

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

Osmar Patricio Almeida

**CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS COMO AGENTES
POTENCIAIS PARA VEICULAÇÃO DE ÓLEO DE CÁRTAMO**

Diamantina

2019

Osmar Patricio Almeida

**CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS COMO AGENTES
POTENCIAIS PARA VEICULAÇÃO DE ÓLEO DE CÁRTAMO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, área de concentração em Pesquisa e Desenvolvimento de Insumos, Fármacos e Medicamentos, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Carneiro
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Gois Suzart

Diamantina

2019

OSMAR PATRÍCIO ALMEIDA

**CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS COMO AGENTES
POTENCIAIS PARA VEICULAÇÃO DE ÓLEO DE CÁRTAMO**


Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS, nível de
MESTRADO como parte dos requisitos
para obtenção do título de MESTRE
EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Orientador (a): Prof. Dr. Guilherme
Carneiro

Data da aprovação : 29/03/2019


Prof.Dr. GUILHERME CARNEIRO - UFVJM


Prof.Dr. JOÃO VINÍCIOS WIRBITZKI DA SILVEIRA - UFVJM


Prof.Dr.ª TATIANA NUNES AMARAL - UFVJM

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A447c

Almeida, Osmar Patricio

Carreadores lipídicos nanoestruturados como agentes potenciais para veiculação de óleo de cártamo / Osmar Patricio Almeida, 2019.

74 p. : il.

Orientador: Guilherme Carneiro

Dissertação (Mestrado Profissional – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

1. Antioxidantes. 2. Ácido linoleico. 3. Bioativos. 4. Suplementação alimentar. I. Carneiro, Guilherme. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 615

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária Nádia Santos Barbosa – CRB6/3468.

AGRADECIMENTOS

Em todo desafio, uma nova meta, uma nova chance de crescimento. Em cada pessoa que entra em nossa vida, uma chance de aprender e ensinar. Assim a vida vai se construindo, assim os caminhos se entrelaçam e amizades são formadas. Posso dizer que até aqui foram muitos caminhos, muitos amigos, histórias diversas, grandes aprendizados e alguns ensinamentos.

Primeiramente, gostaria de agradecer a meus pais, Andrea e Osmar, por ser a base de tudo que sou, de ser o bem mais valioso que possuo. A vocês sou grato pelo amor, pelo sacrifício e dedicação; por compreender, respeitar e apoiar meus sonhos. O mérito dessa conquista é nosso, amo muito vocês!

Agradeço também à meus amores, Deborah e Desirrée; nosso vínculo de amizade vai além da relação de irmãos. Apesar de todo mundo perguntar quando fica sabendo que somos irmãos se sou adotado!

Gostaria de agradecer ainda as minhas tias Cintia, Míriam e Mônica por ser presença e carinho em todos os momentos, amo vocês.

Um agradecimento mais que especial a minha zelosa e amada vovó Didica, um ser iluminado que Deus nos presenteou, nossa matriarca, nosso exemplo de luta, perseverança, vitória e muita, mas muita, generosidade, te amo meu denço!

Agradeço de uma forma geral, a todos os meus familiares que sempre estão na torcida por mim. Família é origem de tudo que somos e tudo que seremos, amo vocês!

As amizades que Diamantina me proporcionou, meus amigos de caminhada, de alegrias, de farras e perrengues, amigos de vida. Muito obrigado!

Aos irmão de república Taberna, obrigado pelos momentos vividos, por todas as brincadeiras, gargalhadas e situações históricas. Foi e sempre será, um prazer fazer parte da família Rep. Taberna Hallo Caetee (T.H.C).

Um agradecimento gigante à minha grande amiga e companheira de laboratório Flavinha, você é muito especial, pessoa com quem aprendi e aprendo muito, e como ela mesmo diz, e eu concordo plenamente, a gente fez do dia a dia algo mais agradável e leve. Obrigado por fazer por mim, muitas vezes melhor do que você faria para si própria, você tem um poder de doação que me encanta e me ensina a ser melhor.

Às meninas da faxina, minhas amigas, Lindinha e seu bonde sempre deixando o prédio do departamento impecavelmente, limpinho e cheiroso. Obrigado por além de cuidar da limpeza, alegrar o nosso dia a dia.

Aos alunos de iniciação científica que fizeram parte do nosso grupo de pesquisa nesse período, muito obrigado por contribuir com minha formação.

Ao professor João Vinícios por sempre gentilmente disponibilizar a utilização do seu laboratório para execução dos experimentos com formulações. À professora Ana Paula Rodrigues, por ceder o espaço e equipamentos de seu laboratório. Muito obrigado!

À Dra. Maria Betânia da UFMG pela colaboração nos experimentos de análise térmica, por nos receber tão atenciosamente em seu ambiente de trabalho e colaborar compartilhando conosco seus valiosos conhecimentos.

Aos técnicos e professores do DEFAR e ICT, por possibilitar execução de inúmeros experimentos.

Aos membros dos laboratórios Multiusuário de Microscopia Avançada pelas análises de MEV, DRX e FTIR.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo auxílio financeiro na forma da bolsa de estudo concedida.

Por fim, despeço-me com um agradecimento mais que especial para pessoa que nos últimos anos dedicou arduamente seu tempo e atenção em minha formação. Obrigado meu amigo e orientador Guilherme, por sempre confiar em mim, por não me deixar desistir, por me mostrar o quanto sou capaz, mesmo quando o mundo dizia que eu não iria dar conta. Nestes momentos,

você sempre estava lá, presente, mostrando que a melhor forma de resolver os problemas é encarando-os de frente, sem medo, com resiliência. Nessa vida existem amigos que são cada um em sua significância, apenas amigos, e existem amigos como você, que além de amizade compartilha também irmandade. Obrigado por contribuir e zelar com meu crescimento profissional e também pessoal!

Essa vitória foi construída com ajuda de muitos, obrigado a todos vocês, que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui.

“Se uma pessoa é perseverante, por mais que seja dura de entendimento, se fará inteligente e por mais que seja fraca se transformará em forte.”

Leonardo da Vinci

RESUMO

O óleo de cártamo (SO) é obtido a partir da prensagem a frio das sementes de *Carthamus tinctorius*. Em sua composição, estão presentes ácidos graxos essenciais, principalmente o ácido linoleico (ω -6) e oleico (ω -9), além de polifenóis, tocoferóis e outros bioativos. O SO apresenta potencial como antidiabético, termogênico, cardioprotetor, atividade citotóxica em algumas células tumorais, ação anti-inflamatória e antioxidante. A baixa solubilidade aquosa e a elevada possibilidade de degradação oxidativa constituem situações indesejadas para aplicação alimentar, que podem ser contornadas por meio da incorporação do óleo em nanopartículas lipídicas. Diante disso, o objetivo deste estudo foi desenvolver carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) contendo SO, determinar suas características e avaliar a capacidade de proteção da ação antioxidante do SO por meio da sua encapsulação. As nanopartículas foram produzidas pelo método de homogeneização a quente seguido por sonicação em sonda de ultrassom. A formulação otimizada (CLN-SO) apresentou morfologia esférica, tamanho de $222,0 \pm 2,0$ nm e potencial zeta de $-43,0 \pm 3,5$ mV. O teor de óleo superficial e a eficiência de encapsulação foram respectivamente $24,1 \pm 3,0$ e $49,0 \pm 2,8$ %, sendo a encapsulação corroborada por estudos de espectroscopia no infravermelho, difração de raios-X, calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria. Os estudos de análise térmica também demonstraram elevada termoestabilidade (até 228 °C) e a obtenção de um produto de características físico-químicas próprias. A formulação apresentou estabilidade por até 90 dias em dispersão aquosa, conforme os parâmetros avaliados. O CLN-SO liofilizado apresentou baixo teor de umidade e atividade de água ($0,0066 \pm 0,0032$ % e $0,55 \pm 0,03$, respectivamente), valores considerados de baixo potencial para contaminação microbiológica e reações de degradação. O SO apresentou considerável atividade antioxidante frente à inibição dos radicais DPPH ($EC_{50} = 4,4$ mg/mL e 74,86 mg equivalentes de BHT/g de óleo). Na concentração de 25 mg/mL foi observada redução de quase três vezes na atividade antioxidante do SO após a encapsulação, indicando proteção dos compostos que exercem esta atividade. Estes resultados sugerem, portanto, que a formulação desenvolvida apresenta características adequadas para a administração oral, sendo assim uma alternativa promissora para suplementação alimentar.

Palavras-chave: Antioxidantes. Ácido linoleico. Bioativos. Suplementação alimentar.

ABSTRACT

Safflower oil (SO) is obtained from the cold pressing of *Carthamus tinctorius* seeds. Essential fatty acids, mainly linoleic (ω -6) and oleic acid (ω -9), are present in the composition, as well as polyphenols, tocopherols and other bioactive agents. SO has potential as antidiabetic, thermogenic, cardioprotective, cytotoxic activity in some tumor cells, anti-inflammatory and antioxidant. Its low aqueous solubility and the high possibility of oxidative degradation are undesirable situations for food application, which can be overcome by incorporating the oil within lipid nanoparticles. Therefore, the main goal of this study was to develop nanostructured lipid carriers (NLC) containing SO, to determine its characteristics and to evaluate the potential for protection of the antioxidant activity by the encapsulation of SO. Nanoparticles were produced by the hot-melt homogenization method followed by sonication in an ultrasound probe. The optimized formulation (NLC-SO) showed spherical morphology, mean diameter of 222.0 ± 2.0 nm and zeta potential of -43.0 ± 3.5 mV. The surface oil content and the encapsulation efficiency were respectively 24.1 ± 3.0 and 49.0 ± 2.8 %, and this encapsulation was corroborated by other studies, such as infrared spectroscopy, X-ray diffraction, differential scanning calorimetry and thermogravimetry. Thermal analysis studies also demonstrated high thermostability (up to 228 °C) and a product of their own physicochemical characteristics was obtained. The formulation presented stability for up to 90 days in aqueous dispersion, according to the evaluated parameters. Freeze-dried NLC-SO presented low moisture content and water activity ($0.0066 \pm 0.0032\%$ and 0.55 ± 0.03 , respectively), values considered of low potential for microbiological contamination and degradation reactions. SO showed considerable antioxidant activity as scavenger of DPPH radicals ($EC_{50} = 4.4$ mg/mL and 74.9 mg BHT equivalents/g of oil). At the concentration of 25 mg/mL SO, a reduction of almost three times in the antioxidant activity was observed after the SO encapsulation, indicating protection of the compounds responsible for this activity. These results suggest, therefore, that the developed NLC-SO formulation presents suitable characteristics for oral administration, thus being a promising alternative in food supplementation.

Keywords: Antioxidants. Bioactive. Food Supplements. Linoleic acid.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1 Óleos vegetais e suplementação de bioativos.....	13
2.1.1 Nutrientes bioativos.....	17
2.2 Óleo de cártamo, perfil e aplicações.....	22
2.3 Aplicação da nanotecnologia em alimentos.....	25
2.4 Nanopartículas lipídicas.....	27
2.4.1 Nanopartículas desenvolvidas para entrega de óleos bioativos.....	30
3 OBJETIVOS.....	32
3.1 Objetivo geral.....	32
3.2 Objetivos específicos.....	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1 Materiais.....	33
4.2 Desenvolvimento das nanopartículas.....	33
4.3 Preparo das nanopartículas.....	34
4.4 Caracterização físico-química das nanopartículas.....	35
4.4.1 Determinação do diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão.....	35
4.4.2 Determinação do potencial zeta.....	35
4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	36
4.5 Avaliação da estabilidade.....	36
4.6 Secagem por liofilização.....	36
4.7 Caracterização do pó liofilizado.....	37
4.7.1 Conteúdo total de óleo, conteúdo de óleo livre e eficiência de encapsulação (EE).....	37
4.7.2 Conteúdo de umidade.....	38
4.7.3 Atividade de Água.....	38
4.7.4 Molhabilidade.....	38
4.7.5 Colorimetria.....	38
4.7.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier.....	39
4.7.7 Análises térmicas.....	39
4.7.8 Difração de raios X.....	40
4.8 Estudos de atividade antioxidante.....	40
4.9 Análises estatísticas.....	41

5 RESULTADOS.....	42
5.1 Influência da composição sobre as características das nanopartículas de óleo de cártamo..	42
5.2 Estabilidade da nanodispersão.....	44
5.3 Caracterização das nanopartículas lipídicas liofilizadas.....	45
5.3.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier.....	47
5.3.2 Análise térmica.....	50
5.3.3 Difração de raio X.....	51
5.4 Atividade antioxidante.....	52
6 DISCUSSÃO.....	54
7 CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

O óleo de cártamo (SO) é obtido a partir da prensagem a frio das sementes de *Carthamus tinctorius*, uma planta pertencente à família *Asteraceae*, conhecida popularmente como açafreão-amarelo, uma cultura amplamente cultivada em todo o mundo. Em sua composição, estão presentes como componentes majoritários os ácidos graxos insaturados (AG), principalmente os ácidos linoleico e oleico. Também são descritos em composição minoritária os componentes da fração insaponificável, entre eles polifenóis e tocoferóis. Há dois tipos de SO brutos disponíveis, o com alto teor de ácido linoleico (*high linoleic*) e com alto teor de ácido oleico (*high oleic*), além de diversos óleos refinados. O SO apresenta ainda como propriedades farmacológicas o potencial antidiabético, termogênico, aumento de proteção cardiovascular; atividade citotóxica em algumas células tumorais (HepG2, MCF-7 e HeLa), além de atividade anti-inflamatória e antioxidante. Estas perspectivas engrandecem o interesse na potencial aplicação do SO em alimentos.

Apesar do uso difundido de óleos vegetais como o de cártamo e sua relevância na indústria de alimentos, há diversas limitações que comprometem seu uso como fonte de bioativos. A baixa solubilidade em água, baixa estabilidade oxidativa e potencial degradação com tempo de armazenagem representam limitações ligadas ao óleo, principalmente quando não ocorre processo de refino (óleo bruto). Desta forma, a micro e nanoencapsulação podem ser alternativas para resolução destas limitações, uma vez que o óleo passa a ser incorporado no interior de uma partícula e, com isto, não está diretamente exposto à degradação mediada por fatores externos. Em nanossistemas lipídicos, a interação de compostos hidrofóbicos como o SO com a matriz lipídica geralmente é favorecida, o que auxilia na incorporação e manutenção deste tipo de material no interior das partículas, resultando em ampliação da proteção dos componentes bioativos do óleo contra a degradação (SARI *et al.*, 2015; OPREA e GRUMEZESCU, 2017).

Dentre os nanocarreadores propostos para as áreas de medicamentos, cosméticos e alimentos, as nanopartículas lipídicas são bastante favoráveis para a incorporação de tais compostos lipofílicos (DARAEE *et al.*, 2016; ZENG *et al.*, 2016; CHU *et al.*, 2017; SALGADO *et al.*, 2019; ZANETTI *et al.*, 2019). Os materiais utilizados na sua composição (lípidos sólidos, líquidos e tensoativos) são biocompatíveis, de baixa toxicidade e de uso histórico em formulações para uso humano (DURAN *et al.*, 2013). Além disso, diversas características de processo tornam fácil a produção das nanopartículas em larga escala, sem utilização de solventes orgânicos para sua obtenção, além da ampla disponibilidade de lípidos adequados

para a utilização em aplicações alimentares (SABLIOV *et al.*, 2015; OPREA e GRUMEZESCU, 2017; RAFIEE e JAFARI, 2018; BATTAGLIA e UGAZIO, 2019).

Diante disso, a incorporação do SO em nanopartículas lipídicas torna-se uma alternativa viável e interessante para promover o carreamento do óleo e seus componentes bioativos, favorecendo a solubilidade deste em meio hidrofílico e a estabilidade contra a degradação. Assim, espera-se que a ação antioxidante também seja protegida, podendo perdurar por mais tempo. Considerando que o consumo de SO possui indicativo de atividade benéfica à saúde, aliado ao crescente interesse de consumo como suplemento alimentar, as nanopartículas lipídicas contendo SO podem representar um produto tecnológico interessante com potencial para ser utilizado no consumo humano.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Óleos vegetais e suplementação de bioativos

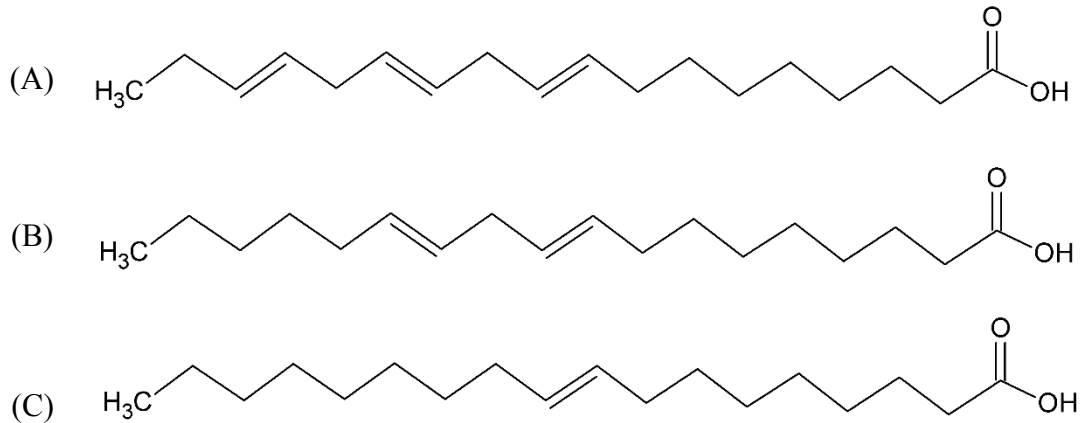
Óleos e gorduras vegetais são lípidos extraídos de partes das plantas como as sementes ou, menos frequentemente, de outras partes, como os frutos. Assim como as gorduras, os óleos são constituídos predominantemente por misturas formadas por ácidos graxos (AG) e seus ésteres na forma de triacilgliceróis, resultantes da sua esterificação com o glicerol. Óleos são frequentemente denominados como lípidos líquidos por se manter neste estado físico à temperatura ambiente e ao nível do mar, enquanto as gorduras ou manteigas vegetais se mantêm em estado sólido (DEVI e KHATKAR, 2016).

Os triglicerídeos e ácidos graxos são a maior fração da composição dos óleos vegetais, compondo a porção saponificável destes. Em menores frações dos óleos, estão presentes ainda fitoesteróis, tocoferóis, polifenóis, carotenoides, terpenos, glicolipídios, fosfolípidos, pigmentos e substâncias aromáticas voláteis. Estes componentes minoritários, em grande parte são constituídos por material insaponificável e apresentam diversos perfis de polaridade (WINKLER-MOSER e BREYER, 2011; CALDER, 2015; GANESH e HETTIARACHCHY, 2016; HERNANDEZ, 2016; BARRERA-ARELLANO *et al.*, 2019).

Dentre as diversas aplicações na indústria farmacêutica, cosmética e bioenergética (PITTS *et al.*, 2007; BOSKOU, 2015; MBA *et al.*, 2015; SINGH e NIMBKAR, 2016; BYERLEE *et al.*, 2017), os óleos vegetais podem ser empregados na produção de tintas, vernizes e lubrificantes, e são particularmente utilizados como alimentos e fontes de bioativos. Os óleos de soja, canola, girassol e milho são exemplos comuns de óleos vegetais obtidos de sementes com aplicação alimentar (COSTA-SINGH *et al.*, 2012; DING *et al.*, 2015; BYERLEE *et al.*, 2017; BARRERA-ARELLANO *et al.*, 2019); o azeite de oliva e o óleo de palma são exemplos de óleos obtidos de outras partes das frutas para mesmo fim (TAN *et al.*, 2009; MARTINEZ-GONZALEZ e MARTÍN-CALVO, 2018).

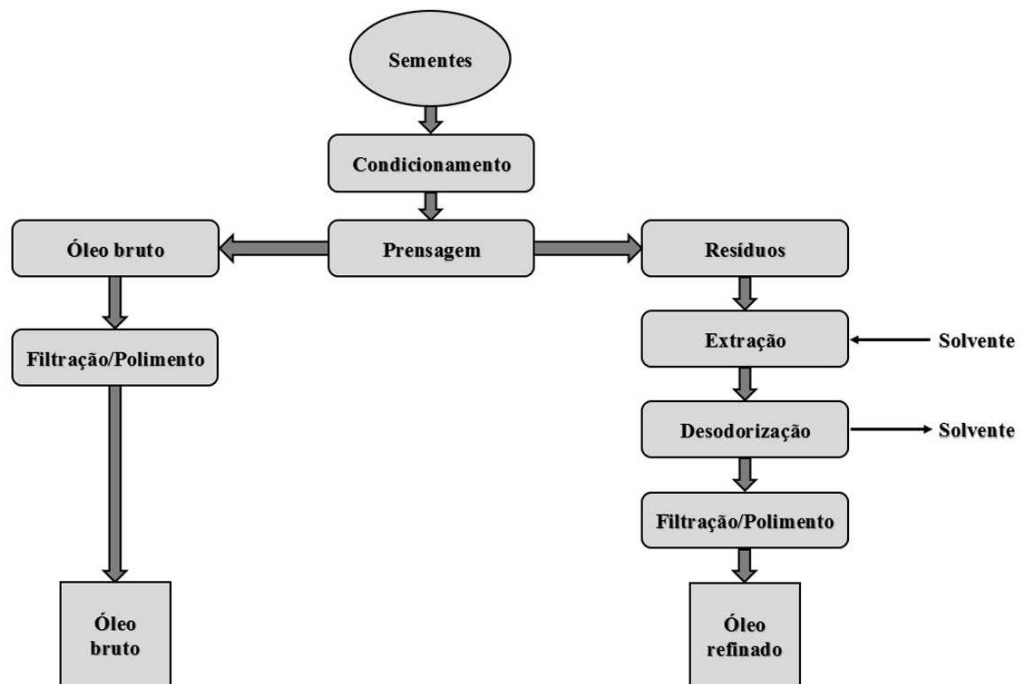
A grande maioria dos componentes bioativos neste contexto são ácidos graxos insaturados e poli-insaturados, como ácido oleico (18:1; ω -9), ácido linoleico (18:2; ω -6) e linolênico (18:3; ω -3), estes dois últimos considerados ácidos graxos essenciais (AGE) (Figura 1).

Figura 1. Ácidos graxos poli-insaturados e insaturados: ácido linolênico (A), ácido linoleico (B), ácido oleico (C). Representação apenas da fórmula estrutural, sem considerar os vários isômeros.



Por outro lado, no óleo de coco e palma, os ácidos graxos predominantes são saturados (82% dos lípides totais para ambos), sendo que cerca de 67% do óleo de coco é composto pela mistura de ácidos láurico (12:0), mirístico (14:0) e palmítico (16:0); no óleo de palma este valor pode ser até 5% maior (SACKS *et al.*, 2017).

Figura 2. Representação esquemática do processo geral de obtenção e refino de óleos vegetais.



Os óleos vegetais são considerados brutos quando são utilizados após a sua obtenção, normalmente por método de prensagem a frio (Figura 2). Como ainda não sofreram processo de refino químico, a prevalência dos componentes bioativos é maior, uma vez que neste processo ocorre perda de grande parte destes compostos devido ao uso de solventes (WINKLER-MOSER e BREYER, 2011; CALDER, 2015; GANESH e HETTIARACHCHY, 2016; HERNANDEZ, 2016; BARRERA-ARELLANO *et al.*, 2019).

A composição e as concentrações dos componentes bioativos são variadas para óleos vegetais de diferentes fontes, principalmente considerando os óleos brutos, não-refinados. Além das diversas fontes vegetais, a variação na concentração dos bioativos pode estar relacionada com condições climáticas do local, método de cultivo, processo de extração realizado, se houve alguma forma de refino e condições de armazenamento do óleo (PRESCHA *et al.*, 2014). Na tabela 1 estão descritos os bioativos de ocorrência em óleos de diversas fontes vegetais com aplicação alimentar.

Por possuir maior proporção de componentes bioativos em sua matriz, os óleos brutos tornam-se matérias-primas atraentes para aplicação em alimentos. Além disso, podem apresentar inclusive outras aplicações potenciais, como bases na dissolução de compostos como vitaminas, antioxidantes e outros ativos lipofílicos. Na indústria de alimentos, são empregados também como modificadores de textura e agregadores de sabor. Estes óleos possuem ainda resistência térmica interessante, exibindo elevada temperatura de ebulição e decomposição, aliado à baixa toxicidade e elevada biocompatibilidade, condição que amplia ainda mais a possibilidade de aplicação alimentar (DA SILVA e JORGE, 2014; YARA-VARON *et al.*, 2017). Considera-se outra vantagem interessante o fato de que óleos vegetais são obtidos a partir de recursos renováveis, o que gera menor impacto ambiental na cadeia de produção (TAN *et al.*, 2009).

Tabela 1. Composição de bioativos relatada para óleos vegetais passíveis de aplicação alimentar

Óleo vegetal	Principais componentes bioativos	Referências
Óleo de abacate	ácido oleico (c. 63%) β-sitosterol e outros fitoesteróis α-tocoferol e outros tocoferóis carotenoides, como a luteína	(NOGUEIRA-DE-ALMEIDA <i>et al.</i> , 2018); (KRUMREICH <i>et al.</i> , 2018); (DUARTE <i>et al.</i> , 2016); (ADARAMOLA <i>et al.</i> , 2016).
Óleo de amêndoas	ácido oleico (entre 64 e 82%) β-sitosterol e outros fitoesteróis α-tocoferol e outros tocoferóis	(FERNANDES <i>et al.</i> , 2017); (PARDO <i>et al.</i> , 2016); (SIQUEIRA <i>et al.</i> , 2016); (SORKHEH <i>et al.</i> , 2016); (AHMAD, 2010).
Óleo de amendoim	ácido oleico (c. 45%), ácido linoleico (c. 32%) arginina e resveratrol β-sitosterol e outros fitoesteróis γ-tocoferol e outros tocoferóis compostos fenólicos e flavonoides	(ZAABOUL <i>et al.</i> , 2018); (SACKS <i>et al.</i> , 2017); (LIST, 2016); (ARYA <i>et al.</i> , 2016); (ZHU <i>et al.</i> , 2015).
Óleo de cártamo	ácido linoleico (c. 75%) β-sitosterol e outros fitoesteróis α-tocoferol e outros tocoferóis	(KHALID <i>et al.</i> , 2017); (MATTHAUS <i>et al.</i> , 2015).
Óleo de chia	ácido linoleico (c. 62%) carotenoides e tocoferóis	(BODOIRA <i>et al.</i> , 2017).
Óleo de coco	polifenóis e tocoferóis	(WALLACE, 2019); (KAPPALLY <i>et al.</i>); (YEAP <i>et al.</i> , 2015); (MARINA <i>et al.</i> , 2009).
Óleo de linhaça	ácido α-linolênico (c. 52%) γ-tocoferol e outros tocoferóis vitamina A	(AYELIGN e ALEMU, 2016).

Legenda: c. = cerca de.

2.1.1 Nutrientes bioativos

A ingestão de alimentos não se limita apenas à satisfação do apetite ou mesmo fornecimento de nutrientes. A composição da dieta afeta as funções fisiológicas e também o balanço energético global do organismo (BJORK *et al.*, 2016). Estes componentes que influenciam as funções fisiológicas podem ser definidos como nutrientes bioativos e estes, em sua grande maioria, favorecem a manutenção e ganho em benefícios à saúde (VIEIRA DA SILVA *et al.*, 2016).

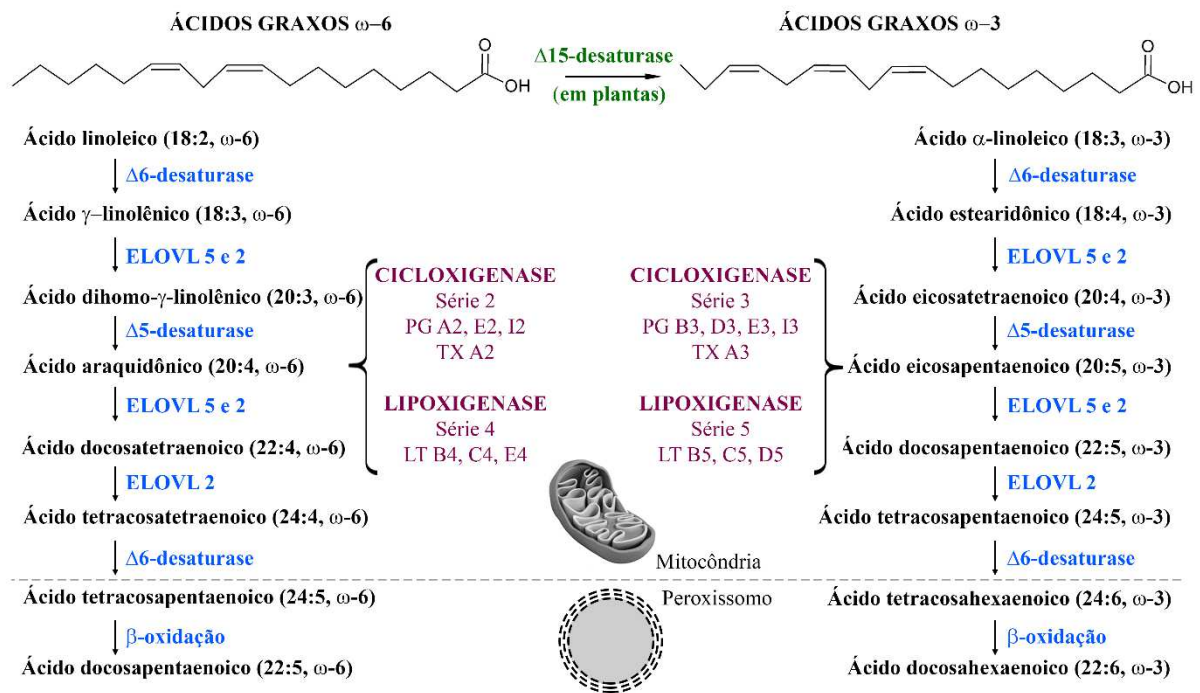
Os nutrientes bioativos estão disponíveis em fontes vegetais e animais. Em fontes vegetais são considerados os ácidos graxos (AG) insaturados e poli-insaturados, vitaminas, fibras e substâncias antioxidantes. Em fontes animais estão presentes principalmente aminoácidos essenciais e os AG poli-insaturados da série do ω -3, presentes em abundância no óleo do fígado de determinados peixes de águas profundas, como o salmão (NOOMHORM *et al.*, 2014).

Dentre os AG considerados nutrientes bioativos, um destaque especial é dado aos AG essenciais, devido ao fato da inaptidão do organismo humano em sintetizá-los a despeito de sua necessidade. Assim, têm destaque o ácido linolênico (ω -3) e o ácido linoleico (ω -6), cuja produção endógena por mamíferos é considerada pouco significativa frente à necessidade para manter o equilíbrio das funções fisiológicas, devendo assim ser obtidos por meio da alimentação. O consumo diário indicado em adultos é de cerca de 0,4 e 2 g/dia, para ω -3 e ω -6, respectivamente (CALDER, 2010). Além destes AG essenciais de ocorrência vegetal, também merece destaque como bioativo o ácido oleico (ω -9), um ácido graxo monoinsaturado não essencial (JOHNSON, 2014), que apresenta propriedades antioxidantes (DERBYSHIRE, 2018).

Na série do ω -3, há cinco AG que merecem destaque devido a suas ações fisiológicas: o ácido α -linolênico (LA, 18:3), ácido estearidônico (SDA, 18:4), ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5), ácido docosapentaenóico (DPA, 22:5) e ácido docosahexaenóico (DHA; 22:6) (Figura 3) (SHAHIDI e AMBIGAIPALAN, 2018). Para o LA é relatada atividade anti-inflamatória, antioxidante, hipocolesterolêmica, hipolipidêmica, hipotensora e vasoconstritora (RODRIGUEZ-LEYVA *et al.*, 2010). O EPA, além de ação anti-inflamatória, antioxidante e hipotensora, pode promover melhora de sensibilidade à insulina (FIGUERAS *et al.*, 2010). O DHA possui ação hipolipidêmica e anti-inflamatória, esta última possivelmente via redução dos níveis de interleucina 6 e proteína quimiotática de monócito (MCP-1), ambos mediadores

químicos responsáveis pelo recrutamento seletivo de monócitos, neutrófilos e linfócitos, gerando quimiotaxia através da ativação de receptores acoplados à proteína G (RYAN *et al.*, 2009; MURUMALLA *et al.*, 2012).

Figura 3. Conversão dos AG da série ω -6 e 3 gerando os diversos derivados de importância fisiológica, dando destaque às reações bioquímicas que ocorrem no organismo e apenas em plantas.



Legenda: PG = prostaglandinas, LT = leucotrienos, TX = tromboxano, ELOVL = elongase de ácidos graxos (do inglês, *elongation of very long chain fatty acids protein*)

Em praticantes profissionais de esportes, a suplementação por ω -3 tem sido relacionada com melhora da resistência física, sugerindo associação com redução da demanda de oxigênio ao longo do exercício (PHILPOTT *et al.*, 2019). O consumo de peixe e óleo do fígado de peixe, fontes alimentares ricas em ω -3, está associado com redução na mortalidade relacionada à doença cardiovascular (DCV) e morte súbita cardíaca. Entretanto, o consumo de ω -3 isoladamente não demonstrou eficácia em prevenção secundária de DCV em pacientes com múltiplos fatores de risco (MOHANTY *et al.*, 2017; WATANABE e TATSUNO, 2017; DERBYSHIRE, 2018). Atualmente, o ω -3 é denominado de Classe II pela Associação Americana do Coração (*American Heart Association*, dos Estados Unidos), o que indica que o

seu benefício de consumo é moderadamente maior que o seu risco de consumo, podendo-se assumir que ele pode ser útil e eficaz nas ações que propõe (ELAGIZI *et al.*, 2018).

Na série do ω -6 (Figura 3), o AG de cadeia mais curta é o ácido linoleico, que se torna o precursor dos demais AG ω -6 de cadeia mais longa, incluindo os endocanabinoides, lipoxinas e eicosanoides, derivados do ácido araquidônico (20:4, ω -6), como as prostaglandinas e leucotrienos, todos de ação estreitamente relacionada a processos inflamatórios, dentre outras ações fisiopatológicas (ALVHEIM *et al.*, 2014; CALDER, 2015; RAMSDEN *et al.*, 2015).

Além de atuarem como precursores do ácido araquidônico, os ω -6 atuam como componentes estruturais das membranas celulares, na forma das moléculas de fosfolípide, componentes da bicamada lipídica. O comprimento e o grau de saturação dos ácidos graxos determinam como as moléculas de fosfolípídios se agrupam e, conseqüentemente, afetam a fluidez da membrana, a transdução do sinal e a expressão dos receptores celulares (MORI e HODGSON, 2013).

O consumo alimentar de ω -6 também foi relacionado com influências benéficas no metabolismo das lipoproteínas, reduzindo a pressão arterial e em parte o risco de DCV. Em populações com elevadas taxas de consumo do ω -6, como os tailandeses e israelenses, em que pode constituir até 10% do aporte energético total, é observado baixo risco de incidência para DCV. Em contrapartida, a baixa ingestão diária de ácidos graxos ω -6 (< 3%) pode induzir problemas cardiovasculares por baixos índices de AGE no organismo (MORI e HODGSON, 2013). Por outro lado, a proteção da ocorrência de DCV é controversa, uma vez que na observação de 53 indivíduos com risco de DCV, que consumiam elevadas porções de ω -6, apenas um infarto do miocárdio foi evitado, indicando baixa relação entre o consumo e proteção cardiovascular (HOOPER *et al.*, 2018). Por fim, é sugerido que o ácido linoleico tenha benefícios a longo prazo que apontam para prevenção do diabetes tipo 2 (WU *et al.*, 2017).

Além dos AGE, as vitaminas também são nutrientes bioativos essenciais amplamente encontrados em fontes vegetais. São compostos que, mesmo necessários em menor frequência para manter a saúde do organismo, são essenciais e não podem ser adquiridas de outra forma que não por meio dos alimentos. Dentre as vitaminas presentes nas fontes vegetais, tem-se as vitaminas A, E, K e seus compostos relacionados (COMBS, G. F. e MCCLUNG, J. P., 2017).

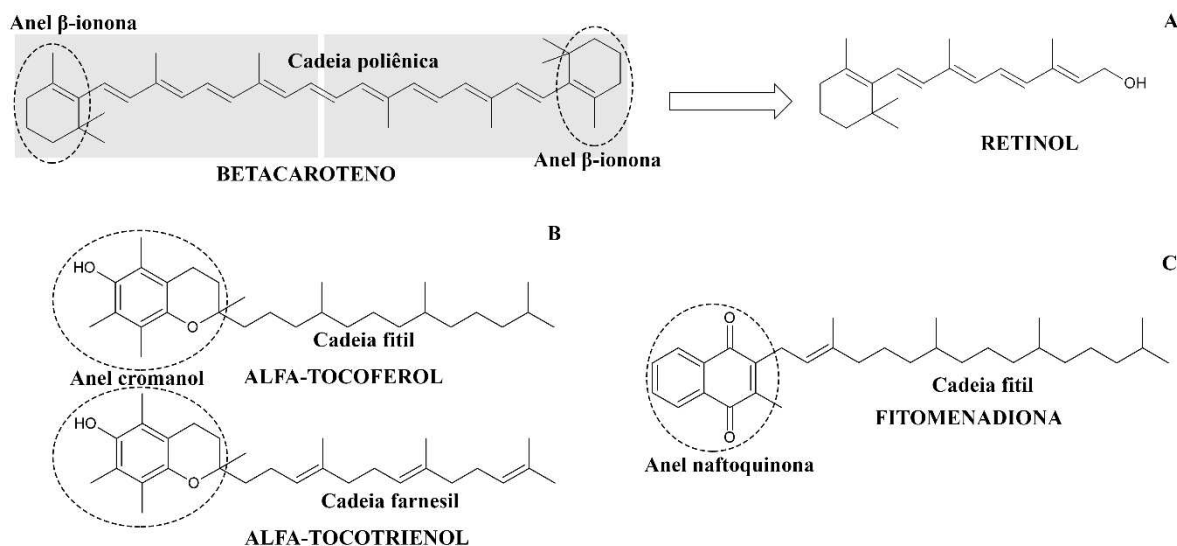
A vitamina A (Figura 4A) está presente nos alimentos na forma de retinol (em fontes animais) e os carotenos (fontes vegetais), sendo o betacaroteno a provitamina A mais comumente presente em frutas e leguminosas (BENDIK *et al.*, 2014). Ainda que presente em fontes animais, normalmente está associada a gorduras saturadas e colesterol nestas fontes, de

forma que seu consumo em vegetais é mais incentivado (COMBS, G. F. e MCCLUNG, J. P., 2017; WIRTH *et al.*, 2017). Em tomates, além de alfa e betacaroteno, estão também presentes licopeno, luteína e zeaxantina, com propriedades antioxidantes e de melhora da função imunológica. Além disso, estes compostos reduzem o risco para obesidade, diabetes, hipercolesterolemia, DCV e alguns tipos de câncer (PERVEEN *et al.*, 2015; DA SILVA CARVALHO *et al.*, 2016). Dentre as ações da vitamina A, estão a manutenção de uma visão saudável, indução de fatores de crescimento para diversas células, incluindo as epiteliais podendo ainda atuar como antioxidantes, especialmente o betacaroteno. Sua concentração diária de consumo indicada é de até 1300 µg em equivalente de retinol por dia (COMBS, G. F. e MCCLUNG, J. P., 2017).

A vitamina E (Figura 4B) compreende os tocoferóis e os tocotrienóis, cuja fonte principal são óleos de origem vegetal. Dentre as funções biológicas propostas, destaca-se sua atuação como antioxidante lipofílico (RIZVI *et al.*, 2014), em que a vitamina E age como um sequestrador de radicais livres, doando um átomo de hidrogênio (H) para inativa-los. Devido à sua característica lipofílica, a vitamina E pode ser incorporada nas membranas celulares, protegendo-as de danos oxidativos (DAUQAN *et al.*, 2011; RAEDERSTORFF *et al.*, 2015; GALLI *et al.*, 2017; GUPTA *et al.*, 2018). A vitamina E está indicada para consumo diário de até 15 mg por dia. Ela está presente em praticamente todos os óleos aplicados na alimentação, sendo estes, óleos de canola, palma, amendoim, oliva, milho, soja e principalmente girassol, neste em concentração de 41 mg/100g (COMBS, G. F. J. e MCCLUNG, J. P., 2017).

A vitamina K (Figura 4C) é um grupo de compostos lipofílicos derivados do isopreno, tendo como precursor a fitomenadiona (vitamina K1). Apresentam essencial atividade pró-coagulante, uma vez que são necessárias na síntese de proteínas que atuam como fatores de coagulação. Os valores considerados indicados para consumo diário ainda não foram bem definidos, entretanto, especulam-se indicações de até 100 µg por dia para se obter os benefícios desta vitamina. Elas são obtidas principalmente em verduras de folhagem verde, como os brócolis (141 µg/100 g) e até 5 vezes mais na couve (817 µg/100 g). Em óleos vegetais, a vitamina K pode ser encontrada em óleo de canola, milho, oliva, amendoim e principalmente óleo de soja, este último com maior teor entre eles (184 µg/100g) (COMBS, G. F. J. e MCCLUNG, J. P., 2017).

Figura 4. Representação estrutural das principais vitaminas encontradas em óleos vegetais: vitamina A, representada pelo beta-caroteno como fonte de 2 moléculas de retinol (A); vitamina E, representada pelo alfa-tocoferol e alfa-tocotrienol (B); vitamina K, representada pela fitomenadiona (vitamina K1).



Outros compostos bioativos presentes em óleos vegetais são os pertencentes à classe dos polifenóis, que são compostos fenólicos contendo uma ou mais hidroxilas ligadas a um anel aromático. Incluem os ácidos fenólicos, flavonoides e proantocianidinas, que constituem um mecanismo de proteção das plantas contra o estresse oxidativo. Em óleos brutos, são observados os ácidos fenólicos homogentísico, 4-hidroxibenzoico, caféico, gálico, p-cumárico, sinápico e ferúlico, mas ocorrem ainda outros polifenóis como tirosol, vanilina, siraldeído, ácido verátrico, kaempferol e rosmanol (TOLBA *et al.*, 2016), todos com atividade antioxidante variada (OZCAN *et al.*, 2014).

O mecanismo de ação antioxidante destas substâncias está relacionado com capacidade de neutralizar radicais livres, reduzindo a ocorrência de reações como auto-oxidação lipídica (ZHANG e TSAO, 2016). O ácido cafeico tem demonstrado potencial atividade antioxidante e efeitos protetores para aterosclerose, reduzindo os níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL) (MAGNANI *et al.*, 2014). Estes polifenóis demonstram também potencial ação anti-inflamatória associada à inibição de interleucina 1 β , uma citocina pró-inflamatória relacionada à dor e condições autoimunes (REN e TORRES, 2009; ZHANG e TSAO, 2016).

Por fim, em óleos vegetais no estado bruto, podem estar presentes em baixas concentrações as fibras solúveis, com capacidade de atuar como prebióticos, ou seja, são nutrientes bioativos não digeríveis que estimulam seletivamente o crescimento e a atividade de uma ou mais bactérias da microbiota intestinal, colaborando com a melhora da saúde (BERNAUD e RODRIGUES, 2013). A inulina, um polissacarídeo da frutose, encontrada em pequenas proporções nos alimentos vegetais, é considerada uma fibra solúvel que possui atuação no organismo como prebiótico, contribuindo na manutenção da flora intestinal (BERNAUD e RODRIGUES, 2013; VASSIMON *et al.*, 2016).

A partir desta análise, pode-se observar que há uma grande variedade de bioativos que são nutrientes essenciais presentes naturalmente em óleos vegetais. A facilidade de obtenção, o custo, a fonte de origem (animal ou vegetal) e principalmente os possíveis benefícios à saúde com redução dos riscos de desenvolvimento de doenças gerados pelo consumo de bioativos definem seu potencial para utilização na composição de alimentos funcionais (AF) (ANVISA, 1999; NISHIDA *et al.*, 2007; TEMPLE e STEYN, 2016; SHAO, 2017).

A incorporação de nutrientes bioativos em AF demonstra indícios de ser uma estratégia atraente para despertar o interesse do consumidor, que busca alimentos com alegação de propriedades benéficas na manutenção da saúde e bem-estar (NOOMHORM *et al.*, 2014; SCHULZE *et al.*, 2018). Quando o produto contém ingredientes bioativos cuja origem advém de fonte natural, com reduzida interferência de processos químicos para sua obtenção, o interesse pode ser ainda maior (HUNG *et al.*, 2016; BIMBO *et al.*, 2017). De fato, em 2013, foi relatado que o valor do mercado global de AF foi de US\$ 168 bilhões com estimativas de crescimento para até US\$ 300 bilhões em 2020. Com perspectivas de mercado em ascensão, inúmeras empresas de alimentos têm ampliado seus investimentos no desenvolvimento de novos produtos funcionais (SANTERAMO *et al.*, 2018).

2.2 Óleo de cártamo, perfil e aplicações

O cártamo (*Carthamus tinctorius L.*), conhecido popularmente como açafrão amarelo, é uma herbácea de cultura agrícola polivalente originária da África e Ásia, pertencente à família *Asteraceae* (GALANT *et al.*, 2015; LUCAS *et al.*, 2016). Suas flores de cores brilhantes (Figura 5) possuem pigmentos naturais utilizados na indústria de alimentos e tecidos (SINGH e NIMBKAR, 2016).

Figura 5. Flores e sementes do cártamo (*Carthamus tinctorius L.*).



Fonte: HARRIS, 2019

As sementes de cártamo são compostas por 38-48% de óleo, 15-22% de proteínas e 11-22% de fibras. Das sementes prensadas a frio é extraído o óleo bruto rico em ácidos graxos poli-insaturados, que apresenta considerável potencial de aplicação na produção de biodiesel, fabricação de tintas, vernizes, indústria de cosméticos e alimentos (GALANT *et al.*, 2015). Por outro lado, as fibras residuais do processo de prensagem são beneficiadas e podem ser utilizadas para alimentar criações (AYDENIZ *et al.*, 2013).

Os AG insaturados e poli-insaturados contidos no óleo extraído das sementes são relatados como responsáveis por grande parte dos seus benefícios à saúde. Particularmente destacam-se os ω -6 e ω -9, responsáveis por auxiliar no controle do colesterol, reduzindo níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que por consequência reduzem também as chances de desenvolvimento de aterosclerose (SCHWINGSHACKL *et al.*, 2018).

O óleo de cártamo (SO, do inglês *safflower oil*) destaca-se por ser uma fonte importante de ácido linoleico (ω -6), com alto teor; entretanto, os ácidos graxos estão presentes no SO em proporções variadas, conforme seja obtido de diferentes fontes. Existem basicamente dois perfis de SO, o óleo com alto teor de ω -6 (>66%, *high linoleic*) e com alto teor de ω -9 (>83%, *high oleic*) (SACKS *et al.*, 2017). Essa quantidade pode ser ainda variada conforme a linhagem de cultivo, método de beneficiamento empregado na obtenção do óleo e condições climáticas do local de plantio (SALABERRÍA *et al.*, 2016), de forma que em linhagens de cártamo cultivadas

no Marrocos, observou-se 77-80% de ácido linoleico (BEN MOUMEN *et al.*, 2015), enquanto que em amostras da Polônia, a quantidade observada foi em torno de 67% (PRESCHA *et al.*, 2014).

Além dos AG, estão também presentes tocoferóis, principalmente α -tocoferol, que foi encontrado no óleo bruto em concentração de até 2031 mg/kg (AYDENIZ *et al.*, 2013). Para SO refinado, a concentração de tocoferóis é menor, por exemplo, 266 ± 13 mg/kg em amostras originárias da Espanha (MARQUEZ-RUIZ *et al.*, 2014) e 624 ± 34 mg/kg em amostras da Índia (BHATNAGAR *et al.*, 2009). Em óleos brutos, pode ser encontrada concentração de tocoferóis até três vezes maior que em óleos refinados (AYDENIZ *et al.*, 2013). A composição de ácidos graxos e tocoferóis totais presentes em amostras de SO obtidos por diferentes processos estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Composição percentual de ácidos graxos e concentração de tocoferóis (mg/kg óleo) em diferentes amostras de óleo de cártamo.

Material	Composição AG (%)	Tocoferóis totais (mg/kg)	Referência
Óleo refinado	71,1 \pm 2,9 (18:2)	624 \pm 34	(BHATNAGAR <i>et al.</i> , 2009)
	18,7 \pm 1,0 (18:1)		
	2,7 \pm 0,2 (18:0)		
	7,5 \pm 0,8 (16:0)		
Óleo refinado	74,7 \pm 0,7 (18:2)	266 \pm 13	(MARQUEZ-RUIZ <i>et al.</i> , 2014)
	13,7 \pm 0,5 (18:1)		
	2,6 \pm 0,1 (18:0)		
	7,2 \pm 0,2 (16:0)		
Óleo por prensagem a frio	81,4 \pm 3,7 (18:2)	397 \pm 13	(LEE, 2004)
	11,1 \pm 1,3 (18:1)		
	1,6 \pm 0,3 (18:0)		
Óleo por prensagem a frio	5,5 \pm 0,1 (16:0)	2030 \pm 16	(AYDENIZ <i>et al.</i> , 2013)
	76,9 \pm 4,1 (18:2)		
	12,3 \pm 2,2 (18:1)		
	2,5 \pm 0,4 (18:0)		
	6,8 \pm 0,6 (16:0)		

Legenda: AG = ácidos graxos, 16:0 – ácido palmítico, 18:0 – ácido esteárico 18:1 – ácido oleico (ω -9), 18:2 – ácido linoleico (ω -6)

No óleo ocorre ainda a presença de fitosteróis, principalmente o β -sitosterol (1038,26-1130,13 mg/kg), um bioativo relacionado à proteção cardiovascular (MATTHAUS *et al.*, 2015; KHALID *et al.*, 2017). Carotenoides também estão presentes (1,14-1,34 mg/kg) principalmente no SO bruto, sendo β -caroteno e β -criptoxantina os carotenoides dominantes (BEN MOUMEN *et al.*, 2015).

Desta forma, como o óleo bruto obtido por técnica de prensagem a frio, não refinado, apresenta teor mais elevado de antioxidantes, fitoesteróis e outros bioativos importantes, e ainda passa por poucos processos de obtenção e purificação sem requerer refinação química, apenas uma simples filtração ou centrifugação para remover materiais suspensos, torna-se mais interessante e conveniente para indústria de alimentos a sua utilização em produtos comestíveis de qualidade do que os óleos refinados (PRESCHA *et al.*, 2014).

O SO apresenta ainda propriedades farmacológicas atraentes para aplicação como ingrediente funcional, com consumo diário podendo gerar efeitos antidiabéticos auxiliando no controle dos níveis de insulina; ampliação da função termogênica, esta principalmente se aliada a hábitos saudáveis de alimentação e prática de exercícios físicos; aumento da proteção cardiovascular; atividade citotóxica em células tumorais (HepG2, MCF-7 e HeLa); atividade anti-inflamatória e antioxidante. Estas perspectivas engrandecem o interesse da indústria em potencial a aplicação do SO em alimentos, resultando em necessidade de maiores pesquisas relacionadas ao seu consumo, especialmente estudos clínicos que relacionem seus componentes bioativos com a atividade funcional observada (HANN *et al.*; CAMPANELLA *et al.*, 2014; DEHARIYA e DIXIT, 2015; HARRIS *et al.*, 2017; KHALID *et al.*, 2017; CAPOBIANCO *et al.*, 2018; FERNANDES *et al.*, 2018).

2.3 Aplicação da nanotecnologia em alimentos

A nanotecnologia é a ciência que pesquisa materiais com intuito de criar, manipular e explorar estruturas em escala nanométrica, ou seja, na faixa de tamanho de 1-1000 nm (CHELLARAM *et al.*, 2014). Em escala nanométrica, observa-se que os materiais adotam propriedades únicas que não estavam presentes em escala macrométrica. Assim, com as mudanças na escala do material, podem ser alteradas tanto as propriedades físico-químicas, como cor, solubilidade, viscosidade, difusividade, resistência e toxicidade, quanto as propriedades biológicas, como a farmacocinética e a biodisponibilidade (TAMJIDI *et al.*, 2013; ĐORĐEVIĆ *et al.*, 2014; DIMITRIJEVIC *et al.*, 2015).

Estas modificações ocorrem devido às interações individuais de átomos e moléculas, gerando possibilidade de novas aplicações funcionais, em praticamente todas as áreas e setores, incluindo agricultura, vestuário, cosmética, petroquímica e, de forma especial, na indústria farmacêutica e de alimentos (CHELLARAM *et al.*, 2014; BAJPAI *et al.*, 2018; HOSNE ASIF e HASAN, 2018; MORADKHANI *et al.*, 2018; SAMADDAR *et al.*, 2018). Quando associada à área da saúde a nanotecnologia é conhecida como nanobiotecnologia. Assim, com aplicação na indústria alimentar, a nanobiotecnologia possibilita alteração no perfil de liberação e disponibilidade de micronutrientes e bioativos em componentes alimentares. Ao encapsular bioativos, os nanocarreadores podem gerar não só a liberação controlada, mas também mascarar ou preservar sabores, aromas e outros compostos voláteis, reduzir a ocorrência de oxidação e outras reações de degradação, protegendo assim os compostos bioativos (OPREA e GRUMEZESCU, 2017).

A encapsulação de bioativos em nanocarreadores, por exemplo, pode ampliar o poder de proteção das embalagens de alimentos, devido à liberação controlada que sustenta o fornecimento prolongado de componentes bioativos com ações como antimicrobiana ou antioxidante. Biofilmes contendo nanopartículas carregadas com extrato de folhas da planta aloe vera, contendo bioativos com potencial atividade antimicrobiana, possibilitou um período mais longo de conservação do alimento embalado (TORRES-GINER *et al.*, 2017; SALGADO *et al.*, 2019).

Os sabores e aromas são moléculas orgânicas de baixo peso molecular muito voláteis e sensíveis ao ar, calor, luz e umidade (BAKRY *et al.*, 2016). Desta forma, é possível aplicar a nanoencapsulação para preservá-los, ou seja, reduzir a ocorrência de volatilização e reações de degradação. Além disso, pode-se obter materiais em pó, pasta ou em dispersões líquidas, sendo que, principalmente nas formas de pó e pasta, os materiais ocupam menos espaço na estocagem, são mais leves e menos dispendiosos para transportar, tornando-se mais atrativos para processos industriais (ELTAYEB *et al.*, 2013; SAIFULLAH *et al.*, 2019).

Para proteger componentes bioativos propícios a oxidação, como nutrientes essenciais com alto valor nutricional, tem-se na micro e nanoencapsulação ferramentas promissoras (DASGUPTA *et al.*, 2015). A micro e nanoencapsulação de óleo de peixe e seus derivados (principalmente EPA e DHA), e outras fontes de AG insaturados como ω -3 e ω -6, têm sido mais amplamente estudadas, buscando-se a proteção contra oxidação destes nutrientes bioativos. Entretanto, a capacidade de proteção pela nanopartícula demonstra ser dependente da interação deste óleo bioativo com a matriz de encapsulação, que deve inibir o contato de

radicais livres e oxigênio com o núcleo oleoso (TANEJA e SINGH, 2012; MADUREIRA *et al.*, 2016; SALMINEN *et al.*, 2016; HELLER *et al.*, 2019; KAZUO, 2019).

Assim, em nanossistemas lipídicos ocorre excelente incorporação de compostos hidrofóbicos, como óleos vegetais. Como a interação com a matriz lipídica se torna facilitada, a incorporação e manutenção destes bioativos nas partículas é favorecida, culminando em ampliação de proteção dos possíveis bioativos presentes nos óleos (SARI *et al.*, 2015).

2.4 Nanopartículas lipídicas

Diversos materiais podem ser utilizados na confecção de sistemas carreadores nanoestruturados, incluindo diversos polímeros (quitosana, policaprolactona, ácido polilático, ácido poliglicólico, etc.), metais e outras substâncias inorgânicas (ouro, prata, ferro, óxido de zinco, etc.), estruturas de carbono (nanotubos, fullerenos, etc), e lípidos diversos (triglicerídeos, ácidos graxos, óleos, esteroides, etc.). Os nanocarreadores lipídicos incluem as nanoemulsões, que são nanodispersões aquosas de lípidos líquidos (óleos) e, as nanopartículas lipídicas, na forma de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) ou carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) (DARAEI *et al.*, 2016; ZENG *et al.*, 2016; CHU *et al.*, 2017; SALGADO *et al.*, 2019; ZANETTI *et al.*, 2019).

As nanopartículas lipídicas apresentam vantagens associadas à utilização de lípidos em sua constituição, como menor toxicidade e maior biocompatibilidade, uma vez que podem ser utilizadas substâncias constituintes do organismo na matriz da nanopartícula (DURAN *et al.*, 2013). Além disso, a facilidade de produção das nanopartículas em larga escala, a ausência de necessidade de utilização de solventes orgânicos, juntos com a elevada disponibilidade de lípidos adequados para a utilização alimentar, tornam as nanopartículas lipídicas muito interessantes para a produção industrial (SABLIOV *et al.*, 2015; OPREA e GRUMEZESCU, 2017; RAFIEE e JAFARI, 2018; BATTAGLIA e UGAZIO, 2019).

Neste contexto, a maioria dos compostos bioativos, como os AG, carotenoides, tocoferóis, flavonoides, polifenóis, fitoesteróis, dentre outros, além de sabores, aromas e conservantes apresentam natureza hidrofóbica e, com isto, são facilmente solúveis em matriz lipídica. Assim, as nanopartículas lipídicas tornam-se sistemas promissores para encapsular tais compostos, sendo que a presença de lípidos digeríveis ainda pode facilitar a absorção de compostos bioativos no intestino delgado por aumentar a quantidade de micelas mistas disponíveis para solubilizar e transportar compostos hidrofóbicos (POUTON, 2006; PORTER *et al.*, 2007; MCCLEMENTS e RAO, 2011; MADUREIRA *et al.*, 2016).

Introduzidas no início dos anos 90, as primeiras nanopartículas lipídicas propostas foram as NLS, que são nanopartículas com uma estrutura cristalina organizada podendo reter diferentes componentes bioativos dentro de sua rede lipídica (WEISS *et al.*, 2008). As NLS são derivadas das nanoemulsões óleo em água (O/A), mas utilizam lípidos sólidos em vez de líquidos (óleos) e, portanto, permanecem na forma sólida tanto na temperatura ambiente como na temperatura do corpo humano (CRUZ *et al.*, 2015). Ainda que as NLS forneçam boa estabilidade e solubilidade em diferentes meios e possibilidade de liberação controlada, por outro lado, possuem limitação na capacidade de carreamento de fármacos e tendem a expulsar os ativos incorporados na matriz cristalina organizada durante o armazenamento. Estes empecilhos ocorrem principalmente naquelas preparadas com lípidos altamente purificados e de composição mais simples, como triestearina ou trimiristina (DAS e CHAUDHURY, 2011).

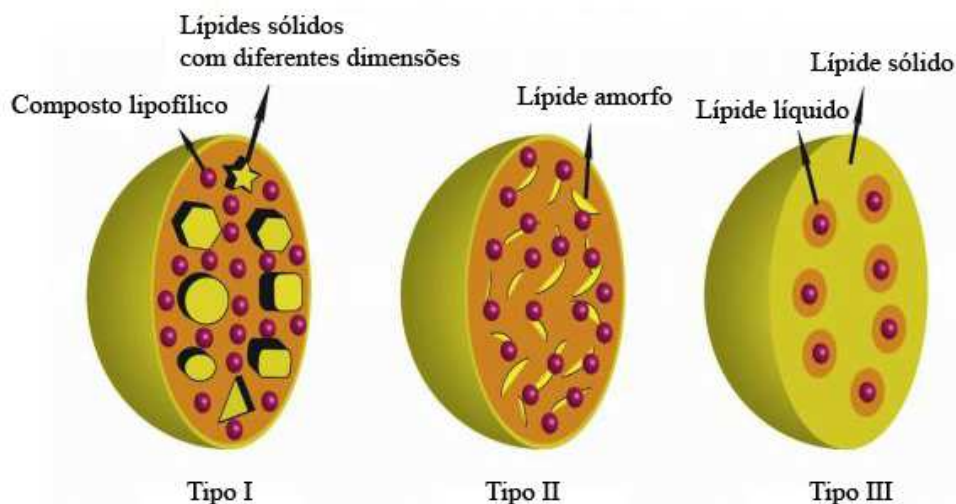
Para contornar os problemas associados às NLS, no final da década de 90, são propostos os CLN, a segunda geração de nanopartículas lipídicas caracterizadas por possuírem lípidos líquidos em sua matriz. Estes óleos têm a capacidade de desestruturar a organização cristalina da matriz lipídica, ampliando o potencial de encapsulação e a estabilidade da substância encapsulada. Apesar da presença de lípidos líquidos, a matriz dos CLN também é sólida tanto em temperatura ambiente quanto corporal (DAS e CHAUDHURY, 2011; NASERI *et al.*, 2015; BELOQUI *et al.*, 2017).

Considerando teor de óleos presentes e a estrutura da matriz lipídica derivada, os CLN podem ser classificados em três tipos (Figura 6): imperfeito (tipo I), amorfo ou sem estrutura (tipo II) e múltiplo (tipo III). Assim, na presença de pequenas quantidades de óleos (tipo I), as diferenças nas estruturas dos lípidos tornam a matriz imperfeita e desordenada, oferecendo maior espaço para acomodação de fármacos e bioativos. No tipo II, com ainda maior quantidade de óleos, ambos os tipos de lípidos são misturados de forma que evitem a cristalização e assim, reduzem também a expulsão do fármaco. Nesta estrutura, a matriz lipídica é sólida, mas não cristalina. O tipo III apresenta um elevado conteúdo de lípidos líquidos, o que favorece a formação de minúsculos compartimentos oleosos no qual os fármacos e bioativos podem se acomodar (BATTAGLIA e GALLARATE, 2012; GABA *et al.*, 2015; BELOQUI *et al.*, 2017)

A produção das nanopartículas lipídicas pode ser feita por homogeneização a quente ou a frio. No método de produção por homogeneização a quente os lípidos (líquidos e sólidos), surfactantes e a fase aquosa dispersante são aquecidos acima da temperatura de fusão do lípido sólido. Ainda quentes, são misturados (obtendo uma emulsão) e logo em seguida submetidos a técnicas de alta energia para formação de partículas em escala nanométrica com o resfriamento

à temperatura ambiente. Este método é indicado para bioativos que suportam temperaturas tão elevadas quanto as de fusão do lipídeo sólido escolhido (SALVI e PAWAR, 2019).

Figura 6. Classificação dos CLN em relação à composição da matriz lipídica: imperfeita (Tipo I), amorfo (Tipo II) e múltiplos (Tipo III).



Fonte: KATOUZIAN *et al.*, 2017, p. 18. Adaptado.

A homogeneização a frio por outro lado, é uma alternativa ideal para a nanoencapsulação de bioativos sensíveis ao calor, pois o preparo acontece em temperaturas abaixo do ponto de fusão do lipídeo sólido. Neste método, os ingredientes bioativos são dispersos em uma fase lipídica previamente fundida em tempo mínimo suficiente, sendo a mistura prontamente resfriada em banho de nitrogênio líquido. Após solidificação, o tamanho das partículas é reduzido por moagem para chegar em escala micrométrica. As micropartículas são então dispersas em solução aquosa de tensoativos resfriada e posteriormente submetida às técnicas de alta energia (MULLER *et al.*, 2002; KATOUZIAN *et al.*, 2017). Em ambos os métodos, é essencial para a formação das nanoestruturas o acoplamento com técnicas de alta energia, sendo a sonicação e homogeneização a alta pressão (HAP), as mais importantes (ABBAS *et al.*, 2013).

A técnica por sonicação gera ondas ultrassônicas de alta intensidade que reduzem o tamanho das partículas lipídicas, principalmente através dos efeitos de cavitação. Ainda que muito aplicada em desenvolvimento de novas formulações, esta técnica é demasiadamente difícil de escalonar, pois implica em limitações na utilização de sondas em escala que atenda necessidades industriais (SALVIA-TRUJILLO *et al.*, 2017). Na HAP, por outro lado, são geradas intensas forças disruptivas devido à elevada pressão exercida, que podem quebrar as

partículas até faixas nanométricas (QIAN e MCCLEMENTS, 2011). Sua principal vantagem é a facilidade de escalonamento industrial, mesmo se utilizada sonicação durante o desenvolvimento (GABA *et al.*, 2015).

Os principais ingredientes utilizados nas formulações de CLN são lípides sólidos, lípides líquidos e tensoativos. As matrizes lipídicas são compostas por misturas de uma ampla variedade de lipídios digestíveis naturais ou sintéticos. Alguns dos lípides sólidos mais comuns incluem colesterol, ceras (carnaúba, de abelhas), gorduras vegetais, palmitato de cetila, monoestearato de glicerol, palmitoestearato de glicerila (Precirol ATO 5), e especialmente os glicerídeos derivados do ácido berrênico (Compritol 888 ATO) (FANG *et al.*, 2013; GESZKE-MORITZ e MORITZ, 2016; MOHAMMADI *et al.*, 2017). O Compritol é composto por uma mistura de mono-, di- e triglicerídeos do ácido berrênico (22:0) de ponto de fusão relativamente alto (~70 °C), cuja mistura complexa traz inúmeros benefícios na produção de nanopartículas lipídicas, como maior eficiência de encapsulação e maior estabilidade física (SOUTO *et al.*, 2006; KATOUZIAN *et al.*, 2017).

Para lípides líquidos, podem ser utilizados os triglicerídeos de cadeia média (TCM), além dos óleos vegetais em geral, como óleo de soja, canola, algodão, linhaça, girassol, etc. e ácidos graxos (ácido linoleico, linolênico e oleico), especialmente levando em consideração a encapsulação como bioativos (CRUZ *et al.*, 2015; SABLIOV *et al.*, 2015; OPREA e GRUMEZESCU, 2017; RAFIEE e JAFARI, 2018).

Por fim, como emulsionantes ou tensoativos importantes para a estabilização das matrizes lipídicas, podem-se utilizar moléculas de diferentes cargas. Como exemplos, têm-se as lecitinas e os fosfolipídios como tensoativos neutros, os surfactantes não-iônicos (poloxamer, Span e Tween) e os tensoativos aniônicos (como os sais biliares: colato, glicocolato e taurocolato de sódio) (SHAH *et al.*, 2015; LIN *et al.*, 2017). Além destes, podem ser adicionados mono- e diglicerídeos, colesterol, álcoois e ácidos carboxílicos de cadeia curta (butanol e ácido butírico, por exemplo), como agentes solubilizantes e, são considerados co-surfactantes, tendo a capacidade de aumentar a eficiência de encapsulação de compostos bioativos (FATHI *et al.*, 2012).

2.4.1 Nanopartículas lipídicas desenvolvidos para entrega de óleos bioativos

Os óleos vegetais possuem características individuais dependentes da fonte e forma de obtenção. Dentre estes, existem alguns que são frequentemente utilizados como lípides líquidos em micro e nanoestruturas para aplicação alimentar. Os óleos de oliva, linhaça, canola, milho,

amendoim e girassol são exemplos destes (ABDELWAHAB *et al.*, 2013; TAMJIDI *et al.*, 2013; MCCLEMENTS, 2015; CHANG *et al.*, 2016; KATOUZIAN *et al.*, 2017; OPREA e GRUMEZESCU, 2017).

O óleo de oliva foi empregado como lipíde líquido na matriz de CLN para carreamento de timoquinona, um fitoativo presente em plantas do gênero *Nigella L.* com atividade anti-inflamatória demonstrada. A atividade do composto foi melhorada por mudanças na dinâmica de efeitos farmacocinéticos das nanopartículas em comparação ao óleo (ABDELWAHAB *et al.*, 2013). O óleo de linhaça também foi utilizado na matriz lipídica de CLN para encapsulação de quercetina, o que levou a ganho em estabilidade e aumento em solubilidade de 1300 vezes em meio hidrofílico (HUANG *et al.*, 2017). A vitamina A, um bioativo lipossolúvel, foi previamente solubilizada em ácido oleico (ω -9), e este foi empregado como lipíde líquido na construção de CLN com diâmetro na faixa de 60-330 nm, 98% de encapsulação e estabilidade físico-química por até 60 dias, indicando boas condições para aplicação como produto funcional alimentar (KONG *et al.*, 2011).

Além destes óleos mais usuais, ocorre relatos científicos da encapsulação de óleos mais exóticos e menos usuais, como o óleo obtido de sementes das plantas do gênero *Echium*, pertencente à família *Boraginaceae*. A encapsulação deste óleo possibilitou melhora da estabilidade e proteção contra oxidação dos ácidos graxos essenciais (ω -3) presentes em sua composição (AZIZI *et al.*, 2018). Óleos de fontes pouco usuais podem possuir compostos bioativos mais raros, tornando-se materiais interessantes para possível aplicação em CLN voltados para suplementação oral. Esses materiais oleosos, em nanopartículas, aumentam a solubilidade de compostos hidrofóbicos, melhoram a biodisponibilidade, promovem liberação controlada e protegem os bioativos durante a fabricação e o armazenamento, contribuindo para a ampliação dos benefícios em saúde resultantes do seu consumo (PATHAKOTI *et al.*, 2017; PINTO *et al.*, 2018).

Apesar de terem sido propostos no final dos anos 90, ainda há poucos relatos de aplicação de CLN na indústria de alimentos, porém têm se tornado foco de interesse por parte de pesquisadores em todo o mundo (KATOUZIAN *et al.*, 2017). Diante disto, a caracterização mais aprofundada das nanopartículas desenvolvidas pode trazer informações relevantes e inovadoras relativas à encapsulação de óleos bioativos vegetais em nanopartículas lipídicas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar carreadores lipídicos nanoestruturados contendo óleo de cártamo voltados para aplicação alimentar.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar os CLN-SO quanto ao diâmetro médio, homogeneidade e potencial zeta;
- Analisar a morfologia dos CLN-SO por microscopia eletrônica de varredura;
- Determinar a estabilidade preliminar da formulação;
- Realizar secagem da dispersão das nanopartículas por liofilização;
- Determinar a eficiência de encapsulação do óleo nas nanopartículas;
- Avaliar a umidade e atividade de água do pó liofilizado;
- Definir o tempo de molhabilidade das nanopartículas liofilizadas;
- Avaliar a variação da cor do óleo de cártamo com o processo de encapsulação;
- Avaliar o perfil de composição química dos CLN-SO e componentes relacionados utilizando espectrofotometria de absorção molecular na região do infravermelho;
- Investigar o comportamento térmico dos CLN-SO, e seus constituintes por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG);
- Analisar o perfil de cristalinidade dos constituintes e dos CLN-SO por meio de difração por raios X;
- Avaliar a atividade antioxidante do óleo de cártamo antes e após o processo de encapsulação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Óleo de cártamo foi adquirido de Pazze Indústria de Alimentos (Panambi, Brasil). Compritol[®] 888 ATO (berrenato de glicerila; mistura de mono-, di- e triglicerídeos do ácido berrênico (C22) foi fornecido pela Gattefossé (Lyon, França). Tween[®] 80 de grau super-refinado (Polissorbato 80; monooleato de sorbitano etoxilado) e Crodamol[®] GTCC (triglicérides do ácido cáprico e caprílico; triglicérides de cadeia média – TCM) foram cedidos pela Croda Inc (Edison, EUA). A lecitina de soja foi fornecida por Cargill (Krefeld, Alemanha) e o Pluracare F127 (Poloxamer 407) foi cedido pela Chemspecc (São Paulo, Brasil).

No estudo de atividade antioxidante foi utilizado 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) fornecido por Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemanha) e butil hidroxitolueno (BHT) fornecido por Sulfal (Belo Horizonte, Brasil).

Todos os demais reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico ou cromatográfico.

4.2 Desenvolvimento das nanopartículas

A etapa de desenvolvimento das nanopartículas contendo SO levou em consideração a busca pela otimização dos melhores parâmetros de tamanho, índice de polidispersão (IP) e potencial zeta (PZ), utilizando componentes aplicáveis em produtos alimentares, que além disso, possibilitasse máxima incorporação de óleo bioativo com mínima alteração dos demais parâmetros (SILVA *et al.*, 2016).

Para a composição das nanopartículas, Compritol 888 ATO foi utilizado como lípide sólido para composição de matriz e o SO contendo bioativos, configurou o lípide líquido. Foram propostos Tween 80, poloxamer 407 e lecitina de soja na composição do sistema tensoativo.

Inicialmente foram propostas formulações contendo 5% em lípides totais em relação à dispersão aquosa, na proporção de 4:1 entre Compritol e SO. A composição do sistema tensoativo (concentração total 1%) foi então variada: mistura (1:1) entre lecitina de soja e Tween 80 (CLN A) e poloxamer 407 apenas (CLN B). Em seguida, mantendo 5% de lípides totais, foi também testada a proporção de 1:1 entre Compritol e SO, com os seguintes sistemas tensoativos, mistura (1:1) entre lecitina de soja e Tween 80 (CLN C), poloxamer 407 apenas (CLN D) e Tween 80 apenas (CLN E).

O segundo estudo envolveu uma tentativa de elevar o potencial de incorporação do SO nas nanoestruturas. Assim, mantendo a proporção de 1:1 entre Compritol e SO, foi proposto o aumento para 10% no total de lípides, com sistema tensoativo composto por mistura (1:1) entre lecitina de soja e Tween 80 no total de 1% (CLN F) e 2% (CLN G). Por fim, foi proposto o aumento para 20% no total de lípides, com 2% de sistema tensoativo (CLN H). O desenho experimental do desenvolvimento dos nanocarreadores encontra-se disposto na Tabela 3.

Tabela 3. Desenho experimental do desenvolvimento das nanopartículas contendo óleo de cártamo

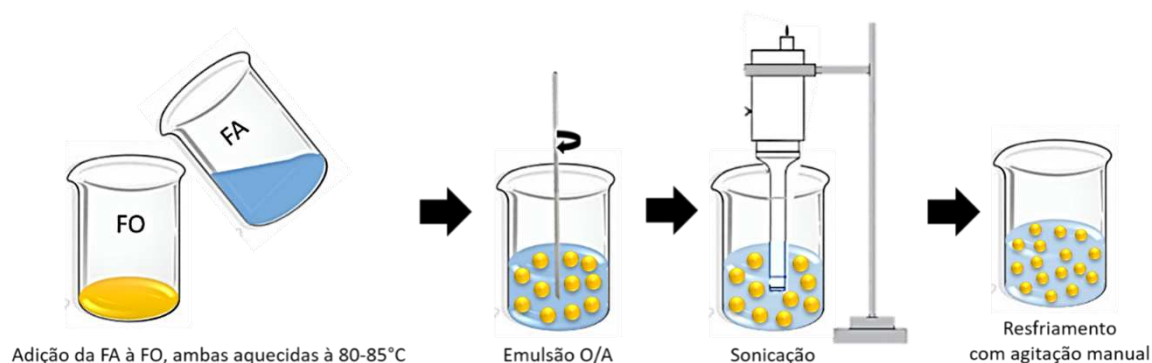
Formulação	Proporção de lípides (sólido:líquido)	Total de lípides (%)	SO (%)	Sistema tensoativo (%)
CLN A	4:1	5%	1,0	L(0,5) T(0,5)
CLN B	4:1	5%	1,0	P(1,0)
CLN C	1:1	5%	2,5	L(0,5) T(0,5)
CLN D	1:1	5%	2,5	P(1,0)
CLN E	1:1	5%	2,5	T(1,0)
CLN F	1:1	10%	5,0	L(0,5) T(0,5)
CLN G	1:1	10%	5,0	L(1,0) T(1,0)
CLN H	1:1	20%	10,0	L(1,0) T(1,0)

Legenda: L = Lecitina, T = Tween 80, P = Poloxamer 407, SO = óleo de cártamo.

4.3 Preparo das nanopartículas

O método de homogeneização a quente associado à sonicação com sonda de ultrassom foi escolhido como método de preparo dos CLN (Figura 7). Inicialmente, os lípides e emulsificantes foram aquecidos juntos a 85 °C, até completa fusão e homogeneização. Em seguida, o SO foi adicionado a esta mistura, homogeneizado e então disperso em 10 mL de água previamente aquecida à mesma temperatura, sob agitação por 2 minutos. A emulsão formada foi imediatamente submetida à homogeneização com uma sonda de ultrassom de alta intensidade Q55 sonicador; Qsonica (Newton, EUA) durante 10 minutos em amplitude de 40%. Após este tempo, a formulação foi resfriada à temperatura ambiente para formação dos CLN. O pH foi ajustado para $7,0 \pm 0,05$ com soluções de hidróxido de sódio ou ácido clorídrico 0,1 M e os produtos obtidos foram armazenados a 4 °C.

Figura 7. Representação esquemática do preparo dos nanocarreadores



Legenda: FA = fase aquosa, FO = fase oleosa, O/A = óleo em água.

4.4 Caracterização físico-química das nanopartículas

4.4.1 Determinação do diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão

O diâmetro médio e o índice de polidispersão (IP) foram determinados pela técnica de espalhamento dinâmico da luz (DLS, do inglês *Dynamic Light Scattering*), a 25 °C, com 173° para incidência do laser, utilizando um contador de partículas com raio laser monocromático Zetasizer Nano ZS; Malvern Instruments (Worcestershire, Inglaterra). As formulações foram diluídas 10 vezes na fase externa da formulação previamente à leitura. As determinações foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média \pm DP. O valor máximo aceitável para considerar a amostra monodispersa foi IP igual ou inferior a 0,3.

4.4.2 Determinação do potencial zeta

O PZ foi determinado pela técnica de DLS associado à mobilidade eletroforética utilizando o Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments; Worcestershire, Inglaterra), em ângulo fixo de 173° e temperatura de 25 °C. As formulações foram diluídas 10 vezes na fase externa da formulação previamente à leitura. As determinações foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média \pm DP.

4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia dos CLN foi demonstrada em imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando-se um microscópio de varredura modelo VEJA-LMH-TESCAN (Kohoutovice, República Tcheca) a uma tensão de aceleração de 20 kV, disponível no Departamento de Química da UFVJM. As amostras foram diluídas previamente na fase externa da formulação (1:10), depositadas sobre lamínulas de vidro dispostas sobre fitas de carbono e mantidas em dessecador por no mínimo 24 horas em temperatura ambiente. A metalização foi realizada em ouro/paládio através da técnica de pulverização no metalizador Quorum Q150R (Laughton, Reino Unido). As imagens obtidas foram processadas e analisadas através do software próprio do equipamento.

4.5 Avaliação da estabilidade

A fim de avaliar a estabilidade físico-química da dispersão de nanopartículas, três frascos de CLN foram armazenados protegidos da luz e conservados em temperatura de 4 °C por 90 dias. Em intervalos de 0, 7, 15, 30, 45, 60 e 90 dias, uma alíquota foi retirada e os seguintes parâmetros foram avaliados: diâmetro médio, IP, PZ e pH. Todos os resultados foram expressos como média \pm DP.

4.6 Secagem por liofilização

O procedimento de secagem dos CLN foi realizado em Liofilizador Labconco modelo FreeZone[®] de 4,5 Litros (Kansas, EUA), com sistema condensador operando em -50 °C, pressão de 0,37 mBar, por 24 horas, disponível do Departamento de Farmácia da UFVJM. As amostras foram dispostas em frascos de liofilização em volumes de 1 mL e previamente congeladas em banho de nitrogênio por pelo menos 5 minutos. O rendimento percentual do processo foi determinado a partir da massa do pó liofilizado obtido frente ao valor teórico esperado. O ensaio foi realizado em 10 amostras e os resultados foram expressos como média \pm DP.

4.7 Caracterização do pó liofilizado

4.7.1 Conteúdo total de óleo, conteúdo de óleo livre e eficiência de encapsulação (EE)

Para determinação do teor de óleo livre presente na superfície das nanopartículas, utilizou-se o método gravimétrico proposto por HARDAS *et al.* (2000) e ESFAHANI *et al.* (2019), com modificações. Para isto, foram misturados 1,5 mL de acetona e 250 mg de pó liofilizado de nanopartículas e submetidos a vórtex durante 1 min, seguido de centrifugação a 3000 rpm por 20 min (25 °C) em centrífuga Cientec, CT 5500 DR (Piracicaba, Brasil), disponível no laboratório de pesquisa do Departamento de Farmácia da UFVJM. O sobrenadante foi filtrado em filtro Qualy, J.Prolab (São José dos Pinhais, Brasil) e o papel de filtro foi lavado com acetona duas vezes. A solução acetônica filtrada (contendo óleo superficial) e o precipitado de nanopartículas com óleo encapsulado foram levados em estufa a 60 °C por 2 h para evaporar o solvente completamente e, em seguida foram pesados.

Para determinação do óleo encapsulado, utilizou-se o mesmo método com alterações (HARDAS *et al.*, 2000; ESFAHANI *et al.*, 2019). Assim, 200 mg de pó submetido à remoção ou não do óleo superficial foram misturados com 2 mL de acetona e submetidos a aquecimento em banho-maria até no máximo 70 °C, para completa fusão das nanopartículas e, exposição do óleo encapsulado. A emulsão foi ao vórtex por 1 min para completa solubilização dos lípides líquidos. Em seguida a mistura foi arrefecida e novamente levada ao vórtex por 1 min, o que leva dispersão dos lípides agora solidificados. A suspensão foi então centrifugada a 3000 rpm por 20 min (25 °C), filtrada e o filtro foi lavado com acetona por 2 vezes. A fase acetônica, o filtro e os lípides sólidos foram secos em estufa a 60 °C por 2 horas e quantidade de óleo restante (contendo os tensoativos) e lípide sólido foi determinada gravimetricamente.

Para a determinação do óleo total, este mesmo método foi realizado com o pó não submetido à remoção do óleo superficial.

O cálculo da eficiência de encapsulação (EE) expressa em porcentagem (%) foi determinado por meio da equação 1:

$$EE (\%) = \frac{\text{Óleo encapsulado (mg)}}{\text{Óleo total (mg)}} \times 100 \quad (1)$$

4.7.2 Conteúdo de umidade

A determinação da umidade das nanopartículas liofilizadas foi realizada pelo método gravimétrico, mantendo as amostras de SO e nanopartículas liofilizadas em estufa de aquecimento, localizada no Departamento de Farmácia da UFVJM, à temperatura de 105 °C até atingir peso constante (AOAC, 1990; ANVISA, 2010).

4.7.3 Atividade de água

A atividade de água (a_w) foi determinada por leitura direta das nanopartículas liofilizadas e do SO puro, no equipamento Aqualab, modelo 4TE (Washington, EUA), localizado no Departamento de Engenharia de Alimentos da UFVJM. As análises foram realizadas em triplicata e foram determinados média \pm DP (QUEK *et al.*, 2007).

4.7.4 Molhabilidade

Esta análise foi realizada conforme o método proposto por FUCHS *et al.* (2006) com alterações. 100 mg de pó foi espalhado na superfície de 10 mL de água destilada a 25 °C sem agitação. O tempo necessário para a sedimentação das partículas de pó, ou desaparecerem da superfície da água, foi medido e os dados foram usados para análise da performance do pó liofilizado.

4.7.5 Colorimetria

O pó liofilizado foi submetido à análise em colorímetro Konica Minolta CM-5 (Tóquio, Japão), com iluminante D65, observador a 10°, reflectância especular incluída (RSEX) e sistema de cor CIELAB, localizado no Departamento de Engenharia de Alimentos da UFVJM. As medições de cor foram obtidas colocando amostras de SO e CLN-SO liofilizadas em lâmina de vidro com um fundo opticamente claro (GOMEZ-ESTACA *et al.*, 2012; LAGO e NORENA, 2017; NGUYEN *et al.*, 2018; ESFAHANI *et al.*, 2019). Para determinação do grau de diferença de cor entre o SO e os CLN-SO, foram calculados os valores de ΔE^* por meio da equação 2:

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (2)$$

onde: ΔL^* é a variação nas coordenadas de luminosidade, a^* são coordenadas de cores entre vermelho e verde e, b^* entre o amarelo e azul. Onde: variações de L^* vai de 0 à 100, a^* e b^* de -60 à 60.

4.7.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Foram obtidos espectros de absorção FTIR (do inglês *Fourier transform infrared spectroscopy*) dos componentes da formulação e das nanopartículas liofilizadas (branco e CLN contendo SO). A estabilidade térmica do SO foi também analisada por FTIR após exposição a 85 °C por 12 minutos, para verificar possível sinal de degradação durante o tempo de preparo das nanopartículas.

Foi utilizado nas análises espectrofotômetro FTIR Varian modelo 640-IR (Santa Clara, United States), equipado com modo de reflectância total atenuada (ATR, Pike Technologies, modelo GladiATR), na região de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução 4 cm^{-1} e 32 acumulações, disponível no Departamento de Química da UFVJM.

4.7.7 Análise térmica

Para avaliar o comportamento térmico do CLN-SO (liofilizado) e seus constituintes isolados, foram utilizadas as técnicas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG).

As curvas DSC foram obtidas na célula DSC60 Shimadzu® (Tóquio, Japão) sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL/min, razão de aquecimento de 10 °C/min, com aquecimento de 30 a 400 °C, cadinho de alumina fechado e massa de amostra com exatamente cerca de 1,5 mg.

As curvas de TG foram obtidas na termobalança DTG60 Shimadzu® (Tóquio, Japão) com razão de aquecimento de 10 °C/min, aquecimento de 30 a 600 °C, atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL/min, em cadinho de alumínio e massa de amostra com exatamente cerca de 2,5 mg. Ambos os equipamentos para realização do DSC e TG estiveram disponíveis no Departamento de Química da UFMG.

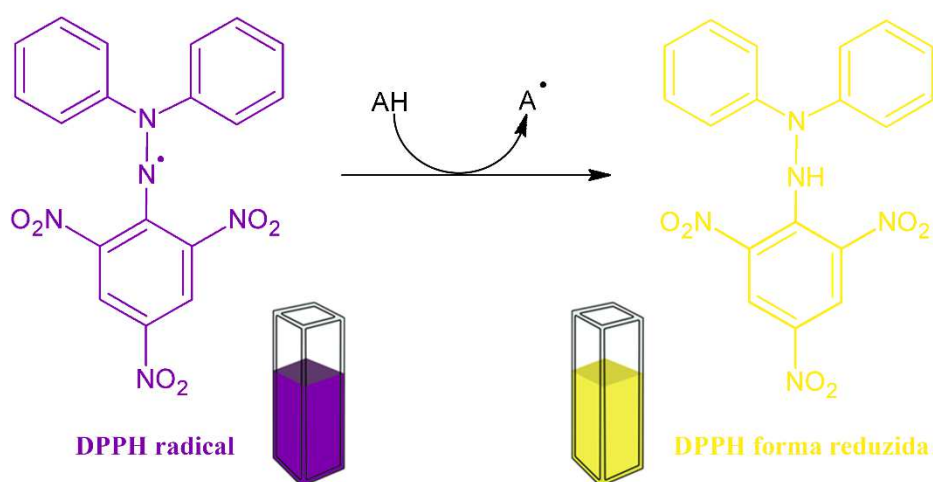
4.7.8 Difração de raios X

A difração de raios X (DRX) foi realizada utilizando o difratômetro RXD-6000 (Shimadzu; Quioto, Japão) disponível no Departamento de Química da UFVJM. Amostras de CLN previamente liofilizado e os componentes sólidos puros (Compritrol[®] 888 ATO e lecitina de soja) foram submetidos à análise direta no equipamento. Empregou-se a radiação Cu K α , ($\lambda = 1,540560 \text{ \AA}$) e 2θ variando de 10 a 50°, com velocidade de varredura de $0,06^\circ 2\theta \cdot s^{-1}$.

4.8 Estudos de atividade antioxidante

Para determinação da atividade antioxidante do óleo livre e das nanopartículas liofilizadas, utilizou o método de captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (BHATNAGAR *et al.*, 2009). O ensaio consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical DPPH \bullet , de coloração violeta intensa, que pode reagir com um agente antioxidante ou uma espécie radicalar (R \bullet), sendo reduzido a 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H) de coloração amarela, obtendo consequente decréscimo da absorvância em 515 nm (Figura 8).

Figura 8. Representação esquemática da reação de redução do radical DPPH \bullet por ação de agente antioxidante



Legenda: AH = forma reduzida do antioxidante. A \bullet , forma oxidada do antioxidante.

Em um ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 2 mL de cada diluição dos tratamentos (SO, CLN contendo óleo ou BHT, este último utilizado como padrão) para frascos

de penicilina contendo 2 mL de solução de radical DPPH• a 60 µM. O frasco foi vedado e mantido em incubação por um intervalo de 30 minutos em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O SO foi testado na faixa de 25-0,78 mg/mL e uma curva-padrão de BHT foi traçada na faixa de concentração de 1000-7,8 µg/mL, para cálculo do equivalente de BHT/g de SO. Os CLN contendo SO (CLN-SO) foram diluídos conforme o SO para concentração de 25 mg/mL, para análise comparativa.

Foi realizada a leitura das absorvâncias do meio reacional contendo diferentes concentrações dos tratamentos em 515 nm com espectrofotômetro BELphotonics modelo SP 2000 UV (Piracicaba, Brasil), disponível no Departamento de Farmácia da UFVJM, utilizando acetona como branco para zerar o equipamento. Realizou-se controle contendo somente o reagente radical DPPH• e acetona (com máximo de absorvância em torno de 0,5, representando 0% de inibição do radical).

Os resultados da absorvância foram convertidos em porcentagem de inibição através da equação 3:

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{Ac - Aam}{Aam} \times 100 \quad (3)$$

onde: *Ac* é a absorvância do controle e *Aam* é absorvância da amostra.

4.9 Análise estatística

Valores de médias e desvios-padrão (DP) foram calculados em todos os experimentos executados no trabalho. O estudo estatístico foi realizado por meio de análise de variância (ANOVA) *one-way*, com pós-teste de Tukey. Um modelo de regressão não-linear foi utilizado para determinar os valores de EC₅₀. O software utilizado no tratamento dos dados foi o GraphPad Prism 6.0. Para todas as análises, as diferenças foram consideradas significativas quando o valor de p foi menor que 0,05.

5 RESULTADOS

5.1 Influência da composição sobre as características das nanopartículas de óleo de cártamo

Foram preparadas diversas formulações de CLN contendo SO e os resultados de caracterização quanto ao diâmetro hidrodinâmico médio, IP e PZ estão dispostos na Tabela 4. No primeiro estudo, a proposta inicial foi uma concentração de 5% total de lípides na dispersão aquosa, na proporção de 4:1 entre Compritol e SO. Ambas formulações propostas (CLN A e CLN B) apresentaram diâmetro médio entre 260-300 nm, com distribuição monodispersa ($IP < 0,3$) e potencial zeta negativo acima de 30 mV. Aumentando a proporção do SO em relação ao Compritol para 1:1, obteve-se redução no tamanho médio ($p < 0,05$) de todas as formulações propostas (CLN C, D e E), sendo que o CLN C apresentou o menor diâmetro ($206,0 \pm 1,5$ nm), com IP característico de distribuição monodispersa ($0,20 \pm 0,02$) e elevado potencial zeta negativo ($-49,0 \pm 1,3$ mV).

Levando em conta a composição do CLN C, buscou-se elevar a incorporação do SO, mantendo a mesma proporção entre os lípides, mas aumentando a concentração total de matriz lipídica para 10% na dispersão aquosa. Para formulação contendo 1% de tensoativos (CLN F), obteve-se aumento de tamanho para $277,0 \pm 1,1$ nm quando comparado à CLN C. Ao aumentar a concentração total de tensoativos para 2% (CLN G), observou-se redução no tamanho ($222,0 \pm 2,0$ nm), conforme esperado ($p < 0,05$). Todas as formulações apresentaram IP característico de distribuição monodispersa ($IP < 0,3$) e potencial zeta negativo maior que 30 mV.

Por fim, foi proposta formulação contendo 20% de matriz lipídica (CLN H), afim de incorporar quantidade ainda maior do SO. Entretanto, o ganho significativo em tamanho ($350,0 \pm 6,6$ nm) ($p < 0,05$) e o potencial zeta mais próximo da neutralidade ($-4,3 \pm 2,6$ mV), tornaram esta formulação desfavorável para a finalidade pretendida, o que levou à escolha do CLN G para os estudos posteriores, que passa a ser relatado a partir deste ponto como CLN-SO.

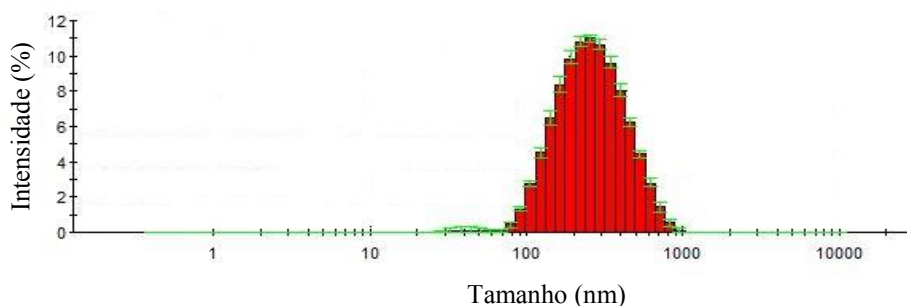
Tabela 4. Componentes das formulações desenvolvidas e resultados da caracterização.

Formulação	SO	Tamanho (nm)	IP	PZ (mV)
CLN A	1,0%	262,0 ± 3,8	0,27 ± 0,01	-50,0 ± 4,2
CLN B	1,0%	302,0 ± 7,2	0,19 ± 0,03	-34,0 ± 4,9
CLN C	2,5%	206,0 ± 1,5	0,20 ± 0,02	-49,0 ± 1,3
CLN D	2,5%	250,0 ± 3,3	0,14 ± 0,01	-31,5 ± 2,7
CLN E	2,5%	238,0 ± 8,0	0,21 ± 0,02	-31,0 ± 3,9
CLN F	5,0%	277,0 ± 1,1	0,24 ± 0,01	-30,0 ± 3,5
CLN G	5,0%	222,0 ± 2,0	0,22 ± 0,01	-43,0 ± 3,5
CLN H	10,0%	350,0 ± 6,6	0,28 ± 0,09	-4,3 ± 2,6

Legenda: IP = índice de polidispersão; PZ = potencial zeta; L= lecitina, T = Tween, P = poloxamer

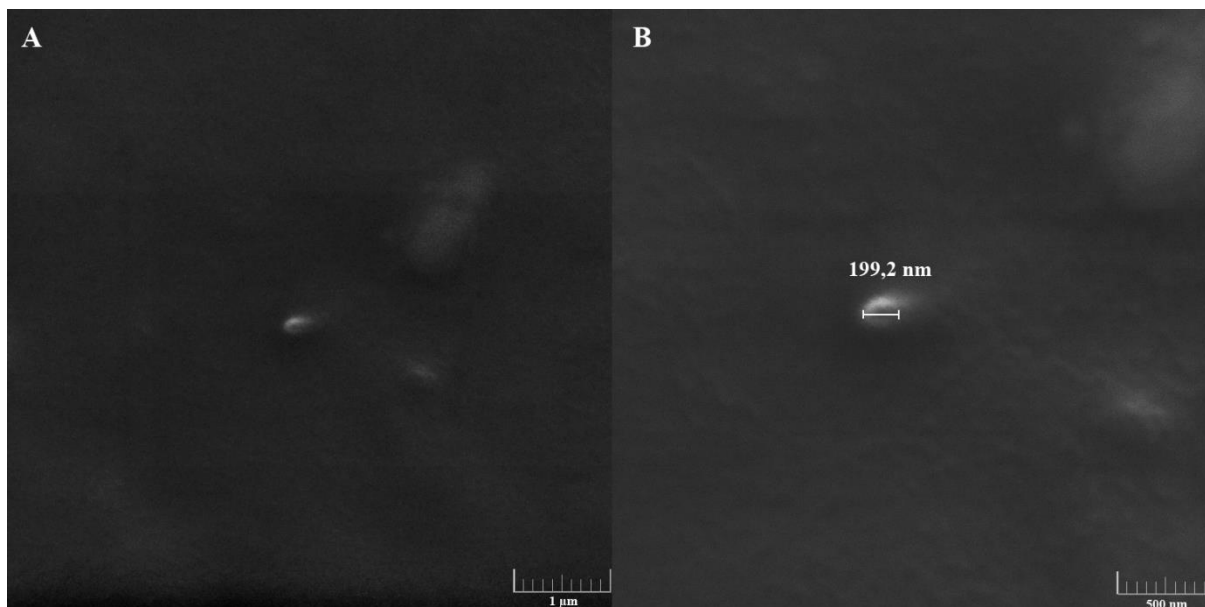
Em relação ao CLN-SO (Figura 9), foi observado que 10% das nanopartículas apresentam diâmetro inferior a $122,0 \pm 0,3$ nm (D10), 50% da população apresenta diâmetro inferior a $255,0 \pm 0,2$ nm (D50) e 90% das nanopartículas apresenta diâmetro inferior a $459,0 \pm 0,3$ nm (D90).

A análise de distribuição de tamanho do CLN-SO, revelou ainda, que 45% das nanopartículas apresentam diâmetro médio inferior a 220,0 nm e 99,8% apresentam diâmetro médio inferior a 800,0 nm.

Figura 9. Histograma e gráfico de distribuição de tamanho dos CLN-SO (n=3).

A morfologia do CLN-SO foi avaliada na sequência por MEV, conforme as imagens contidas na figura 10. Em magnitude de 30.000x (figura 10A), é possível visualizar a minúscula presença de uma nanopartícula, claramente sem ocorrência de agregados ao redor. Uma forma esferoide pode ser observada em magnitude de 60.500x (figura 10B) e o diâmetro observado (199,2 nm) está dentro do esperado em relação ao previamente obtido por DLS.

Figura 10. Micrografias eletrônicas de varredura de nanopartículas lipídicas de óleo de cártamo em magnitude de 10.000x (A) e 50.000x (B).

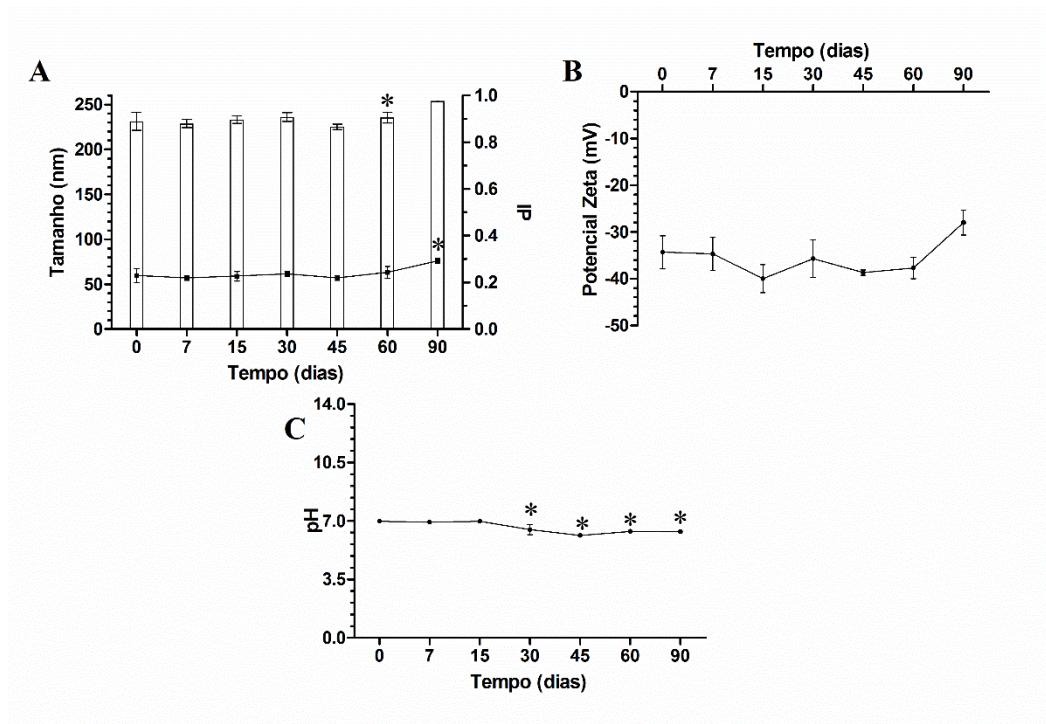


5.2 Estabilidade da nanodispersão

A estabilidade preliminar dos CLN-SO, avaliados na forma de dispersão aquosa e armazenados em temperatura de 4 °C, se mostrou constante ao longo de 90 dias em relação a todos os parâmetros avaliados, diâmetro médio, IP, PZ e pH (Figura 11).

O diâmetro ao longo do estudo se manteve abaixo de 254 nm e o IP não foi maior que 0,3, indicando sistema monodisperso e estável. O PZ ao longo do estudo de estabilidade se manteve próximo de -30 mV, característica que favorece a manutenção da estabilidade eletrostática na formulação, evitando possível formação de agregados entre as nanopartículas. Por fim, o pH da formulação se manteve próximo da neutralidade ao longo dos 90 dias, variando de 7,05 para 6,04.

Figura 11. Estabilidade dos CLN-SO ao longo de 90 dias, em relação ao diâmetro e IP (A), potencial zeta (B) e pH (C), armazenadas a 4 °C.



Legenda: * $p < 0,05$ (em relação ao tempo zero).

5.3 Caracterização das nanopartículas lipídicas liofilizadas

O processo por liofilização foi realizado com sucesso nas condições propostas (temperatura de -50 °C , pressão de $0,37\text{ mBar}$, por 24 horas) e com elevado rendimento ($97,4 \pm 2,1\%$).

No estudo de análise de conteúdo de óleo, a recuperação encontrada foi significativamente igual a 100% em todas as análises e os resultados encontram-se descritos na tabela 5. O teor de óleo livre/superficial foi de $24,1 \pm 3,0\%$, enquanto que o teor de óleo encapsulado foi de $23,2 \pm 4,3\%$. Assim a EE do SO foi de $49,0 \pm 2,8\%$, levando em consideração apenas o óleo realmente encapsulado, não superficial.

Como pode ser visto na tabela 5, foi encontrado um baixo percentual de umidade no pó liofilizado ($0,0066\%$) e a a_w também foi menor que 0,6 ($0,5 \pm 0,03$). Como esperado, a molhabilidade foi baixa, perto de 30 minutos (Tabela 5), um tempo adequado para nanopartículas lipídicas revestidas de surfactante, que tenderiam a formar uma dispersão em vez de solubilizar em água.

Tabela 5. Caracterização do CLN-SO liofilizado: óleo superficial (%), eficiência de encapsulação (%), teor de umidade (%), atividade de água e molhabilidade (min).

Parâmetros	CLN-SO
Teor de óleo superficial	24,1 ± 2,3 %
EE	49,0 ± 2,8 %
Teor de umidade	0,0066 ± 0,0032 %
Atividade de H₂O (a_w)	0,5 ± 0,03
Molhabilidade	30,9 ± 0,6 min

Legenda: EE = eficiência de encapsulação.

Para definição das cores de uma amostra, tem-se como uma ferramenta eficiente a técnica de comparação por meio do espaço de cores CIE-Lab. As cores são descritas por parâmetros de luminosidade (L*), coordenada a* (conteúdo de vermelho: +a*, conteúdo de verde: -a*) e coordenada b* (conteúdo de amarelo: +b*, conteúdo de azul: -b*). Pela variação de cores ΔE^* , pode-se confirmar se houve ou não a mudança efetiva de cor. Para o SO livre, observaram-se valores de luminosidade (L*) em $32,3 \pm 0,07$, indicativo de mais proximidade com cores escuras, entretanto para os CLN-SO foi observada luminosidade mais clara ($72,9 \pm 5,4$) ($p < 0,05$). Tanto no óleo, quanto nos CLN-SO, foi observado a característica de cor no verde (a* próximo de -0,9 para ambos) ($p < 0,05$) (tabela 6) e pela coordenada b* evidenciou-se a presença de cor predominantemente amarela em ambos SO ($9,1 \pm 1,6$) e CLN-SO ($4,4 \pm 0,7$). Por fim, o valor de ΔE^* foi de 40,9.

As coordenadas C* e h*, também possuem importância na análise da variação de cor. Por meio da coordenada C* se obtém os valores de croma (cor em *grego*), que indicam os níveis de saturação da cor. Os valores de h*, são indicativos das diferenças de tonalidade (QUEK *et al.*, 2007). No SO foi observado valores indicando saturação de cor mais reduzida ($4,5 \pm 0,7$) do que nos CLN-SO ($9,2 \pm 1,6$) ($p < 0,05$). Ocorre ainda leve diferença de tonalidade entre o óleo e as nanopartículas. Os valores encontrados no ensaio de cor, estão descritos na tabela 6.

Tabela 6. Parâmetros de cores CIE-Lab e CIE-LCh de SO antes e após nanoencapsulação e liofilização.

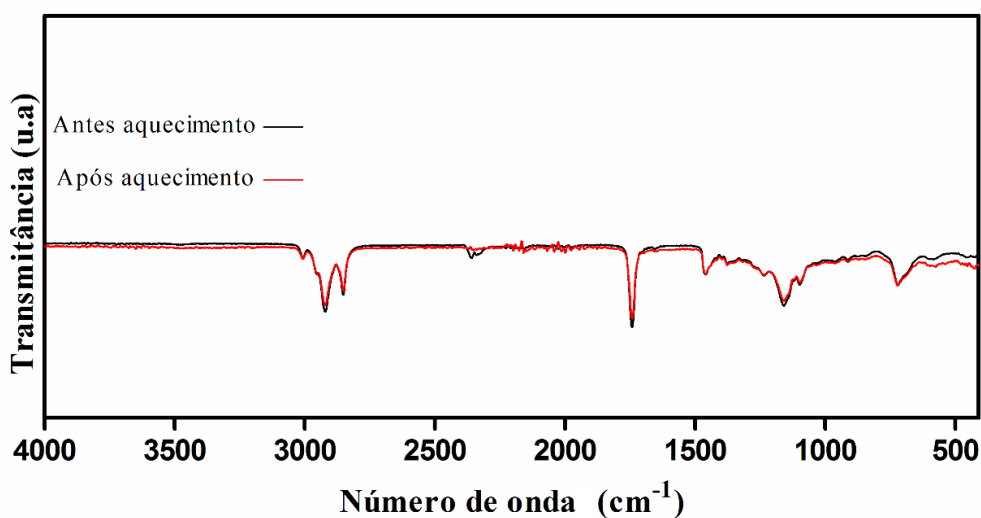
Parâmetros de cor	SO	CLN-SO
L*	32,3 ± 0,07	72,9 ± 5,4
a*	-0,88 ± 0,01	-0,89 ± 0,08
b*	4,4 ± 0,7	9,1 ± 1,6
C*	4,54 ± 0,7	9,2 ± 1,6
h*	101,40° ± 1,7	95,75° ± 1,5

Legenda: L*= luminosidade (branco ao preto), a*= vermelho ao verde, b* = amarelo ao azul, C* = saturação, h* = tonalidade.

5.3.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

Como no método de preparo das nanopartículas envolve aquecimento até 85 °C para emulsificação, a manutenção da qualidade do SO, foi primeiramente avaliada por FTIR no óleo antes e após aquecimento. Analisando a sobreposição dos espectros obtidos (Figura 12) é possível constatar que o aquecimento até a temperatura de 85 °C não alterou as características do óleo.

Figura 12. Sobreposição dos espectros de absorção por FTIR do óleo de cártamo antes e após aquecimento a 85 °C.



O espectro do SO está mais detalhado na Figura 13, bem como os espectros dos demais componentes das nanopartículas. O SO exibe espectro com bandas em 3050 e em 2800 cm^{-1}

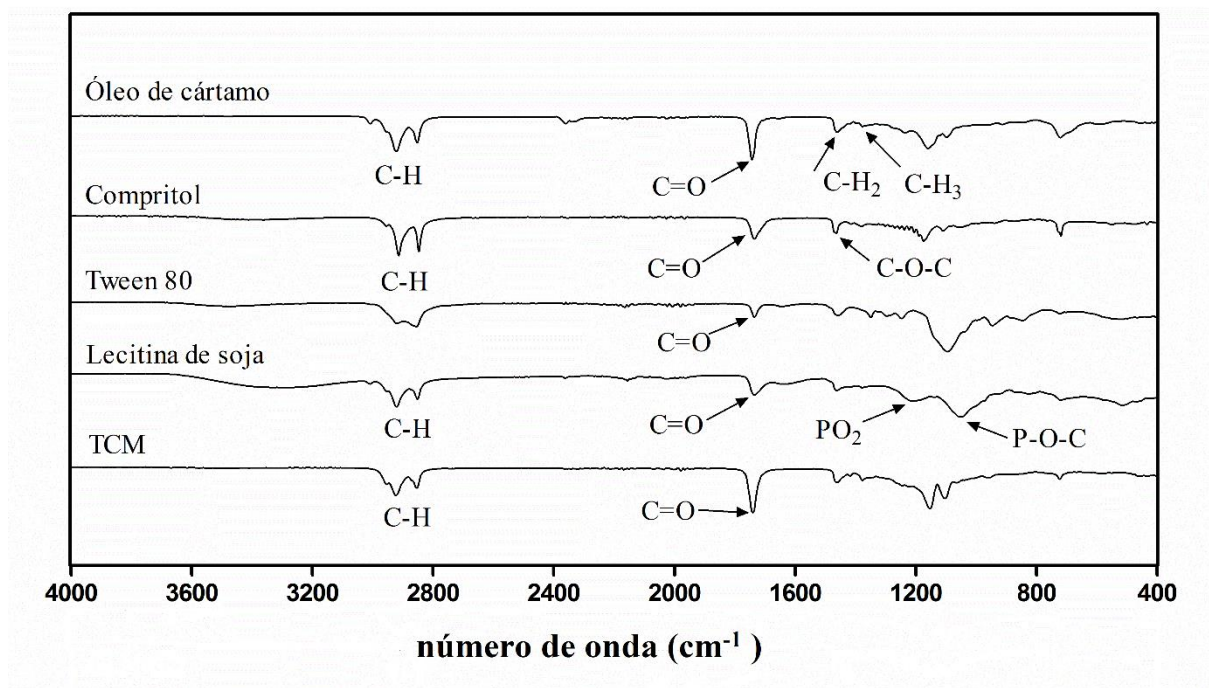
correspondente a vibrações de estiramento C-H de alcanos e vibrações de estiramento C=O em 1738 cm^{-1} , associado à carbonila de ácidos carboxílicos. Cadeias hidrocarbônicas longas podem ser confirmadas pela presença de absorções próximas a 1460 e 1375 cm^{-1} características respectivamente, das deformações angulares dos grupos CH_2 e CH_3 (LACEY *et al.*, 1998).

O Compritol é uma mistura de mono-, di- e triglicerídeos do ácido berrênico. Assim, foram observadas bandas de absorção com alongamento C-H a 2815 e 2849 cm^{-1} e alongamento C=O em 1738 cm^{-1} , característico de carbonila de grupamentos ácidos, ambas presentes no ácido berrênico, além de estiramentos entre 1070 e 1150 cm^{-1} referentes a grupamentos de éteres C-O-C, associado possivelmente à ligação do ácido graxo ao glicerol (RAHMAN *et al.*, 2010). O TCM, um triglicerídeo de cadeia média, mostra bandas de absorção características de alongamento C=O, localizado a 1744 cm^{-1} . Outros picos importantes podem ser encontrados na região de estiramento C-H em 2854 , 2923 e 2956 cm^{-1} , bem como um pico menos intenso em 3007 cm^{-1} (KIEFER *et al.*, 2016).

As bandas do Tween 80 em 2938 e 2869 cm^{-1} estão associadas com vibrações de alongamento indicativo da presença do metileno ($-\text{CH}_2$). Assim como no SO, a banda em 1730 cm^{-1} é originária do alongamento C=O de grupos éster. Para a lecitina de soja, as bandas fosfolipídicas presentes na fosfatidilcolina foram evidenciadas entre 1765 e 970 cm^{-1} . Três bandas são características, sendo a primeira entre 1765 e 1720 cm^{-1} devido à vibração C=O; a segunda está localizada entre 1200 e 1145 cm^{-1} , indicando a vibração do PO_2 ; e a terceira banda entre 1145 e 970 cm^{-1} característico da ligação P-O-C (NZAI e PROCTOR, 1999).

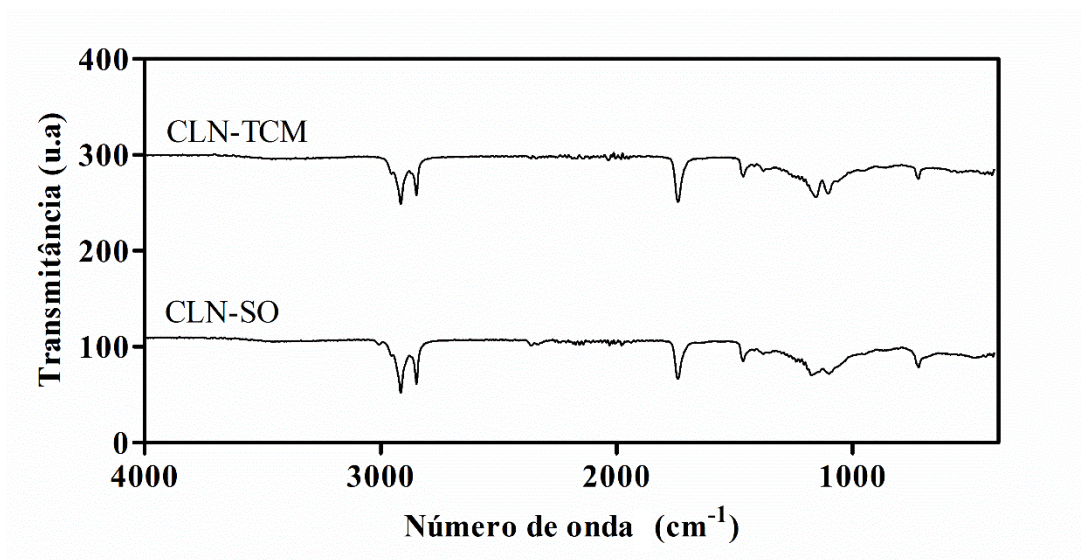
Em relação às nanopartículas, os espectros de absorção dos CLN-TCM (branco) e CLN-SO (Figura 14) apresentaram perfil muito semelhante entre si, mesmo considerando serem lípides de cadeia média e de cadeia mais longa, respectivamente. Assim, sugere-se que em ambas as formulações o óleo foi incorporado de forma semelhante na matriz lipídica.

Figura 13. Espectros de absorção no IV dos componentes da formulação.



Legenda: CLN = carreadores lipídicos nanoestruturados, SO = óleo de cártamo, TCM = triglicérides de cadeia média (cáprico e caprílico).

Figura 14. Espectros de absorção no IV de CLN contendo TCM como lípide líquido na matriz lipídica e CLN-SO.

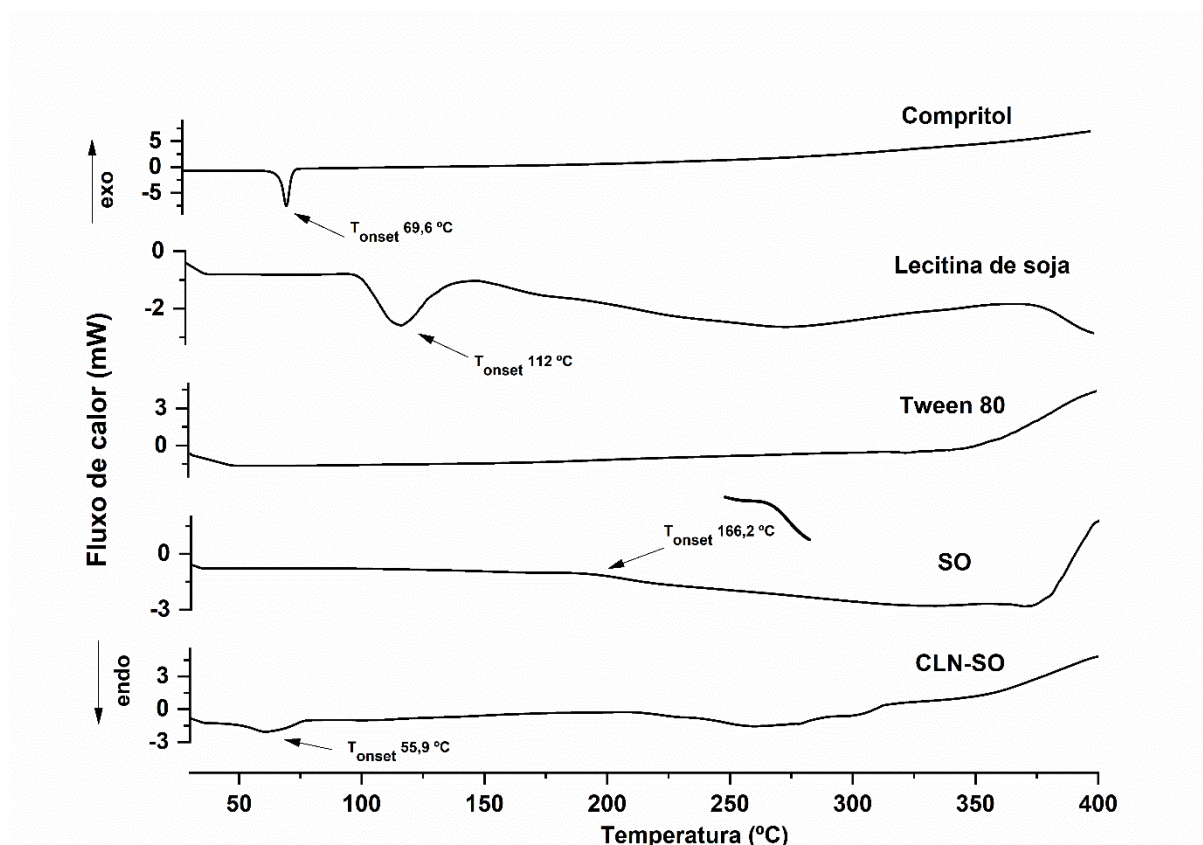


Legenda: CLN = carreadores lipídicos nanoestruturados, SO = óleo de cártamo, TCM = triglicérides de cadeia média (cáprico e caprílico).

5.3.2 Análise térmica

A avaliação do comportamento térmico das nanopartículas foi realizada por análise de DSC e TG. Os ensaios estabelecem a relação entre propriedades da amostra e sua temperatura, aquecendo ou resfriando de maneira controlada. As curvas de DSC correspondendo ao CLN-SO, SO, Compritol, Tween 80 e lecitina de soja são mostradas na Figura 15.

Figura 15. Curvas de DSC do CLN-SO e dos componentes isolados, incluindo o óleo de cártamo, sob atmosfera de nitrogênio e razão de aquecimento de 10 °C/min.



Legenda: CLN = carreadores lipídicos nanoestruturados, SO = óleo de cártamo.

O evento endotérmico observado na curva de DSC do Compritol em $T_{\text{start}} = 69,60\text{ °C}$ indica a temperatura do ponto de fusão dessa substância (SOUSA *et al.*, 2017). A perda de massa para o Compritol ocorreu em rampa única com início em $T_{\text{start}} = 225\text{ °C}$ e 89% de perda. Não foi observado evento térmico na curva de DSC do Tween 80, pois este material encontra-se em estado líquido à temperatura ambiente e, portanto, não foi possível observar a fusão nas

condições testadas nem tão pouco outro evento térmico. Entretanto, foi observado no ensaio de TG um evento iniciando em $T_{\text{start}} = 175 \text{ }^\circ\text{C}$ com 99% de perda de massa. Para lecitina de soja, foi observado na curva DSC, um acentuado sinal endotérmico iniciado aproximadamente em $T_{\text{start}} = 112 \text{ }^\circ\text{C}$. Este sinal está relacionado à decomposição do material, pois no ensaio de TG até a temperatura de $T_{\text{start}} = 100 \text{ }^\circ\text{C}$ a lecitina de soja perde 72% de massa (tabela 7). Para o óleo de cártamo, observamos um leve evento exotérmico em aproximadamente $166 \text{ }^\circ\text{C}$, também sem perda de massa no ensaio de termogravimetria.

Por fim, a curva de DSC da formulação CLN-SO apresentou um único evento endotérmico em $T_{\text{onset}} = 55,89 \text{ }^\circ\text{C}$ sem perda de massa na curva TG, indicando se tratar da fusão da formulação.

Tabela 7. Temperatura de decomposição (T_{start} em $^\circ\text{C}$) e perda de massa (%) obtidos nas curvas TG das formulações de CLN-SO e componentes isolados.

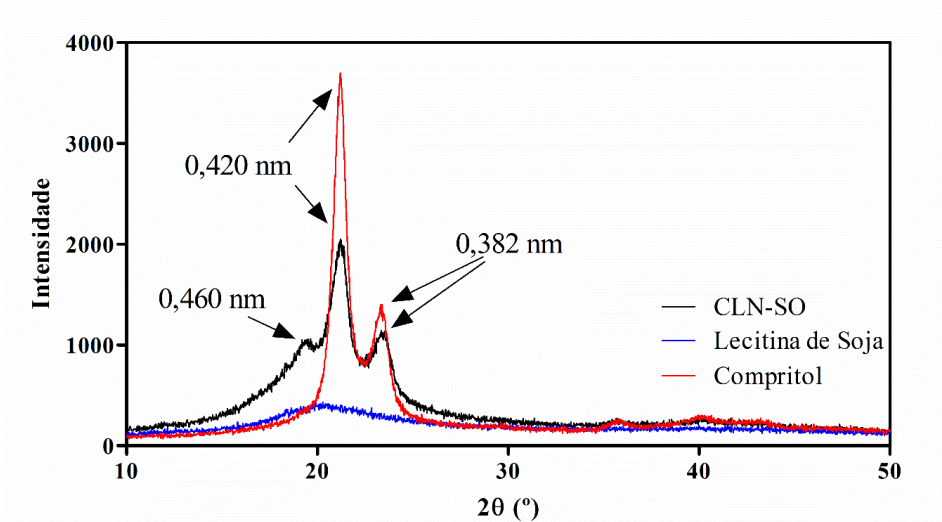
Amostra	T_{start} ($^\circ\text{C}$)	Perda de massa (%)
CLN-SO	228	93
SO	290	98
Compritol 888 ATO	215	89
Tween 80	175	99
Lecitina de soja	100	72

Legenda: CLN = carreadores lipídicos nanoestruturados, SO = óleo de cártamo.

5.3.3 Difração de raios X

A difração de raios-X apresenta como resultado os valores do comprimento presente nos espaçamentos curtos e longos da treliça lipídica. A Figura 16 mostra os dados obtidos por difração de raios-X para componentes sólidos do CLN (Compritol e lecitina de soja) e para o CLN-SO liofilizado.

Figura 16. Difratograma dos componentes sólidos e CLN contendo óleo de cártamo após liofilização.



Legenda: CLN = carreadores lipídicos nanoestruturados, SO = óleo de cártamo.

Para a lecitina de soja foi observado apenas um pico amplo de menor intensidade em 20° , sugerindo que suas características são amorfas (WANG *et al.*, 2014). Os picos de difração referentes ao Compritol estão representados por sinal com alta intensidade em $21,22^\circ$ e outro de menor intensidade em $23,43^\circ$, apresentando espaçamentos curtos (0,420 e 0,382 nm), característicos da forma β' (CASTRO e FERREIRA, 2008; FINI *et al.*, 2011). Em contraste, a formulação (CLN-SO) mostrou reflexões ligeiramente mais amplas e de menor intensidade, quando comparado ao lipídeo puro (Compritol), o que pode ser um indicativo da presença de uma trama lipídica menos organizada. Um terceiro pico de menor intensidade em $19,06^\circ$ (0,460 nm) foi observado no difratograma referente ao CLN-SO, indicando a possível formação de formas β_i . Esse fato confirma a presença também de formas intermediárias no CLN-SO com rede cristalina de menor perfeição em comparação com o lipídeo puro (CASTRO e FERREIRA, 2008; FINI *et al.*, 2011).

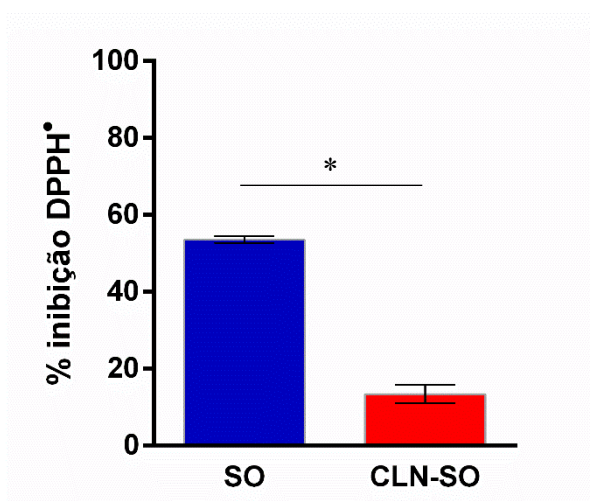
5.4 Atividade antioxidante

Foi observado que o SO apresentou resposta dose-dependente, isto é, a atividade de inibição do radical DPPH foi proporcional à concentração de SO utilizada. A curva de atividade inibitória do SO teve elevada correlação de dados ($r = 0,9626$), sendo observado EC_{50} de 4,4 mg/mL. A curva-padrão obtida para o BHT também apresentou elevada correlação

($r = 0,9961$), o que permitiu calcular o equivalente em atividade antioxidante do BHT, que foi 74,86 mg equivalentes de BHT/g de SO.

Os CLN-SO foram avaliados em função da concentração máxima de SO (25 mg/mL), para comparação com o óleo livre. Foi observado uma redução de quase três vezes na atividade de inibição do radical DPPH• pelo CLN-SO ($19,5 \pm 0,6\%$), frente ao SO ($53,5 \pm 0,9\%$) ($p < 0,05$). Os resultados da análise estão descritos na figura 17.

Figura 17. Estudo comparativo da atividade de inibição do radical DPPH para SO e CLN-SO (25 mg/mL) $p < 0,05$ em relação ao SO.



Legenda: CLN = carreadores lipídicos nanoestruturados, SO = óleo de cártamo, * $p < 0,05$.

6 DISCUSSÃO

O óleo de cártamo (SO) possui em sua composição substâncias bioativas associadas a potenciais benefícios na manutenção da saúde, mas que são passíveis de fácil degradação após a extração do óleo. Além dos AGE, vitaminas e outros componentes da fração insaponificável, estão os diversos antioxidantes, que podem ser inativados por ação externa, por meio de raios ultravioleta, calor, atividade enzimática, condições ácidas, dentre outros (MARQUEZ-RUIZ *et al.*, 2014; OZCAN *et al.*, 2014; PRESCHA *et al.*, 2014; MATTHAUS *et al.*, 2015). Para contornar este problema, a incorporação de óleos vegetais em nanopartículas lipídicas constituindo os CLN tem sido uma proposta interessante para promover proteção da atividade antioxidante (AZIZI *et al.*, 2018). Além disso, as nanopartículas lipídicas podem promover aumento da estabilidade dos óleos no trato gastrointestinal (TGI) e favorecer a absorção, desta forma promovendo aumento na biodisponibilidade (BELOQUI *et al.*, 2016; BELOQUI *et al.*, 2017).

Assim, neste trabalho foram propostos CLN contendo SO voltados para uso em alimentos ou consumo humano, buscando parâmetros ótimos de tamanho das partículas, distribuição em frequência e PZ. O tamanho reduzido das nanopartículas aumenta sua área superficial, o que aumenta a solubilidade e absorção dos bioativos, além de favorecer as propriedades farmacocinéticas, como aumento da biodisponibilidade e até mesmo maior captação celular (DANAIEI *et al.*, 2018). Por outro lado, valores elevados de PZ (>30 mV, negativo ou positivo) aumentam a probabilidade de a dispersão coloidal ser estável, pois nesta condição as partículas carregadas se repelem por mecanismo de repulsão elétrica e, desta forma, contornam a tendência natural de agregação (HEURTAULT, 2003). Assim, o tamanho, o IP e o PZ foram utilizados como parâmetros de avaliação das formulações durante o processo de otimização.

A formulação considerada otimizada (denominada ao final CLN-SO) apresentou valor coerente do diâmetro médio ($222,0 \pm 2,0$ nm), por DLS assim como observado nas imagens obtidas por MEV. O diâmetro médio observado foi considerado adequado para administração oral, uma vez que podem apresentar internalização em maior extensão do que partículas em escala micrométrica (BELOQUI *et al.*, 2017). Para administração oral, é importante que o tamanho das nanopartículas seja o menor possível e isto pode levar à maior captação por células intestinais e maior biodisponibilidade oral, como já observado para captação *in vitro* de nanopartículas de cumarina por células intestinais Caco-2 e após a administração oral destas nanopartículas em ratos (LI *et al.*, 2016). Além disso, valores de IP abaixo de 0,3, conforme foi

encontrado no CLN-SO ($0,22 \pm 0,005$) demonstram distribuição de tamanho bastante estreita e monodispersa que pode contribuir com a estabilidade física das nanopartículas, evitando o fenômeno de agregação (TAMJIDI *et al.*, 2013; DANAEI *et al.*, 2018).

O PZ da formulação de trabalho foi considerado elevado (>30 mV em módulo), o que pode ser considerado um indicativo de boa estabilização eletrostática da nanodispersão. Neste ambiente, a tendência é pela repulsão das nanopartículas entre si e não pela agregação (DAS e CHAUDHURY, 2011; TAMJIDI *et al.*, 2013). Além do elevado PZ negativo, a formulação também contém em sua composição um tensoativo etoxilado (Tween 80), de forma que este grupamento etoxilado hidrofílico e relativamente longo pode promover impedimento estérico entre as partículas, contribuindo também para a estabilização física (BELOQUI *et al.*, 2017). De fato, foi observada estabilidade das nanopartículas em dispersão aquosa por até 90 dias sob refrigeração (4 °C), sem grandes alterações dos valores de diâmetro médio, IP e PZ, confirmando alta estabilidade do sistema proposto.

O óleo livre (superficial ou não encapsulado) é uma fração do óleo total que pode ser extraído por solvente orgânico e é representativo da quantidade de óleo disponível mais superficialmente nas nanopartículas. O grupo de ESFAHANI *et al.* (2019), relata que a quantidade de óleo na superfície está relacionada com a proporção entre o óleo e os materiais sólidos utilizados na composição. Na formulação proposta, a proporção é de 1:1 entre o lípido sólido (Compritol) e o óleo (SO), de forma que é possível que a acomodação do óleo se dê também em grande fração na região superficial das nanopartículas. De toda forma, esta condição favorece o efeito *burst*, o que faz com que elevada quantidade de óleo se desprenda da matriz rapidamente ou tenha mais potencial para sofrer degradação. Entretanto, no ensaio de eficiência da encapsulação foi utilizado como diluente, a acetona, um solvente orgânico com elevado poder de dissolução para óleos vegetais (YARA-VARON *et al.*, 2017), o que pode ter solubilizado uma quantidade de óleo relativamente mais profunda nas nanopartículas. Por outro lado, em ambiente biológico sem presença de solventes orgânicos, a fração de óleo que se desprende da matriz lipídica pode ser menor.

Por meio dos ensaios de FTIR e TG, foi possível observar que o método de homogeneização a quente proposto não foi capaz de promover degradação do SO, sendo observada degradação apenas em 290 °C. A incorporação do SO foi comprovada pelos dados de FTIR, DRX, DSC e TG devido ao diferente comportamento observado para CLN-SO em relação aos componentes isolados. Com relação às curvas de DSC, o formato alargado e com bordas parcialmente simétricas do sinal é típico de sistemas complexos, tais como os carreadores multicomponentes. Também é observada diminuição na entalpia de fusão dos CLN

em comparação ao lípide sólido puro, caracterizando menor grau de cristalinidade dos CLN (LI *et al.*, 2009; GONULLU *et al.*, 2015; ARGIMÓN *et al.*, 2016). Além disso, os dados de DSC e TG confirmam a obtenção de formulação com características físico-químicas próprias, uma vez que não existem eventos térmicos nas curvas do CLN-SO que possam ser atribuídos pontualmente a alguma das matérias-primas utilizadas, o que confirma também que quantitativamente as proporções utilizadas entraram exclusivamente na composição do sistema carreador (BUNJES e UNRUH, 2007).

O ensaio de perda por dessecação indica a quantidade de água presente no sistema, enquanto a atividade de água, fornece informações quanto ao teor de água livre disponível para sofrer reações bioquímicas. Ambos os fatores são importantes para prever a estabilidade de pós secos, uma vez que alto teor de água e atividade podem causar aglomeração de partículas, crescimento microbiano acelerado, oxidação lipídica aumentada e, conseqüentemente, vida útil mais curta (QUEK *et al.*, 2007; CARVALHO *et al.*, 2016).

Os CLN-SO apresentaram valores de atividade de água satisfatórios para se esperar que a proliferação de microrganismos não seja favorecida, assim como a rancidez oxidativa. Em estudos de GOCK *et al.* (2003), foi observado que produtos com teores abaixo de 0,6 estão dificilmente propícios ao crescimento microbiano e, a partir de 0,65, inicia-se a proliferação de microrganismos específicos, sendo que até 0,75, somente algumas bactérias halofílicas, leveduras e fungos xerofílicos podem se desenvolver. Os resultados obtidos em perda por dessecação, indicam também baixa presença de água no CLN-SO, confirmando efetividade do processo de secagem por liofilização. Portanto, os resultados do conteúdo de água da formulação indicam baixa suscetibilidade a reações de hidrólise e crescimento de microrganismos (GURTLER *et al.*, 2014).

A dispersibilidade dos CLN-SO em água está relacionada com sua molhabilidade, ou seja, a capacidade de hidratação da partícula (DA COSTA *et al.*, 2013). Tendo em vista que a matriz é composta em sua maior proporção por lípidos, revestido por tensoativos, espera-se mais lenta interação com a água que substâncias hidrofílicas. Assim, o tempo de molhabilidade encontrado para o CLN-SO foi considerado relativamente baixo (30 minutos) e na mesma faixa que o encontrado para micropartículas de óleo essencial de orégano, com matriz composta de materiais hidrofílicos, como goma arábica, amido modificado e maltodextrina (22 minutos) (DA COSTA *et al.*, 2013).

Em relação aos parâmetros colorimétricos, foi observado que a cor do CLN-SO apresentou diferença considerável frente ao SO. Este fato é atribuído por incorporação do SO em nanopartículas compostas por Compritol, um lípide sólido de cor branca na mesma

proporção (ABURAHMA e BADR-ELDIN, 2014). O sistema em presença do lípido sólido demonstrou diferença de 55,69% na luminosidade ($\Delta L^* = 40,59$) e 50,43% na cromaticidade ($\Delta C^* = 4,62$), com L^* tendendo mais para cor branca, e o C^* tendendo para saturação, indicando influência do Compritol na mudança destes parâmetros. Em ambos, SO e CLN-SO, observou-se característica de predomínio da cor levemente verde ($+a^*$, valores baixos) e mais intensamente amarela ($+b^*$, valores mais elevados). Entretanto, os valores de h^* sofreram baixa variação (5,57%), sugerindo baixa variação na tonalidade, apesar da diferença de luminosidade e cromaticidade. A variação de cor observada ($\Delta E^* = 40,86$), sugere estar principalmente ligada à influência do ΔL^* , deixando a cor mais clara, tendendo ao branco, e à variação na intensidade do amarelo ($\Delta b^* = 4,67$). Estes resultados indicam também a efetividade da mistura do SO e do Compritol formando as nanopartículas, conforme observado nos estudos anteriores (FTIR, DSC, TG e DRX), levando à possibilidade de proteção do óleo contra fatores de degradação de seus componentes bioativos (LAGO e NORENA, 2017).

Dentre as atividades que podem ser atribuídas ao SO considerando os seus bioativos, a ação antioxidante tem destaque. A relação pode ser atribuída à presença de tocoferóis e AG insaturados (principalmente o ω -6 e o ω -9, neste caso). Na concentração de 25 mg/mL de SO (óleo bruto), foi observada significativa redução (em torno de três vezes) na atividade antioxidante do SO após a encapsulação, indicativo de proteção parcial dos compostos antioxidantes pela nanoencapsulação.

A formulação de nanopartículas de SO liofilizadas apresentaram caráter lipofílico estabelecido e características de sistemas nanoestruturados, com condições adequadas de dispersibilidade em meio aquoso, o que as torna versáteis para aplicação alimentar. Tais nanopartículas podem ser incorporadas, por exemplo, em suplementações na forma de bebidas de base aquosa ou emulsionadas. Neste caso, a adição poderia ser feita diretamente em água para o preparo de bebidas lácteas ou diretamente nestas já previamente preparadas, como proposta no fornecimento de compostos bioativos por meio de suplementação alimentar, resultando em produtos alimentares funcionais. Considerando o ponto de fusão dos CLN-SO (55,8 °C), sua incorporação em bebidas lácteas não acarretaria em perda de qualidade da nanoestrutura, pois a conservação destes produtos é realizada em temperatura em torno de 4 °C e seu prazo de validade é relativamente próximo ao observado na estabilidade preliminar apresentada pelas nanopartículas em dispersões líquidas (90 dias).

7 CONCLUSÃO

Os CLN-SO desenvolvidos foram caracterizados como sendo uma formulação com características físico-químicas próprias, diferente de seus componentes isolados. As nanopartículas apresentaram morfologia esférica, diâmetro médio compatível com a administração oral, homogêneo e monodisperso, com elevado PZ negativo. O teor de encapsulação do SO foi compatível com o esperado para a proporção entre lípide sólido e SO proposta nesta formulação. Outros estudos como FTIR, DRX, DSC e colorimetria forneceram indícios que corroboraram com a encapsulação do óleo bioativo. A análise termogravimétrica indicou estabilidade térmica da formulação até 228 °C contra degradação química e, junto com DSC, confirmou a obtenção de um sistema com características físico-químicas próprias.

Os estudos de conteúdo de umidade e atividade de água forneceram indícios de estabilidade da formulação liofilizada frente à proliferação de microrganismos e potencial para reações bioquímicas de degradação. A formulação foi também estável em dispersão aquosa até 90 dias de armazenamento em 4 °C, conforme os parâmetros avaliados. Por fim, nos CLN-SO observou-se redução no potencial imediato de atividade antioxidante, indicando ganho na proteção desta atividade devido à encapsulação do óleo.

Os CLN podem proporcionar ganho de benefícios e versatilidade ao incorporar óleos vegetais em sua matriz lipídica, principalmente em se tratando de óleos vegetais brutos, onde estão presentes maiores concentrações dos componentes bioativos. Tendo em vista a grande variedade de óleos vegetais com possibilidade de incorporação em nanocarreadores, o desenvolvimento e estudo de novas nanoestruturas lipídicas contendo estes óleos apresenta elevado potencial de inovação. A exemplo, os nanocarreadores desenvolvidos poderiam ser incorporado em bebidas lácteas, afim de enriquecer estes alimentos tornando-os ainda mais atrativos para o consumo humano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, S. et al. An Overview of Ultrasound-Assisted Food-Grade Nanoemulsions. **Food Engineering Reviews**, v. 5, n. 3, p. 139-157, 2013.

ABDELWAHAB, S. I. et al. Thymoquinone-loaded nanostructured lipid carriers: preparation, gastroprotection, in vitro toxicity, and pharmacokinetic properties after extravascular administration. **International Journal of Nanomedicine**, v. 8, p. 2163-72, 2013.

ABURAHMA, M. H.; BADR-ELDIN, S. M. Compritol 888 ATO: a multifunctional lipid excipient in drug delivery systems and nanopharmaceuticals. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 11, p. 19, 2014.

ADARAMOLA, B.; ONIGBINDE, A.; SHOKUNBI, O. Physicochemical properties and antioxidant potential of Persea Americana seed oil. **Chemistry International**, v. 3, p. 8, 2016.

AHMAD, Z. The uses and properties of almond oil. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 16, n. 1, p. 10-2, Feb 2010.

ALVHEIM, A. R. et al. Dietary linoleic acid elevates the endocannabinoids 2-AG and anandamide and promotes weight gain in mice fed a low fat diet. **Lipids**, v. 49, n. 1, p. 59-69, 2014.

ANVISA. **Resolução RDC nº 18. SANITÁRIA**, A. N. D. V. Brasília:1999.

ANVISA. Farmacopeia Brasileira. **AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA**, v. 1, p. 545, 2010.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. Virginia: United States Department of Agriculture, 1990.

ARGIMÓN, M. et al. Development and Characterization of Vitamin A-Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Topical Application. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2016.

ARYA, S. S.; SALVE, A. R.; CHAUHAN, S. Peanuts as functional food: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 31-41, 2016.

AYDENIZ, B.; GÜNEŞER, O.; YILMAZ, E. Physico-chemical, Sensory and Aromatic Properties of Cold Press Produced Safflower Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 1, p. 99-110, 2013.

AYELIGN, A.; ALEMU, T. The Functional Nutrients of Flaxseed and Their Effect on Human Health: A Review. **European Journal of Nutrition & Food Safety**, v. 6, n. 2, p. 83-92, 2016.

AZIZI, M. et al. Improvement of physicochemical properties of encapsulated echium oil using nanostructured lipid carriers. **Food Chemistry**, v. 246, p. 448-456, 2018.

BAJPAI, V. K. et al. Prospects of using nanotechnology for food preservation, safety, and security. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 4, p. 1201-1214, 2018.

BAKRY, A. M. et al. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 143-182, 2016.

BARRERA-ARELLANO, D.; BADAN-RIBEIRO, A. P.; SERNA-SALDIVAR, S. O. Corn Oil: Composition, Processing, and Utilization. In: (Ed.). **Corn**, p.593-613, 2019.

BATTAGLIA, L.; GALLARATE, M. Lipid nanoparticles: state of the art, new preparation methods and challenges in drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 9, p. 12, 2012.

BATTAGLIA, L.; UGAZIO, E. Lipid Nano- and Microparticles: An Overview of Patent-Related Research. **Journal of Nanomaterials**, v. 2019, p. 1-22, 2019.

BELOQUI, A. et al. Nanostructured lipid carriers as oral delivery systems for poorly soluble drugs. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 42, p. 144-154, 2017.

BELOQUI, A. et al. Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics. **Nanomedicine**, v. 12, n. 1, p. 143-61, 2016.

BEN MOUMEN, A. et al. Biochemical characterisation of the seed oils of four safflower (*Carthamus tinctorius*) varieties grown in north-eastern of Morocco. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 50, n. 3, p. 804-810, 2015.

BENDIK, I. et al. Vitamin D: a critical and essential micronutrient for human health. **Front Physiol**, v. 5, p. 248, 2014.

BERNAUD, F. S. R.; RODRIGUES, T. C. Fibra alimentar – Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 56, p. 9, 2013.

BHATNAGAR, A. S. et al. Fatty Acid Composition, Oxidative Stability, and Radical Scavenging Activity of Vegetable Oil Blends with Coconut Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, n. 10, p. 991-999, 2009.

BIMBO, F. et al. Consumers' acceptance and preferences for nutrition-modified and functional dairy products: A systematic review. **Appetite**, v. 113, p. 13, 2017.

BJORK, C. et al. Effects of selected bioactive food compounds on human white adipocyte function. **Nutrition & Metabolism**, v. 13, p. 4, 2016.

BODOIRA, R. M. et al. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. **Lwt**, v. 75, p. 107-113, 2017.

BOSKOU, D. **Olive and Olive Oil Bioactive Constituents**. Illinois: AOCS Press, 2015.

BUNJES, H.; UNRUH, T. Characterization of lipid nanoparticles by differential scanning calorimetry, X-ray and neutron scattering. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 6, p. 379-402, 2007.

BYERLEE, D.; FALCON, W. P.; L. NAYLOR, R. **The Tropical Oil Crop Revolution. Food, Feed, Fuel, and Forests**. Oxford: Oxford University Press, 2017.

CALDER, P. C. The American Heart Association advisory on n-6 fatty acids: evidence based or biased evidence? **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 11, p. 1575-6, 2010.

CALDER, P.C. Functional Roles of Fatty Acids and Their Effects on Human Health. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 39, n. 1, p. 18S-32S, 2015.

CAMPANELLA, L. C. D. A. et al. Efeito da suplementação de óleo de cártamo sobre o peso corporal, perfil lipídico, glicídico e antioxidante de ratos wistar induzidos a obesidade. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, p. 8, 2014.

CAPOBIANCO, E. et al. Supplementation with polyunsaturated fatty acids in pregnant rats with mild diabetes normalizes placental PPAR γ and mTOR signaling in female offspring developing gestational diabetes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 53, p. 39-47, 2018.

CARVALHO, A. G. D. S. et al. Physical properties and morphology of spray dried microparticles containing anthocyanins of jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract. **Powder Technology**, v. 294, p. 8, 2016.

CASTRO, G. A.; FERREIRA, L. A. M. Characterization of a new solid lipid nanoparticle formulation containing retinoic acid for topical treatment of acne. **International Centre for Diffraction Data**, v. 23, p. 6, 2008.

CHANG, C.; VARANKOVICH, N.; NICKERSON, M. T. Microencapsulation of canola oil by lentil protein isolate-based wall materials. **Food Chemistry**, v. 212, p. 264-73, 2016.

CHELLARAM, C. et al. Significance of Nanotechnology in Food Industry. **APCBEE Procedia**, v. 8, p. 109-113, 2014.

CHU, Z. et al. Characterization of Antimicrobial Poly (Lactic Acid)/Nano-Composite Films with Silver and Zinc Oxide Nanoparticles. **Materials (Basel)**, v. 10, n. 6, 2017.

COMBS, G. F.; MCCLUNG, J. P. Vitamin A. In: (Ed.). **The Vitamins**, p.109-159, 2017.

COMBS, G. F. J.; MCCLUNG, J. P. **The Vitamins Fundamental Aspects in Nutrition and Health**. London: Elsevier, 2017.

COSTA-SINGH, T.; BERGLER BITENCOURT, T.; JORGE, N. Caracterização e compostos bioativos do óleo da castanha-de-cutia (*Couepia edulis*). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, p. 8, 2012.

CRUZ, Z. et al. Lipid Nanoparticles. In: (Ed.). **Microencapsulation and Microspheres for Food Applications**, p.313-331, 2015.

DA COSTA, J. M. et al. Matrix structure selection in the microparticles of essential oil oregano produced by spray dryer. **Journal of Microencapsulation**, v. 30, n. 8, p. 717-27, 2013.

DA COSTA, J. M. G. et al. Microencapsulation of Swiss cheese bioaroma by spray-drying: Process optimization and characterization of particles. **Powder Technology**, v. 274, p. 9, 2015.

DA SILVA, A. C.; JORGE, N. Bioactive compounds of the lipid fractions of agro-industrial waste. **Food Research International**, v. 66, p. 493-500, 2014.

DA SILVA CARVALHO, A. G. et al. Physical properties and morphology of spray dried microparticles containing anthocyanins of jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract. **Powder Technology**, v. 294, p. 421-428, 2016.

DANAELI, M. et al. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, 2018.

DARAEI, H. et al. Application of gold nanoparticles in biomedical and drug delivery. **Artif Cells Nanomed Biotechnol**, v. 44, n. 1, p. 410-22, 2016.

DAS, S.; CHAUDHURY, A. Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 1, p. 62-76, 2011.

DASGUPTA, N. et al. Nanotechnology in agro-food: From field to plate. **Food Research International**, v. 69, p. 381-400, 2015.

DAUQAN, E. et al. Vitamin E and Beta Carotene Composition in Four Different Vegetable Oils. **American Journal of Applied Sciences**, v. 5, p. 6, 2011.

DEHARIYA, R.; DIXIT, A. K. A Review on Potential Pharmacological Uses of *Carthamus tinctorius* L. **World Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 8, p. 6, 2015.

DERBYSHIRE, E. Brain Health across the Lifespan: A Systematic Review on the Role of Omega-3 Fatty Acid Supplements. **Nutrients**, v. 10, n. 8, 2018.

DEVI, A.; KHATKAR, B. S. Physicochemical, rheological and functional properties of fats and oils in relation to cookie quality: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 10, p. 3633-3641, 2016.

DIMITRIJEVIC, M. et al. Safety Aspects of Nanotechnology Applications in Food Packaging. **Procedia Food Science**, v. 5, p. 57-60, 2015.

DING, Y.; VEEMAN, M. M.; ADAMOWICZ, W. L. Functional food choices: Impacts of trust and health control beliefs on Canadian consumers' choices of canola oil. **Food Policy**, v. 52, p. 92-98, 2015.

DORĐEVIĆ, V. et al. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 4, p. 452-490, 2014.

DUARTE, P. F. et al. Avocado: characteristics, health benefits and uses. **Ciência Rural**, v. 46, n. 4, p. 747-754, 2016.

DURAN, N.; GUTERRES, S. S.; L. ALVES, O. **Nanotoxicology. Materials, Methodologies, and Assessments**. London: Springer, 2013.

ELAGIZI, A. et al. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Cardiovascular Health: A Comprehensive Review. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 61, n. 1, p. 76-85, 2018.

ELTAYEB, M. et al. Preparation of solid lipid nanoparticles containing active compound by electrohydrodynamic spraying. **Food Research International**, v. 53, n. 1, p. 88-95, 2013.

ESFAHANI, R. et al. Loading of fish oil into nanocarriers prepared through gelatin-gum Arabic complexation. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 291-298, 2019.

FANG, C.-L.; AL-SUWAYEH, S. A.; FANG, J.-Y. Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) for Drug Delivery and Targeting. **Recent Patents on Nanotechnology**, v. 7, p. 15, 2013.

FATHI, M.; MOZAFARI, M. R.; MOHEBBI, M. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. **Trends in Food Science & Technology**, v. 23, n. 1, p. 13-27, 2012.

FERNANDES, G. D. et al. Chemical Characterization of Major and Minor Compounds of Nut Oils: Almond, Hazelnut, and Pecan Nut. **Journal of Chemistry**, v. 2017, p. 1-11, 2017.

FERNANDES, M. F. et al. Safflower (n-6) and flaxseed (n-3) high-fat diets differentially regulate hypothalamic fatty acid profiles, gene expression, and insulin signalling. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 128, p. 67-73, 2018.

FIGUERAS, M. et al. Effects of Eicosapentaenoic Acid (EPA) Treatment on Insulin Sensitivity in an Animal Model of Diabetes: Improvement of the Inflammatory Status. **Obesity**, v. 19, p. 7, 2011.

FINI, A. et al. Theophylline-loaded Compritol microspheres prepared by ultrasound-assisted atomization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 2, p. 743-57, 2011.

FUCHS, M. et al. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 9, 2006.

GABA, B. et al. Nanostructured lipid (NLCs) carriers as a bioavailability enhancement tool for oral administration. **Drug Delivery**, v. 22, n. 6, p. 691-700, 2015.

GALANT, N. B.; SANTOS, R. F.; SILVA, M. D. A. Melhoramento de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.). **Acta Iguazu**, v. 4, p. 12, 2015.

GALLI, F. et al. Vitamin E: Emerging aspects and new directions. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 102, p. 16-36, 2017.

GANESH, V.; HETTIARACHCHY, N. S. A Review: Supplementation of Foods with Essential Fatty Acids-Can It Turn a Breeze without Further Ado? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 9, p. 1417-27, 2016.

GESZKE-MORITZ, M.; MORITZ, M. Solid lipid nanoparticles as attractive drug vehicles: Composition, properties and therapeutic strategies. **Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications**, v. 68, p. 982-994, 2016.

GOCK, M. A. et al. Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 81, n. 1, p. 11-19, 2003.

GOMEZ-ESTACA, J. et al. Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 1, p. 82-91, 2012.

GONULLU, U. et al. Formulation and characterization of solid lipid nanoparticles, nanostructured lipid carriers and nanoemulsion of lornoxicam for transdermal delivery. **ACTA Pharmaceutica**, v. 65, n. 1, p. 1-13, 2015.

GUPTA, D. K.; PALMA, J. M.; CORPAS, F. J. **Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants**. [S.l.]: Springer, 2018.

GURTLER, J. B.; DOYLE, M. P.; KORNACKI, J. L. **The Microbiological Safety of Low Water Activity Foods and Spices**. London: Springer, 2014.

HANN, V. B.; MARTINS, M. D. S.; DIAS, R. D. L. Termogênicos: uma revisão sistemática sobre o uso de óleo de coco, óleo de cártamo e CLA. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 8, p. 10,

HARDAS, N. et al. Accelerated Stability Studies of Microencapsulated Anhydrous Milk Fat. **LWT**, v. 33, p. 8, 2000.

HARRIS, M.; HUTCHINS, A.; FRYDA, L. The Impact of Virgin Coconut Oil and High-Oleic Safflower Oil on Body Composition, Lipids, and Inflammatory Markers in Postmenopausal Women. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 4, p. 345-351, 2017.

HELLER, M. et al. Oxidation of fish oil supplements in Australia. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, p. 1-11, 2019.

HERNANDEZ, E. M. Specialty Oils. In: (Ed.). **Functional Dietary Lipids**, 2016. p.69-101.

HEURTAULT, B. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. **Biomaterials**, v. 24, n. 23, p. 4283-4300, 2003.

HOOPER, L. et al. Omega-6 fats for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 11, p. CD011094, 2018.

HOSNE ASIF, A. K. M. A.; HASAN, M. Z. Application of Nanotechnology in Modern Textiles: A Review. **International Journal of Current Engineering and Technology**, v. 8, n. 02, 2018.

- HUANG, J. et al. Nanostructured lipid carrier (NLC) as a strategy for encapsulation of quercetin and linseed oil: Preparation and in vitro characterization studies. **Journal of Food Engineering**, v. 215, p. 1-12, 2017.
- HUNG, Y.; DE KOK, T. M.; VERBEKE, W. Consumer attitude and purchase intention towards processed meat products with natural compounds and a reduced level of nitrite. **Meat Science**, v. 121, p. 119-126, 2016.
- JOHNSON, M. Omega-3, Omega-6 and Omega-9 Fatty Acids: Implications for Cardiovascular and Other Diseases. **Journal of Glycomics & Lipidomics**, v. 04, n. 04, 2014.
- KAPPALLY, S.; SHIRWAIKAR, A.; SHIRWAIKAR, A. COCONUT OIL – A REVIEW OF POTENTIAL APPLICATIONS. **Journal for Drugs and Medicines**, v. 7, p. 9, 2015.
- KATOUZIAN, I. et al. Formulation and application of a new generation of lipid nano-carriers for the food bioactive ingredients. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 14-25, 2017.
- KAZUO, M. Prevention of Fish Oil Oxidation. **Journal of Oleo Science**, v. 68, n. 1, p. 1-11, 2019.
- KHALID, N. et al. A comprehensive characterisation of safflower oil for its potential applications as a bioactive food ingredient - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 66, p. 176-186, 2017.
- KIEFER, J. et al. Infrared Spectroscopy of Bilberry Extract Water-in-Oil Emulsions: Sensing the Water-Oil Interface. **Biosensors**, v. 6, p. 11, 2016.
- KONG, R.; XIA, Q.; LIU, G. Y. Preparation and Characterization of Vitamin a Palmitate-Loaded Nanostructured Lipid Carriers as Delivery Systems for Food Products. **Advanced Materials Research**, v. 236-238, p. 1818-1823, 2011.
- KRUMREICH, F. D. et al. Bioactive compounds and quality parameters of avocado oil obtained by different processes. **Food Chemistry**, v. 257, p. 376-381, 2018.
- LACEY, D. J. et al. Secondary structure of oleosins in oil bodies isolated from seeds of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Biochemical Journal**, v. 334, p. 9, 1998.
- LAGO, C. C.; NORENA, C. P. Z. Thermodynamic and kinetics study of phenolics degradation and color of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) microparticles under accelerated storage conditions. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 13, p. 4197-4204, 2017.
- LEE, Y. Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 1-6, 2004.
- LI, H. et al. Size-exclusive effect of nanostructured lipid carriers on oral drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 511, p. 12, 2016.

LI, Z. et al. Studies on crystallinity state of puerarin loaded solid lipid nanoparticles prepared by double emulsion method. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 99, n. 2, p. 689-693, 2009.

LIN, C. H. et al. Recent advances in oral delivery of drugs and bioactive natural products using solid lipid nanoparticles as the carriers. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, n. 2, p. 219-234, 2017.

LIST, G. R. Processing and Food Uses of Peanut Oil and Protein. In: (Ed.). **Peanuts**, p.405-428, 2016.

LUCAS, R. R. et al. FitoterÁpicos Aplicados a Obesidade. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 11, n. 2, 2016.

MADUREIRA, A. R. et al. Insights into the protective role of solid lipid nanoparticles on rosmarinic acid bioactivity during exposure to simulated gastrointestinal conditions. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 139, p. 277-84, 2016.

MAGNANI, C. et al. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. **Analytical Methods**, v. 6, n. 10, p. 3203-3210, 2014.

MARINA, A. M.; CHE MAN, Y. B.; AMIN, I. Virgin coconut oil: emerging functional food oil. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 10, p. 481-487, 2009.

MARQUEZ-RUIZ, G. et al. Effectiveness of alpha-, gamma- and delta-Tocopherol in a CLA-Rich Oil. **Antioxidants (Basel)**, v. 3, n. 1, p. 176-88, 2014.

MARTINEZ-GONZALEZ, M. A.; MARTÍN-CALVO, N. Mediterranean diet and life expectancy; beyond olive oil, fruits and vegetables. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 19, p. 6, 2018.

MATTHAUS, B.; OZCAN, M. M.; AL JUHAIMI, F. Y. Fatty acid composition and tocopherol profiles of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed oils. **Natural Product Research**, v. 29, n. 2, p. 193-6, 2015.

MBA, O. I.; DUMONT, M.-J.; NGADI, M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. **Food Bioscience**, v. 10, p. 26-41, 2015.

MCCLEMENTS, D. J. Nanoscale Nutrient Delivery Systems for Food Applications: Improving Bioactive Dispersibility, Stability, and Bioavailability. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 7, p. N1602-11, 2015.

MCCLEMENTS, D. J.; RAO, J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 4, p. 285-330, 2011.

MOHAMMADI, M. et al. Vitamin D3-Loaded Nanostructured Lipid Carriers as a Potential Approach for Fortifying Food Beverages; in Vitro and in Vivo Evaluation. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 7, n. 1, p. 61-71, 2017.

MOHANTY, B. P. et al. Nutritional composition of food fishes and their importance in providing food and nutritional security. **Food Chemistry**, 2017.

MORADKHANI, M. R.; KARIMI, A.; NEGAHDARI, B. Nanotechnology application for pain therapy. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 46, n. 2, p. 368-373, 2018.

MORI, T. A.; HODGSON, J. M. Fatty acids: Health Effects of Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. In: (Ed.). **Encyclopedia of Human Nutrition**, p.209-214, 2013.

MULLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p. 25, 2002.

MURUMALLA, R. K. et al. Fatty acids do not pay the toll: effect of SFA and PUFA on human adipose tissue and mature adipocytes inflammation. **Lipids in Health and Disease**, v. 11, p. 9, 2012.

NASERI, N.; VALIZADEH, H.; ZAKERI-MILANI, P. Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers: Structure, Preparation and Application. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 5, n. 3, p. 305-13, 2015.

NGUYEN, T. T. et al. Encapsulation of Hibiscus sabdariffa L. anthocyanins as natural colours in yeast. **Food Research International**, v. 107, p. 275-280, 2018.

NISHIDA, C. et al. The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. **Public Health Nutrition**, v. 7, n. 1a, 2007.

NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, C. A. et al. Perfil nutricional e beneficios do azeite de abacate (Persea americana): uma revisão integrativa. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. 0, 2018.

NOOMHORM, A.; AHMAD, I.; ANAL, A. K. **Functional Foods and Dietary Supplements. Processing Effects and Health Benefits.** Oxford: John Wiley & Sons, 2014.

NZAI, J. M.; PROCTOR, A. Soy Lecithin Phospholipid Determination by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and the Acid Digest/Arseno-Molybdate Method: A Comparative Study. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 76, p. 6, 1999.

OPREA, A. E.; GRUMEZESCU, A. M. **Nanotechnology Applications in Food: Flavor, Stability, Nutrition and Safety.** London: Elsevier, 2017.

OZCAN, T. et al. Phenolics in Human Health. **International Journal of Chemical Engineering and Applications**, v. 5, n. 5, p. 393-396, 2014.

PARDO, J. E. et al. Virgin almond oil: Extraction methods and composition. **Grasas y Aceites**, v. 67, n. 3, 2016.

PATHAKOTI, K.; MANUBOLU, M.; HWANG, H. M. Nanostructures: Current uses and future applications in food science. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, n. 2, p. 245-253, 2017.

PERVEEN, R. et al. Tomato (*Solanum lycopersicum*) Carotenoids and Lycopenes Chemistry; Metabolism, Absorption, Nutrition, and Allied Health Claims--A Comprehensive Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 7, p. 919-29, 2015.

PHILPOTT, J. D.; WITARD, O. C.; GALLOWAY, S. D. R. Applications of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for sport performance. **Research in Sports Medicine**, v. 27, n. 2, p. 219-237, 2019.

PINTO, F.; DE BARROS, D. P. C.; FONSECA, L. P. Design of multifunctional nanostructured lipid carriers enriched with α -tocopherol using vegetable oils. **Industrial Crops and Products**, v. 118, p. 149-159, 2018.

PITTS, M.; DORLING, D.; PATTIE, C. OIL FOR FOOD: THE GLOBAL STORY OF EDIBLE LIPIDS. **Journal of World-Systems Research**, v. XIII, p. 21, 2007.

PORTER, C. J.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, W. N. Lipids and lipid-based formulations: optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 6, n. 3, p. 231-48, 2007.

POUTON, C. W. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 3-4, p. 278-87, 2006.

PRESCHA, A. et al. The Antioxidant Activity and Oxidative Stability of Cold-Pressed Oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, p. 1291-1301, 2014.

QIAN, C.; MCCLEMENTS, D. J. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1000-1008, 2011.

QUEK, S. Y.; CHOK, N. K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 46, n. 5, p. 386-392, 2007.

RAEDERSTORFF, D. et al. Vitamin E function and requirements in relation to PUFA. **British Journal of Nutrition**, v. 114, n. 8, p. 1113-22, 2015.

RAFIEE, Z.; JAFARI, S. M. Application of Lipid Nanocarriers for the Food Industry. In: (Ed.). **Bioactive Molecules in Food**, 2018. cap. Chapter 93-1, p.1-43. (Reference Series in Phytochemistry).

RAHMAN, Z.; ZIDAN, A. S.; KHAN, M. A. Non-destructive methods of characterization of risperidone solid lipid nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 76, p. 11, 2010.

RAMSDEN, C. E. et al. Diet-induced changes in n-3- and n-6-derived endocannabinoids and reductions in headache pain and psychological distress. **The Journal of Pain**, v. 16, n. 8, p. 707-16, 2015.

REN, K.; TORRES, R. Role of interleukin-1beta during pain and inflammation. **Brain Research Reviews**, v. 60, n. 1, p. 57-64, 2009.

RIZVI, S. et al. The Role of Vitamin E in Human Health and Some Diseases. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, v. 14, p. 9, 2014.

RODRIGUEZ-LEYVA, D. et al. The cardiovascular effects of flaxseed and its omega-3 fatty acid, alpha-linolenic acid. **Canadian Journal Of Cardiology**, v. 26, p. 8, 2010.

RYAN, A. S. et al. The hypolipidemic effect of an ethyl ester of algal-docosahexaenoic acid in rats fed a high-fructose diet. **Lipids**, v. 44, n. 9, p. 817-26, 2009.

SABLIOV, C. M.; CHEN, H.; YADA, R. Y. **Nanotechnology and Functional Foods. Effective Delivery of Bioactive Ingredients**. Oxford: John Wiley & Sons, 2015.

SACKS, F. M. et al. Dietary Fats and Cardiovascular Disease: A Presidential Advisory From the American Heart Association. **Circulation**, v. 136, n. 3, p. e1-e23, 2017.

SAIFULLAH, M. et al. Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 230-251, 2019.

SALABERRÍA, F. et al. Chemical Composition and Physical Properties of High Oleic Safflower Oils (*Carthamus tinctorius*, Var. CW88-OL and CW99-OL). **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 10, p. 1383-1391, 2016.

SALGADO, P. R. et al. Bioactive Packaging. In: (Ed.). **Nanomaterials for Food Applications**, p.233-270., 2019.

SALMINEN, H. et al. Influence of encapsulated functional lipids on crystal structure and chemical stability in solid lipid nanoparticles: Towards bioactive-based design of delivery systems. **Food Chemistry**, v. 190, p. 928-937, 2016.

SALVI, V. R.; PAWAR, P. Nanostructured lipid carriers (NLC) system: A novel drug targeting carrier. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 51, p. 255-267, 2019.

SALVIA-TRUJILLO, L. et al. Edible Nanoemulsions as Carriers of Active Ingredients: A Review. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 8, p. 439-466, 2017.

SAMADDAR, P.; DEEP, A.; KIM, K.-H. An engineering insight into block copolymer self-assembly: Contemporary application from biomedical research to nanotechnology. **Chemical Engineering Journal**, v. 342, p. 71-89, 2018.

SANTERAMO, F. G. et al. Emerging trends in European food, diets and food industry. **Food Research International**, v. 104, p. 39-47, 2018.

SARI, T. P. et al. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 540-546, 2015.

SCHULZE, M. B. et al. Food based dietary patterns and chronic disease prevention. **BMJ**, v. 361, p. k2396, 2018.

SCHWINGSHACKL, L. et al. Effects of oils and solid fats on blood lipids: a systematic review and network meta-analysis. **The Journal of Lipid Research**, v. 59, n. 9, p. 1771-1782, 2018.

SHAH, R. et al. **Lipid Nanoparticles: Production, Characterization and Stability**. London: Springer 2015.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 9, p. 345-381, 2018.

SHAO, A. Global market entry regulations for nutraceuticals, functional foods, dietary/food/health supplements. In: (Ed.). **Developing New Functional Food and Nutraceutical Products**, p.279-290., 2017.

SILVA, E. L. et al. Improved In Vitro Antileukemic Activity of All-Trans Retinoic Acid Loaded in Cholesteryl Butyrate Solid Lipid Nanoparticles. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 16, p. 9, 2016.

SINGH, V.; NIMBKAR, N. Safflower. In: (Ed.). **Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production**, p.149-167, 2016.

SIQUEIRA, A. P. S. et al. Chemical quality of Baru almond (*Dipteryx alata* oil). **Ciência Rural**, v. 46, n. 10, p. 1865-1867, 2016.

SORKHEH, K.; KIANI, S.; SOFO, A. Wild almond (*Prunus scoparia* L.) as potential oilseed resource for the future: Studies on the variability of its oil content and composition. **Food Chemistry**, v. 212, p. 58-64, 2016.

SOUSA, A. R. et al. Solubility of carbon dioxide in three lipid-based biocarriers. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 39, p. 7, 2017.

SOUTO, E. B.; MEHNERT, W.; MULLER, R. H. Polymorphic behaviour of Compritol888 ATO as bulk lipid and as SLN and NLC. **Journal of Microencapsulation**, v. 23, n. 4, p. 417-33, 2006.

TAMJIDI, F. et al. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 19, p. 29-43, 2013.

TAN, K. T. et al. Palm oil: Addressing issues and towards sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 2, p. 420-427, 2009.

TANEJA, A.; SINGH, H. Challenges for the delivery of long-chain n-3 fatty acids in functional foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, p. 105-23, 2012.

TEMPLE, N. J.; STEYN, N. **COMMUNITY NUTRITION FOR DEVELOPING COUNTRIES**. Edmonton,: AU Press, 2016.

TOLBA, M. F. et al. Caffeic Acid Phenethyl Ester: A Review of Its Antioxidant Activity, Protective Effects against Ischemia-reperfusion Injury and Drug Adverse Reactions. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 13, p. 2183-90, 2016.

TORRES-GINER, S. et al. Nanoencapsulation of Aloe Vera in Synthetic and Naturally Occurring Polymers by Electro-hydrodynamic Processing of Interest in Food Technology and Bioactive Packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 32, 2017.

VASSIMON, H. S. et al. Alimentos contendo ingredientes funcionais em sua formulação: revisão de artigos publicados em revistas brasileiras. **Conexão Ciência (Online)**, v. 11, n. 2, p. 133-144, 2016.

VIEIRA DA SILVA, B.; BARREIRA, J. C. M.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 50, p. 144-158, 2016.

WALLACE, T. C. Health Effects of Coconut Oil-A Narrative Review of Current Evidence. **J Journal of the American College of Nutrition**, v. 38, n. 2, p. 97-107, 2019.

WANG, X.; LUO, Z.; XIAO, Z. reparation, characterization, and thermal stability of -cyclodextrin/soybean lecithin inclusion complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 6, 2014.

WATANABE, Y.; TATSUNO, I. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for cardiovascular diseases: present, past and future. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 10, n. 8, p. 865-873, 2017.

WEISS, J. et al. Solid Lipid Nanoparticles as Delivery Systems for Bioactive Food Components. **Food Biophysics**, v. 3, n. 2, p. 146-154, 2008.

WINKLER-MOSER, J. K.; BREYER, L. Composition and oxidative stability of crude oil extracts of corn germ and distillers grains. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 3, p. 572-578, 2011.

WIRTH, J. P. et al. Vitamin A Supplementation Programs and Country-Level Evidence of Vitamin A Deficiency. **Nutrients**, v. 9, n. 3, 2017.

WU, J. H. Y. et al. Omega-6 fatty acid biomarkers and incident type 2 diabetes: pooled analysis of individual-level data for 39 740 adults from 20 prospective cohort studies. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 5, n. 12, p. 965-974, 2017.

YARA-VARON, E. et al. Vegetable Oils as Alternative Solvents for Green Oleo-Extraction, Purification and Formulation of Food and Natural Products. **Molecules**, v. 22, n. 9, 2017.

YEAP, S. K. et al. Antistress and antioxidant effects of virgin coconut oil in vivo. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 9, n. 1, p. 39-42, 2015.

ZAABOUL, F. et al. Characterization of Peanut Oil Bodies Integral Proteins, Lipids, and Their Associated Phytochemicals. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 1, p. 93-100, 2018.

ZANETTI, M. et al. Encapsulation of geranyl cinnamate in polycaprolactone nanoparticles. **Materials Science & Engineering C-Materials for Biological**, v. 97, p. 198-207, 2019.

ZENG, Y. et al. Nanomaterial-based electrochemical biosensors for food safety. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 781, p. 147-154, 2016.

ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 33-42, 2016.

ZHU, M. et al. Effect of Industrial Chemical Refining on the Physicochemical Properties and the Bioactive Minor Components of Peanut Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 2, p. 285-294, 2015.