

DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÃO CARREADORA DE LUTEÍNA E SUA ESTABILIDADE DURANTE ARMAZENAMENTO

Daniela Z. Demasi^{1*}, Luiza C. O. Carvalho¹, Daniele B. Rodrigues², Lilian R. B. Mariutti³

1. Estudante de IC da Fac.de Engenharia de Alimentos da UNICAMP

2. Doutoranda da Fac.de Engenharia de Alimentos da UNICAMP

3. FEA-UNICAMP- Departamento de Alimentos e Nutrição / Orientadora

Resumo:

A degeneração macular relacionada à idade (DMRI) é uma doença degenerativa e progressiva que acomete a área central da retina (mácula), levando invariavelmente à perda da visão central. A ingestão diária de luteína pode levar ao acúmulo deste carotenoide na retina, promovendo proteção contra a DMRI. Com o aumento da expectativa de vida da população, a utilização da luteína como forma de combate e prevenção de doenças degenerativas é uma opção bastante interessante.

As emulsões óleo em água são uma alternativa de carreador de compostos lipofílicos, pois possibilitam a incorporação destes em matrizes com base aquosa sem provocar um grande aumento no teor total de lipídios.

Dessa forma, desenvolvemos uma emulsão carreadora de luteína sem adição de antioxidantes e avaliamos sua estabilidade química e física em duas situações de armazenamento: durante quatro semanas em armazenamento refrigerado (1°C) no escuro e um armazenamento acelerado (60°C durante 12 dias).

Autorização legal: não se aplica

Palavras-chave:

Emulsões; Carotenoides; Estabilidade

Apoio financeiro:

CNPq (Projeto Universal-455748/2014-4), Bolsa IC Fapesp (D.Z.D., Proc. 2014/27302-0), Projeto EMU Fapesp (Proc. 2009/54137-1) e Bolsa SAE (L.C.O.C., PIBIC).

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:

UNICAMP

Introdução:

A degeneração macular relacionada à idade

(DMRI) é uma doença ocular que ocorre devido a degeneração das células fotorreceptoras da retina (mácula), causando perda visual grave.¹

A DMRI é a principal causa de cegueira irreversível após os 50 anos de idade nos países desenvolvidos, sendo que cerca de 30% da população com mais de 75 anos apresenta esta doença².

Estudos verificaram que a ocorrência de catarata e da DMRI pode ser diminuída através da ingestão diária de luteína. A ingestão de 6 mg de luteína ao dia é a dose recomendada para a diminuição de mais de 43% do risco de DMRI³.

A luteína (β,ϵ -caroteno-3,3'-diol) é um pigmento natural pertencente à classe dos carotenoides, os quais são conhecidos por sua capacidade antioxidante e uso como corante^{3,4}. A luteína destaca-se entre os carotenoides importantes para a saúde, pois se acumula na mácula que é a parte central da retina humana responsável pela acuidade visual. Juntamente com a zeaxantina, a luteína é responsável pela pigmentação amarela característica dessa região ocular⁵. A luteína não é sintetizada pelo organismo humano. Sua principal fonte são as flores do gênero *Tagetes*, sendo que em suas pétalas, a concentração de carotenóides pode chegar a 97% da sua composição.

Entretanto, existe uma dificuldade tecnológica para a adição de carotenoides, que são compostos lipofílicos, em produtos cujo constituinte principal é a água, como por exemplo, as bebidas lácteas e os iogurtes. As emulsões óleo em água são uma alternativa de carreador de compostos lipofílicos, pois possibilitam a incorporação destes em matrizes com base aquosa sem provocar um grande aumento no teor total de lipídios⁶. Neste contexto, o uso de nanoemulsões tem se mostrado uma tendência na indústria de alimentos e de cosméticos devido às vantagens que apresenta frente ao uso das emulsões convencionais, tais com maior

estabilidade, maior homogeneidade da substância lipofílica, facilidade de digestão, aumento da bioacessibilidade e da bioabsorção ou maior facilidade de penetração da substância lipofílica no tecido, como pele ou cabelo.

Diante do exposto, os objetivos desse trabalho foram desenvolver uma nanoemulsão óleo em água carreadora de luteína sem adição de antioxidantes e avaliar sua estabilidade química e física em duas situações de armazenamento: durante quatro semanas em armazenamento refrigerado (1°C) no escuro e um armazenamento acelerado (60°C durante 12 dias).

Metodologia:

Para a produção do óleo rico em carotenoides usado no preparo das emulsões, realizou-se uma mistura em um béquer contendo 38 g de óleo de soja puro para cada grama de flor do gênero *Tagetes* liofilizada. Esta mistura foi agitada por 3 minutos em vortex e em seguida, a dispersão do carotenoide no óleo foi realizada em agitador magnético por 1 hora a 50 °C, sendo que durante esse tempo, a mistura foi agitada mais 2 vezes no vortex por 1 minuto. Após este tempo, a mistura ficou sob agitação a temperatura ambiente durante 16 horas sob atmosfera de nitrogênio, e foi então mantida refrigerada durante mais 29 horas para que ocorresse a separação das pétalas liofilizadas. Com o auxílio de uma pipeta, separou-se as pétalas do óleo com carotenoide, e esse foi centrifugado (20 min, 4 °C, 20.000 g) duas vezes, havendo a retirada do sobrenadante após cada centrifugação. Após esse procedimento, o óleo foi filtrado a vácuo em papel de filtro e armazenado a -80 °C sob atmosfera de nitrogênio.

As nanoemulsões foram preparadas da seguinte forma. Primeiramente, o emulsificante Tween 20 foi diluído em água Milli-Q para uma concentração de 1,5% e deixou-se a solução durante uma noite no agitador magnético para melhor dispersão.

A fase oleosa da emulsão foi adicionada na concentração de 5% com três diferentes concentrações de carotenoides (4, 12 and 19 µg luteína/mL). O óleo com carotenoide foi filtrado em uma membrana (Sartorius, PTFE, 0,45 µm) e pesado junto com o óleo puro de soja.

A homogeneização dos componentes foi realizada durante 2 min com velocidade de 8000 rpm em um Ultraturrax T25 (Ika Works Inc., Wilmington, EUA). Logo em seguida, a diminuição do tamanho de partícula ocorreu em um microfluidizador (Microfluidizer M-110PS) por 3 ciclos a pressão de 10.000 psi⁷.

As emulsões foram armazenadas em duas condições diferentes: durante quatro semanas sob refrigeração (1°C) no escuro e em para simular um armazenamento acelerado, durante 12 dias a 60°C.

Para a análise da estabilidade física das emulsões, utilizou-se o equipamento ZetaSizer Nano (Malvern, Inglaterra) para medir o tamanho de gotícula e o potencial zeta. A média dos diâmetros de partícula foram medidas por laser light scattering e o potencial zeta foi medido por mobilidade eletroforética⁸. Além disso, através da observação visual e monitoramento por fotografias⁹, a separação gravitacional ("Creaming") foi utilizada como parâmetro de avaliação da estabilidade física.

Para análise da estabilidade química, a cor das nanoemulsões foi avaliada usando o sistema CIELAB em um colorímetro Color Quest XE (Hunter Associates Laboratory, Reston, Virginia, USA) considerando os parâmetros L^* =luminosidade, a^* = vermelho-verde e b^* = amarelo-azul. Além disso, o chrome das emulsões foram calculados utilizando a equação 1.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

Todos esses parâmetros foram analisados a cada dois dias para as nanoemulsões em armazenamento acelerado e a cada semana para aquelas em armazenamento refrigerado.

Resultados e Discussão:

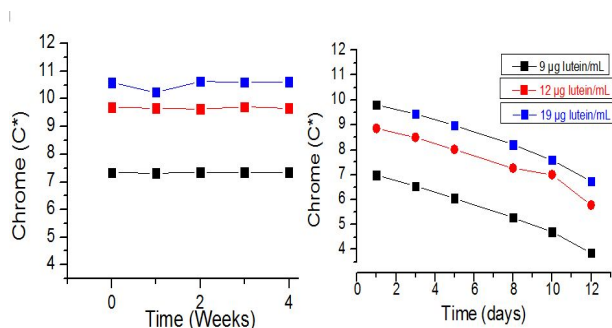
Todas nanoemulsões foram estáveis fisicamente durante o armazenamento nas duas condições avaliadas.

Os valores do tamanho da gotícula e potencial zeta (Tabela 1) não variaram durante o armazenamento. A carga negativa se deve ao uso de Tween 20 como surfactante da emulsão. A concentração de carotenoides na emulsão não afetou a sua estabilidade.

Tabela 1. Valores médios do tamanho das partículas e potencial zeta

Temperatura (°C)	Tamanho (nm)	Potencial Zeta (mV)
1	250	-30.2
60	254	-36

Nas emulsões recém preparadas, quanto maior o teor de carotenóides, maiores os parâmetros de cor a^* e b^* valores devido a intensa coloração laranja. Durante o armazenamento, as nanoemulsões em armazenamento acelerado tiveram perda da coloração na mesma taxa. Já as formulações armazenadas em refrigeração não tiveram alteração de cor (Figura 1).

**Figura 1.** Valores de C^* (chroma) das emulsões durante armazenamento refrigerado (esquerda) e armazenamento acelerado (direita).**Conclusões:**

Todas nanoemulsões foram estáveis durante o armazenamento. Assim, essas nanoemulsões mostram ser uma boa opção como carreadoras de luteína, já que elas permitem a incorporação desse composto em produtos constituídos principalmente de água sem o aumento significativo de lipídeos totais. As nanoemulsões armazenadas a 60° C, diferentemente das em armazenamento refrigerado, perderam a cor alaranjada após os quinze dias, devido a degradação de carotenóides. Apesar da estabilidade física das nanoemulsões ter sido mantida durante o armazenamento acelerado, será necessário adicionar antioxidantes para aumentar a termoestabilidade da luteína.

Referências bibliográficas

- ¹Klein R, Rowland ML, Harris MI. Racial/ethnic differences in age-related maculopathy. Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Ophthalmology* 1995;102:371-81.
- ²Bressler N.M. (2004) Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness. *JAMA*, 291, 1900-1901.
- ³Seddon, J.M., Ajani, U.A., Sperduto, R.D. (1994) Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. *Eye Disease Case-Control Study Group. JAMA*, 272, 1413 – 1320.
- ⁴Mariutti, L.R.B., Rodrigues, E., Mandelli, F., Mercadante, A.Z. (2013) Bioaccessibility and changes in the carotenoid profile from murici fruit after in vitro gastrointestinal digestion. In: 7th International Congress on Pigments in Food, 2013, Novara. Book of Abstracts and Proceedings of the 7th International Congress on Pigments in Food. Novara: Booksystem, 309-312
- ⁵Bone, R.A. et al. (1988) Analysis of the macular pigment by HPLC: Retinal distribution and age study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 29, 843-849.
- ⁶McClements, D.J. (2011) Edible nanoemulsions: Fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*, 7, 2297–2316.
- ⁷Dong, S., Panya, A., Zeng, M., Chen, B., McClements, D.J., Decker, E.A. (2012) Characteristics and antioxidant activity of hydrolyzed β -lactoglobulin–glucose Maillard reaction products. *Food Research International*, 46, 55-61.
- ⁸Rodrigues, E., Mariutti, L.R.B., Chisté, R.C., Mercadante, A.Z. (2012) Development of a novel microassay for evaluation of peroxy radical scavenger capacity: application to carotenoids and structure-activity relationship. *Food Chemistry*, 135, 2103-2111.

⁹McClements, D.J. (2005). Food Emulsions: Principles, Practice, and Techniques. Boca Raton: CRC Press