

Nanoencapsulação de licopeno em alimentos

Lycopene nanoencapsulation in food

Maiara Taís Bazana^{1*}, Cristiane Franco Codevilla², Cristiane de Bona da Silva³ e Cristiano Ragagnin de Menezes⁴

¹ Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil
maiarabazana@gmail.com

² Pós-doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil
cristianefc@hotmail.com

³ Doutora em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil
cristie.bona@gmail.com

⁴ Pós-doutor em Biotecnologia e Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil
cristiano.ufsm@gmail.com

Resumo

A nanoencapsulação é uma das tecnologias mais promissoras para encapsular compostos bioativos, promovendo a entrega no sítio de ação específico, a eficiente absorção através das células, a proteção e o controle de liberação das substâncias bioativas. A aplicação da nanotecnologia na indústria de alimentos ainda é limitada. Nesse sentido, explorou-se algumas técnicas de nanoencapsulação como a emulsificação, coacervação, complexação por inclusão e nanoprecipitação demonstrando algumas pesquisas já realizadas com compostos bioativos. A substância bioativa abordada nesse trabalho foi o licopeno, o qual apresenta atividade antioxidante, anticarcinogênica e efeito contra doenças cardiovasculares, assim como, outras características e propriedades foram relatadas. Além disso, também foi exemplificado as legislações vigentes a esse composto e as pesquisas desenvolvidas com nanoencapsulação e o licopeno por diferentes técnicas com aplicação em alimentos.

Palavras-chave: Compostos bioativos. Legislação. Licopeno, Nanoencapsulação. Técnicas de nanoencapsulação.

Abstract

Nanoencapsulation is one of the most promising technologies to encapsulate bioactive compounds, promoting targeted site-specific delivery, absorption through the cells, protection and release control of bioactive substances. Nanotechnology application in the food industry is still limited. In this sense, was explored some nanoencapsulation techniques such as emulsification, coacervation, inclusion complexation and nanoprecipitation showing some previous studies with bioactive components. The bioactive substance evaluated in this study was lycopene, which has antioxidant and anticarcinogenic activity and effect against cardiovascular disease, as well as other characteristics and properties have been reported. Furthermore, also it was exemplified legislation applicable to this compound and nanoencapsulation and lycopene research from different techniques with foods application.

Keywords: Bioactive compounds. Legislation. Lycopene. Nanoencapsulation. Nanoencapsulation techniques

1 Introdução

Nanoestruturas foram conceituadas, primeiramente, por Richard Feynman, em 1959, e, Nario Taniguchi em 1974, propôs o termo nanotecnologia para a manipulação de partículas submicrométricas. Sendo assim, o termo “nano” refere-se a uma magnitude de 10^{-9} m (EZHILARASI et al., 2013). Deste modo, a nanotecnologia trabalha com a produção, processamento e aplicação de materiais com tamanho menor que 1000 nm (SANGUANSRI; AUGUSTIN, 2006).

Essa nova tecnologia tem emergido como uma das áreas científicas mais promissoras da pesquisa. Durante a última década, a pesquisa nessa área tem aumentado e existem inúmeras empresas especializadas na fabricação de novas formas de materiais (tamanho nanométrico) com aplicações esperadas na terapêutica médica, diagnósticos, produção de energia, computação molecular e materiais estruturais (DUNCAN, 2011).

A indústria alimentícia está enfrentando grandes desafios no desenvolvimento e implementação de sistemas que possam produzir alimentos de alta qualidade, tanto seguros como eficientes e ambientalmente aceitáveis e sustentáveis (MANUFUTURE, 2006). Em muitas indústrias, incluindo a indústria de alimentos e agrícola, o uso da nanotecnologia surge para revolucionar todo o sistema alimentar, desde a produção, processamento, armazenamento e desenvolvimento de materiais inovadores, produtos e aplicações (EZHILARASI et al., 2013).

De fato, a nanotecnologia em alimentos insere novas oportunidades para a inovação na indústria de alimentos com imensa velocidade. Assim, algumas das aplicações resultam na presença de nanopartículas ou materiais nanoestruturados no alimento. Essa inovação pode ser aplicada nas características de macroescala nos alimentos, tais como a textura, sabor, outros atributos sensoriais, intensidade de coloração, processabilidade e a estabilidade durante a vida de prateleira, levando assim a um grande número de novos produtos. Além disso, essa tecnologia de nanoencapsulamento pode também melhorar a solubilidade em água, a estabilidade térmica e a biodisponibilidade oral dos compostos bioativos (HUANG; YU; RU, 2010; McCLEMENTS et al., 2009; SILVA et al., 2012; EZHILARASI et al., 2013).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão sobre o composto bioativo licopeno, e discutir sobre as várias técnicas de nanoencapsulamento que podem ser utilizadas para área de alimentos e quais as pesquisas já realizadas envolvendo a nanoencapsulação com o licopeno.

2 Nanoencapsulação

O encapsulamento é uma tecnologia em rápida expansão com muitas aplicações potenciais em áreas como as indústrias farmacêuticas e de alimentos. A

encapsulação já foi realizada para proteger compostos bioativos (polifenóis, micronutrientes, enzimas, antioxidantes e nutracêuticos) e também, para protegê-los de fatores ambientais adversos, assim como, promover a liberação controlada e entrega no sítio alvo específico (GOUIN, 2004; EZHILARASI et al. 2013; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014).

A liberação controlada e direcionada melhora a eficácia de micronutrientes, amplia a gama de aplicações de ingredientes alimentares, e garante a dosagem ideal, melhorando assim a relação custo-eficácia do produto (MOZAFARI et al. 2006). As microcápsulas são partículas com um diâmetro micrométrico, entre 1 e 5000 μ m (KING, 1995). Já, as nanopartículas são partículas sólidas coloidais com tamanho médio que pode variar de 10 a 1000 nm e são classificadas como nanocápsulas ou nanoesferas (ANANDHARAMAKRISHNAN et al., 2014). Sendo que, as nanocápsulas são sistemas vesiculares, em que o composto bioativo pode estar no núcleo, envolto por uma membrana de polímero, enquanto que as nanoesferas são sistemas matriciais nos quais o ativo pode estar uniformemente disperso (Figura 1) (COUVREUR; DUBERNET; PUISIEUX, 1995).

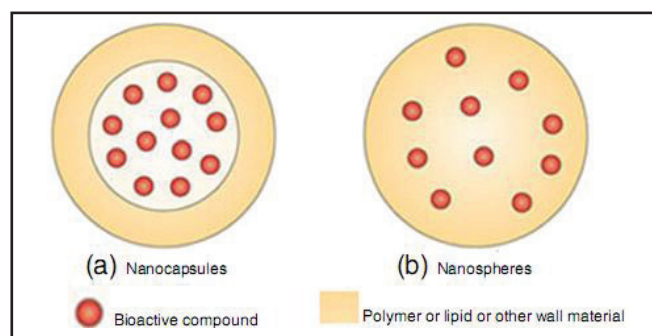


Figura 1 - Ilustração representativa das nanocápsulas (a) e nanoesferas (b)

Fonte: (ORIVE et al., 2009)

Atualmente, os interesses essenciais são atribuídos ao encapsulamento de sabores, lipídeos e carotenoides, entre outros ingredientes; ressalta-se que, em função de um único agente encapsulante não possuir todas as propriedades do material de parede ideal, pesquisas recentes têm focado em misturas de carboidratos, gomas e proteínas (GHARSALLAOUI et al., 2007).

A liberação de qualquer composto bioativo é diretamente afetada pelo tamanho da partícula (KAWASHIMA, 2001; HUGHES, 2005). Essa redução no tamanho para a nanoescala oferece oportunidades relacionadas ao tempo de retenção gastrointestinal prolongada, devido a bioadesividade melhorada no muco que reveste o epitélio intestinal (CHEN; WEISS; SHAHIDI, 2006). Além disso, modulações de propriedades de superfície (por exemplo, revestimentos) podem permitir a entrega direcionada dos compostos (BOUWMEESTER et al. 2009).

A nanoencapsulação tem o potencial de melhorar a

biodisponibilidade, a liberação controlada, e é capaz de direcionar os compostos bioativos com maior precisão do que a microencapsulação (MOZAFARI et al., 2006). Além disso, sistemas de nanoencapsulamento oferecem inúmeros benefícios, incluindo a facilidade de manuseio, maior estabilidade, proteção contra a oxidação, retenção dos ingredientes voláteis, mascarar o gosto, liberação controlada desencadeada pela umidade ou pelo pH, entrega consecutiva de vários ingredientes ativos, mudança nas características de flavor e a percepção organoléptica de longa duração (EZHILARASI et al., 2013).

3 Técnicas de nanoencapsulação

Considera-se técnicas de nanoencapsulação, as que produzem carreadores na escala nanométrica (10-1000 nm), destacando-se a emulsificação, coacervação, complexação de inclusão e nanoprecipitação (ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014).

3.1 Emulsificação

Essa técnica é geralmente aplicada para a encapsulação de compostos bioativos em soluções aquosas através da produção de nanoemulsões. As nanoemulsões são dispersões coloidais que compreendem dois líquidos imiscíveis, onde um está disperso no outro, formando gotículas com tamanhos que variam de 50 a 1000 nm (SANGUANSRI; AUGUSTIN, 2006). Nanoemulsões, tipo óleo em água (O/A) tem sido investigadas há muito tempo e foram estudadas minuciosamente (ANTONIETTI; LANDFESTER, 2002; TADROS et al., 2004; EL-AASSER; SUDOL, 2004). No entanto, existem poucos estudos relacionados as do tipo água em óleo (A/O) (CHIESA et al., 2008).

Esse nanocarreador oferece um grande potencial para encapsular uma alta concentração de nutracêuticos solúveis em óleo ou suplementos alimentares bioativos em uma vasta gama de gêneros alimentícios. Agentes ativos lipofílicos, tais como β -caroteno, esteróis vegetais, carotenoides e gorduras alimentares podem ser encapsulados e entregues por emulsão de (O/A), enquanto a água na emulsão de (A/O) foi utilizada para encapsular compostos alimentares solúveis em água, como os polifenóis (ZUIDAM; SHIMONI, 2010). Nanoemulsões podem ser utilizadas diretamente no estado líquido ou no estado sólido, na forma de pó. Para isso, faz-se necessário o emprego de técnicas de desidratação após a emulsificação, como a secagem por aspersão (Spray-drying) e a liofilização (Freeze-drying). Além disso, as nanoemulsões possuem elevada estabilidade cinética devido apresentarem tamanho de gotículas extremamente pequenas (SOLANS et al., 2005; SONNEVILLE-AUBRUN; SIMMONET; ALLORET, 2004). No entanto, são termodinamicamente instáveis, pois ao longo do tempo pode ocorrer a quebra da formulação, através de uma variedade de mecanismos de desestabilização, como a floculação, coalescência, separação gravitacional e maturação de Ostwald (McCLEMENTS, 2012). Assim, a estabilidade a longo prazo das nanoemulsões pode ser melhorada pela incorporação de estabilizadores, tais como agentes emulsificantes e de ponderação, inibidores de maturação e modificadores de textura (McCLEMENTS, 2011; McCLEMENTS; RAO, 2011). Somado a isso, os processos de desidratação também são indicados.

A preparação de nanoemulsões pode ser, amplamente, classificada como de alta ou baixa energia, de acordo com o princípio utilizado. As abordagens de alta energia usam dispositivos mecânicos, entre eles, os homogeneizadores de alta pressão, microfluidizadores

Tabela 1 - Técnicas de nanoemulsificação e compostos bioativos

Nanoemulsification technique(s)	Emulsion system (oil in water)	Principal compound (s)	Mean droplet diameter	Purposes	References
High-pressure homogenization (600 bar, 6 cycles)	Sodium dihydrogen-phosphate and protein stearin-rich milk fat fraction	α -Tocopherol	120 nm to 120 μ m	Protection against degradation	Relkin et al. (2008)
High-pressure homogenization (1,500 bar, 6 cycles)	MCT and Tween 20	Curcumin	82 nm	Enhanced anti-inflammatory activity	Wang et al. (2008b)
High-pressure homogenization (300 MPa, 10 cycles)	Palm oil, sunflower oil, soy lecithin, clear gum, Tween 20, and glycerol monooleate	Terpene mixture and D-limonene	Terpenes, 75 nm; D-limonene, 240 nm	Enhanced antimicrobial activity	Donsi et al. (2011b)
High-pressure homogenization	MCT oil; Tween 20, 40, 60, and 80	β -Carotene	132–184 nm	Increased stability	Yuan et al. (2008)
Microfluidization (60 MPa)	Tween 80	Lemon myrtle oil	95–99 nm	Stable emulsions with pleasant mild flavor	Buranasuksombat et al. (2011)
Microfluidization (9,000 psi, three passes)	Orange oil and β -lactoglobulin	β -Carotene	156 nm	Enhanced chemical stability	Qian et al. (2012)
Microfluidization (150 MPa, three passes)	Sodium alginate and Tween 80	Lemongrass oil	7 nm	Properties of nanoemulsions changed with operating conditions	Salvia-Trujillo et al. (2013)
Ultrasonication (batch and continuous focused flow)	Tween 40	Flax seed oil	135 nm	Optimized operating conditions to prevent coalescence and cavitation bubble cloud formation	Kentish et al. (2008)

e sonificadores (LEONG et al., 2009).

Já nas abordagens de baixa energia, as nanoemulsões são formadas como um resultado das transições de fase que ocorrem durante o processo de emulsificação quando as condições ambientais (temperatura ou composição) são alteradas, por exemplo, inversão de fase e métodos de emulsificação espontânea (YIN et al., 2009). A tabela 1 demonstra as técnicas de nanoemulsificação e os componentes bioativos já pesquisados na literatura. (Fonte: ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014).

3.2 Complexação de inclusão

Geralmente, refere-se ao encapsulamento de uma associação supra-molecular de um ligante (ingrediente encapsulado) em um substrato (material de parede) por ligações de hidrogênio, forças de Van der Waals ou dirigida pela entropia (efeito hidrofóbico).

Essa técnica é usada principalmente no encapsulamento de moléculas orgânicas voláteis (óleos essenciais e vitaminas), sendo útil para mascarar odores e sabores, e preservar aromas. A complexação por inclusão proporciona uma maior eficiência de encapsulamento com uma estabilidade mais elevada do componente de núcleo. No entanto, poucos compostos moleculares são adequados para encapsulação por este método, como a β -ciclodextrina e β -lactoglobulina (EZHILARASI et al., 2013).

3.3 Coacervação

A técnica de coacervação consiste na interação baseada na complexação que ocorre da mistura de soluções com cargas opostas, formando complexos, que, por repulsão do solvente, precipitam, formando duas fases: uma delas, chamada “rica em polímeros”, contendo o coacervado precipitado, e outra chamada “pobre em polímeros”, na qual permanece o solvente da solução (STRAUSS; GIBSON, 2004)

Além disso, a parede de um hidrocolóide pode ser reticulada usando um produto químico ou enzimático apropriado, como glutaraldeído ou transglutaminase, principalmente para aumentar a resistência do coacervado (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

O processo pode ser denominado como coacervação simples com base no número de polímero usado (apenas um tipo de polímero) e coacervação complexa (dois ou mais tipos de polímero). Muitos fatores podem afetar a interação entre os biopolímeros e a natureza do complexo formado, incluindo o tipo de biopolímero (massa molar, flexibilidade e carga), pH, força iônica, concentração e a razão entre os biopolímeros (TOLSTOGUZOV, 2003; DE KRUIF et al., 2004; TURGEON et al., 2007).

Além de interações eletrostáticas entre os biopolímeros de cargas opostas, interações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio também podem contribuir significativamente para a formação de complexo (EZHILARASI et al., 2013).

As nanocápsulas produzidas utilizando a técnica de coacervação, geralmente ficam na faixa de 100-600 nm, dependendo da técnica de desidratação utilizada (secagem à vácuo e liofilização). Entre os materiais de parede usados nesta técnica, encontram-se a gelatina, goma de acácia e quitosana. Além do uso de glutaraldeído para a reticulação, muitas enzimas adequadas estão sendo desenvolvidas para a reticulação (GOUIN, 2004).

3.4 Nanoprecipitação

O método também é conhecido por deslocamento de solvente ou deposição do polímero pré-formado (FESSI; PUISIEUX; DEVISSAGUET, 1988; GALINDO-RODRIGUEZ et al., 2004). Baseia-se na emulsificação espontânea, em que a fase interna orgânica, contendo o polímero e o fármaco dissolvido no solvente orgânico é injetada sob a fase aquosa externa. A técnica envolve a precipitação do polímero a partir da solução orgânica e a difusão do solvente orgânico no meio aquoso (GALINDO-RODRIGUEZ et al., 2004). A partir deste método obtém-se as nanocápsulas e as nanoesferas (sem a presença de óleo). Entre os polímeros biodegradáveis mais utilizados, estão a poli-(ϵ -caprolactona) (PCL), poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), Eudragit e poli (alquilcianoacrilato) (PACA) (REIS et al., 2006).

Segue abaixo a tabela 2, com exemplos de técnicas de nanoencapsulação desenvolvidas para compostos bioativos (Fonte: ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014).

4 Substâncias bioativas e a legislação

Segundo a resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002, foi aprovado o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde, com objetivo de padronizar os procedimentos a serem adotados para a avaliação de segurança, registro e comercialização dessas substâncias.

Considera-se substância bioativa, além dos nutrientes, os não nutrientes que possuem ação metabólica ou fisiológica específica, sendo que os carotenoides são um dos produtos de que trata esse regulamento, além de fitoesteróis, flavonoides, fosfolipídeos, organosulfurados, polifenóis e probióticos. A substância bioativa deve estar presente em fontes alimentares, podendo ser de origem natural ou sintética, desde que comprovada a segurança para o consumo humano. Em relação à rotulagem, deve constar, a quantidade em que está presente na porção diária recomendada pelo fabricante. Esta declaração deve estar próxima à alegação de propriedade funcional e ou de saúde do produto e não deve fazer parte da Tabela de Informação Nutricional (BRASIL, 2002).

Na página da Anvisa, se encontra a lista de alegações de propriedade funcional aprovadas no Brasil, atualiza-

Tabela 2- Técnicas de nanoencapsulação

Nanoencapsulation technique	Important raw materials used	Bioactive compound	Particle size	Purposes	References
Coacervation	Gelatin, maltodextrin, and tannins	Capsaicin	100 nm	Mask the pungent odor	Wang et al. (2008a)
	Gelatin, acacia, and hydrolysable tannins	Capsaicin	300–600 nm	Improve the efficiency and delay release	Xing et al. (2004)
	Gelatin, acacia, and tannins	Capsaicin	100 nm	Mask the pungent odor and improve the stability	Jincheng et al. (2010)
Inclusion complexation	Chitosan, poly(ethylene glycol)- <i>ran</i> -propylene glycol)	BSA	200–580 nm	Control the release of encapsulated protein	Gan and Wang (2007)
	β -Lactoglobulin and low methoxyl pectin	DHA	100 nm	Improve stability and protection against degradation	Zimet and Livney (2009)
Nanoprecipitation	α - and β -cyclodextrin	Linoleic acid	236 nm	Improve thermal stability	Hadaruga et al. (2006)
	Monomethoxy poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) micelles	Curcumin	27 nm	Improve solubility	Gou et al. (2011)
	PLGA	Curcumin	81 nm	Improve bioavailability and bioactivity, and enhance the cellular uptake	Anand et al. (2010)
	Ethyl cellulose and methyl cellulose	Curcumin	117 and 218 nm	Improve oral bioavailability and sustainability	Suwannateep et al. (2011)
	Poly(D,L-lactic acid) and PLGA	β -Carotene	80 nm	Improve physical and chemical stability and bioavailability	Ribeiro et al. (2008)
	Poly(ethylene oxide)-4-methoxycinnamoylphthaloylchitosan, poly(vinylalcohol- <i>co</i> -vinyl-4-ethoxycinnamate), PVA, and ethyl cellulose	Astaxanthin	300–320 nm	Improve the solubility and bioavailability	Tachaprutinun et al. (2009)
PLGA	Curcumin	76–560 nm	Improve anticancer activity	Yallapu et al. (2010)	
Chitosan/poly(ϵ -caprolactone)	Curcumin	220 and 360 nm	Sustained release and increase the cellular uptake	Liu et al. (2012a)	

Quadro 1- Alegações de propriedade funcional do carotenoide - licopeno.

LICOPENO
Alegação
“O licopeno tem ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.
Requisitos específicos
A quantidade de licopeno, contida na porção do produto pronto para consumo, deve ser declarada no rótulo, próximo à alegação.
No caso de produtos nas formas de cápsulas, tabletes, comprimidos e similares, deve-se declarar a quantidade de licopeno na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante.
Apresentar o processo detalhado de obtenção e padronização da substância, incluindo solventes e outros compostos utilizados.
Apresentar laudo com o teor do(s) resíduo(s) do(s) solvente(s) utilizado(s).
Apresentar laudo com o grau de pureza do produto.

Fonte: BRASIL, 2008

da em julho de 2008. A qual dispõe dos Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/ Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Segue abaixo o quadro 1, com o que consta para o licopeno (BRASIL, 2008).

5. Propriedades e atividades do Licopeno

Os carotenoides são considerados um grupo de compostos responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha de alimentos de origem vegetal e alguns de origem animal. Sendo que o licopeno é o responsável pela cor vermelha do tomate, melancia, goiaba, mamão e pitanga (WONG, 1995). Entre os carotenoides obtidos do tomate (Figura 2) destacam-se o licopeno e o β -caroteno. A coloração verde dos tomates imaturos se deve pela presença de clorofila, a qual degrada durante o processo de maturação, formando os pigmentos amarelos (carotenoides e xantofilas), tendo em vista que a cor vermelha se deve ao acúmulo de licopeno, que representa 80-90% do pigmento em tomates maduros, principalmente na casca (SHI; LE MAGUER, 2000).



Figura 2- Licopeno, principal componente responsável pela coloração vermelha de tomates

Este composto bioativo (licopeno) vem sendo motivo de interesse em várias pesquisas devido seus benefícios à saúde já reconhecidos. Estudos epidemiológicos mostraram que o consumo alimentar e os níveis séricos de licopeno estão inversamente relacionados ao risco de doenças crônicas como certos tipos de câncer e doenças cardiovasculares (LEVY et al., 1995; GIOVANNUCCI, 1999; BRAMLEY, 2000), bem como, devido suas potentes propriedades antioxidantes e diminuição da oxidação de lipídeos (HADLEY; CLINTON; SCHWARTZ, 2003; HA et al., 2015). Vários estudos demonstraram que a alta ingestão de licopeno na dieta (principalmente com produtos alimentares à base de tomate) está associado à redução do risco de câncer de próstata (GIOVANNUCCI et al., 1995; ETMINAN et al., 2004; KIM et al., 2003). Além disso, estudos clínicos e de modelo tumoral têm sugerido um papel protetor do licopeno em câncer de

mama, pulmão, gastrointestinal, colo de útero, ovário e pâncreas (GIOVANNUCCI, 1999).

Os carotenoides são, muitas vezes, utilizados como aditivos ou corantes em produtos alimentares. No entanto, a maior parte dos compostos apresentam baixa solubilidade ou insolubilidade em água (MORARU et al., 2003). O licopeno é altamente lipofílico, apresentando $\log P = 17,6$, fórmula química $C_{40}H_{56}$ e massa molecular de 536,85. Estudos prévios demonstram que a limitada absorção pode estar relacionada à baixa solubilidade (VERTZONI et al., 2006; FAISAL et al., 2010).

Em sua estrutura, o licopeno (Figura 3) apresenta elevado grau de insaturação que consiste em 11 ligações conjugadas e 2 ligações duplas não conjugadas, o que torna um composto lipofílico e extremamente sensível à luz, calor, oxigênio e umidade (COLE; KAPUR, 1957; SHI; MAGUER, 2000; LEE; CHEN 2002; NAGY, 2009). Entretanto, alguns estudos têm demonstrado que as técnicas de encapsulamento aumentam a estabilidade do licopeno nessas condições (CHIU et al 2007; BLANCH et al., 2007; MONTENEGRO et al., 2007; GOULA; ADAMOPOULOS, 2012; HA et al., 2015).

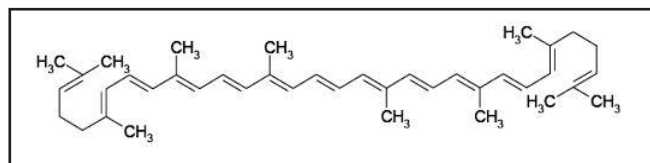


Figura 3- Estrutura química do licopeno

Entre os carotenoides, este composto tem a maior capacidade de eliminação de oxigênio singleto, sendo o dobro do β -caroteno e 10 vezes mais elevado do que o α -tocoferol (DI MASCIO; KAISER; SIES, 1989), isso devido à sua estrutura química, que oferece uma elevada reatividade. Ao contrário do β -caroteno, o licopeno não tem propriedades pró-vitamina porque a sua estrutura não tem anéis β -ionona, que são responsáveis pela atividade da vitamina A (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004).

Nesse sentido, estratégias no desenvolvimento de formulações que aumentem a solubilidade do licopeno no trato gastrointestinal (TGI) são consideradas cruciais para o aumento da absorção oral. Algumas modificações nas formulações têm sido utilizadas para aumentar a solubilidade de fármacos fracamente solúveis no TGI, tal como redução no tamanho de partícula ou modificações do hábito de cristal para aumentar a dissolução (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

6. Nanoencapsulação e o licopeno

Sabendo das várias atividades do licopeno e também de suas limitações, tem-se buscado o emprego da nanoencapsulação. Na literatura, se encontram dois trabalhos que desenvolveram carreadores lipídicos nanoestrutu-

rados, porém com foco na área farmacêutica (aplicação tópica) (RIANGJANAPATEE et al., 2013; OKONOJI; RIANGJANAPATEE, 2015). Em nossa revisão abordaremos estudos relacionados com a área de alimentos.

Santos e colaboradores (2015) desenvolveram nanocápsulas de núcleo lipídico contendo licopeno. O extrato de licopeno (93,9%) foi obtido a partir de tomates, usando adaptação do método de Nunes e Mercadante (2004). As nanocápsulas foram preparadas pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado, em que a fase orgânica foi composta pelo polímero poli (ϵ -caprolactona) (PCL), triglicerídeos de cadeia média (cáprico / caprílico), monoestearato de sorbitano e licopeno dissolvidos em uma mistura de acetona e etanol, sob agitação magnética a temperatura de 40 °C, até completa solubilização dos componentes. A fase orgânica foi injetada sob a fase aquosa contendo polissorbato 80, e mantida sob agitação por 10 min, após a suspensão foi concentrada sob pressão reduzida.

De acordo com a solubilidade do licopeno a concentração de escolha da formulação foi de 85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e preparadas em triplicata. Após realizou-se a caracterização em relação ao diâmetro médio de partícula, potencial zeta, eficiência de encapsulamento (EE), pH, viscosidade, coloração, análise morfológica, teor de licopeno e estabilidade por 4 semanas à 25 °C.

As suspensões apresentaram valores na faixa nanométrica para o tamanho médio de partícula ($193 \pm 4,7$ nm), índice de polidispersão de $0,069 \pm 0,02$ indicando uma boa homogeneidade do sistema e potencial zeta de $-11,5 \pm 0,40$ mV. Esses valores permaneceram durante os 28 dias de análise, não apresentando floculação ou coalescência durante esse período, demonstrando estabilidade nesses parâmetros.

A formulação apresentou comportamento de fluxo Newtoniano, no qual ocorre uma relação linear entre a tensão de cisalhamento e a velocidade de cisalhamento, exibindo valores de viscosidade constante de $1,09 \pm 0,03$ mPa s semelhantes à água. Apresentou $95,12 \pm 0,42$ % de EE, esse alto valor indica que a maioria do licopeno estava na estrutura da nanocápsula. Pelo método de difração a laser, a distribuição do tamanho de partícula apresentou pico unimodal tanto por volume como por número. Sendo que, o valor ($D_{4,3}$) foi de 153 nm, com valor de Span de 1,319.

No que se refere ao parâmetro de coloração, a suspensão exibiu maior luminosidade, cor amarelada e reduzida coloração vermelha, provavelmente devido à presença do polímero, o qual conferiu a turvação da suspensão em comparação com a mesma concentração de licopeno em tomates analisados por Nunes e Mercadante (2004). Já o pH sofreu uma redução de $6,01 \pm 0,04$ no tempo inicial para $5,60 \pm 0,02$ no tempo 28 dias e durante o armazenamento, o teor de licopeno sofreu redução de 50 % em 14 dias, reduzindo de 85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ no tempo final de análise. O uso da nanotecnologia oferece o potencial para expandir o uso de licopeno em processos

industriais, melhorando a estabilidade e a solubilidade de licopeno em diferentes alimentos.

Ha e colaboradores (2015) desenvolveram nanoemulsões contendo licopeno pela técnica de emulsificação-*evaporação*. O extrato de tomate rico em licopeno foi dissolvido em uma proporção de 5% (p/v) em acetato de etila sob agitação a 500 rpm durante 3 h. A solução orgânica foi, em seguida, filtrada através de uma membrana de papel. Hidroxitolueno butilado (BHT, 0,01%) foi adicionado como um antioxidante para evitar a degradação do extrato de tomate enriquecido em licopeno. Esta solução orgânica foi, então, vertida lentamente para a solução aquosa contendo 0,5% (p/p) de Tween 20 em água destilada, sob agitação. A mistura foi homogeneizada, usando um homogeneizador de cisalhamento a 5000 rpm durante 5 min, e após, submetida ao homogeneizador a alta pressão. Finalmente, o acetato de etila foi removido em evaporador rotatório à 30 °C. A fim de investigar o efeito das condições do processamento de homogeneização-*evaporação* nas propriedades físico-químicas das nanoemulsões de licopeno, alguns parâmetros de processamento foram estudados, entre eles o número de ciclos (1, 2, e 3) e pressões de homogeneização (60, 80, 100, e 140 MPa) foram realizadas para proteger a atividade antioxidante e melhorar a biodisponibilidade do extrato (contendo 6% de licopeno). A melhor eficiência de emulsificação ($65,3 \pm 1,41$) foi observada para 60 mPa de pressão de homogeneização com 1 ciclo. As nanoemulsões com tamanho de gotículas entre 100 e 200 nm, exibiram maior eficácia anti-radicaís e atividade antioxidante, do que as menores que 100 nm. A forte proteção do licopeno em gotículas menores do que 100 nm foi associado com taxas relativamente mais lenta de reações DPPH e ABTS, necessitando de um tempo mais longo para as reações ocorrerem. Os valores da biodisponibilidade *in vitro* de extrato de tomate enriquecido com licopeno não associado; nanoemulsões com gotículas maiores que 100 nm (cerca de 150 nm); e nanoemulsões com gotículas menores do que 100 nm (69 nm em média) foram 0,01, 0,53 e 0,77, respectivamente. Entretanto, nanoemulsões com gotículas menores apresentaram maior biodisponibilidade *in vitro*, o que pode ser interpretado como uma evidência da nanoemulsificação aumentar a biodisponibilidade *in vitro* de licopeno. A liberação de moléculas de licopeno foi relativamente lenta, uma vez que elas foram bem protegidas na estrutura do nanocarreador. Portanto, é necessário mais pesquisas para compreender melhor o tempo de liberação e o mecanismo cinético das nanoemulsões com gotículas menores do que 100 nm, o que pode mostrar uma liberação sustentada de núcleos antioxidantes, como o licopeno. As gotículas de tamanho nanométrico com características de superfície adequada podem ser uma estrutura ótima, fornecendo maior transparência, alta estabilidade aquosa, reduzida oxidação e aumento da biodisponibilidade do licopeno. Estes resultados tem implicações significativas no uso

de nanoemulsões como um sistema de suporte para aplicações de licopeno nos alimentos, uma vez que as nanoemulsões tem o potencial de melhorar a biodisponibilidade do licopeno.

Em outro estudo, Kim e colaboradores (2014) prepararam nanoemulsões de licopeno a partir de um extrato de licopeno de baixa concentração, utilizando a técnica de emulsificação-*evaporação*. Foram testados os efeitos das concentrações do extrato de licopeno de 0,015 para 0,085 mg/mL, agente emulsificante (0,3 a 0,7 mg/mL) e o número de ciclos de homogeneização (2 a 4) em relação ao tamanho de gotícula, eficiência de emulsificação (EE) e estabilidade da nanoemulsão pela análise estatística usando um desenho Box-Behnken. A análise de regressão foi utilizada para determinar a 2ª ordem do modelo polinomial em relação as variáveis independentes e dependentes, com coeficientes de regressão múltiplos (R2) de 0,924; 0,933 e 0,872 para o tamanho de gotícula, EE e estabilidade da nanoemulsão, respectivamente. A análise de variância mostrou que a concentração de extrato de licopeno tem o efeito mais significativo em todas as variáveis de resposta. Metodologia de superfície de resposta previram que uma formulação contendo 0,085 mg/mL de extrato de licopeno e 0,7 mg/mL de emulsificador, submetidas a 3 ciclos de homogeneização, foi considerada ideal para alcançar o menor tamanho de gotícula (62,67 nm), maior estabilidade da emulsão (52,34 %) e EE aceitável (56,26%). Foi preparado um modelo de bebida com a adição das nanoemulsões contendo licopeno. O período de validade da bebida foi previsto, sob condições de armazenamento acelerada. Os modelos cinéticos com diferentes temperaturas de armazenamento mostraram que a degradação do licopeno aprisionado na nanoemulsão no sistema de bebidas seguiu a cinética de primeira ordem. Um estudo de degradação de licopeno na bebida mostrou que as nanoemulsões contendo licopeno são estáveis tanto a 20 °C (tempo de ½ vida = 206,66 dias) como a 4 °C (tempo de ½ vida = 1302,28 dias). Este estudo forneceu informações importantes sobre otimização de processos para nanoemulsões com este composto bioativo e suas aplicações em bebidas.

Faisal e colaboradores (2013) otimizaram uma formulação, a fim de melhorar a biodisponibilidade oral de um composto modelo altamente lipofílico como o licopeno. Um sistema de liberação de fármaco auto-emulsionante e uma dispersão sólida de licopeno foram desenvolvidos inicialmente. Subsequentemente, foi preparada a dispersão sólida baseada em um lipídeo novo (DSL_N). O tamanho de partícula determinado foi de 37 ± 1,7 nm e o índice de polidispersão de 0,132. O processamento da dispersão sólida alterou as características do estado sólido do licopeno, como determinado por calorimetria diferencial de varredura e difração de raios-X. A biodisponibilidade do licopeno foi significativamente aumentada após a administração oral da DSL_N para porcos em jejum, em relação ao produto comercial (Lycovit®). Observou-se uma distinção em termos de C_{max}

(concentração máxima) e AUC (medida da quantidade de licopeno que penetra na circulação sistêmica) entre Lycovit® e DSL_N. Portanto, uma nova formulação (DSL_N) foi desenvolvida para aumentar a biodisponibilidade oral do composto lipofílico modelo, licopeno, realçando sua dissolução no trato gastrointestinal e promovendo a absorção linfática intestinal utilizando excipientes lipídicos digestíveis.

Em outro estudo, Nerome e colaboradores (2013), estudaram a formação de nanopartículas de licopeno e β-ciclodextrina por complexo de inclusão usando a precipitação com anti-solvente supercrítico, a fim de promover a dispersão do licopeno em água. O complexo de inclusão foi preparado em N, N-dimetilformamida (DMF), dissolvido no mesmo solvente e, em seguida, micronizado pelo processo de DAFS (dispersão da solução aprimorada por fluido supercrítico), usando dióxido de carbono (CO₂) como um anti-solvente supercrítico.

Foram avaliados os efeitos das concentrações iniciais de licopeno e β-ciclodextrina, a taxa de fluxo de CO₂ e da solução, a pressão e a temperatura em que o processo foi realizado.

As morfologias das partículas foram observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-EC), sendo que partículas esféricas nanométricas foram obtidas em ambas operações.

Os melhores valores de tamanho médio de partícula (cerca de 40 nm) foram obtidos quando utilizou-se os parâmetros de alta (pressão, temperatura e taxa de fluxo de CO₂) e baixa taxa de fluxo da solução.

Santos e colaboradores (2012) demonstraram que partículas sub-micrométricas de carotenoides (β-caroteno e licopeno) com alta estabilidade e solubilidade em meio aquoso foram produzidas pelo processo de extração das emulsões por fluido supercrítico. As suspensões obtidas contendo carotenoides apresentaram tamanho de partícula de 344-366 nm, eficiência de encapsulamento de 34-89% e grau de isomerização a partir do carotenoide da forma *trans* para *cis* na variação de 0,02-15%.

Independentemente do tipo de carotenoide usado, a taxa de fluxo da emulsão influenciou a produção das suspensões de carotenoides, especialmente a EE e o grau de isomerização. Quando o β-caroteno foi empregado observou-se uma alta EE, mas também uma maior degradação. Os resultados mostraram que o licopeno apresentou alta solubilidade em CO₂ e maior estabilidade quando comparado ao β-caroteno nas mesmas condições.

A concentração de tensoativo/material carreador foi o único parâmetro do processo que

influenciou o tamanho de partícula final, enquanto a EE e o grau de isomerização foram influenciados, também, pela concentração de tensoativo/material carreador e pela pressão.

Após a obtenção das suspensões contendo β-caroteno ou licopeno, estas foram submetidas ao processo de spray-drying, a partir do qual observou-se partículas com

morfologia esférica e fraturas na superfície que podem ser explicadas pela baixa EE obtida nesse estudo. Além disso, a taxa de degradação foi avaliada sob a exposição na luz para ambos carotenoides encapsulados, sendo que a cinética de segunda ordem foi a melhor descrita com tempos de $\frac{1}{2}$ vida de 72 h para o β -caroteno e 82 h para o licopeno, indicando que após o processo de encapsulamento o licopeno foi mais estável do que o β -caroteno.

7 Conclusões

Portanto, esse estudo demonstra o crescimento que o setor de nanotecnologia se encontra, inclusive na área de alimentos. Assim, podemos verificar algumas das técnicas de nanoencapsulação que podem ser empregadas em compostos bioativos, enfatizando o componente licopeno, o qual pode ser obtido do tomate, e apresenta como principais atividades (antioxidante, anticancerígena e cardiovascular). Muitas características indesejáveis já foram contornadas com o uso da nanotecnologia, demonstrando que a nanoencapsulação pode ser uma ótima alternativa para a aplicação do licopeno em alimentos.

Referências

- Anandharamakrishnan C. Techniques for Nanoencapsulation of Food Ingredients, Springer Briefs in Food, Health, and Nutrition. 2014:1-16.
- Antonietti M, Landfester K. Polyreactions in miniemulsions. *J. Control. Release*, Oxford. 2002;27(4):689-757.
- Bramley PM. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry*. 2000;54:233-236.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 2, de 07 de janeiro de 2002. VisaLegis. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedade Funcional e ou de Saúde. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1c77370047457bcc8888dc3fbc4c6735/RDC_02_2002.pdf?MOD=AJPERES Acesso em: 20 set. 2015.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm Acesso em: 20 set. 2015.
- Blanch GP, Castillo MLR, Caja MM, Pérez-Méndez M, Sánchez-Cortés S. Stabilization of all-trans-lycopene from tomato by encapsulation using cyclodextrins. *Food Chem*. 2007;105:1335-1341.
- Bouwmeester H, Dekkers S, Noordam MY, Hagens WI, Bulder AS, de Heer C et al. Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. *Regul. Toxicol. Pharm.* 2009;53(1):52-62.
- Chen H, Weiss J, Shahidi F. Nanotechnology in nutraceuticals and functional foods. *Food Technol*. 2006;60(3):30-36.
- Chiesa M, Garg J, Kang YT, Chen G. Thermal conductivity and viscosity of water-in-oil nanoemulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, Oxford. 2008;326(1-2):67-72.
- Chiu YT, Chiu CP, Chien JT, Ho GH, Yang J, Chen BH. Encapsulation of lycopene extract from tomato pulp waste with gelatin and poly(gamma-glutamic acid) as carrier. *J Agric. Food Chem*. 2007;55:5123-5130.
- Cole ER, Kapur NS. The stability of lycopene. I. Degradation by oxygen. *J. Sci. Food Agric*. 1957;8:360-365.
- Couvreux P, Dubernet C, Puisieux F. Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. *Eur. J. Pharm. Biopharm*. 1995;41:2-13.
- De Kruif CG, Weinbreck F, DeVries R. Complex coacervation of proteins and anionic poly-saccharides. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci*. 2004;9(5):340-349.
- Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch. Biochem. Biophys*. 1989;274(2):532-538.
- Duncan VT. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *J. Colloid. Interf. Sci*. 2011;363(1):1-24.
- El-Aasser MS, Sudol ED. Miniemulsions: overview of research and applications. *J. Coating. Tech. Res.*, Berlin. 2004; 1(1):20-31.
- Etminan M, Takkouche B, Caamano-Isorna F. The role of tomato products and lycopene in the prevention of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies. *Cancer Epidem. Biomar*. 2004;13:340-345.
- Ezhilarasi PN, Karthik P, Chhanwal N, Anandharamakrishnan C. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food Bioprocess Tech*. 2013;6(3):628-647.
- Faisal W, O'Driscoll CM, Griffin BT. Bioavailability of lycopene in the rat: the role of intestinal lymphatic transport. *J. Pharm. Pharmacol*. 2010;62:323-331.

- Faisal W, Ruane-O'Horab T, O'Driscoll CM, Griffina BT. A novel lipid-based solid dispersion for enhancing oral bioavailability of Lycopene – In vivo evaluation using a pig model. *I. J. Pharm.* 2013;453:307–314.
- Fessi H, Puisieux F, Devissaguet JP. Procédé de préparation des systèmes colloïdaux d'une substance sous forme de nanocapsules. *European Patent.* 1988;0274961 A1.
- Galindo-Rodriguez S, Allemann E, Fessi H, Doelker E. Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion and nanoprecipitation methods. *Pharm. Res.* 2004;21(8):1428–1439.
- Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O, Voilley A, Saurel R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.* 2007;40:1107–1121.
- Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 1995;87:1767–1776.
- Giovannucci E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *J. Natl. Cancer Inst.* 1999;91(4):317–331.
- Goula AM, Adamopoulos KG. A new technique for spray-dried encapsulation of lycopene. *Dry Technol.* 2012;30:641–652, 2012.
- Gouin S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci. Tech.* 2004;15(7):330–347.
- Hadley CW, Clinton SK, Schwartz SJ. The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with a reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage. *J. Nutr.* 2003;133:727–732.
- Ha TVA, Kima S, Choi Y, Kwak H-S, Lee SJ, Wenet J et al. Antioxidant activity and bioaccessibility of size-different nanoemulsions for lycopene-enriched tomato extract. *Food Chem.* 2015;178:115–121.
- Huang Q, Yu H, Ru Q. Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *J. Food Sci.* 2010;75:R50–R57.
- Hughes GA. Nanostructure-mediated drug delivery. *Nanomed-Nanotechnol.* 2005;1:22–30.
- Kawashima Y. Nanoparticulate system for improved drug delivery. *Adv. Drug Deliver Rev.* 2001;47:1–2.
- Kim SO, Ha TVA, Choi YJ, Ko S. Optimization of Homogenization–Evaporation Process for Lycopene Nanoemulsion Production and Its Beverage Applications. *J. Food Sci.* 2014;79(8):N1604–N1610.
- Kim HS, Bowen P, Chen LW, Duncan C, Ghosh L, Sharifi R, Christov K. Effects of tomato sauce consumption on apoptotic cell death in prostate benign hyperplasia and carcinoma. *Nutr. Cancer.* 2003;47:40–47.
- King AH. Encapsulation of Food Ingredients: A Review of Available Technology, Focusing on Hydrocolloids. In: Risch SJ, Reineccius GA (eds) *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*, ACS Symposium Series 590, American Chemical Society, Washington D.C. 1995:26–39.
- Lee MT, Chen BH. Stability of lycopene during heating and illumination in a model system. *Food Chem.* 2002;78:425–432.
- Leong TSH, Wooster TJ, Kentish SE, Ashokkumar M. Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. *Ultrason Sonochem.* 2009;16(6):721–727.
- Leuner C, Dressman J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000;50(1):47–60.
- Levy, J. et al. Lycopene is a more potent inhibitor of human cancer cell-proliferation than either alpha-carotene or beta-carotene. *Nutr. Cancer Int. J.* 1995;24:257–266.
- Manufuture. Vision 2020 and Strategic Research Agenda of the European Agricultural Machinery Industry and Research Community for the 7th Framework Programme for Research of the European Community, Brussels, Belgium. <http://www.manufuture.org/documents/AET%20Vision%20and%20SRA1.pdf>, 2006.
- McClements DJ, Decker EA, Park Y, Weiss J. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. *Crit. Rev. Food Sci.* 2009;49(6):577–606.
- McClements DJ. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter.* 2011;7(2):297–316.
- McClements DJ. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter.* 2012;8:1719–1729.
- McClements DJ, Rao J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2011;51:285–330.
- Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides.

- Arch. Lat. Nutr., Caracas. 2004;54(2):149-155.
- Montenegro MA, Nunes IL, Mercadante AZ, Borsarelli CD. Photoprotection of vitamins in skimmed milk by an aqueous soluble lycopene-gum arabic microcapsule. *J. Agric. Food Chem.* 2007;55:323-329.
- Moraru CI, Panchapakesan CP, Huang Q, Takhistov P, Liu S, Kokini JL. Nanotechnology: a new frontier in food science. *Food Technol.* 2003;57:24-29.
- Mozafari MR, Flanagan J, Matia-Merino L, Awati A, Omri A, Suntres ZE et al. Recent trends in the lipid-based nanoencapsulation of antioxidants and their role in foods. *J. Sci. Food Agr.* 2006;86(13):2038-2045.
- Nagy ME. Evaluation of the stability of microencapsulated lycopene isomers. *Dissertação de Mestrado. The State University of New Jersey.* 2009.
- Nerome H, Machmudah S, Wahyudiono, Fukuzato R, Higashiurad T, Youn Y-S et al. Nanoparticle formation of lycopene/ β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent precipitation. *J. of Supercrit. Fluids.* 2013;83:97-103.
- Nunes IL, Mercadante AZ. Obtenção de cristais de licopeno a partir de descarte de tomate. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2004;24(3):440-447.
- Orive G, Anitua E, Pedraz JL, Emerich DF. Biomaterials for promoting brain protection, repair and regeneration. *Nat. Rev. Neurosci.* 2009;10:682-692.
- Okonogi S, Riangjanapatee P. Physicochemical characterization of lycopene-loaded nanostructured lipid carrier formulations for topical administration, *Int. J. Pharm.* 2015;478:726-735.
- Reis CP, Neufeld RJ, Ribeiro AJ, Veiga F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomed-Nanotechnol.* 2006;2(1):8-21.
- Riangjanapatee P, Müller RH, Keck CM, Okonogi S. Development of lycopene-loaded nanostructured lipid carriers: effect of rice oil and cholesterol. *Pharmazie.* 2013;68:723-731.
- Sanguansri P, Augustin MA. Nanoscale materials development a food industry perspective. *Trends Food Sci. Tech.* 2006;17(10):547-556.
- Santos PPS, Paese K, Guterres SS, Pohlmann AR, Costa TH, Jablonski A et al. Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. *J. Nanopart. Res.* 2015;17:107.
- Santos DT, Martín Á, Meireles MAA, Cocero MJ. Production of stabilized sub-micrometric particles of carotenoids using supercritical fluid extraction of emulsions. *J. Supercrit. Fluids.* 2012;61:167-174.
- Silva DF, Favaro-Trindade CS, Rocha GA, Thomazini M. Microencapsulation of lycopene by gelatin-pectin complex coacervation. *J. Food Process Preserv.* 2012;36:185-190.
- Shi J, Le Maguer M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2000;20:293-334.
- Solans C, Izquierdo P, Nolla J, Azemar N, Garcia-Celma MJ. Nano-emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2005;10(3-4):102-110.
- Sonneville-Aubrun O, Simmonet JT, Alloret FL. Nanoemulsions: a new vehicle for skin care products. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2004;108-109:145-149.
- Strauss G, Gibson SM. Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients. *Food Hydrocoll., Oxford.* 2004;18(1):81-89.
- Tadros T, Izquierdo P, Esquena J, Solans C. Formation and stability of nano-emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci., Oxford.* 2004;108-109:303-318.
- Tolstoguzov V. Some thermodynamic considerations in food formulation. *Food Hydrocoll.* 2003;17(1):1-23.
- Turgeon SL, Schmitt C, Sanchez C. Protein-polysaccharide complexes and coacervates. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2007;12(4):166-178.
- Vertzoni M, Valsami G, Reppas C. Plasma profiles of lycopene after single oral and intravenous administrations in dogs. *J. Pharm. Pharmacol.* 2006;58:1211-1217.
- Wong DWS. *Química de los alimentos: mecanismos y teoría.* Editorial Acribia S.A., Zaragoza. 1995:165-215.
- Yin L, Chu B, Kobayashi I, Nakajima M. Performance of selected emulsifiers and their combinations in the preparation of beta-carotene nanodispersions. *Food Hydrocoll.* 2009;23(6):1617-1622.
- Zuidam NJ, Shimoni E. Overview of microencapsulation use in food products or processes and methods to make them. In: Zuidam NJ, Nedovic VA. *Encapsulation technique for active food ingredients and food processing.* Springer, NewYork, 2010:3-29.