

UTILIZAÇÃO DE COACERVADOS PARA MICROENCAPSULAÇÃO DE HIDROLISADOS PROTÉICOS

SILVIA H. F. **FAVARON**^{1*}; MARIA T. B. **PACHECO**²; APARECIDA S. DE **SOUZA**³; VERA S. N. DA **SILVA**³; GINA M.B.Q. **CARDOZO**³; ALCINA MARIA **LISERRE**⁴
Nº0901002

Resumo

O estudo tem como objetivo desenvolver uma metodologia para mascarar o sabor amargo, reduzir a higroscopicidade e a reatividade de peptídeos bioativos. Para tanto foi utilizada a técnica de encapsulação, e como agente encapsulante o coacervado de proteínas de soro de leite (PSL) com carboximetilcelulose (CMC). Coacervação complexa é uma mistura de polieletrólitos, de polímeros carregados com cargas opostas. Para ocorrer a microencapsulação deve-se garantir que o coacervado seja formado ao redor do ativo que se deseja encapsular. O ativo foi obtido pela hidrólise das proteínas do soro de leite (10% p/v) com pancreatina (2% E:S). O coacervado foi obtido na concentração de 1:0,3 (PSL:CMC) e pH 3,5. As cápsulas foram formadas no equipamento mini spray dryer (BÜCHI B-290) (T:110°C; fluxo de ar: 30m³/h; fluxo da bomba de alimentação 25mL/min). O tamanho das cápsulas secas foram inferiores a 20 microns, observado em microscopia óptica (OLYMPUS CX41). O estudo da estabilidade das microcápsulas em diferentes valores de pH (2 a 7,5) por 90 minutos, mostraram que ocorreu início do rompimento em 45 minutos no pH 7,5. Para os demais valores de pH as casulas se mantiveram intactas. Pode-se concluir que a utilização do coacervado de PSL com CMC formam microcápsulas resistentes a valores de pH inferior a 7,5 e portanto, podem possibilitar a liberação controlada do ativo no pH similar do intestino delgado (7,5) como desejado.

Abstract

The study aims to develop a methodology to mask the bitter taste, to reduce the hygroscopic and reactivity of bioactive peptides. It will be used the encapsulation's technique, and encapsulating agent the coacervate of whey protein (WPC) with carboxymethylcellulose (CMC). Complex coacervation is a mixture of polyelectrolytes, loaded with opposite charges. The coacervate must be formed around the active material that is wanted to be encapsulated for the micro encapsulation to occur. The active was obtained trough hydrolysis of whey proteins (10% p/v) with pancreatin (2%E:S). The coacervate was obtained in the concentration of 1:0,3 (protein:CMC) and pH 3,5. The capsules were formed in the mini spray dryer equipment (Bücher B-290) (T: 110 ° C; air flux: 30m³ / h; flux of the pump power 25mL/min). The size of the dried capsules were less than 20 microns, observed trough optical microscopy (OLYMPUS CX41). The stability study of microcapsules in different values of pH (2 a 7,5) by 90 minutes, showed that the rupture occurred in 45 minutes at pH 7,5. We can conclude that the use of coacervate WPC with CMC formed a resistant microcapsule for different values of pH lower than 7,5, and therefore, can promote the controlled release of the active material in similar pH's, such as in the desired small intestine (7,5).

Palavras chaves: Coacervação complexa, hidrolisados protéicos, microencapsulação, proteínas de soro de leite, carboximetilcelulose.

Key words: Complex Coacervation, hydrolysate protein, micro encapsulation, whey protein, carboxymethylcellulose.

¹ Bolsista PIBIC – Faculdade de Nutrição – Universidade Paulista, e-mail: silviafavaron@gmail.com

² Orientador: Pesquisador, Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos- Instituto de Tecnologia de Alimentos, C.P. 139, CEP 13070-178, Campinas, SP, Brasil.

³ Colaborador: Pesquisador, Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos- Instituto de Tecnologia de Alimentos, C.P. 139, CEP 13070-178, Campinas, SP, Brasil.

⁴ Colaborador: Pesquisador, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios – Instituto de Tecnologia de Alimentos, C.P. 139, CEP 13070-178, Campinas, SP, Brasil.

1- INTRODUÇÃO

O conceito da microencapsulação tem como idealização o modelo celular, no qual o núcleo é envolvido por uma membrana semipermeável, que protege o conteúdo do ambiente que pode ser destrutivo, permitindo trocas pela membrana. Similar a uma parede que isola o material ativo e controla a liberação, sob estímulo específico (JIZOMOTO, *et al.*, 1993). A escolha do agente encapsulante depende de uma série de fatores, entre eles a não reatividade com o material a ser encapsulado, o tamanho das partículas, o mecanismo de liberação ideal, entre outros (JACKSON & LEE, 1991). Os materiais mais utilizados como encapsulantes incluem: gomas (arábica, agar, alginato de sódio, carragena); carboidratos (amidos, dextrinas, xarope de milho e sacarose); celuloses (carboximetilcelulose, etil, metil, acetil e nitro-celulose); lipídeos (cera, parafina, triesterina, ácido esteárico, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras hidrogenadas) e proteínas (glúten, caseína, isolado protéico de soro de leite, gelatina e albumina e algumas fontes alternativas como quitosana) (SHAHIDI & HAN, 1993).

As características de liberação do material ativo micro encapsulado ocorrem devido a mecanismos, tais como: variação de temperatura e de pH, solubilidade do meio, biodegradação, difusão, ruptura mecânica, permeabilidade seletiva, gradiente de concentração existente em relação à cobertura (PEPPAS & BRANNON-PEPPAS, 1996).

Os hidrolisados são resultante da hidrólise de proteínas de soro de leite, por meio da ação de proteases, em condições de temperatura e pH controlados. As soroproteínas (20-22% do total de proteínas do leite) exercem diversas funções: nutricionais (fonte de aminoácidos para síntese protéica e de energia), tecnológicas (propriedades funcionais e sensoriais), e funcionais, pois possuem dentro de sua estrutura primária regiões com atividades de proteção e regulação das funções biológicas. As propriedades funcionais biológicas fazem desses componentes potenciais ingredientes de alimentos promotores de saúde (KORHONEN & PIHLANTO, 2006).

Produtos com alto grau de hidrólise resultam na ocorrência de peptídeos amargos. Portanto, a aplicação desses compostos é limitada, uma vez que os mesmos são extremamente higroscópicos, reativos e muitos apresentam tanto sabor e aroma desagradáveis. O presente estudo tem como objetivo encapsular os hidrolisados protéicos, utilizando como matriz coacervados de proteínas do soro com polissacarídeos, visando a redução do amargor e higroscopicidade deste produto.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

2.1.1. Material ativo

Para microencapsulação foi produzido um hidrolisado protéico de proteínas do soro de leite, utilizando a enzima pancreatina (Sigma P1750). Para os testes de hidrólise foi utilizado o substrato na concentração de 10% (p/v) e a concentração de enzima variando de 1 a 10% (p/v).

2.1.2. Agente encapsulante

Foram utilizados coacervados formados pela união de proteínas do soro de leite (PSL) com carboximetilcelulose (CMC - Induskol FG-3000), conforme **Figura 2**. A melhor condição de coacervação foi determinada pela menor concentração de nitrogênio solúvel no sobrenadante, após complexação dos biopolímeros.

2.2 Métodos

2.2.1. Hidrólise Protéica

As proteínas concentradas do soro de leite foram hidrolisadas utilizando o método do pH stat (ALDER-NILSEN, 1986).

2.2.2. Método utilizado para microencapsulação

Para microencapsulação foi utilizado o spray dryer (Mini Spray Dryer BÜCHI B-290). Os parâmetros de operação do spray foram: Temperatura de entrada: 110°C; Temperatura de saída: 65°C; Fluxo de ar: 30m³/h; Fluxo da bomba de alimentação: 25mL/min.

2.2.3 Avaliação da morfologia e estabilidade das microcápsulas

A morfologia das microcápsulas foi observada por microscopia óptica (OLYMPUS CX41), munido de uma câmera digital (OLYMPUS Q COLOR 3), em diferentes tempos e valores de pH's. Para a avaliação do efeito do pH sobre a desintegração das partículas de coacervado de carboximetilcelulose foram utilizadas soluções tampões em pH 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e 7,5. A integridade das partículas foi monitorada por microscopia óptica durante o tempo de 90 minutos, nos diferentes valores de pH.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teste preliminar da hidrólise enzimática das proteínas do soro de leite: otimização das condições hidrolíticas e caracterização do hidrolisado

O hidrolisado obtido a partir de proteínas de soro de leite (PSL) apresentou resultados similares quanto à composição centesimal do concentrado protéico, com exceção das proteínas e cinzas (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Composição centesimal do concentrado de soro de leite e dos hidrolisados obtidos através do sistema enzimático: pancreatina

Composição (% base seca)	Concentrado do Soro de Leite (CSL)	Hidrolisado de CSL de Pancreatina
Proteína (N X 6,38)	83,86 ± 0,51	77,82 ± 0,42
Lipídeos	6,33 ± 0,14	6,15 ± 0,11
Cinzas	3,08 ± 0,09	9,81 ± 0,31
Lactose	6,73 ± 0,11	6,22 ± 0,22

*CSL = concentrado de soro de leite

Não houve diferença com relação a lipídeos e lactose. O elevado conteúdo de cinzas provavelmente ocorreu devido à hidrólise do CSL ser realizada no pHstat, pois durante o processo há liberação de hidróxido de sódio (NaOH). Como a proteína hidrolisada fica com radical livre, o H^+ disponível se liga ao OH^- , produzindo moléculas de água. Com isso o Na^+ fica livre, o que ocasiona aumento na quantidade de cinzas, e conseqüentemente a redução no teor da proteína.

3.2 Otimização das condições de hidrólise

Os resultados apontaram que a maior cinética de reação ocorreu nas condições: relação enzima: substrato de 10% p/v, pH 7,5 e temperatura 37°C, para obter um grau de hidrólise de 20%. Contudo foi selecionada a concentração de 2% (E:S) por utilizar a menor quantidade de enzima e atingir o grau 20% de hidrólise em 300 minutos.

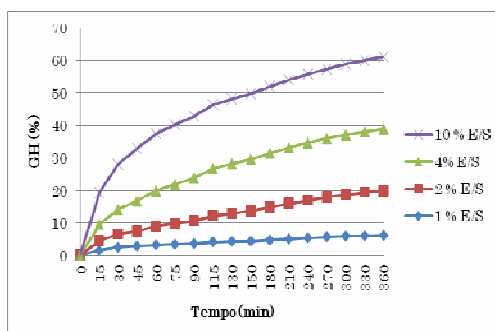


FIGURA 1 - Curvas de hidrólise para proteínas de soro de leite (10%) hidrolisadas com a enzima pancreatina em diferentes concentrações de enzima: substrato (p/p).

3.3 Otimização da coacervação em função da concentração de CMC

Uma vez definido o melhor valor de pH, onde houve maior reatividade de união entre os polímeros (proteína/polissacarídeo), foi realizada uma variação na concentração do polissacarídeo para encontrar a menor relação de CMC favorável à coacervação dos complexos. A figura 2 mostra que os melhores valores foram pH 3,5 na concentração

de 0,3% para o CMC.

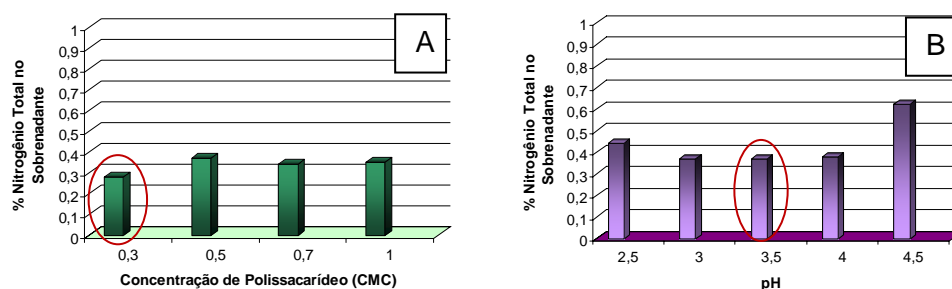


FIGURA 2. (A) Nitrogênio do sobrenadante (%) após a complexação das proteínas do soro de leite com polissacarídeos (CMC) em diferentes valores de pH e **(B)** concentrações (%).

3.4 Estabilidade das micropartículas de coacervado de CMC 0,3%, observados em microscopia óptica.

As microfotografias das microcápsulas podem ser observadas nas **Figuras 3 e 4**.

As partículas secas apresentaram um tamanho inferior a 20 microns, indicando a formação de microcápsulas. No estudo da estabilidade das microcápsulas, deixadas por 90 minutos em diferentes valores de pH, foi observado que nos valores de pH 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 elas permaneceram intactas. Para o pH 7,5 houve início do rompimento das microcápsulas no tempo de 45 minutos, sendo que a completa desintegração das mesmas ocorreu no tempo de 90 minutos.

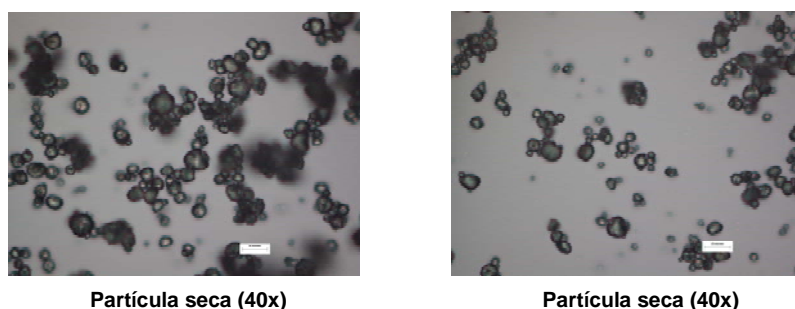


FIGURA 3. Fotomicrografia da morfologia das microcápsulas secas.

Na **Figura 4** observa-se a estabilidade e a presença de intumescimentos, dobras superficiais e orifícios ou crateras, possivelmente resultantes da maior reatividade com o meio circundante (pH 7,5). Provavelmente este fato indica que ocorrerá o rompimento da partícula nesta condição (pH 7,5) para liberação do material ativo.

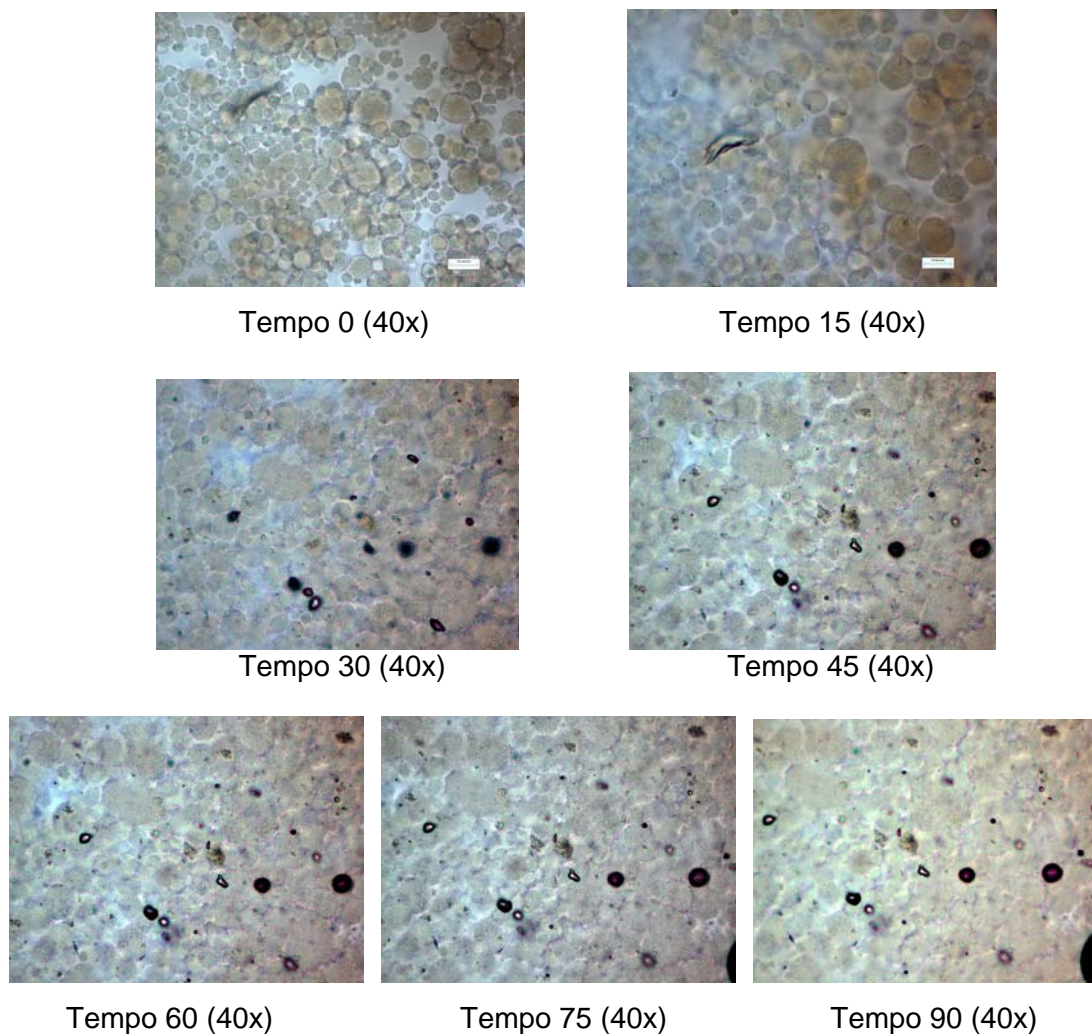


FIGURA 4. Fotomicrografias de partículas de coacervado CMC:PSL 0,3%, pH 3,5 em tampão fosfato de sódio pH 7,5, em diferentes tempos.

4. CONCLUSÃO

- O coacervado de CMC:PSL na coacervação de 0,3% (p/p) e pH 3,5 apresentou-se adequado para produção de microcápsulas no spray dryer.
- As partículas secas apresentaram um tamanho inferior a 20 microns, classificando-as assim como microcápsulas.
- O coacervado demonstrou um desejável potencial de liberação controlada em função do pH.
- O estudo da estabilidade das microcápsulas de acordo com o pH, simulando as condições do trato gastrointestinal (TGI) para liberação do ativo, indica que existe a probabilidade de rompimento no pH do TGI (7,5).

5. REFERÊNCIAS

ADLER-NISSEN, J. Enzymic Hydrolysis of Food Proteins, **Elsevier Applied Science Publishers**, London and New York, 1986.

BRANNON-PEPPAS, L. Controlled release in the food and cosmetics industries **In: Polymeric delivery systems: properties and applications**, chapter 3, p. 42-52, 1993.

JACKSON, L.S.; LEE, K. Microencapsulation and Food Industry, **Lebensmittel-Wissenschaftat Technologie**, v. 24, n.4, p. 289-297, 1991.

JIZOMOTO, H.; KANAOKA, E.; SUGITA, K.; HIRANO, K. Gelatin-Acacia microcapsules for trapping micro oil droplets containing lipophilic drugs and ready disintegration in the gastrointestinal tract. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n.8, p.1115-1122, 1993.

KORHONEN, H.; PIHLANTO,A. Bioactive peptides: production and functionally. **International Dairy Journal**, n.16, p.945-960, 2006.

SHAHIDI, F.; HAN, X.Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.