

## Avaliação do tamanho de partículas lipossômicas em diferentes ensaios

Evaluation of liposomal particle size in different assays

Evaluación del tamaño de las partículas liposomales en diferentes ensayos

Recebido: 08/09/2022 | Revisado: 02/01/2023 | Aceitado: 08/01/2023 | Publicado: 10/01/2023

**Adriana Rodrigues Machado**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2641-256X>  
Universidade Federal do Rio Grande, Brasil  
E-mail: [adririzo85@gmail.com](mailto:adririzo85@gmail.com)

**Maria Inês Rodrigues Machado**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8016-6999>  
Universidade Federal do Cariri, Brasil  
E-mail: [inês.machado@edu.br](mailto:inês.machado@edu.br)

**Leonor Almeida de Souza-Soares**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8688-4761>  
Universidade Federal do Rio Grande, Brasil  
E-mail: [Leonor.souzasoares@gmail.com](mailto:Leonor.souzasoares@gmail.com)

### Resumo

Lipossomas compostos por lecitinas de arroz (RL) e soja (SL) foram produzidos por evaporação de fase reversa, utilizando como solvente para solubilização das lecitinas de arroz e soja o Clorofórmio P.A. Com isso o objetivo foi realizar diferentes ensaios para avaliar o tamanho médio e índice de polidispersão de lipossomas com e sem a incorporação do composto fenólico extraído de *Spirulina* LEB – 18. Os lipossomas puros foram caracterizados em termos de distribuição de tamanho, índice de polidispersidade, e  $\zeta$ -potencial. Já os Lipossomas em diferentes ensaios: **A)** As amostras de lipossomas com e sem extratos fenolicos de microalgas foram liofilizadas, em liofilizador (modelo LIOB 003, Biosan), foram submetidas a solubilização em água Ultrapura para a caracterização. **B)** As amostras de lipossomas com e sem extratos fenolicos de microalgas foram executadas através da centrifugação a 10.000 g por 30 minutos. **C)** As amostras de lipossomas com e sem extratos fenolicos de microalgas foram submetidas a centrifugação a 10.000 g por 30 min e filtração em filtro de membranas de 0.22 (Filtro Para Seringa 0.22 um Kasvi) e 0.45  $\mu$ m tamanho do Poro (Membrana Milipore). Logo, estes ensaios foram submetidos a avaliação dos tamanhos e polidispersão. Portanto, foi verificado que o ensaio C obteve-se melhores tamanhos, com os resultados obtidos é possível enfatizar o papel dos lipossomas como importante ferramenta para potencializar o perfil antioxidante de extratos fenólicos de *Spirulina* sp. LEB-18.

**Palavras-chave:** Caracterização; Lecitina; Liofilização; Tamanhos.

### Abstract

Liposomes composed of rice (RL) and soy (SL) lecithins were produced by reverse phase evaporation, using as a solvent for solubilization of rice and soy lecithins the Chloroform P.A. With this, the objective was to perform different assays to evaluate the average size and polydispersity index of liposomes with and without the incorporation of the phenolic compound extracted from *Spirulina* LEB - 18. The pure liposomes were characterized in size distribution, polydispersity index, and  $\zeta$ -potential. Liposomes in different assays, on the other hand: **A)** Liposomes samples with and without phenolic extracts of microalgae were freeze-dried in a freeze-dryer (model LIOB 003, Biosan), were subjected to solubilization in Ultrapure water for characterization. **B)** Liposome samples with and without phenolic extracts of microalgae were made by centrifugation at 10,000 g for 30 minutes. **C)** Liposomes samples with and without phenolic extracts of microalgae were submitted to centrifugation at 10,000 g for 30 min and filtration through a membrane filter of 0.22 (Filter For Syringe 0.22 a Kasvi) and 0.45  $\mu$ m pore size (Membrane Millipore). Then these assays were subjected to size and polydispersity evaluation. Therefore, it was verified that assay C obtained the best sizes. With the results obtained, it is possible to emphasize the role of liposomes as an essential tool for enhancing the antioxidant profile of phenolic extracts of *Spirulina* sp. LEB-18.

**Keywords:** Characterization; Lecithin; Lyophilization; Sizes.

### Resumen

Los liposomas compuestos por lecitina de arroz (RL) y lecitina de soja (SL) se produjeron por evaporación en fase inversa, utilizando como disolvente para la solubilización de las lecitinas de arroz y soja el cloroformo P.A. Con esto el objetivo fue realizar diferentes ensayos para evaluar el tamaño medio y el índice de polidispersidad de los liposomas con y sin la incorporación del compuesto fenólico extraído de la *Spirulina* LEB - 18. Los liposomas puros se caracterizaron en términos de distribución de tamaño, índice de polidispersidad y potencial  $\zeta$ . Por otro lado, los

liposomas en diferentes ensayos: A) Las muestras de liposomas con y sin extractos fenólicos de microalgas fueron liofilizadas, en liofilizador (modelo LIOB 003, Biosan), fueron sometidas a solubilización en agua ultrapura para su caracterización. B) Las muestras de liposomas con y sin extractos fenólicos de microalgas se realizaron por centrifugación a 10.000 g durante 30 minutos. C) Las muestras de liposomas con y sin extractos fenólicos de microalgas se sometieron a centrifugación a 10.000 g durante 30 min y a filtración en filtro de membrana de 0,22 (Filtro Para Jeringa 0,22 a Kasvi) y 0,45 µm de tamaño de poro (Membrana Milipore). Por lo tanto, estos ensayos se sometieron a la evaluación del tamaño y la polidispersidad. Por lo tanto, se verificó que el ensayo C obtuvo mejores tamaños, con los resultados obtenidos se puede destacar el papel de los liposomas como una herramienta importante para potenciar el perfil antioxidante de los extractos fenólicos de *Spirulina sp.* LEB-18.

**Palabras clave:** Caracterización; Lecitina; Liofilización; Tamaños.

## 1. Introdução

Os métodos de preparação de nanopartículas devem ser estudados cuidadosamente, pois deles resultam as propriedades desejadas (Toledo, 2015). O método de encapsulação através do uso de lipossomas, consiste em vesículas únicas ou em multicamadas que envolvem uma fase aquosa dentro de uma membrana de fosfolipídios (Ahmed et al., 2019). Essas vesículas formam-se espontaneamente quando os fosfolipídios são dispersos em um meio aquoso. Uma porção do meio aquoso torna-se fechada na membrana lipídica que serve, então, como uma partícula de liberação controlada para o material ativo disperso na fase aquosa ou lipídica da partícula (da Silva Malheiros et al., 2010). Para manter a estabilidade destas partículas realiza-se a liofilização, que seu princípio consiste na remoção de água, ou seja, pois age inibindo ou desacelerando reações de degradação retirando a água de uma amostra congelada por sublimação e dessorção sob vácuo. Esse processo é dividido em três etapas: primeiro ocorre o congelamento da amostra, depois faz-se a sublimação e, finalmente, faz-se a dessorção da água não congelada (Benedetti, 2017; Vauthier & Bouchemal, 2009).

Os lipossomas são vesículas com uma estrutura compostas de uma bicamada de moléculas de lipídios que encerram um volume aquoso e seu diâmetro varia de nanômetros a micrômetros. Eles foram inicialmente utilizados como sistemas modelo para estudar as propriedades da membrana, tais como a permeabilidade, sendo recipientes de entrega muito úteis para a liberação direcionada de bioativos, drogas e nutrientes (Assis et al., 2014; Dutta et al., 2020; Wang et al., 2022).

As análises de caracterização físico-química de sistemas nanométrico são extremamente importantes quanto o desenvolvimento de novos métodos de preparo, no desenvolvimento de nanotecnologia. Fatores como tamanho, forma, composição, carga elétrica superficial, cor, atividade catalítica e estabilidade são dados cruciais que determinam se os destinos estabelecidos para aquela síntese foram alcançados (Toledo, 2015).

Nestes estudo o objetivo foi realizar diferentes ensaios para avaliar o tamanho médio e índice de polidispersão de lipossomas com e sem a incorporação do composto fenólico extraído de *Spirulina* LEB – 18.

## 2. Metodologia

A presente pesquisa caracterizou-se como um estudo laboratorial (quantitativo) e qualitativo, com isso os métodos qualitativos são aqueles nos quais é importante a interpretação por parte do pesquisador com suas opiniões sobre o fenômeno em estudo, assim como a torna-se importante a prática reflexiva de ênfase social que se investiga e do processo de investigação (Pereira, 2018).

### 2.1 Obtenção das matérias-primas

A matéria-prima utilizada na realização deste trabalho foi a goma proveniente da degomagem do óleo bruto de farelo de arroz, denominada Lecitina de arroz bruta (92,4% de pureza) foi fornecida pela indústria de óleo de arroz, do município de Pelotas, Rio Grande do Sul. A lecitina de soja (98,7% de pureza) foi comprada da Ativos Magistrals (Barueri, Brasil).

A *Spirulina sp.* LEB-18 utilizada para extração dos compostos fenólicos (bioativos) foi cultivada na cidade de Santa

Vitória do Palmar/RS. As microalgas foram filtradas do meio de cultivo, extrusadas e a biomassa seca em secador de bandejas a 50°C durante 5 horas e moída em moinho de bolas até a granulometria de 32 mesh, embalada à vácuo e armazenada sob refrigeração.

## **2.2 Preparo dos lipossomas**

A preparação de lipossomas foi realizada através da evaporação em fase reversa, utilizando como solvente para solubilização das lecitinas de arroz e soja o Clorofórmio P.A.(Sigma-Aldrich), conforme Machado et al.(2019); Mertins (2008), com algumas modificações. É um processo que ocorre em etapas, onde os diferentes estágios levam à formação de três sistemas vesiculares de distintas organizações estruturais: micelas reversas, organogel e lipossomas.

### **2.2.1 Liofilização dos Lipossomas brancos**

A liofilização foi realizada através do método de desidratação por sublimação do produto congelado a -80°C por 12 horas, por meio do Liofilizador, modelo LIOB 003, Biosan utilizando pressão de 500 µHg por 24 h, a -50°C.

### **2.2.2 Extração dos extratos fenólicos totais e encapsulação em lipossomas.**

Foram realizadas a extração dos extratos fenólicos totais da microalga Spirulina LEB-18 de acordo com Souza (2012), após procedeu-se a liofilização dos mesmos, em liofilizador (modelo LIOB 003, Biosan) e encapsulação em lipossomas.

Logo após foram realizados os seguintes ensaios:

- Ensaio A: As amostras de lipossomas com e sem extratos fenolicos de microalgas foram liofilizadas, em liofilizador (modelo LIOB 003, Biosan), logo para avaliação dos tamanhos e polidispersão foram submetidas a solubilização em água Ultrapura.
- Ensaio B: As amostras de lipossomas com e sem extratos fenolicos de microalgas foram executadas através da centrifugação a 10.000 g por 30 minutos.
- Ensaio C: As amostras de lipossomas com e sem extratos fenolicos de microalgas foram submetidas a centrifugação a 10.000 g por 30 min e filtração em filtro de membranas de 0.22 (Filtro Para Seringa 0.22 um Kasvi) e 0.45 µm tamanho do Poro (Membrana Milipore).

## **2.3 Caracterização dos lipossomas**

### **2.3.1 Distribuição de Tamanho**

As distribuições de tamanho dos lipossomas foram medidas por dispersão dinâmica de luz (DLS). Essas medições foram realizadas usando Zetasizer Nano ZS (Malvern Instrument Ltd., Malvern, Worcestershire, Reino Unido) equipado com laser de 633 nm e com uma cuvete retangular de 2 mL (comprimento do caminho de 10 mm). Todos os ensaios foram realizados em triplicado.

### **2.3.2 Avaliação da eficiência de encapsulação**

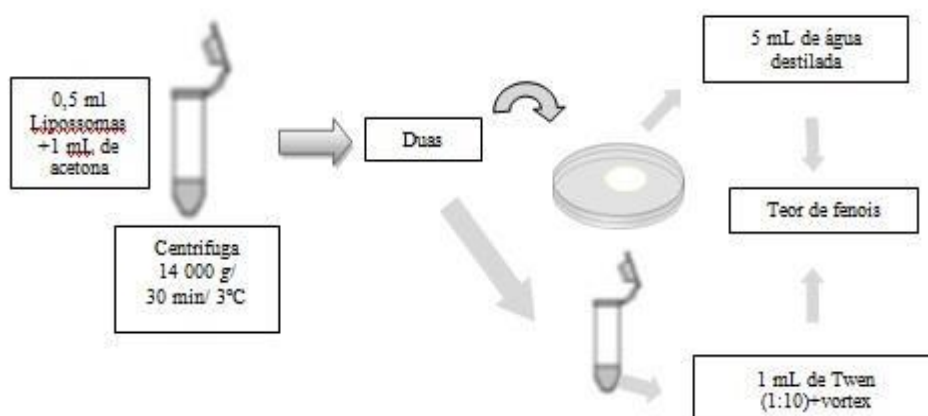
A determinação da eficiência de encapsulação foi realizada indiretamente. Foram adicionados 0,5 mL do lipossoma e 1 mL de acetona P.A (Aldrich) em eppendorf, homogeneizado e centrifugado a 14.000 g durante 30 min, obtendo-se duas fases (Assis et al., 2014). O sobrenadante foi retirado e colocado em placas de petri a 55 °C em estufa com ventilação, até completa evaporação do solvente. Em seguida, o residual da placa foi completamente ressuspensionado em 5 mL de água destilada e determinado o teor de fenóis totais (Figura 1). O material que permaneceu no eppendorf após a retirada do sobrenadante foi

ressuspendido 1 mL de Tween (1:10) (v/v), homogeneizado em vórtex, e determinado o teor de fenóis totais. A eficiência de encapsulação (EE) foi calculada como demonstrado na equação 1:

$$EE (\%) = ([\text{Fenol total} - \text{Fenol livre}] / \text{Fenol total}) \times 100 \quad (\text{Eq.:1})$$

Sendo Fenol total os fenóis dentro das vesículas de lipossomas quantificados após a dissolução com o Tween, e o Fenol livre os fenóis fora das vesículas quantificados após solubilização em acetona. Todos os ensaios foram realizados em triplicado.

**Figura 1** - Esquema de utilização do método para determinação da eficiência da encapsulação.



Fonte: Autores.

## 2.4 Análise estatística

Os dados experimentais foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Os resultados foram analisados com Teste de Tukey no nível de significância de 5%, com o auxílio do software Statistica® (2004), versão 7.0.

## 3. Resultados e Discussão

Os lipossomas produzidos, sem passar pelo processo de liofilização, centrifugação ou por filtros, são denominados lipossomas puros foram caracterizados, através de medidas de tamanho médio, índice de polidispersão e potencial zeta (Tabela 1).

**Tabela 1** - Tamanho médio, eficiência de encapsulação(%EE) e potencial zeta de lipossomas de arroz e de soja contendo composto fenólico de Spirulina LEB -18.

| Amostra | Tamanho médio(nm)               | Índice de polidispersão       | Potencial zeta(mV)             | %EE                           |
|---------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| LAB     | 381.35 $\pm$ 10.61 <sup>d</sup> | 0.854 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> | -14.82 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup> | -                             |
| LSB     | 347.1 $\pm$ 5.09 <sup>c</sup>   | 0.568 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup> | -16.45 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup> | -                             |
| LAF     | 589.5 $\pm$ 1.41 <sup>a</sup>   | 0.661 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup> | -10,02 $\pm$ 0.42 <sup>c</sup> | 68,51 $\pm$ 4,64 <sup>a</sup> |
| LSF     | 401.85 $\pm$ 10.82 <sup>b</sup> | 0.717 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup> | -17,07 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup> | 62,07 $\pm$ 3,53 <sup>a</sup> |

Lipossomas de soja contendo extrato fenólico de Spirulina LEB-18- LSF; Lipossomas de arroz contendo extrato fenólico-LAF. Letras diferentes apresentadas em colunas, significa diferença estatística (p < 0,05). Fonte: Autores.

Dependendo do método de produção, das características do lipossoma e do material a encapsular, vários tipos de estruturas pode ser desenvolvidos com características distintas (ex: diferentes eficiências de encapsulação). Com isso, os

lipossomas podem ser usados para encapsular bioativos alimentares com diferentes estruturas (Esposito et al., 2021).

A distribuição do tamanho para lipossomas de soja e arroz sem ou com extrato fenólico, obteve diferença estatística, como também os tamanhos eram heterogênea, sendo clara a presença de agregados, o que está de acordo com os valores de PDI obtidos (Tabela 1). No estudo de Júnior & Alencar, (2021) com formulações lipossomais obtiveram tamanhos polidispersos com 360.2 nm e 564.7 nm, respectivamente com lipossomas c/ Norfloxacino e lipossomas com Getamicina, obtendo uma classificação de tamanho para lipossomas de unilamelar grande semelhante a este estudo.

O Índice de polidispersão (PDI) encontrado nesse estudo apresentaram diferença significativa, assim como indica que os lipossomas são polidispersos, conforme a Tabela 1. Portanto, esta medida da amplitude da distribuição de tamanho resultante da análise cumulativa de dados de dispersão dinâmica de luz (DLS), denominado PDI possuem valores entre 0 e 1 (Toribio Espinoza, 2017).

Valores de PDI superiores a 0,7 indicam que a amostra tem uma distribuição de tamanhos muito ampla e provavelmente não é adequada para a técnica de DLS (MALVERN, 2022; Toribio Espinoza, 2017).

Os valores estão em conformidade com outros trabalhos, com formação de cargas negativas devido à presença de lecitina (Assis et al., 2014). Luiz, (2022) também encontrou -14.89 mV em seu estudo com lipossomas contendo docetaxel.  $\zeta$ -potencial pode ser alterado de acordo com a composição de fosfolipídios de cada lecitina. Neste estudo, foi utilizada fosfatidilcolina (PC), que é considerado fosfolipídeo zwitteriônico ou carga zero, com (colina) e um grupo negativo (fosfato) (Machado et al., 2019). Com isso, O potencial zeta representa a carga negativa residual sobre a superfície das partículas, fornecendo informações sobre estabilidade do sistema e as propriedades superficiais que são modificadas nos processos e formulações (Júnior & Alencar, 2021).

Outro fator importante a ser considerado é a agregação indesejada, relacionado ao tamanho, polidispersão e a carga, pois de acordo com Rodrigues, (2017) afirma que matrizes contendo lipossomas devem possuir um tamanho inferior a 400 nm, devido provocar a liberação precoce do conteúdo encapsulado no caso de estes serem armazenados.

A eficiência de encapsulação (EE) não apresentou diferença significativa, de acordo com a Tabela 1, pode ser interpretada como o percentual de compostos bioativos aprisionado nos lipossomas em comparação com a quantidade inicial desses compostos (Neves et al., 2021).

Conforme Zhao et al., (2017) estudaram os lipossomas carregados com antocianina foram produzidos por dióxido de carbono supercrítico obtiveram EE de 50,6%. Já Bredarioli, (2021) em seu estudo para lipossomas contendo insulina para terapia tópica da doença do olho seco obtiveram uma eficiência de encapsulação 50%.

A Tabela 2 demonstra o tamanho médio e índice de polidispersão de lipossomas com e sem a incorporação do composto fenólico extraído de Spirulina LEB – 18.

**Tabela 2** - Tamanho médio e índice de polidispersão de lipossomas com e sem a incorporação do composto fenólico extraído de *Spirulina* LEB – 18.

| Amostra                                       | Tamanho de partículas (nm) | Índice de polidispersão  |
|---|----------------------------|--------------------------|
| Lipossomas liofilizados ressuspensos-ensaio A |                            |                          |
| LAB   | 155,90±1,01 <sup>d</sup>   | 0,337±0,024 <sup>d</sup> |
| LAF   | 431,02±15,46 <sup>a</sup>  | 0,732±0,038 <sup>a</sup> |
| LSF   | 263,51±6,02 <sup>c</sup>   | 0,488±0,014 <sup>c</sup> |
| LSB   | 335,60±5,75 <sup>b</sup>   | 0,549±0,012 <sup>b</sup> |
| Lipossomas centrifugados-ensaio B             |                            |                          |
| LAB   | 148,50±0,40 <sup>d</sup>   | 0,345±0,001 <sup>c</sup> |
| LAF   | 216,93±1,36 <sup>b</sup>   | 0,451±0,01 <sup>b</sup>  |
| LSF   | 160,81±1,00 <sup>c</sup>   | 0,286±0,01 <sup>d</sup>  |
| LSB   | 324,92±1,74 <sup>a</sup>   | 0,627±0,12 <sup>a</sup>  |
| Lipossomas filtrados e centrifugados-ensaio C |                            |                          |
| LAB(02µm)                                     | 125,71±1,18 <sup>d</sup>   | 0,234±0,003 <sup>d</sup> |
| LAB(045µm)                                    | 149,82±2,10 <sup>c</sup>   | 0,327±0,045 <sup>b</sup> |
| LAF(02µm)                                     | 123,50±2,65 <sup>d</sup>   | 0,225±0,008 <sup>d</sup> |
| LAF(045µm)                                    | 178,03±1,35 <sup>b</sup>   | 0,227±0,04 <sup>d</sup>  |
| LSF(02µm)                                     | 174,62±1,55 <sup>b</sup>   | 0,408±0,011 <sup>a</sup> |
| LSF(045µm)                                    | 176,20±1,08 <sup>b</sup>   | 0,260±0,009 <sup>c</sup> |
| LSB (02µm)                                    | 202,70±3,20 <sup>a</sup>   | 0,417±0,01 <sup>a</sup>  |
| LSB(045µm)                                    | 200,71±0,20 <sup>a</sup>   | 0,292±0,006 <sup>b</sup> |

Lipossomas de arroz branco-LAB; Lipossomas de arroz contendo extrato fenólico-LAF; Lipossomas de soja branco-LSB; Lipossomas de soja contendo extrato fenólico de *Spirulina* LEB-18-LSF. As médias na mesma coluna com os diferentes sobrescritos (a, b, c, d) são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Fonte: Autores.

O tamanho médio de nanopartículas está entre as determinações fundamentais na compreensão das características de um lipossoma.

No ensaio A, correspondente a lipossomas liofilizados e ressuspensos, verifica-se uma diferença significativa entre os tamanhos e a polidispersão das amostras avaliadas. Os lipossomas foram resuspensos em água ultra-pura sendo submetidos a banho ultrasônico durante 1 hora, com objetivo de promover a quebra das partículas de lipossomas liofilizadas. Contudo, há trabalhos que indicam que o pó decantado, ao ser redisperso num meio aquoso, apresenta agregados irreversíveis, que podem ser comprovados na Tabela 2. Com os tamanhos obtidos dos liofilizados de nanopartículas fica evidente a necessidade da adição de crioprotetores em soluções coloidais que serão submetidas ao processo de liofilização. Esse comportamento foi obtido no estudo de Santos et al., (2020), o qual também verificaram que os lipossomas oriundos do extrato aquoso liofilizado de mangaba obtiveram-se tamanhos maiores em relação aos não liofilizados, devido à agregação das partículas provocadas neste processo, sendo ineficiente a adição do método sob as vesículas lipídicas quando não há a utilização de crioprotetores.

Os crioprotetores conferem proteção para as nanopartículas durante o congelamento e são adicionados às suspensões coloidais antes da liofilização para amenizar o estresse do processo, evitando que as baixas temperaturas possam danificar e/ou alterar as propriedades físico-químicas das partículas (Barroso, 2020; Bolson, 2015; Carvalho, 2021).

Conforme a literatura o processo de liofilização promove o estiramento das nanoesferas. Com isso, o processo de liofilização aplicado a nanopartículas apresenta algumas vezes certos inconvenientes, como a perda da integridade do material (rompimento das partículas) e a agregação (que em muitos casos pode ser irreversível). Nesses casos, o uso de açúcares e outras substâncias, como a poli (vinilpirrolidona) (cryoprotectants), pode aumentar a resistência das nanopartículas, minimizando o estresse do processo de secagem e aumentando a estabilidade durante a estocagem (Abdelwahed et al., 2006; Ahlin et al., 2002; Pereira, 2015).

A agregação das nanopartículas após a liofilização se deve ao maior contato destas partículas durante o congelamento



(estado sólido), e em alguns casos elas podem se fundir. A quebra e modificações na morfologia das partículas podem ocorrer devido a baixas temperaturas empregadas para o congelamento das mesmas e também pela formação de cristais de gelo que podem provocar um estresse mecânico na partícula (Araújo, 2009; Editora, 2018).

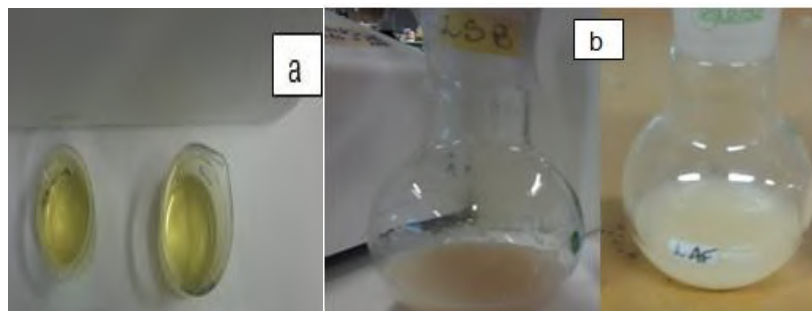
No ensaio B, a centrifugação (10.000 g por 30 min) causou uma redução no tamanho das nanopartículas (Tabela 2), fato esperado se considerarmos que a centrifugação favorecerá a deposição das partículas de maior diâmetro.

Se combinarmos a centrifugação (10.000 g e 30 min) e a filtração (0.2 e 0.45  $\mu\text{m}$ ), referente ao ensaio C, é possível obter partículas de menor diâmetro. Sendo assim, uma otimização dos tamanhos se faz necessária para que maior porcentagem de partículas tenha tamanhos inferiores a 200 nm. As figuras abaixo apresentam fenóis liofilizados submetidos a solubilização e lipossomas. De acordo com a literatura os lipossomas carregados com extratos bioativos de borra de café, apresentaram tamanho pequeno em torno de 200nm (Pettinato et al., 2020).

Com relação ao índice de polidispersão, que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição de tamanho, de acordo com a Tabela 2, foi elevado ( $> 0,3$ ) para lipossomas liofilizados indicando a formação de sistemas polidispersos, porém dentro do padrão para lipossoma sem liofilização (Nemen & Lemos-Senna, 2011; Santos et al., 2020). Um PDI igual a 1 indica grandes variações no tamanho da partícula, enquanto que um valor próximo de 0 indica uma população de partículas monodispersas (Lacatusu et al., 2012; Toribio Espinoza, 2017).

A Figura 2 apresenta os fenóis liofilizados submetidos a solubilização e lipossomas de soja e de arroz.

**Figura 2** - Fenóis liofilizados submetidos a solubilização(a) e lipossomas de soja e de arroz(b).



Fonte: Autores.

A Tabela 3 apresenta os resultados da análise de cor (L,  $a^*$  e  $b^*$ , diferença de cor= $\Delta E$ ) para as amostras de fenóis e lipossomas avaliadas.

**Tabela 3** - Análise de cor (L,  $a^*$  e  $b^*$ , diferença de cor= $\Delta E$ ) para as amostras de fenóis e lipossomas avaliadas.

| Amostra          | L     | $a^*$ | $b^*$ | $\Delta E$ |
|------------------|-------|-------|-------|------------|
| Extrato fenolico | 30,80 | 0,21  | -0,23 | 6,10       |
| LAB              | 48,14 | -2,27 | 6,10  | 7,26       |
| LAF              | 49,69 | -2,84 | 3,93  | 7,15       |
| LSB              | 42,00 | -3,35 | 3,32  | 7,16       |
| LSF              | 31,56 | -0,19 | -0,17 | 3,95       |

LAB=Lipossoma de arroz Branco; LAF=Lipossoma de arroz com fenol; LSB=Lipossoma de soja branco; LSF=Lipossoma de soja com fenol. Fonte: Autores.

Em produtos alimentares aspectos sensoriais são essenciais para garantir que aplicação de tecnologias emergentes, como filmes e revestimentos comestíveis, para compostos encapsulados, torna-se bem-sucedido. Assim, a cor é um dos mais

importantes parâmetros que tem de ser controlado (Falguera et al., 2011; Okcu et al., 2018). Atributos de cor são de importância absoluta porque eles influenciam diretamente sua aceitação pelos consumidores. Cor dos filmes, materiais encapsulantes é relevante uma vez que cor tem um impacto direto sobre a aparência de um produto embalado.

De acordo com a tabela acima, a incorporação de fenol em lipossomas verificou-se uma pequena variação nos lipossomas de arroz, fato este não confirmado para lipossomas de soja, o qual ocorreu diminuição no parâmetro de luminosidade(L), assim como nos outros parâmetros avaliados. Mas, verificou-se uma diminuição de  $b^*$  quando ocorreu a incorporação do fenol, indicando uma diminuição do amarelecimento do lipossoma. Este resultado mostra que a adição de fenol teve um efeito expressivo sobre  $a^*$  e  $b^*$  parâmetros avaliados dos lipossomas.

#### 4. Conclusão

Os resultados indicam que as nanoencapsulações através de lipossomas elaborados com diferentes lecitinas obtidas dos óleos de soja e de arroz, contendo extratos fenólicos de *Spirulina* demonstraram características de sistemas nanométricos, apresentando tamanho e estabilidade típicos de compostos que contém lecitina como material de parede.

Foi verificado que o ensaio C obteve-se melhores tamanhos, com os resultados obtidos é possível enfatizar o papel dos lipossomas como importante ferramenta para potencializar o perfil antioxidante de extratos fenólicos de *Spirulina* sp. LEB-18.

Por fim, nossos resultados fornecem subsídios para estudos futuros, mais detalhados, incluindo técnicas sofisticadas como a cromatografia gasosa para o perfil em ácidos graxos desses lipossomas, morfologia desses materiais, assim como perfil de liberação desses extratos para potenciais aplicações em diferentes áreas.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES e FAPERGS pelo apoio financeiro.

#### Referências

- Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., & Fessi, H. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(15), 1688–1713. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.017>
- Ahlin, P., Kristl, J., Kristl, A., & Vrečer, F. (2002). Investigation of polymeric nanoparticles as carriers of enalaprilat for oral administration. *International Journal of Pharmaceutics*, 239(1), 113–120. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00076-5](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00076-5)
- Ahmed, K. S., Hussein, S. A., Ali, A. H., Korma, S. A., Lipeng, Q., & Jinghua, C. (2019). Liposome: Composition, characterisation, preparation, and recent innovation in clinical applications. *Journal of Drug Targeting*, 27(7), 742–761. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2018.1527337>
- Araújo, R. S. (2009). Desenvolvimento, caracterização e liofilização de nanopartículas e encapsulamento de antibiótico de uso veterinário. 131.
- Assis, L. M. de, Machado, A. R., Motta, A. de S. da, Costa, J. A. V., & Soares, L. A. de S. (2014a). Development and Characterization of Nanovesicles Containing Phenolic Compounds of Microalgae *Spirulina* Strain LEB-18 and *Chlorella pyrenoidosa*. <https://doi.org/10.4236/amc.2014.41002>
- Assis, L. M. de, Machado, A. R., Motta, A. de S. da, Costa, J. A. V., & Soares, L. A. de S. (2014b). Development and Characterization of Nanovesicles Containing Phenolic Compounds of Microalgae *Spirulina* Strain LEB-18 and *Chlorella pyrenoidosa*. <https://doi.org/10.4236/amc.2014.41002>
- Barroso, L. A. (2020). Otimização dos parâmetros de extração a frio (Cold brew) de café arábica da região de Minas Gerais para produção de cafés solúveis liofilizados. <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/handle/1/2199>
- Benedetti, N. I. G. de M. (2017). Estudo da encapsulação do voriconazol em lipossomas: Obtenção, caracterização e estudo de estabilidade. <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/9055>
- Bolson, S. N. (2015). Desenvolvimento tecnológico de nanocápsulas para a liberação controlada do neuroprotetor vimocetina. <http://repositorio.ufsm.br/handle/1/17509>
- Bredarioli, P. A. P. (2021). Avaliação in vivo do potencial de lipossomas contendo insulina para terapia tópica da doença do olho seco [Text, Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/D.60.2021.tde-29092021-071109>
- Carvalho, A. L. D. (2021). Técnicas de micro/nanoencapsulação de produtos naturais extraído do cerrado: Oleo de buriti. <http://bdm.ufmt.br/handle/1/1929>



- da Silva Malheiros, P., Daroit, D. J., & Brandelli, A. (2010). Food applications of liposome-encapsulated antimicrobial peptides. *Trends in Food Science & Technology*, 21(6), 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.03.003>
- Dutta, S., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2020). Chapter 8—Biomedical and food applications of biopolymer-based liposome. Em K. Pal, I. Banerjee, P. Sarkar, D. Kim, W.-P. Deng, N. K. Dubey, & K. Majumder (Eds.), *Biopolymer-Based Formulations* (pp. 167–192). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816897-4.00008-4>
- Editora, A. (2018). *Impactos das tecnologias nas ciências biológicas e da saúde* (1.a ed.). Antonella Carvalho de Oliveira. <https://doi.org/10.22533/at.ed.998181406>
- Esposito, B. S., Jauregi, P., Tapia-Blácido, D. R., & Martelli-Tosi, M. (2021). Liposomes vs. chitosomes: Encapsulating food bioactives. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.003>
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.02.004>
- Júnior, S., & Alencar, J. G. de. (2021). Desenvolvimento, caracterização e avaliação in vitro da atividade antibacteriana de formulações lipossomais. <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/56607>
- Lacatusu, I., Badea, N., Stan, R., & Meghea, A. (2012). Novel bio-active lipid nanocarriers for the stabilization and sustained release of sitosterol. *Nanotechnology*, 23, 455702. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/23/45/455702>
- Luiz, M. T. (2022). Desenvolvimento e caracterização de lipossomas contendo docetaxel: Um potencial sistema para o tratamento de glioblastoma multiforme [Text, Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/T.60.2022.tde-17052022-091137>
- Machado, A. R., Pinheiro, A. C., Vicente, A. A., Souza-Soares, L. A., & Cerqueira, M. A. (2019a). Liposomes loaded with phenolic extracts of Spirulina LEB-18: Physicochemical characterization and behavior under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 120, 656–667. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.023>
- Machado, A. R., Pinheiro, A. C., Vicente, A. A., Souza-Soares, L. A., & Cerqueira, M. A. (2019b). Liposomes loaded with phenolic extracts of Spirulina LEB-18: Physicochemical characterization and behavior under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 120, 656–667. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.023>
- MALVERN. (2022). MALVERN, Material Talks. Disponível em: <<http://www.materialstalks.com/blog/2014/01/23/intensity-volume-number-which-size-is-correct/>>. Acesso em: 23 jun. 2022.
- Mertins, O. (2008). Estudos físico-químicos e estruturais de lipossomas compósitos de fosfatidilcolina e quitosana. <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/14354>
- Nemen, D., & Lemos-Senna, E. (2011). Preparação e caracterização de suspensões coloidais de nanocarreadores lipídicos contendo resveratrol destinados à administração cutânea. *Química Nova*, 34(3), 408–413. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000300008>
- Neves, M. T., Santos, F. R. dos, Gonçalves, D. J. R., Fernandes, J. G., Justino, H. de F. M., Júnior, B. R. de C. L., & Vieira, É. N. R. (2021). Uso da tecnologia de lipossomas no encapsulamento de compostos bioativos—Revisão. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 7(4), Art. 4. <https://doi.org/10.18540/jcecvl7iss4pp13295-01-20e>
- Okcu, Z., Yavuz, Y., & Kerse, S. (2018). Edible Film and Coating Applications in Fruits and Vegetables. *Alinteri Zira Bilimler Dergisi*, 221–226. <https://doi.org/10.28955/alinterizbd.368362>
- Pereira, et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. UFSM. [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1).
- Pereira, E. F. S. (2015). Liofilização de nanopartículas para aplicação de produtos inovadores em oncologia. <https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/31060>
- Pettinato, M., Trucillo, P., Campardelli, R., Perego, P., & Reverchon, E. (2020). Bioactives extraction from spent coffee grounds and liposome encapsulation by a combination of green technologies. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 151, 107911. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.107911>
- Rodrigues, B. V. (2017, setembro 26). Desenvolvimento e caracterização de complexos polímero-lipossoma (CPLs) para sistemas inteligentes de liberação controlada. Desenvolvimento e caracterização de complexos polímero-lipossoma (CPLs) para sistemas inteligentes de liberação controlada. Desenvolvimento e caracterização de complexos polímero-lipossoma (CPLs) para sistemas inteligentes de liberação controlada. <https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/83224>
- Santos, L. S. dos, Medeiros, J. S., Toledo, A. M. N., Viana, L. F., Machado, M. I. R., & Machado, A. R. (2020). Processo de encapsulação de extrato aquoso liofilizado e não liofilizado de mangaba em vesículas lipídicas / Encapsulation process of lyophilized and non-lyophilized aqueous extract of mangaba in lipid vesicles. *Brazilian Journal of Development*, 6(1), Art. 1. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n1-158>
- Souza, M. M. de. (2012). Potencial antifúngico, antioxidante e inibidor da produção de aflatoxina por extratos fenólicos de *Chlorella* sp. E *Spirulina platensis*. <http://repositorio.furg.br/handle/1/6183>
- Toledo, A. M. N. de. (2015). Encapsulação do óleo essencial de laranja em nanopartículas de quitosana: Desenvolvimento e avaliação da citotoxicidade in vitro do produto final. <http://repositorio.furg.br/handle/1/8836>
- Torbio Espinoza, J. (2017). Desenvolvimento tecnológico e caracterização de lipossomas carregados com nanopartículas de prata obtidas por síntese verde. <http://tede2.uepg.br/jspui/handle/prefix/2503>
- Vauthier, C., & Bouchemal, K. (2009). Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 26(5), 1025–1058. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9800-3>

Wang, Y., Ye, A., Hou, Y., Jin, Y., Xu, X., Han, J., & Liu, W. (2022). Microcapsule delivery systems of functional ingredients in infant formulae: Research progress, technology, and feasible application of liposomes. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.016>

Zhao, L., Temelli, F., & Chen, L. (2017). Encapsulation of anthocyanin in liposomes using supercritical carbon dioxide: Effects of anthocyanin and sterol concentrations. *Journal of Functional Foods*, 34, 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.04.021>