

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

AVALIAÇÃO DA FORMULAÇÃO DE NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE CHIA COM MUCILAGEM DE CHIA

S.S. Fernandes¹, J.M. Latorres², C. Prentice-Hernández³, M.R. Segura-Campos⁴, M.M. Salas-Mellado⁵

1 - Laboratório de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: (53) 3233-6500 – e-mail: (sibelecti@hotmail.com)

2- Laboratório de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: (53) 3233-6500 – e-mail: (julatorres@yahoo.com.br)

3 - Laboratório de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: (53) 3233-6500 – e-mail: (carlos.prentice@gmail.com)

4 - Laboratório de Ciencia de Alimentos – Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Ingeniería Química – Mérida - Yucatán – México, e-mail: (maira.segura@correo.uady.mx)

5 - Laboratório de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: (53) 3233-6500 – e-mail: (mysame@yahoo.com.br)

RESUMO – Óleo de chia apresenta elevado teor de ácidos graxos linolênico e linoleico, os quais são essenciais para o organismo humano, porém não é capaz de sintetizá-los. As insaturações presentes torna-os susceptíveis a oxidação o que faz com que técnicas de encapsulação, como as nanoemulsões, sejam utilizadas na preservação dos componentes bioativos e na inserção em alimentos. Com isso, o objetivo desse estudo foi determinar a formulação ideal de nanoemulsões de óleo de chia obtidas variando a concentração de mucilagem de chia e da relação óleo de chia/ Tween 20, bem como o uso do etanol. A utilização de 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia, com e sem etanol, foi a condição que apresentou menor tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta adequados, e estabilidade a agitação, quando realizada a análise individual e fatorial.

ABSTRACT – Chia oil has a high content of linolenic and linoleic fatty acids, which are essential for the human organism, but it is not capable of synthesizing them. The unsaturation present makes them susceptible to oxidation, which makes encapsulation techniques, such as nanoemulsions, to be used in the preservation of bioactive components and in the insertion in food. Thus, the aim of this study was to determine the ideal formulation of chia oil nanoemulsions obtained by varying the concentration of chia mucilage and the chia oil/Tween 20 ratio, as well as the use of ethanol. The use of 0.375 g of chia mucilage and 0.233 ml of chia oil, with and without ethanol, was the condition that presented the smallest particle size, polydispersion index and zeta potential suitable, and stability to agitation, when performed the individual analysis and factorial.

PALAVRAS-CHAVE: Semente de chia; formulação; tecnofuncionais.

KEYWORDS: Chia seed; formulation; techno-functional.

1. INTRODUÇÃO

A semente de chia (*Salvia hispanica* L.), nativa da região do sul do México e norte da Guatemala, tornou-se cada vez mais importante para a saúde e nutrição humana, já que é uma fonte rica em ácidos graxos essenciais, fibra alimentar e proteínas (CAPITANI et al., 2012). Ela possui um alto teor lipídico (30 a 40%) e de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente ácidos graxos ômega-3 (ácido linolênico, 68%) e ômega-6 (ácido linoleico, 19%), os quais são essenciais ao organismo humano, são capazes de reduzir o colesterol no sangue e diminuir o risco de doenças cardiovasculares (AYERZA; COATES, 2011; FERNANDES et al., 2019). O

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

elevado grau de insaturação desses compostos implica na necessidade da utilização de algum processo que permita a incorporação destes em alimentos, diminuindo a susceptibilidade à oxidação e o desenvolvimento de sabores estranhos que afetam as propriedades sensoriais dos alimentos (IXTAINA et al., 2015).

Assim, o uso de tecnologias alternativas, como a encapsulação, é necessário para retardar o processo de oxidação, mantendo a estabilidade e as propriedades nutricionais do óleo de semente de chia e possibilitando sua incorporação nos alimentos (ALCÂNTARA et al., 2019). Existem várias técnicas de encapsulação, incluindo aquela baseada em nanoemulsão, e sua aplicação prospectiva no encapsulamento de óleo para evitar a degradação oxidativa e a facilidade de adição na formulação de alimentos, ganharam destaque (SHARMA et al., 2019). As nanoemulsões apresentam várias vantagens em comparação com outras técnicas de encapsulação, como boa dispersibilidade da água, melhores propriedades ópticas (mais translúcidas), melhor estabilidade física (contra separação gravitacional e agregação de partículas) e maior biodisponibilidade dos compostos bioativos lipofílicos incorporados a elas (KARTHIK et al., 2015; KOMAIKO et al., 2016).

Dentre os possíveis compostos que podem ser utilizados como materiais de parede, tem-se a mucilagem de chia. A mucilagem de chia é um heteropolissacarídeo aniônico de alta viscosidade, mesmo em baixa concentração, com fibras alimentares (72%) sendo seu principal componente (TIMILSENA et al., 2016). O teor de proteínas (10%) da mucilagem de chia favorece as propriedades emulsificantes, enquanto o alto teor de carboidratos (80%) incluindo as fibras favorecem as propriedades de encapsulação, pois tendem a formar géis (CAMPO et al., 2017; FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2017). Além disso, a mucilagem possui uma capacidade de retenção de óleo adequada, o que é vantajoso para a retenção de compostos ativos à base de óleo (SEGURA-CAMPOS et al., 2014).

Com isso, este estudo teve como objetivo determinar a formulação ideal nanoemulsões de óleo de chia com mucilagem de chia, avaliando o uso de etanol e as propriedades tecnofuncionais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Óleo de chia foi obtido por prensagem. As nanoemulsões de óleo de chia foram desenvolvidas utilizando mucilagem de chia como material de parede, com e sem etanol, adicionado com Tween 20 (0,4%, v/v) como surfactante. As nanoemulsões de óleo em água foram produzidas de acordo com Campo et al. (2017), com modificações. As nanoemulsões foram misturadas por 15 min a 10000 rpm, utilizando homogeneizador Ultraturrax (IKA, T25 digital, México), com a lenta adição da fase aquosa (Tween 20, óleo de chia e etanol) à fase orgânica (chia mucilagem e água).

A Tabela 1 apresenta os experimentos realizados com o planejamento experimental fatorial 2^2 com três repetições no ponto central, bem como as quantidades dos componentes utilizados em cada tratamento. As variáveis independentes testadas foram a concentração de mucilagem de chia (0,5 a 1,5%), e a proporção de óleo de chia/ Tween 20 (30 a 70% - v/v).

As respostas (variáveis dependentes) analisadas foram o tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, eficiência de encapsulação e estabilidade através do teste de centrifugação.

O tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta das nanoemulsões foram determinados através do espalhamento dinâmico de luz. As amostras de nanoemulsão foram diluídas em água ultrapura à temperatura ambiente. Para a determinação de tamanho de partícula e de índice de polidispersão, cada amostra foi analisada em célula de poliestireno descartável (DTS0012, Malvern Instruments). O potencial zeta foi determinado com célula dipolar universal (ZEN1012, Malvern Instruments). Os resultados foram analisados pelo programa Zetasizer 7.12.

A eficiência de encapsulação foi determinada de acordo com Timilsena et al. (2016). A Equação 1 apresenta a determinação da eficiência de encapsulação, em que O_{Total} é a quantidade total de óleo adicionado à formulação da nanoemulsão e $O_{\text{Superfície}}$ é a quantidade de óleo livre na nanoemulsão.

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br



$$\text{Eficiência de encapsulação (\%)} = \frac{\text{Óleo}_{\text{Total}} - \text{Óleo}_{\text{Superfície}}}{\text{Óleo}_{\text{Total}}} \times 100 \quad (1)$$

Tabela 1 – Formulações de encapsulamento de óleo de chia por nanoemulsões.

Tratamento	X ₁	X ₂	Mucilagem de chia (g)	Óleo de chia (mL)	Tween 20 (mL)	Água (mL)	Etanol (mL)	
							Sem	Com
1	-1 (0,5)	-1 (30)	0,125	0,043	0,1	25	0	4
2	+1 (1,5)	-1 (30)	0,375	0,043	0,1	25	0	4
3	-1 (0,5)	+1 (70)	0,125	0,233	0,1	25	0	4
4	+1 (1,5)	+1 (70)	0,375	0,233	0,1	25	0	4
5	0 (1,0)	0 (50)	0,250	0,100	0,1	25	0	4
6	0 (1,0)	0 (50)	0,250	0,100	0,1	25	0	4
7	0 (1,0)	0 (50)	0,250	0,100	0,1	25	0	4

Para a avaliação da estabilidade preliminar, o teste de centrifugação das amostras de nanoemulsão foi realizado submetendo as nanoemulsões a ciclos de 700, 2500 e 3500 rpm (Beckman, GS-15R, EUA) por 15 min, para avaliação da separação de fases (MARUNO; DA ROCHA-FILHO, 2010). A Equação 2 apresenta o cálculo da estabilidade (%).

$$\text{Estabilidade (\%)} = \frac{\text{Altura de separação da nanoemulsão}}{\text{Altura total da nanoemulsão}} \times 100 \quad (2)$$

Todas as análises foram realizadas pelo menos em triplicata e os dados foram comparados utilizando variância (ANOVA). Os valores médios obtidos foram comparados pelo teste de Tukey, através do software Statistica 5.0 (Statsoft, EUA), com nível de significância (α) em $p < 0,05$. As respostas do planejamento experimental (tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, eficiência de encapsulação e estabilidade) também foram analisadas por meio da análise multifatorial (ANOVA). A análise fatorial exploratória com significância (α) em $p < 0,05$, por meio da Statgraphics, utilizando como fatores o uso de etanol e tratamentos realizados, e o estudo das nanoemulsões no armazenamento utilizando como fatores o uso de etanol, temperatura e tempos de amostragem.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta as respostas do planejamento experimental realizado. Com exceção do tratamento 1 sem etanol, todos os demais tratamentos apresentaram tamanho de partícula dentro da faixa característica de nanoemulsões (50 – 500 nm) utilizadas para preparações industriais como alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (CHAARI et al., 2018). O tratamento 1 foi formulado com 0,125 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia, indicando que quando o etanol não é usado, baixas quantidades dos componentes principais contribuem para tamanhos de partículas maiores, porque, como as quantidades adicionadas são pequenas, as partículas tendem a se agregar.

Em relação à análise fatorial, todas as interações entre fatores (uso do etanol e tratamentos) apresentaram homogeneidade ($p > 0,05$). Os tratamentos 2, 6 e 7 não diferiram significativamente ($p > 0,05$) no tamanho das partículas ao se considerar o uso de etanol. Os demais tratamentos apresentaram diferença significativa. Nos tratamentos sem etanol, verificou-se que quanto mais mucilagem de chia é adicionada às



nanoemulsões, menor o tamanho das partículas, independentemente da quantidade de óleo de chia adicionado. Assim, isso corrobora que o tamanho das partículas de óleo de chia encapsuladas está diretamente relacionado à quantidade adicionada de mucilagem de chia. O tratamento 2 promoveu o menor tamanho de partícula, independentemente do uso ou não de etanol.

Tabela 2 – Respostas do planejamento experimental.

Trat.	Tamanho de partícula (nm)	IPD	Potencial zeta (mV)	Eficiência de encapsulação (%)	Estabilidade (%)		
					700 rpm	2500 rpm	3500 rpm
4	160,48 ± 2,12 ^d	0,547 ± 0,027 ^{abc}	-27,18 ± 0,89 ^b	96,61 ± 0,36 ^a	100,0 ± 0,0 ^a	95,4 ± 0,6 ^a	92,7 ± 2,1 ^a
4	213,25 ± 9,81 ^c	0,600 ± 0,043 ^A	-39,83 ± 1,24 ^D	96,12 ± 2,58 ^A	100,0 ± 0,0 ^A	98,3 ± 1,5 ^A	84,1 ± 1,8 ^B

Trat.: Tratamento; Tratamento 1: 0,125 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia; Tratamento 2: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,043 mL de óleo de chia; Tratamento 3: 0,125 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; Tratamento 4: 0,375 g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia; Tratamento 5, 6 e 7: 0,250 g de mucilagem de chia e 0,1 mL de óleo de chia; IPD = índice de polidispersão. Média de três valores com desvio padrão. A mesma letra minúscula ou maiúscula na coluna indica que não houve diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste de Tukey ($p > 0,05$).

O índice de polidispersão (IPD) é adimensional e indica a heterogeneidade (monodispersa ou polidispersa) dos tamanhos das partículas em uma mistura. Em relação ao IPD, os valores estavam entre 0,4 e 0,6, o que é característico de uma distribuição muito ampla. Os tratamentos com etanol não apresentaram diferença significativa entre eles, diferentemente daqueles que não foi usado o etanol.

Os tamanhos variados das partículas estão diretamente correlacionados com a constante dielétrica do meio e o uso de etanol, que em comparação a outros solventes, como o metanol, é mais homogêneo devido à formação uniforme de partículas, resultante da redução da constante dielétrica do meio (JOSHI et al., 2017). Da mesma forma, Yang et al. (2009) examinaram o efeito da adição de etanol às nanoemulsões e verificaram que o etanol mantém constante o tamanho de gotícula inicial das nanoemulsões. Embora o uso exclusivo de etanol não tenha causado diferença significativa, quando a interação entre os fatores uso de etanol e diferentes tratamentos foi testada, verificou-se que, no IPD, o uso ou não de etanol promove diferença significativa para os tratamentos 2 e 6.

O potencial zeta reflete a medição indireta da superfície da partícula. Partículas com um potencial zeta maior que 30 mV e menor que -30 mV são consideradas fisicamente estáveis. No entanto, dependendo do material da parede utilizado, bem como do surfactante, as suspensões podem ser estáveis, mesmo com valores de potencial zeta de cerca de 20 mV, ou até menores (MISHRA et al., 2009). As partículas obtidas apresentaram potencial zeta negativo devido à presença de mucilagem de chia, o que confere um potencial negativo à interface das partículas devido à presença de cadeias carboxílicas em sua composição (LIN et al., 1994). Como o surfactante utilizado (Tween 20) é de caráter não-iônico, ele não interfere no potencial apresentado pelas partículas.

Em relação à análise fatorial do potencial zeta, apenas o tratamento 1 não apresentou diferença significativa considerando a interação dos fatores. Para os demais tratamentos que apresentaram diferença significativa e, com exceção do tratamento 2, as nanoemulsões sem etanol apresentaram maior potencial zeta. Analisando individualmente o uso ou não de etanol, o potencial zeta de nanoemulsões sem etanol indicou que eram estáveis quando menos óleo de chia foi adicionado às formulações (tratamento 1 e 2), com o menor potencial (-36,66 mV) para o tratamento 2 e maior potencial zeta (-23,04 mV) para o tratamento 3. Enquanto para as nanoemulsões de etanol (também estáveis) aconteceu o contrário, a baixa adição dos componentes resultou em maior potencial zeta, com o maior valor obtido (-25,80 mV) para o tratamento 2 e o menor valor (-46,13 mV) para o tratamento 7. Os resultados de potenciais zeta indicaram que as nanoemulsões produzidas são fisicamente estáveis, não mostrando tendência a criar agregados entre as partículas.

A eficiência da encapsulação é um parâmetro importante para avaliar a formação de nanopartículas e corresponde à quantificação do composto bioativo encapsulado (CAMPO et al., 2018). De acordo com a Tabela

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

2, todos os tratamentos, exceto o tratamento 2 com etanol, apresentaram eficiência de encapsulação superior a 93%, comprovando a eficácia da técnica de encapsulação utilizada e o potencial da mucilagem de chia como material estruturante para compostos bioativos de nanocápsulas. A alta eficiência de encapsulação pode ter sido ocasionada pelo alto efeito emulsificante da mucilagem de chia, cerca de 63,7% (FERNANDES; SALAS-MELLADO, 2018), que reduz as perdas para a fase aquosa e contribui para a eficiência e estabilidade da encapsulação desses compostos.

Por meio da análise fatorial, com exceção do tratamento 2, que apresentou maior eficiência quando o etanol não foi utilizado, os outros tratamentos não mostraram diferença significativa considerando a interação dos fatores. Analisando individualmente, verificou-se que os tratamentos com o menor teor de óleo de chia resultaram em eficiências de encapsulação significativamente menores.

A estabilidade foi de 100% em todos os tratamentos quando a centrifugação a 700 rpm foi utilizada. Para a análise fatorial do teste de centrifugação a 2500 rpm, verificou-se que os tratamentos 1 e 2 apresentaram diferença significativa ao considerar o uso de etanol, com maior estabilidade para aqueles com etanol. Para a análise fatorial, no teste de centrifugação a 3500 rpm, o tratamento 2 apresentou a maior diferença significativa na interação fatorial. Além disso, verificou-se que nos pontos centrais do planejamento (tratamentos 5, 6 e 7) o uso de etanol promoveu maior estabilidade à nanoemulsão.

4. CONCLUSÃO

Com este estudo foi possível determinar que a utilização de 0,375g de mucilagem de chia e 0,233 mL de óleo de chia com e sem etanol produz nanoemulsões com melhores características (baixo tamanho de partícula, IPD e potencial zeta adequado, e alta eficiência de encapsulação e estabilidade) que facilitam a aplicação do óleo de chia em alimentos produzindo alimentos mais nutritivos com preservação dos compostos bioativos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcântara, M. A., Lima, A. E. A., Braga, A. L. M., Tonon, R. V., Galdeano, M. C., Mattos, M. da C., Brígida, A. I. S., Rosenhaim, R., Santos, N. A. & Cordeiro, A. M. T. de M. (2019). Influence of the emulsion homogenization method on the stability of chia oil microencapsulated by spray drying. *Powder Technology*, 354, 877–885.
- Ayerza, R. & Coates, W. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products*, 34, 1366–1371.
- Campo, C. De, Dick, M., Pereira Dos Santos, P., Haas Costa, T. M., Paese, K., Stanisquaski Guterres, S., Rios, A. O. & Flôres, S. H. (2018). Zeaxanthin nanoencapsulation with *Opuntia monacantha* mucilage as structuring material: Characterization and stability evaluation under different temperatures. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 558, 410–421.
- Campo, C., Santos, P. P., Costa, T. M. H., Paese, K., Guterres, S. S., Rios, A. O. & Flôres, S. H. (2017). Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as wall material: Characterization and stability evaluation. *Food Chemistry*, v. 234, p. 1–9, 2017.
- Capitani, M. I., Spotorno, V., Nolasco, S. M. & Tomás, M.C. (2012). Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds from Argentina. *Food Science and Technology*, 45, 94-102.
- Fernandes, S. S. & Salas-Mellado, M. de Las M. (2017). Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. *Food Chemistry*, 227.
- Fernandes, S. S. & Salas-Mellado, M. de Las M. (2018). Development of Mayonnaise with Substitution of Oil or Egg Yolk by the Addition of Chia (*Salvia hispanica* L.) Mucilage. *Journal of Food Science*, 83 (1).

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br



- Fernandes, S. S., Tonato, D., Mazutti, M. A., De Abreu, B. R., Cabrera, D., D'Oca, C. D. R. M., Prentice-Hernández, C. & Salas-Mellado, M. de Las M. (2019). Yield and quality of chia oil extracted via different methods. *Journal of Food Engineering*, 262, 200–208.
- Ixtaina, V. Y., Julio, L. M., Wagner, J. R., Nolasco, S. M. & Tomás, M. C. (2015). Physicochemical characterization and stability of chia oil microencapsulated with sodium caseinate and lactose by spray-drying. *Powder Technology*, 271, 26–34.
- Joshi, D. P., Pant, G., Arora, N. & Nainwal, S. (2017). Effect of solvents on morphology, magnetic and dielectric properties of (α -Fe₂O₃@SiO₂) core-shell nanoparticles. *Heliyon*, 3 (2), 1–16.
- Karthik, P., Ezhilarasi, P. N., Anandharamakrishnan, C. (2015). Challenges associated in stability of food grade nanoemulsions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 1435-1450.
- Komaiko, J., Sastrosubroto, A. & McClements, D. J. (2016). Encapsulation of ω -3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: Sunflower phospholipids. *Food Chemistry*, 203, 331–339.
- Lin, K. Y., Daniel, J. R. & Whistler, R. L. (1994). Structure of chia seed polysaccharide exudate. *Carbohydrate Polymers*, 23 (1), 13–18.
- Maruno, M., Da Rocha-Filho, P. A. (2010). O/W nanoemulsion after 15 years of preparation: A suitable vehicle for pharmaceutical and cosmetic applications. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 31(1), 17–22.
- Mishra, P. R., Shaal, L. Al, Müller, R. H. & Keck, C. M. (2009). Production and characterization of Hesperetin nanosuspensions for dermal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 371 (1), 182–189.
- Segura-Campos, M. R., Ciau-Solís, N., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L. & Betancur-Ancona, D. (2014). Chemical and Functional Properties of Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) Gum. *International Journal of Food Science*, 2014, 1–5.
- Sharma, S., Cheng, S.-F., Bhattacharya, B. & Chakkaravarthi, S. (2019). Efficacy of free and encapsulated natural antioxidants in oxidative stability of edible oil: Special emphasis on nanoemulsion-based encapsulation. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 305–318.
- Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Barrow, C. J. & Adhikari, B. (2016). Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 347–357.
- Yang, H. J., Cho, W. G. & Park, S. N. (2009). Stability of oil-in-water nano-emulsions prepared using the phase inversion composition method. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 15 (3), 331–335.