 ± 0,01 ^{aA}	6,47 ± 0,01 ^{cA}	92,70 ± 0,12 ^{aA}
	D	2,67 ± 0,01 ^{ad}	4,68 ± 0,07 ^{bA}	27,93 ± 0,01 ^{ad}	-0,62 ± 0,01 ^{cA}	13,70 ± 0,02 ^{bA}	92,59 ± 0,02 ^{bA}
15	A	2,70 ± 0,06 ^{bd}	6,22 ± 0,00 ^{aA}	27,96 ± 0,00 ^{bd}	-0,32 ± 0,01 ^{cA}	14,57 ± 0,01 ^{aA}	91,58 ± 0,05 ^{aA}
	B	2,69 ± 0,02 ^{bd}	6,01 ± 0,02 ^{aA}	27,83 ± 0,01 ^{cd}	0,28 ± 0,00 ^{aA}	6,11 ± 0,00 ^{cA}	86,18 ± 0,19 ^{bA}
	C	2,85 ± 0,01 ^{ad}	4,65 ± 0,04 ^{bA}	27,93 ± 0,02 ^{bd}	0,26 ± 0,00 ^{bA}	6,01 ± 0,01 ^{dA}	86,19 ± 0,60 ^{bA}
	D	2,80 ± 0,01 ^{ad}	4,75 ± 0,01 ^{bA}	28,05 ± 0,01 ^{ad}	-0,72 ± 0,00 ^{dA}	13,53 ± 0,01 ^{bA}	91,98 ± 0,50 ^{aA}
30	A	3,00 ± 0,01 ^{bc}	6,34 ± 0,07 ^{aB}	28,26 ± 0,01 ^{aC}	-0,41 ± 0,01 ^{cB}	14,35 ± 0,01 ^{aB}	88,70 ± 0,12 ^{aA}
	B	3,02 ± 0,01 ^{bc}	6,25 ± 0,02 ^{aB}	28,07 ± 0,01 ^{cC}	0,16 ± 0,00 ^{aB}	5,53 ± 0,01 ^{cB}	83,19 ± 0,06 ^{bA}
	C	3,16 ± 0,01 ^{aC}	5,04 ± 0,02 ^{bB}	28,12 ± 0,01 ^{bc}	0,11 ± 0,00 ^{bB}	5,32 ± 0,01 ^{dB}	82,74 ± 0,03 ^{bA}
	D	3,15 ± 0,02 ^{aC}	4,80 ± 0,02 ^{bB}	28,14 ± 0,01 ^{bc}	-0,85 ± 0,01 ^{dB}	13,43 ± 0,00 ^{bB}	87,75 ± 0,00 ^{aA}
45	A	3,62 ± 0,00 ^{bB}	6,49 ± 0,05 ^{aC}	28,32 ± 0,01 ^{aB}	-0,56 ± 0,00 ^{cC}	14,17 ± 0,01 ^{aC}	84,78 ± 0,30 ^{aA}
	B	3,60 ± 0,00 ^{bB}	6,46 ± 0,01 ^{aC}	28,15 ± 0,03 ^{cB}	-0,18 ± 0,00 ^{aC}	5,26 ± 0,00 ^{cC}	70,55 ± 0,17 ^{bB}
	C	3,66 ± 0,01 ^{ab}	5,35 ± 0,05 ^{bC}	28,21 ± 0,01 ^{abB}	-0,26 ± 0,00 ^{bC}	5,12 ± 0,00 ^{dC}	70,58 ± 0,29 ^{bB}
	D	3,61 ± 0,00 ^{bB}	4,95 ± 0,01 ^{bd}	28,26 ± 0,01 ^{bB}	-0,88 ± 0,00 ^{dC}	13,23 ± 0,01 ^{bd}	82,52 ± 0,11 ^{aA}
60	A	3,71 ± 0,00 ^{cA}	6,62 ± 0,02 ^{ad}	28,42 ± 0,00 ^{bA}	-0,64 ± 0,00 ^{ad}	13,26 ± 0,00 ^{ad}	78,25 ± 0,20 ^{ab}
	B	3,70 ± 0,00 ^{cA}	6,53 ± 0,01 ^{ad}	28,44 ± 0,65 ^{bA}	-1,01 ± 0,01 ^{cd}	4,43 ± 0,00 ^{cd}	62,24 ± 0,35 ^{bc}
	C	3,81 ± 0,00 ^{aA}	6,04 ± 0,05 ^{bd}	28,76 ± 0,00 ^{aA}	-1,04 ± 0,01 ^{cd}	4,28 ± 0,00 ^{cd}	59,41 ± 0,08 ^{cc}
	D	3,76 ± 0,01 ^{bA}	5,03 ± 0,01 ^{cc}	28,38 ± 0,01 ^{cA}	-0,97 ± 0,01 ^{bd}	13,32 ± 0,01 ^{bc}	73,74 ± 0,18 ^{ab}

A= Farinha de albedo + Extrato, B= Farinha de albedo + β -caroteno, C= Pectina + β -caroteno, D=Pectina + Extrato. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as nanodispersões ($p \leq 0,05$) e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as nanodispersões ao longo do tempo ($p \leq 0,05$)

A viscosidade das nanodispersões variou de $2,57 \pm 0,01$ a $2,67 \pm 0,01$ cP no tempo zero, sendo que as formulações C e D apresentaram valores superiores e diferiram das demais ($p \leq 0,05$). Após 30 dias houve aumento significativo ($p \leq 0,05$) desse parâmetro para todas as formulações (Tab 3).

Valores inferiores de viscosidade ($1,09 \pm 0,03$ cP) foram verificados por Santos e colaboradores (2015) para nanoemulsões de licopeno obtidas por deposição interfacial do polímero pré-formado utilizando emulsificante monoestearato de sorbitana e o polímero PCL.

Diferenças na viscosidade podem estar diretamente relacionadas ao volume hidrodinâmico da partícula, massa molar e interação polímero-solvente-pigmento, pois, a pectina, por apresentar características hidrocoloides, tende a contribuir na obtenção de emulsões mais viscosas, uma vez que tem em sua composição grupos carbonila esterificados (Canteri et al. 2012).

A análise de pH torna-se imprescindível por direcionar a aplicabilidade das nanodispersões, uma vez que interfere nas características físico-químicas das substâncias e suas interações, podendo por exemplo, diminuir a estabilidade dos carotenoides ($\text{pH} < 3$) (Lobato et al. 2013). Além disso, como a pectina apresenta na molécula regiões de diferentes polaridades, os efeitos de carga são consideráveis e dependentes do pH do meio, podendo apresentar cargas positivas em meios mais básicos e negativas em pHs ácidos (Canteri et al. 2012).

As formulações contendo farinha de albedo (A e B) resultaram em maiores valores de pH diferindo das demais ($p \leq 0,05$) em todos os tempos avaliados (Tab 3), o que pode estar relacionado às diferentes naturezas e graus de esterificação dos polímeros empregados (Burapapadh et al. 2010; Canteri et al. 2012).

Alterações neste parâmetro ($6,01 \pm 0,04 - 5,60 \pm 0,02$) também foram observadas em nanodispersões de licopeno (28 dias, 25°C) formuladas com monoestearato de sorbitana e PCL por deposição interfacial do polímero pré-formado, sendo relacionadas à degradação do polímero (Santos et al. 2015).

Imediatamente após a formulação, todas as amostras exibiram tonalidade laranja e baixa luminosidade, com a^* variando de $-0,62 \pm 0,01$ a $0,47 \pm 0,03$ e b^* de $6,46 \pm 0,02$ a $14,72 \pm 0,03$. As formulações contendo extrato (A e D) apresentaram tendência ao verde (valores negativos para a^*) e amarelo (maiores valores de b^*) diferindo entre si ($p \leq 0,05$) e das formulações com β -caroteno sintético (B e C), que tenderam ao vermelho (valores positivos de a^*). A diferença no parâmetro a^* está relacionada ao perfil de carotenoides

presentes nas nanodispersões, pois nas formulações contendo β -caroteno sintético há o predomínio do *all-trans*- β -caroteno (97%), que atribui tons do alaranjado ao vermelho (Rodriguez-Amaya e Kimura, 2004).

Alguns outros fatores como, tipo de polímero, concentração do composto encapsulado e suas interações podem contribuir para variações de cor (Santos et al. 2015; Liu et al. 2010). Liu e colaboradores (2010) relataram valores superiores para todos os parâmetros de cor ($L^* = 38,45 \pm 0,29 - 39,80 \pm 0,11$; $a^* = 45,58 \pm 0,44 - 49,83 \pm 0,21$; $b^* = 50,42 \pm 0,51 - 51,50 \pm 0,32$) ao avaliarem dispersões aquosas incorporadas de diferentes concentrações de β -caroteno (0,02–0,4 %, respectivamente).

Ao longo do tempo de armazenamento os valores de L apresentaram aumento significativo para todas as formulações analisadas no presente estudo ($p \leq 0,05$) (Tab 3), possivelmente ocasionada pela perda de carotenoides.

Os valores de a^* e b^* também variaram em todos os dias de armazenamento ($p \leq 0,05$), entretanto, as nanodispersões incorporadas com o β -caroteno sintético, apresentaram maior redução nos valores de b^* e apenas após 45 dias de armazenamento, os valores de a^* apresentaram-se mais negativos (tendendo ao verde), apresentando tonalidade menos amarela que as formuladas com o extrato (Tab 3).

Entre nanoemulsões contendo extrato de cenoura (β -caroteno, α -caroteno e luteína) e β -caroteno sintético, formuladas com PCL por deposição interfacial do polímero pré-formado, também foi observada acentuada redução de a^* e b^* nas formulações contendo o β -caroteno sintético a partir do 21º e 60º dias de armazenamento, respectivamente (Silva et al. 2016).

Todas as nanodispersões em estudo apresentaram elevada atividade antioxidante longo do armazenamento, evidenciando resultados positivos para inibição do radical DPPH pelos carotenoides presentes, principalmente para as formulações contendo o extrato de carotenoides microalgal (A e D), independente dos polímeros utilizados (Tab 3). As nanodispersões incorporadas de β -caroteno sintético apresentaram importante diminuição neste parâmetro após 45 dias de armazenamento ($p \leq 0,05$). Estes resultados podem ser justificados pela interação entre os carotenoides presentes no extrato natural de carotenoides, composto, em sua maioria de carotenoides mais estáveis (na forma *trans*) (Silva et al. 2011; Silva et al. 2016). A potente atividade antioxidante dos carotenoides é justificada, principalmente, pela presença de ligações duplas conjugadas em sua estrutura (Yi et al. 2014), o que atribui aos mesmos a capacidade de sequestrar

espécies reativas de oxigênio, como o radical peroxil (ROO•) e o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$).

Cabe ressaltar que, a atividade antioxidante das nanodispersões obtidas apenas de farinha do albedo do maracujá e da pectina comercial, sem incorporação dos pigmentos, foi de $0,95 \pm 0,00$ e $0,89 \pm 0,09$, respectivamente. Alguns estudos atribuem a ação de estabilizador oxidativo à farinha do albedo do maracujá, contudo, a escolha do método, tipo de solvente e concentrações da amostra podem influenciar neste resultado (Martínez et al. 2012; López-Vargas et al. 2013). López-Vargas e colaboradores (2013), a partir de extratos obtidos de diferentes concentrações de farinha do albedo do maracujá amarelo (0,78-100 mg/mL), utilizando metanol e dimetilsufóxido como solventes, analisaram a capacidade antioxidante desta matriz sob o método de DPPH, redução do ferro (FRAP) e análise da atividade quelante do íon ferro (AQIF) resultando no bom potencial antioxidante para todos os métodos aplicados. Diferente destes resultados, as nanopartículas (sem incorporação dos pigmentos) formuladas com os materiais poliméricos utilizados no presente estudo não apresentaram boa capacidade de inibição do radical DPPH ($0,95 \pm 0,00$ e $0,89 \pm 0,09$, para as formulações contendo farinha do albedo e pectina cítrica comercial, respectivamente).

Extratos de carotenoides de *Spirulina platensis* obtidos pelo método de Extração com Líquido Pressurizado (PLE) demonstraram resultados inferiores para atividade antioxidante (46,00 – 67,00 % e 50,00 – 59,00 %) (Santoyo et al. 2006), no entanto, os pigmentos não estavam na forma de nanopartículas, o que de fato pode ter contribuído para esta diferença no porcentual de inibição do radical DPPH, uma vez que, quanto menor o diâmetro das partículas, maior a bioacessibilidade das moléculas bioativas encapsuladas (Flanagan e Singh 2006; Imran et al. 2010).

Poucos são os relatos sobre a atividade antioxidante de carotenoides encapsulados. Yi et al. (2015), documentaram melhores resultados para inibição do radical DPPH de nanopartículas de β -caroteno (10 mg/mL) obtidas pela técnica de homogeneização evaporação de solvente utilizando caseinato de sódio ($69,6 \pm 3,1$ %), isolado proteico de soro de leite ($72,8 \pm 0,6$ %) e proteína de soja isolada ($66,8 \pm 5,5$ %) quando estas foram comparadas à formulação livre do nanoencapsulamento ($16,7 \pm 1,4$ %). Desta forma, torna-se imprescindível estimular a análise deste parâmetro em estudos similares aos do presente trabalho.

Avaliação Cromatográfica

A partir da comparação dos tempos de retenção e dimensionamento das áreas dos picos entre os padrões e amostra, foi possível verificar que o *all-trans*- β -caroteno foi o carotenoide majoritário (52 %) no extrato da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 utilizado para o preparo das nanodispersões A e D, seguido de zeaxantina (28 %) (Fig. 3). A concentração destes pigmentos na microalga pode variar de acordo com as condições de cultivo e fatores climáticos, uma vez que a atividade fotossintética é essencial na sua produção (Ras et al. 2013). Cabe destacar também que dependendo do solvente usado para a extração pode ocorrer uma diferença nos teores de cada carotenoide.

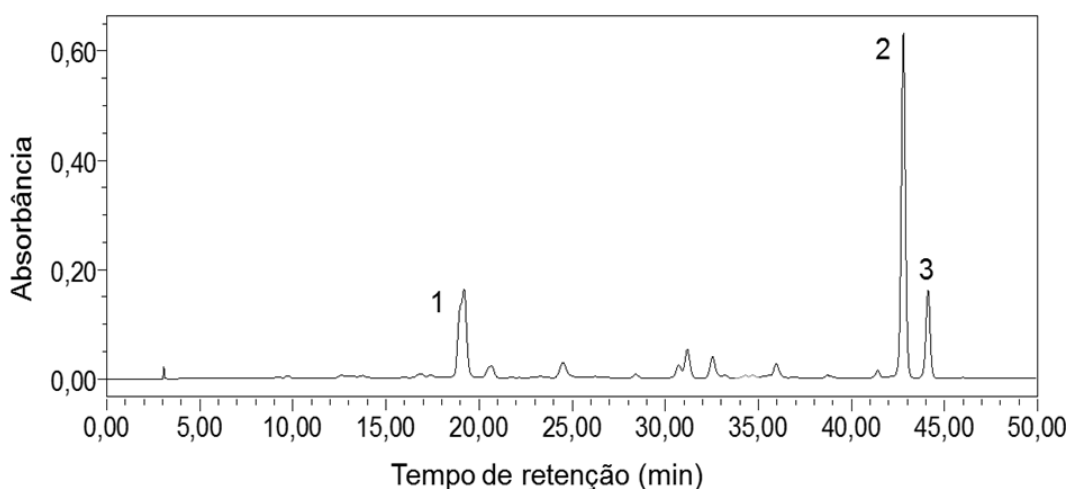


Fig. 3 Carotenoides majoritários do extrato de *Spirulina* sp. LEB 18. 1. Zeaxantina (28 %), 2. *all-trans*- β -caroteno (52 %) e 3. 9-*cis*- β -caroteno (12 %) (identificação tentativa por tempo de retenção e características do espectro).

Eficiência de Encapsulamento (EE)

Os resultados de EE foram bons para todas as formulações. As nanodispersões A e D, contendo extrato de carotenoides da *Spirulina* sp. LEB 18 apresentaram valores de EE de 96,67 % e 97,94%, e de 96,76 % e 98,25%, para zeaxantina e β -caroteno, respectivamente, sendo estes superiores aos obtidos para as amostras contendo β -caroteno sintético (B = 95,75 % e C = 95,40 %). Esta diferença pode estar relacionada à forma cristalina do β -caroteno, que apresenta maior dificuldade de dispersão em substâncias de caráter polar (Qian et al. 2012).

Resultados similares foram observados por Yi et al. (2014), quando nanoencapsularam o β -caroteno pela técnica de homogeneização-evaporação de solvente utilizando caseinato de sódio, isolado proteico de soro de leite e isolado proteico de soja isolada, obtendo EE de 99,1 %, 98,8 %, e 98,7 %, respectivamente.

Retenção de carotenoides

A retenção de carotenoides majoritários (%) nas nanodispersões contendo o extrato, resultaram em $58,78 \pm 0,02$ e $60,33 \pm 0,03$ % de zeaxantina e $63,25 \pm 0,01$ e $65,45 \pm 0,01$ % de *all-trans*- β -caroteno, após 60 dias de armazenamento a 4 °C, para as formulações contendo farinha do albedo e pectina comercial, respectivamente (Fig 4a e b). As nanodispersões incorporadas de β -caroteno sintético apresentaram retenção de $12,9 \pm 0,02$ e $10,72 \pm 0,01$ %, para os mesmos materiais poliméricos, respectivamente (Fig 4a e b).

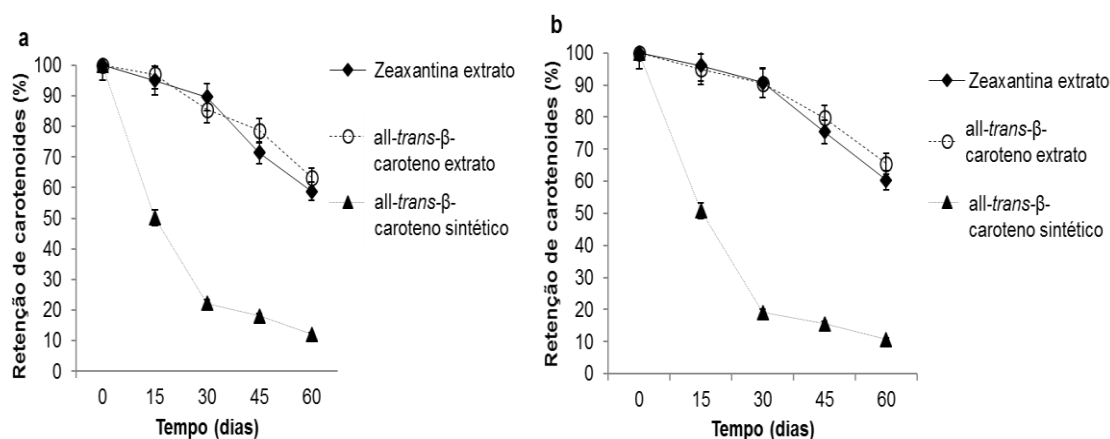


Fig. 4 Retenção de carotenoides: a. Nanodispersões formuladas com farinha de albedo do maracujá amarelo b. Nanodispersões formuladas com pectina cítrica comercial durante armazenamento de 60 dias (4 °C).

A maior retenção do *all-trans*- β -caroteno nas formulações contendo extrato da microalga (Fig 4a e b), pode ser atribuída ao efeito sinérgico promovido pelo conjunto de carotenoides presentes no extrato. A maior perda deste composto, principalmente pelas nanodispersões incorporadas de *all-trans*- β -caroteno sintético, uma vez que, na sua forma isolada tendem à menor dispersão e maior degradação (Silva et al. 2011; Silva et al. 2016).

Entre nanoemulsões obtidas por polímero pré-formado (PCL), a formulação contendo extrato de cenoura (β -caroteno, α -caroteno e luteína) também apresentou maior retenção de carotenoides ($67, 62 \pm 7, 77 \%$) do que a amostra com β -caroteno sintético ($11,69 \pm 1,65 \%$) durante o armazenamento (100 dias, 4°C) no estudo de Silva e colaboradores (2016), justificado pelo efeito sinérgico da mistura de pigmentos.

Conclusões

O estudo das substâncias pécticas e dos seus atributos tecnológicos surge como importante ferramenta para aproveitamento de descartes ricos neste composto, tal como a farinha do albedo do maracujá amarelo utilizado no presente estudo, que apresentou importante quantidade de pectina ($15,05 \pm 0,00 \%$), e menor teor de grupamentos esterificados quando comparado à pectina comercial ($43,09 \pm 0,00 \%$). Ao longo dos 60 dias de armazenamento refrigerado, foi possível obter nanodispersões com partículas fisicamente estáveis utilizando farinha do albedo do maracujá amarelo e pectina cítrica comercial como materiais poliméricos, ricas em β -caroteno, sob a técnica de deslocamento de solvente, favorecendo à maior aplicabilidade destes pigmentos. Os dois materiais poliméricos desempenharam papel estabilizante, mesmo na ausência de surfactante, proporcionando uniformidade no tamanho das partículas e eficiência de encapsulação próximas a 100% . Independente do material polimérico, as nanodispersões incorporadas do extrato de carotenoides da microalga apresentaram menor redução na coordenada b^* e melhor atividade antioxidante, apresentando, ao final do período de armazenamento, maior retenção de carotenoides (seis vezes maior), quando comparadas as formulações contendo o β -caroteno sintético. O presente estudo destaca o uso da farinha do albedo do maracujá amarelo como possível alternativa simples e de baixo custo na produção de nanodispersões ricas em carotenoides, para possível substituição aos polímeros comerciais e incorporação em diferentes matrizes alimentares.

Agradecimentos

Os autores agradecem pelo auxílio financeiro à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) (RED0017/2013 e BOL3278/2015) e ao Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação (MCTI) (01200.005005/2014-49), e ao Laboratório de

Nanotecnologia Supercrítica pela colaboração nas análises de tamanho de partícula e potencial zeta.

Referências

Adetunji, L. R., Adekunle, A., Orsat, V., & Raghavan, V. (2017). Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. *Food Hydrocolloids*, 62, 239-250.

BBC-REsearch. (2011). The Global Market for Carotenoids.

Bichara, L. C., Alvarez, P. E., Fiori Bimbi, M. V., Vaca, H., Gervasi, C., & Brandán, S. A. (2016). Structural and spectroscopic study of a pectin isolated from citrus peel by using FTIR and FT-Raman spectra and DFT calculations. *Infrared Physics & Technology*, 76, 315-327.

Bochek, A.M., Zabivalova, N.M., & Petropavlovskii, G.A. (2001). Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. *Russian Journal Applied Chemistry*. 75, 796-799.

Bomgardner, M. M. (2013). Pushing pectin chemical & engineering news. *American Chemical Society*

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss Technology*, 28, 25-30.

Burapapadh, K., Kumpugdee-Vollrath, M., Chantasart, D., & Sriamornsak, P. (2010). Fabrication of pectin-based nanoemulsions loaded with itraconazole for pharmaceutical application. *Carbohydrate Polymers*, 82, 384-393.

Canteri, M. H. G., Moreno, L., Wosiacki, G., Agnes, P., & Scheer, A. P. (2012). Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. *Polímeros*, 22, 149-157.

Canteri-Schemin, M.H., Fertoni, H.C.R., Waszczyński, N., & Wosiacki, G. (2005). Extraction of pectin from Apple pomace. *Brazilian Archives Biology and Technology*. 48, 259-266.

Cao-Hoang, L., Fougère, R., & Waché, Y. (2011). Increase in stability and change in supramolecular structure of β -carotene through encapsulation into polylactic acid nanoparticles. *Food Chemistry*, 124, 42-49.

Cervantes-Paz, B., Ornelas-Paz, J. De J., Perez-Martínez, J. D., Hernandez, J. R., Zamudio-Flores, P. B., Rios-Velasco, C., Ibarra-Junquera, V., & Ruiz-Cruz, S. (2016). Effect of pectin concentration and properties on digestive events involved on micellarization of free and esterified carotenoids. *Food Hydrocolloids*, 60, 580-588.

Chang, C., Wang, T., Hu Q., Zhou, M., Xue, J., Luo, Y. (2017). Pectin coating improves physicochemical properties of caseinate/zein nanoparticles as oral delivery vehicles for curcumin. *Food Hydrocolloids*, 70, 143-151.

- Chan, S. Y., Chooa, W. S., Younga, D. J., Loh, X. J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers*, 161 118-139
- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., & Florou-Paneria, P. (2013). Functional properties of carotenoids originating from algae. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 5-11.
- Chu, B. S., Ichikawa, S., Kanafusa, S., & Nakajima, M. (2008). Stability of protein-stabilised β -carotene nanodispersions against heating, salts and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 1764-1769.
- Coelho, E. M., Gomes, R. G., Machado, B. A. S., Oliveira, R. S., Lima, M. S., De Azevedo, L. C.; & Umsza Guez. M. A. (2017). Passion fruit peel flour e Technological properties and application in food products. *Food Hydrocolloids*, 62, 158-164.
- Codex Alimentarius. (2005). General standards for food additives, codex stan 192–1995. Pectin. Rome, Italy: *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 169.
- De Oliveira, C. F., Gurak, P. D., Cladera-Olivera, F., Marczak, L. D. F., & Karwe, M. (2016). Combined effect of high-Pressure and conventional heating on pectin extraction from passion Fruit Peel. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 1021-1030.
- Deepak, V., Pandian, S. R. K., Kalishwaralal, K., & Gurunathan, S. (2009). Purification, immobilization, and characterization of nattokinase on PHB nanoparticles. *Bioresource Technology*, 100, 6644-6646.
- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, N. (2013). Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 628-647.
- Farris S., Schaich K.M., Liu L.S., Piergiovanni L., & Yam K.L. (2009). Development of polyion-complex hydrogels as an alternative approach for the production of bio-based polymers for food packaging applications: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 316-332.
- Flanagan, J., & Singh, H. (2006). Microemulsions: a potential delivery system for bioactives in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 221-237.
- Fontanive, V. C. P., Khalil, M. N., Cotica, L. F., & Mainardes, R. M. (2014). Aspectos físicos e biológicos de nanopartículas de ferritas magnéticas. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 35, 49-558.
- Gnanasambandam, R., & Proctor, A. (2000). Determination of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 68, 327-332.
- Gutiérrez, F. J., Albillos, S. M., Casas-Sanz, E., Cruz, Z., Garcia-Estrada, C., Garcia-Guerra, A., Garcia-Reverter, J., Garcia-Suarez, M., Gatón, P., Gonzalez-Ferrero, C., Olabarrieta, I., Olasagasti, M., Rainieri, S., Rivera-Patino, D., Rojo, R., Romo-Hualde, A., Saiz-Abajo, M., & Mussons. M. (2013). Methods for the nanoencapsulation of β -carotene in the food sector. *Trends in Food Science & Technology*, 32, 73-83.

Hu, K., Huang, X., Gao, Y., Huang, X., Xiao, H., & McClements, D. J. (2015). Core-Shell Biopolymer Nanoparticle Delivery Systems: Synthesis and Characterization of Curcumin Fortified Zein-Pectin Nanoparticles. *Food Chemistry*, 182, 275-281.

Imran, M., Revol-Junelles, A., Martyn, A., Tehrani, E. A., Jacquot, M., Linder, M., & Desobry, S. (2010). Active food packaging evolution: transformation from micro-to nanotechnology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50, 799-821.

Jehlička, J., Oren, A. (2013). Raman spectroscopy in halophile research. *Frontiers in Microbiology*, 10, 380.

Jones, O. G., Lesmes, U., Dubin, P., & McClements, D. J. (2010). Effect of polysaccharide charge on formation and properties of biopolymer nanoparticles created by heat treatment of β -lactoglobulin-pectin complexes. *Food Hydrocolloids*, 24, 374-383.

Kalapathy, U., Proctor. (2001). A. Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. *Food Chemistry*, 73, 393-396.

Khayata, N., Abdelwahed, W., Chehna, M. F., Chaecosset, C., & Fessi, H. (2012). Preparation of vitamin E loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method: From laboratory scale to large scale using a membrane contactor. *International Journal of Pharmaceutics*, 423, 419-427.

Kim, J., Seo, T., & Lim, S. (2013). Preparation of aqueous dispersion of β -carotene nano-composites through complex formation with starch dextrin. *Food Hydrocolloids*, 33,256-263.

Kishore, K., Pathak, K.A., Shuklar, R., & Bhar, R. (2011). Effect of storage temperature on physic-chemical and sensory attributes of purple passion fruit (*Passiflora edulis Sims*). *Journal Food Scienci Technology*, 48, 484-488.

Liew, S. Q., Chin, N. L., & Yusof, Y. A. (2014). Extraction and characterization of pectin from passion fruit peels. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 231-236.

Linnewiel-Hermoni, K., Khanin, M., Danielenko, M., Zango, G., Amosi, Y., Levy, J., & Sharoni, Y. (2015). The anti-cancer effects of carotenoids and other phytonutrients resides in their combined activity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 572, 28-35.

Liu, Y., Yin, H., Yuan, S., & Chen, Z. (2010). Influence of particle characteristics and E/Z-isomer ratio on the colour of concentrated β -carotene dispersions. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 1450-1456.

Liew, S. Q., Chin, N. L., & Yusof, Y. A. (2014). Extraction and characterization of pectin from passion fruit peels. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 231-236.

Lobato, K. B. S., Paese, K., Forgearini, J. C., Guterres, S. S., Jablonski, A., & Rios, A. O. (2013). Characterisation and stability evaluation of bixin nanocapsules. *Food Chemistry*, 141, 3906-3912.

- López-Vargas, J. H., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J. A., & Viuda-Matos, M. (2013). Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products. *Food Research International*, 51, 756-763.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135, 1520-1526.
- Mohanraj, V. J., & Chen, Y. (2006). Nanoparticles e a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5, 561-573.
- Monsoor, M. A.; Kulapathy, U.; Proctor, A. (2001). Improved method for determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2756-2760.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari. (2011). Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification–diffusion methods Critical comparison. *Advances in Colloid and Interface Science*, 163, 90-122.
- Mosqueira V.C.F., Legrand P., Pinto-Alphandary H., Puisieux F., & Barratt G. (2000). Poly (D,L-lactide) nanocapsules prepared by a solvent displacement process: influence of the composition on physicochemical and structural properties. *Journal and Pharmaceutical Sciences*, 89, 614-625.
- Müller-Maatsch, J., Caligiani, A., Tedeschi, T., Elst, K., & Sforza, S. (2014). Simple and validated quantitative ¹H NMR method for the determination of methylation, acetylation, and feruloylation degree of pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 9081-9087.
- Nascimento, T. A., Calado, V., & Carvalho, C. W. P. 2012. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. *Food Research International*, 49, 588-595.
- Nunes, I. L., & Mercadante, A. Z. (2007). Encapsulation of Lycopene Using Spray-Drying and Molecular Inclusion Processes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50, 893-900.
- Oliveira, L. F. De, Nascimento, M. R. F., Borges, S. V., Ribeiro, P. C. Do N., & Ruback, V. R. (2002). Aproveitamento alternativo da casca do maracujá amarelo (*passiflora edulis* f. *flavicarpa*) para produção de doce em calda. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 22, 259-262.
- Oliveira, C. F., Gurak, P. D., Cladera-Olivera, F., Marczak, L. D. F., & Karwe, M. (2016). Combined Effect of High-Pressure and Conventional Heating on Pectin Extraction from Passion Fruit Peel. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 1021-1030.

- Patravale, V. B., Date, A. A., & Kulkarni, R.M. (2004). Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *Journal of Pharmaceutics & Pharmacology*, 56, 827-840.
- Pineli, L. O., Rodrigues, J. S. Q., Costa, A. M., Lima, H. C., Chiarello, M. D., & Melo, L. (2015). Antioxidants and sensory properties of the infusions of wild passiflora from Brazilian savannah: Potential as functional beverages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 1500-1506.
- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., & McClements, D. J. (2012). Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. *Food Chemistry*, 132, 1221-1229.
- Ras, M., Steyer J. P., & Bernard, O. (2013) Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. *Reviews Environmental Science and Biotechnology*, 12, 153-164.
- Ribeiro, H. S., Chu, B. S., Ichikawa, S., & Nakajima, M. (2008). Preparation of nanodispersions containing β -carotene by solvent displacement method. *Food Hydrocolloids*, 22, 12-17.
- Rodriguez-Amaya, D. B., & Kimura, M. (2004). Harvest plus handbook for carotenoid analysis. Washington, DC e Cali: *International Food Policy Research Institute e International Center for Tropical Agriculture*, 58.
- Rodrigo-Baños M., Garbayo, I., Vílchez, C; Bonete, M J., Martínez-Espinosa, R M. (2015). Carotenoids from Haloarchaea and Their Potential in Biotechnology, *Marine Drugs*, 13, 5508-5532.
- Santoyo, S., Herrero, M., Señoráns, F. J., Cifuentes, A., Ibáñez, E., Jaime, L. (2006). *European Food Research and Technology*, 224, 75-81.
- Santos, P. P., Paese, K., Guterres, S. S., Pohlmann, A. R., Costa, T. H., Jablonski, A., Flôres, S. H., & Rios, A. O. (2015). Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. *Journal of Nanoparticle Research*, 17, 1-11.
- Santos, P.P., Flores, S. H., Rios, A. O. & Chisté, R. C. (2016). Biodegradable polymers as wall materials to the synthesis of bioactive compound nanocapsules. *Trends in Food Science & Technology*. 53, 23-33.
- Seixas, F. L., Fukuda, D. L., Turbiani, F. R. B., Garcia, P. S., Petkowicz, C. L. de O., Jagadevan, S., & Gimenes, M. L. (2014) Extraction of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) by microwave-induced heating. *Food Hydrocolloids*, 38,186-192.
- Shakeri, F., Shakeri, S., & Hojjatoleslami, M. (2014). Preparation and Characterization of Carvacrol Loaded Polyhydroxybutyrate Nanoparticles by Nanoprecipitation and Dialysis Methods. *Journal of Food Science*, 79, 697-715.
- Silva, H. D., Cerqueira, M. A., Souza, B. W. S., Ribeiro, C., Avides, M.m C., Quintas, M. A. C., Coimbra, J. S. R., Carneiro-da-Cunha, M. G., & Vicente, A. A. (2011).

Nanoemulsions of β -carotene using a high energy emulsification-evaporation technique. *Journal of Food Engineering*, 102, 130-135.

Silva, M. M., Nora, L., Cantillano, R. F. F., Paese, K., Guterres, S. S., Pohlmann, A. R., Costa, T. M. H., & Rios, A. O. (2016). The Production, Characterization, and the Stability of Carotenoids Loaded in Lipid-Core Nanocapsules. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 1148-1158

Sriamornsak, P., Thirawong, N., & Puttipipatkachorn, S. (2005). Emulsion gel beads of calcium pectinate capable of floating on the gastric fluid: Effect of some additives, hardening agent or coating on release behavior of metronidazole. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24, 363-373.

Tiede, K., Boxall, A. B.A., Tear, S. P., Lew, J., David, H., & Hasselöv, M. (2008). Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food Additives & Contaminants*, 25, 795-821.

Umoren, S. A., Obot, I. B., Mandhankumar, A., & Gasem, Z. M. (2015). Performance evaluation of pectin as ecofriendly corrosion inhibitor for X60 pipeline steel in acid medium: Experimental and theoretical approaches. *Carbohydrate Polymers*, 124, 280-291.

Venturini, C. G., Jäger, E., Oliveira, C. P., Bernardi, A., Battastini, A. M. O., Guterres, S. S., & Pohlmann, A. R. (2011). Formulation of lipid core nanocapsules. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 375, 200-208.

Verrijssen, T. A.J., Verkempinck, S. H. E., Christiaens, S., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E. (2015). The effect of pectin on in vitro β -carotene bioaccessibility and lipid digestion in low fat emulsions. *Food Hydrocolloids*, 49, 73-81.

Yapo, B. M. (2009a). Biochemical characteristics and gelling capacity of pectin from yellow passion fruit rind as affected by acid extractant nature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1572-1578.

Yapo, B. M. (2009b). Pectin quantity, composition and physicochemical behaviour as influenced by the purification process. *Food Research International*, 42, 1197-1202.

Yi, J., Lam, T. I., Yokoyama, W., Cheng, L.W., & Zhong, F. (2014). Cellular uptake of β -carotene from protein stabilized solid lipid nanoparticles prepared by homogenization-evaporation method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 1096-1104.

Yi, J., Lam, T. I., Yokoyama, W., Cheng, L.W., & Zhong, F. (2015). β -carotene encapsulated in food protein nanoparticles reduces peroxy radical oxidation in Caco-2 cells. *Food Hydrocolloids*, 43, 31-40.

Zanatta, C. F., & Mercadante, A. Z. (2007). Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry*, 101, 1526-1532.

Zhang, Z., Zhang, R., & McClements, D. J. (2016). Encapsulation of β -carotene in alginate-based hydrogel beads: Impact on physicochemical stability and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*, 61, 1-10.

Zhou, M., Hu, Q., Wang, T., Xue, J., & Luo, Y. (2016a). Effects of different polysaccharides on the formation of egg yolk LDL complex nanogels for nutrient delivery, *Carbohydrate Polymers*, 153, 336-344.

Zhou, M., Wang, T., Hu, Q., & Luo, Y. (2016b). Low density lipoprotein/pectin complex nanogels as potential oral delivery vehicles for curcumin. *Food Hydrocolloids*, 57, 20-29.

APÊNDICE: ESTUDO PROSPECTIVO DE NANOPARTÍCULAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS COM ÊNFASE EM NANOENCAPSULAMENTO: UMA CONTRIBUIÇÃO SOBRE A POTENCIALIDADE DESTA TECNOLOGIA

Resumo — A nanotecnologia pode ser considerada uma tendência nos diversos setores da economia. Nesse contexto, as nanopartículas de compostos bioativos destacam-se por sua versatilidade de funções/aplicações. O presente estudo prospectivo teve como objetivo avaliar o panorama mundial relativo ao tema em questão, correlacionando-o com os documentos de patentes depositados. A pesquisa foi realizada a partir da associação de códigos da Classificação Internacional de Patentes com palavras-chave sobre o tema, no banco de dados Espacenet®, resultando em 47 patentes. As informações encontradas foram compiladas em gráficos e discutidas. O uso desta tecnologia foi evidenciado principalmente na Indústria Farmacêutica (64%) e Alimentícia (21%), sendo os Estados Unidos o principal país detentor de pedidos de patentes. O Brasil possui apenas 3 depósitos de patentes associadas ao uso das nanopartículas de compostos bioativos, evidenciando assim a importância para novos incentivos tecnológicos no país. Diante do cenário analisado, pode-se observar a crescente tendência mundial desta tecnologia e sua promissora associação ao nanoencapsulamento.

Palavras-chave — indústria, inovação, nanotecnologia

Abstract — Nanotechnology can be considered a trend in the various sectors of the economy, in this context nanoparticles of bioactive compounds are noted for their versatility of functions/ applications. This prospective study aimed to assess the global picture concerning the issue at hand, correlating it with deposited patent documents. The survey was conducted from the codes of association of the International Patent Classification with keywords on the topic in the Espacenet® database, resulting in 47 patents. These findings were compiled in graphics and discussed. The use of this technology was evidenced mainly in the pharmaceutical industry (64%) and Food (21%), and the United States which is the principal holder of patent applications. Brazil has only 3 patent applications associated with the use of nanoparticles of bioactive compounds, thus underlining the importance for new technological incentives in the country. On the analyzed scenario, one can observe the growing global trend of this technology and its promising association to nanoencapsulation.

Keywords — industry, innovation, nanotechnology

1 INTRODUÇÃO

Os compostos bioativos vem ganhando destaque por sua diversidade de funções e aplicabilidade nos diferentes setores da economia, principalmente na indústria alimentícia e farmacêutica, uma vez que trazem benefícios à saúde, com destaque para os carotenoides, catequinas, fitoquímicos, flavonoides e curcuminoides (SHARMA, 2010; ISLAM; MOHAMMAD, 2015). Por prevenirem processos oxidativos, estes compostos estão amplamente associados à prevenção de inúmeras patologias, dentre elas, doenças cardiovasculares, Parkinson, Alzheimer e câncer (MINICH; BLAND, 2008). Além disso, vem atuando no cenário tecnológico da área de alimentos, sendo incorporado á matrizes alimentícias e embalagens, repercutindo em positivos resultados (SANTOS et al., 2015; HU et al., 2015).

Contudo, a instabilidade destes compostos (geralmente de origem natural), limitam sua ampla aplicabilidade, tendo em vista que apresentam sensibilidade á fatores como luz, oxigênio, altas temperaturas, entre outros, que podem comprometer seu caráter bioativo (AKHTAR et al., 2012). Desta forma, é evidente o crescente interesse em processos tecnológicos que visam melhorar/preservar as características de determinadas substâncias para adequá-las a determinada aplicação (ESMAILI et al., 2011; BASNIWAL et al., 2011; HU et al., 2015). Nesse contexto, o desenvolvimento de nanopartículas de compostos bioativos tem sido foco de pesquisas científicas, entretanto, ainda são limitados os estudos que abordam esta tecnologia (EZHILARASI et al., 2013).

As nanopartículas conceituam-se como partículas cujo tamanho se apresenta na faixa inferior que 0,2 μm (diâmetro entre 1 e 1000 nm) (SOPPIMATH et al., 2001), o que pode conferir amplos benefícios às características físico-químicas e estruturais dos compostos reduzidos a esta escala, como de proteger, isolar, retardar alterações que podem resultar perda de aroma, cor e valor nutricional, separar reagentes reativos e incompatíveis e controlar a liberação de ingredientes encapsulados (ANAND et al., 2010; BASNIWAL, et al., 2011).

Vários trabalhos científicos denotam que o panorama da nanotecnologia vem ganhado amplitude em associação à tecnologia de nanoencapsulamento, principalmente na indústria farmacêutica e alimentícia (SHAKERI, et al., 2014; YI et al., 2014; SANTOS et al., 2015; HU et al., 2015) podendo esta ser obtida sob diferentes metodologias (BASNIWAL et al., 2011). Contudo, diante do ambiente competitivo e da viabilidade de aplicação econômica das novas tecnologias, torna-se imprescindível o fator inventivo e inovador. Assim, o conhecimento das tendências tecnológicas futuras configura-se como relevante, sendo os estudos prospectivos ferramentas iniciais fundamentais para sistematizar as informações referentes às inovações (OLIVEIRA et al., 2012).

Diante da crescente utilização da nanotecnologia, o presente estudo prospectivo teve como objetivo realizar um mapeamento tecnológico para avaliar o panorama mundial da utilização de nanopartículas de compostos bioativos com ênfase em nanoencapsulamento, correlacionando com os documentos de patentes depositados, a fim de evidenciar os principais países detentores desta tecnologia, sua potencialidade e aplicabilidade nos diferentes setores da economia.

2 METODOLOGIA

Os documentos de patentes foram pesquisados na base de dados online do escritório europeu Espacenet® (EP), visto que abrange patentes depositadas e publicadas em mais de 90 países, incluindo os pedidos de patentes depositados no Brasil (Instituto Nacional de Propriedade Industrial -INPI), além de disponibilizar a versão integral de grande parte desta documentação. Para ampliar a busca do número de documentos depositados e obter diferentes variações e combinações dentre o tema proposto, foi realizada uma pesquisa utilizando os códigos da Classificação Internacional de Patentes (IPC). Desta forma, os documentos de patentes publicados, arquivados ou concedidos, relativos à tecnologia em estudo foram pesquisados sob associação de um conjunto de palavras-chave e códigos que representaram as formas com as quais esta tecnologia poderia ser identificada nos documentos, bem como pela busca das palavras-chave, título e abstract que se associavam ao presente estudo.

Os depósitos de patentes que apresentaram os descritores mais próximos ao tema proposto foram selecionados para o tratamento de dados. Estes foram exportados para o programa CSVed 2.2.3 e desse último, para o *Microsoft excel*. Subsequentemente foram criadas planilhas e gráficos referentes ao Código de Classificação Internacional; evolução anual das patentes; distribuição de depósitos por país detentor da tecnologia; depósitos de patentes por empresas e inventores; potencialidade e áreas de aplicação das nanopartículas de compostos bioativos, com enfoque na sua correlação com nanoencapsulamento.

3 ANÁLISE E DISCUSSÃO

A Classificação Internacional de Patentes, conhecida pela sigla IPC – International Patent Classification – foi estabelecida pelo Acordo de Estrasburgo em 1971 e prevê um sistema hierárquico de símbolos para a classificação de Patentes de Invenção (PI) e de Modelo de Utilidade (MU), de acordo com as diferentes áreas tecnológicas a que pertencem. A IPC é adotada por mais de 100 países e coordenada pela Organização Mundial da Propriedade Intelectual – OMPI. O objetivo da busca e identificação da IPC nos documentos está relacionado com a facilidade de reconhecer a área de aplicação tecnológica destes documentos em nível internacional, independente da língua que o documento de patente foi escrito e depositado (BRASIL, 2016).

A tabela 1 apresenta os resultados referente as palavras-chaves e códigos que totalizaram um acervo de 47 documentos de patentes disponíveis, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1– Busca de patentes por palavras-chave e códigos da Classificação Internacional de Patentes (IPC) na base de dados europeia (Espacenet – EP)

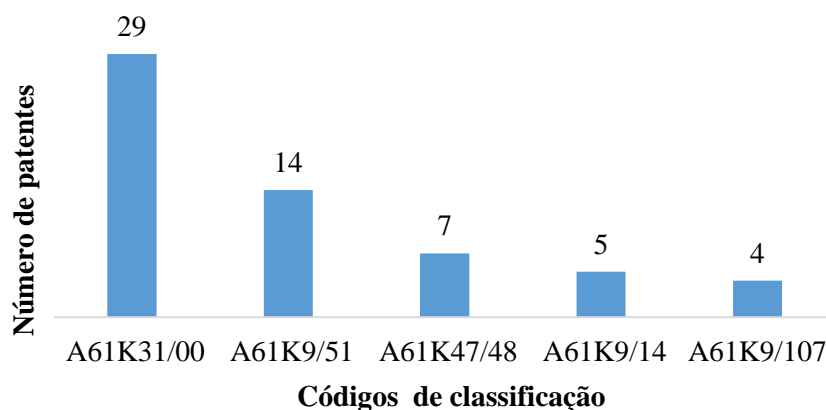
IPC e/ou palavras-chave	EP
<i>Nanoparticles</i>	14999
<i>Bioactive compounds</i>	348
<i>Nanoparticles and B82Y20/00</i>	55
<i>Nanoparticles and A61K31/00 and A23L1/00</i>	47
<i>Nanoparticles and A61K31/00</i>	34
<i>Nanoparticles and encapsulation</i>	17
<i>Nanoparticles and A23L1/00</i>	14
<i>Nanoencapsulation</i>	12
<i>Nanoparticles and bioactive compounds</i>	3
<i>Nanoparticles and nanoencapsulation</i>	2
<i>Nanoparticles and bioactive compounds and nanoencapsulation</i>	0
<i>Nanoparticles and A61K31/00 and A23L1/00 and B82Y20/00</i>	0

Fonte: Aatoria própria (2016)

Os códigos foram utilizados com o intuito de obter um maior número de resultados em relação aos documentos de patentes depositados e possuem as seguintes descrições: A61K31/00 - Preparações medicinais que contêm ingredientes orgânicos ativos; A61K9/51- Nanotecnologia; A23L1/00 - Alimentos ou produtos alimentícios: a sua preparação ou tratamento; A61K47/48 - O componente ativo não é quimicamente ligado aos outros compostos. Exemplo: Composto ativo ligado ao polímero; A61K9/14 - Processos para a redução do tamanho de partículas (drogas) puras ou os produtos resultantes, nanopartículas; A61K9/107 – Emulsões, Pré-concentrados de emulsão, Micelas.

Os códigos de classificação que mais apareceram nos documentos de patentes selecionados estão inseridos na Seção A – Necessidades Humanas (Agricultura, Saúde; Divertimento e Alimentos; Tabaco) (Figura 1). O maior número de depósito de patentes diz respeito ao código A61K31/00, referente a preparações medicinais que contêm ingredientes orgânicos ativos e em seguida o A61K9/51, referente à Nanotecnologia. Esses resultados denotam que, por se tratar de uma tecnologia recente, ainda não há uma diversidade nas apropriações dessa tecnologia em diversas áreas.

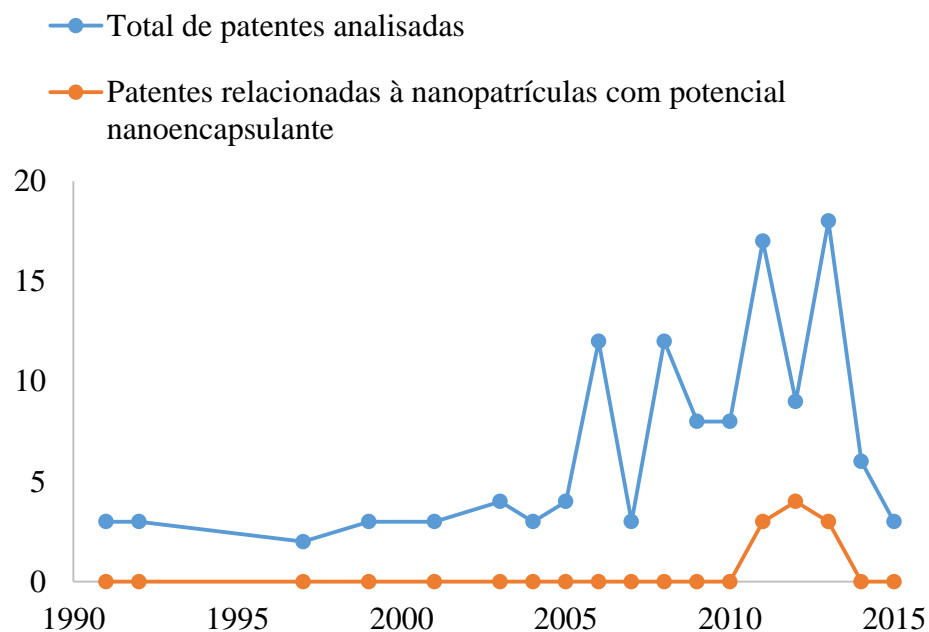
Figura 1– Distribuição das patentes relacionadas às nanopartículas de compostos orgânicos biativos, por códigos de classificação internacional na busca de patentes.



Fonte: Autoria própria, 2016

Na figura 2 está representada a evolução anual de patentes depositadas relacionadas à nanotecnologia de compostos bioativos. O primeiro depósito ocorreu em 1991 até o ano de 2015, resultando em 25 anos de estudo e somente 47 documentos depositados. Porém, trata-se de uma tecnologia inovadora, que demanda técnicas metodológicas específicas. Apesar disso, esta tecnologia apresentou um crescimento exponencial, principalmente nos últimos 10 anos.

Figura 2– Evolução anual de depósitos de patentes relacionadas à nanopartículas de compostos bioativos entre os anos de 1990 a 2015.



Fonte: Autoria própria, 2016

Este primeiro registro de depósito de patente descreve uma metodologia capaz de produzir nanopartículas (≤ 400 nm) de uma ampla variedade de medicamentos (analgésicos, antibióticos, anticoagulantes, antidepressivos, entre outros) a fim de

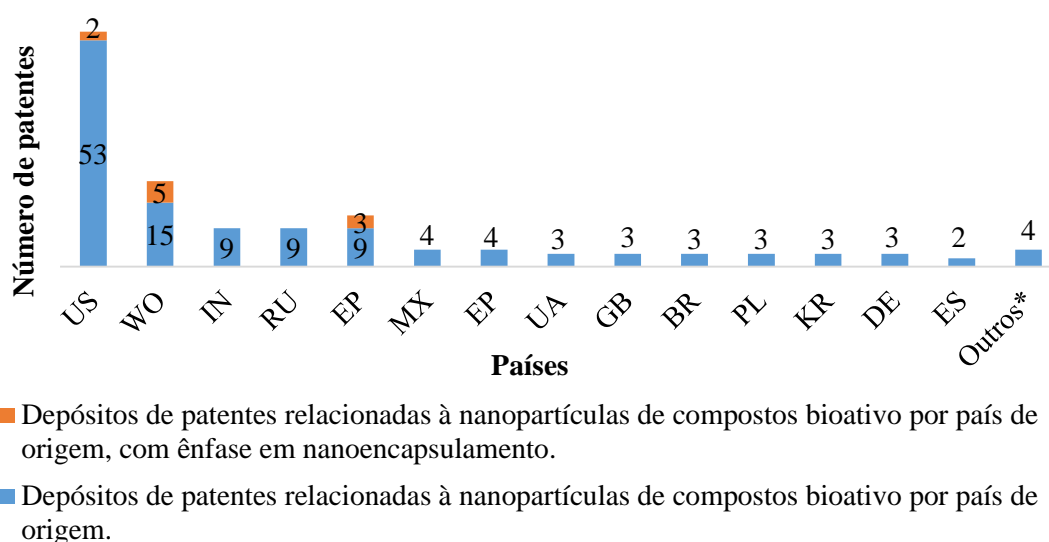
melhorar sua biodisponibilidade no tratamento patológico em seres humanos (GARY et al., 1991).

O advento desta tecnologia pode ser evidenciado no crescimento do número de pedidos de depósitos de patentes, principalmente entre 2010 a 2014 (Figura 2), período este concomitante ao crescente número de publicações científicas associadas a esta tecnologia (ANAND et al., 2010; BASNIWAL et al., 2011; SOUTO et al., 2012; NORONHA et al., 2013; YI et al., 2014; SANTOS et al., 2015; HU et al., 2015). Acredita-se que este fato tenha ocorrido em virtude de maior aplicação desta tecnologia, principalmente na Indústria Farmacêutica e de Alimentos, associado à sua ampla atribuição funcional. Vale ressaltar a existência do período de sigilo de proteção da patente por 18 meses que deve ser respeitado. Portanto, a análise dos arquivos de patentes a partir de 2015 não é fidedignas, o que explica o declínio de pedido de depósito de patentes após este período (Figura 2).

De acordo com a análise dos documentos de patentes referentes aos países nos quais se originou a tecnologia patenteada, é evidente que esta tecnologia encontra-se centralizada nos Estados Unidos. Contudo, um número considerável de patentes apresenta-se depositadas em mais de uma base de dados, sendo parte delas depositadas na Organização Mundial de propriedade intelectual (WO) e Organização Europeia de Patentes (EP) (Figura 3).

Este panorama denota o grande domínio desta tecnologia por parte dos países desenvolvidos, fato este que pode ser justificado pelo elevado custo das técnicas metodológicas da nanotecnologia, que demanda assim altos investimentos nos diferentes setores da economia.

Figura 3– Distribuição de depósitos de patentes relacionados às nanopartículas de compostos bioativos por país de origem dos depositantes. Outros* Japão, França e Coreia.



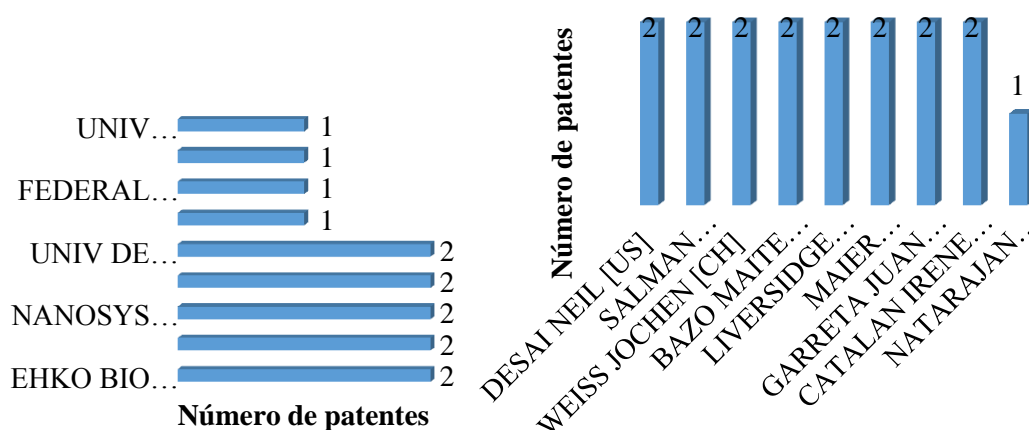
Fonte: Autoria própria, 2016

O Brasil, dentre os países analisados, detém 1 patente depositada, da qual descreve o método do nanoencapsulamento do composto inseticida amitraz para fins veterinários (CABALLERO et al., 2014). Este cenário pode ser justificado pelo baixo investimento

do país em inovar na área, uma vez que há pouca articulação eficiente entre governo, empresas e universidades, capazes de promover um sistema de Pesquisa e Desenvolvimento (PD&I), e/ou pelo pouco hábito de proteção das novas tecnologias por intermédio da propriedade industrial.

Os resultados observados na Figura 4 e 5 referem-se aos detentores e inventores respectivamente, da tecnologia em estudo, sendo verificado que algumas empresas como Ehko BioFarm [RU], Abraxis BioScience, LLC [US], DSM IP Assets BV [NL], Nanosystems, LLC, e a Universidad de Navarra [ES] apresentaram-se como mais expressivas no mercado com duas patentes depositadas cada, para proteção desta tecnologia em estudo. Apesar dos Estados Unidos apresentarem-se como o país com maior número de depósito de patentes, as empresas norte americanas não se apresentaram sob grande maioria com relação às demais empresas no mercado.

Figura 4– Depósito de patentes relacionadas às nanopartículas de compostos bioativos, por detentores - Espacenet®.



Fonte: Autoria própria, 2016

Figura 5– Inventores da tecnologia em relação à nanopartículas de compostos bioativos, por inventores - Espacenet®.



Fonte: Autoria própria, 2016

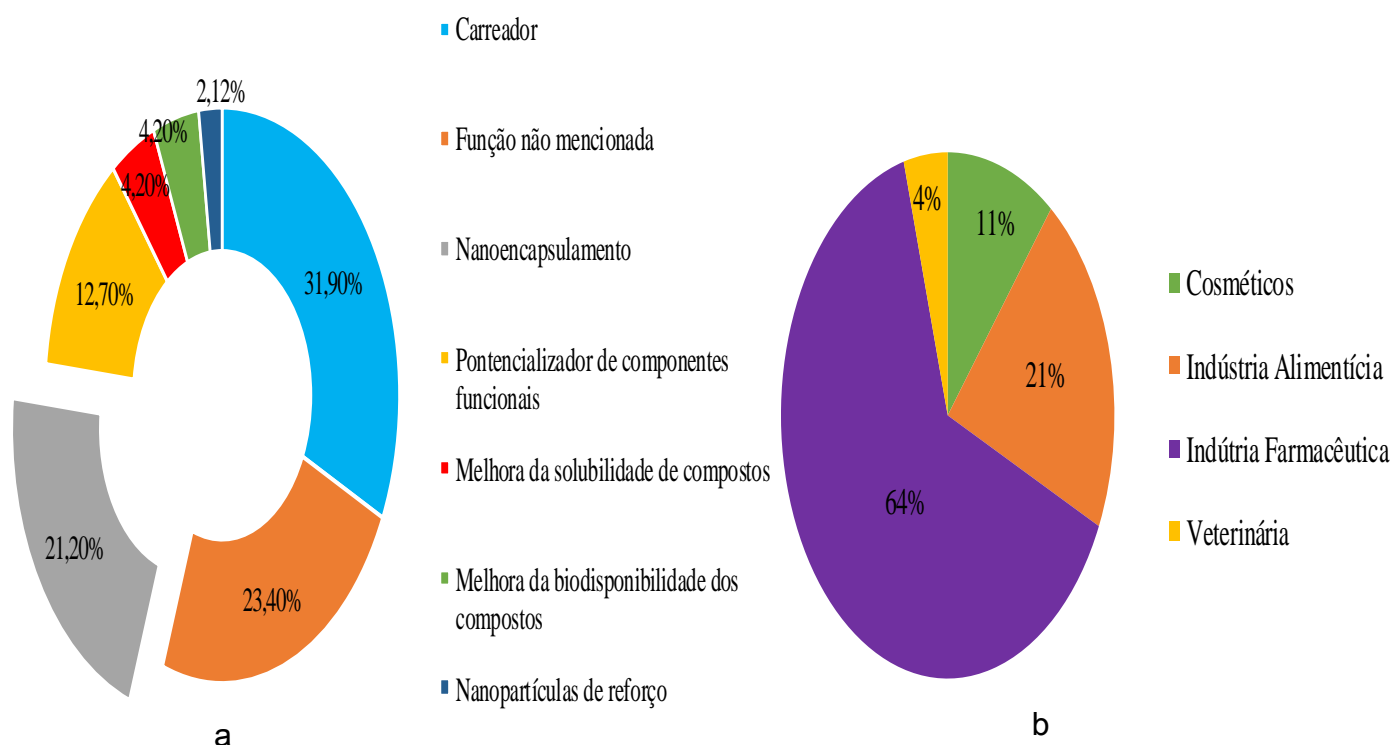
A Abraxis BioScience LLC é uma empresa norte americana que desenvolve produtos e métodos de imunquímica para atender às necessidades da indústria e testes

investigativos. A NanoSystems LLC é também uma empresa norte americana que trabalha no desenvolvimento e pesquisa de nanomateriais avançados para aplicação na ciência da vida e cuidados com a saúde. Já a DSM IP Assets B.V, é uma empresa holandesa com base científica que associa a ciência dos materiais com a ciência da vida a fim de gerar valores sustentáveis.

Percebe-se um domínio de depósitos oriundo, principalmente de empresas, fato este que pode ser justificado pelo provável financiamento das mesmas pelo setor industrial, a fim de promover o desenvolvimento/inação tecnológica com garantia de lucros e viabilidade de aplicação e comercialização de seus produtos.

Quanto à função das nanopartículas aplicadas na elaboração das invenções, pode-se verificar ampla versatilidade, com predomínio nas atribuições de carreador de substâncias/liberação de compostos (31,9%), potencializador de componentes funcionais (12,70%) e melhora da solubilidade e biodisponibilidade dos compostos (4,2%). Contudo, a falta de descrições nas patentes quanto às funções associadas a esta tecnologia, podem ter comprometido esta análise de forma mais precisa, uma vez que, muitos documentos disponíveis não especificaram suas funções (23,40%) (Figura 6a).

Figura 6 – Função (a) e destinação/aplicação (b) das nanopartículas aplicadas na elaboração das invenções



Fonte: Autoria própria, 2016.

Do total de patentes analisadas, 21,20% relacionam a tecnologia em questão às técnicas de nanoencapsulamento (Figura 6a). Esta correlação tende a ampliar o panorama tecnológico destas técnicas em vários setores econômicos, uma vez que,

estudos apresentam positivos resultados desta correlação (SALVIA-TRUJILLO, et al., 2013; YI et al., 2014).

Noronha e colaboradores (2013) demonstraram resultados positivos desta correlação ao produzirem nanopartículas contendo tocoferol, onde estas estruturas foram submetidas em vários testes de estabilidade, recuperação e eficiência da técnica utilizada. Os resultados sugeriram que as nanopartículas têm ampla aplicação em alimentos, atuando como componente antioxidante, bem como atribuindo funções em embalagens.

Sistemas de liberação controlada de um composto ativo podem ser observados no estudo proposto por Mayol e colaboradores, 2015, no qual, nanopartículas poliméricas de cúrcuma foram produzidas. Resultados positivos foram alcançados e as nanopartículas apresentaram a capacidade para sustentar a liberação da cúrcuma, para fins anticancerígenos, protegendo assim este composto da rápida degradação.

Das 47 patentes analisadas, 64% relacionam-se a Indústria Farmacêutica, 21% à Indústria Alimentícia, 11% à Indústria de Cosméticos e 4% empregada na área Veterinárias (Figura 6b).

Nos últimos anos, vários artigos científicos têm demonstrado a crescente utilização de nanopartículas pela indústria farmacêutica, atuando principalmente no controle da liberação de substâncias em sítios de ação específicos no organismo, na busca por melhor atuação do fármaco (DUAN et al., 2012; YADAV; KUMAR, 2014; CORADINI et al., 2014; YOON et al., 2015; MAYOL et al., 2015; SANTOS et al., 2016), corroborando assim com os resultados do presente estudo.

A aplicação de nanopartículas na indústria de alimentos é uma tendência, uma vez que há ampla oportunidade de aplicabilidade neste setor, podendo contribuir na melhora físico-química/estrutural, estabilidade dos compostos ou mesmo na produção de embalagens (SILVA et al., 2011; NAGAVARMA et al., 2012; LIANG et al., 2013; NORONHA et al., 2013; SANTOS et al., 2015; HU et al., 2015). Contudo, as vantagens e limitações da nanotecnologia não têm sido totalmente elucidadas, tendo como desafio a pouca informação sobre os possíveis riscos destas nanoestruturas no organismo, aplicabilidade em escala industrial e aceitação comercial (SOUTO; SEVERINO, 2013).

Apesar do baixo percentual demonstrado no presente estudo (Figura 6b), quando comparado aos outros setores da economia supracitados, a área de cosméticos reconhece os benefícios desta tecnologia para seu desenvolvimento e inovação (SCHMALTZ; VIEIRA; SANTOS, 2005).

4 CONCLUSÃO

O panorama tecnológico referente às nanopartículas de compostos bioativos mostrou-se tendencioso quanto aos depósitos de patentes ao longo dos últimos 10 anos, evidenciando o crescente caráter inventivo e inovador desta tecnologia e sua positiva associação com a técnica de encapsulamento.

Em análise aos países nos quais se originou a tecnologia patenteada e que apresentaram maior esforço inovativo, os Estados Unidos destacam-se por apresentarem maior número de patentes depositadas. Além disso, os maiores detentores e inventores dessa tecnologia advêm desse país. Ademais, os setores da economia que mostraram maior aplicabilidade neste campo tecnológico foram às indústrias farmacêutica e alimentícia.

No âmbito nacional, este estudo prospectivo mostrou que o número de patentes depositadas pelo Brasil é muito pequeno, demonstrando assim a necessidade de investimentos tecnológicos no país, uma vez que, o uso dessa tecnologia aparece como uma grande oportunidade de geração de patentes e trabalhos científicos, principalmente por suas inúmeras possibilidades de aplicação e vantagens para os diferentes setores da economia.

REFERÊNCIAS

AKHTAR, M.M.A RIZVI, S.K K.A.R. Entrega oral de curcumina obrigado a nanopartículas de quitosana curado Plasmodium yoelii camundongos infectados. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 310-320, 2012.

ANAND, P., NAIR, H. B., SUNG, B., KUNNUMAKKARA, A. B., YADAV, V. R., TEKMAL, R. R., & AGGARWAL, B. B. Design of curcumin-loaded PLGA nanoparticles formulation with enhanced cellular uptake, and increased bioactivity in vitro and superior bioavailability in vivo. **Biochemical Pharmacology**, v. 79, n. 3, p. 330–338, 2010.

BASNIWAL, R. K., BUTTAR, H. S., JAIN, V. K., & JAIN, N. Curcumin Nanoparticles : Preparation , Characterization , and Antimicrobial Study, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 2056–2061, 2011.

BRASIL. Instituto Nacional de Propriedade Industrial – INPI. Classificação – patentes. Disponível em: <<http://www.inpi.gov.br/menu-servicos/informacao/classificacao-patentes>>; Acesso em: 09 de Agosto de 2016.

CABALLERO, N. E; NETO, E. A. B; GASPARI, P. D. M ; SABATINI, G. Nanopartículas poliméricas contendo amitraz e/ou fluazuron, método de produção, formulação e usos. WO2014094087 A1, 19 nov. 2013, 26 jun. 2014.

CORADINI, K., LIMA, F. O., OLIVEIRA, C. M., CHAVES, P. S., ATHAYDE, M. L., CARVALHO, L. M., & BECK, R. C. R. Co-encapsulation of resveratrol and curcumin in lipid-core nanocapsules improves their in vitro antioxidant effects. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 88, n. 1, p. 178–185, 2014.

DUAN, J., MANSOUR, H. M., ZHANG, Y., DENG, X., CHEN, Y., WANG, J.; ZHAO, J. Reversion of multidrug resistance by co-encapsulation of doxorubicin and curcumin in chitosan/poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 426, n. 1-2, p. 193–201, 2012.

ESMAILI, M., GHAFARI, S. M., MOOSAVI-MOVAHEDI, Z., ATRI, M. S., SHARIFIZADEH, A., FARHADI, M., MOOSAVI-MOVAHEDI, A. A. Beta casein-micelle as a nano vehicle for solubility enhancement of curcumin; food industry application. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, p. 2166-2172, 2011.

EZHILARASI, P. N.; KARTHIK, P.; CHHANWAL, N.; ANAND HARAMAKRISHNAN, C. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 628-647, 2013.

- GARY G. L.; KENNETH C. C.; JOHN F. B.; DAVID A. C. Surface modified drug nanoparticles. CA2059432 C, 25 Jan 1991, 18 Mar 2003.
- HU, K., HUANG, X., GAO, Y., HUANG, X., XIAO, H., & MCCLEMENTS, D. J. Core-Shell Biopolymer Nanoparticle Delivery Systems: Synthesis and Characterization of Curcumin Fortified Zein-Pectin Nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 182, p. 275–281, 2015.
- HUANG, Y.-C., & KUO, T.-H. O carboxymethyl chitosan/fucoidan nanoparticles increase cellular curcumin uptake. **Food Hydrocolloids**, p. 1-9, 2015.
- ISLAM, S.; MOHAMMAD, F. Natural Colorants in the Presence of Anchors So-Called Mordants as Promising Coloring and Antimicrobial Agents for Textile Materials. **ACS Sustainable Chemistry Engineering**, v. 3, p. 2361-2375, 2015.
- LIANG, R., SHOEMAKER, C. F., YANG, X., ZHONG, F., & HUANG, Q. Stability and bioaccessibility of b-carotene in nanoemulsions stabilized by modified starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 1249–1257, 2013.
- MAYOL, L., SERRI, C., MENALE, C., CRISPI, S., PICCOLO, M. T., MITA, L.; MITA, D. G. Curcumin loaded PLGA–poloxamer blend nanoparticles induce cell cycle arrest in mesothelioma cells. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 93, p. 37–45, 2015.
- MINICH, D. M; BLAND, J. S. Dietary management of the metabolic syndrome beyond macronutrients. **Nutrition Reviews**., v. 66, p. 429-44, 2008.
- NAGAVARMA, B. V. N.; YADAV, H. K. S.; AYAZ, A.; VASUDHA, L. S.; SHIVAKUMAR, H. G. Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles - A review. **Asian Journal of Pharmaceutical Clinical Research**, v. 5, p. 16-23, 2012.
- NORONHA, C. M., GRANADA, A. F., DE CARVALHO, S. M., LINO, R. C., DE O.B. MACIEL, M. V., & BARRETO, P. L. M. Optimization of α -tocopherol loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 896–903, 2013.
- OLIVEIRA, G. R.; SANTOS, J. T. S.; CAMPOS, A. F. P.; NUNES, T.P.; RUSSO, S. L.; OLIVEIRA JUNIOR, A. M.. Prospecção tecnológica: processo de liofilização na indústria de alimentos. **Revista Geintec**, v. 3, n. 1, p.92-102, 2012.
- SALVIA-TRUJILLO, L., QIAN, C., MARTÍN-BELLOSO, O., & MCCLEMENTS, D. J. Influence of particle size on lipid digestion and β -carotene bioaccessibility in emulsions and nanoemulsions. **Food Chemistry**, v. 141 n. 2, p. 1475–1480, 2013.
- SANTOS, P. P., PAESE, K., GUTERRES, S. S., POHLMANN, A. R., COSTA, T. H., JABLONSKI, A., FLORES, H. S.; RIOS, A. D. O. Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 17, 2015.
- SANTOS P.P; FLORES, S.H; RIOS, A. O.; CHISTÉ, R. C. Biodegradable polymers as wall materials to the synthesis of bioactive compound nanocapsules. **Trends in Food Science & Technology**. v. 53 p. 23-33, 2016.

SCHMALTZ, C., VIEIRA, J., & SANTOS, D. O. S. Nanocápsulas Como Uma Tendência Promissora Na Área Cosmética: a Imensa Potencialidade Deste. **Infarma**, v. 16, p. 80–85, 2005.

SHARMA R, SINGH RB. Bioactive foods and nutraceutical supplementation criteria in cardiovascular protection. **The Open Nutraceuticals Journal**, v. 3, p. 141–153, 2010.

SHAKERI, F.; SHAKERI, S.; HOJJATOLESLAMI, M.. Preparation and Characterization of Carvacrol Loaded Polyhydroxybutyrate Nanoparticles by Nanoprecipitation and Dialysis Methods. **Journal of Food Science**, v. 79, p. 697-715, 2014.

SILVA, H. D., CERQUEIRA, M. A., SOUZA, B. W. S., RIBEIRO, C., AVIDES, M. C., QUINTAS, M. A C.; VICENTE, A. A. Nanoemulsions of β -carotene using a high-energy emulsification-evaporation technique. **Journal of Food Engineering**, v. 102, n. 2, p. 130–135, 2011.

SOUTO, E. B ; SEVERINO, P . Using nanoparticles to get the most out of antioxidants in food. **Therapeutic Delivery**, v. 4, p. 1471-1473, 2013.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. A. Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir da Polimerização de Monômeros - Parte I. **Polímeros**, v. 22, p. 96-100, 2012.

SOPPIMATH, K. S.; AMINABHAVI, T. M; KULKARNI, A. R.; RUDZISKI, W. E. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal Control. Release**. v. 70, p. 1-20, 2001.

YADAV, D., & KUMAR, N. Nanonization of curcumin by antisolvent precipitation: Process development, characterization, freeze drying and stability performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 477, p. 564–577, 2014.

YI, J., LAM, T. I., YOKOYAMA, W., CHENG, L. W., & ZHONG, F. (2014). Cellular uptake of β -carotene from protein stabilized solid lipid nanoparticles prepared by homogenization-evaporation method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 5, p. 1096–1104, 2014.

YOON, I.-S., PARK, J.-H., KANG, H. J., CHOE, J. H., GOH, M. S., KIM, D.-D., & CHO, H.-J. Poly(D,L-lactic acid)-glycerol-based nanoparticles for curcumin delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 488, p. 70–7. 2015.