

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CÂMPUS CAMPO MOURÃO - PARANÁ

EDUARDO DE SOUZA ESPERANÇA

**OBTENÇÃO DE MICROCRISTAIS DE GLICOSE E ENCAPSULAÇÃO EM
MATRIZES LIPÍDICAS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2015

EDUARDO DE SOUZA ESPERANÇA

**OBTENÇÃO DE MICROCRISTAIS DE GLICOSE E ENCAPSULAÇÃO
EM MATRIZES LIPÍDICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos do Departamento Acadêmico de Alimentos – DALIM – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *Câmpus* Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves
Coorientador: Prof. Dr. Bogdan Demczuk Junior

CAMPO MOURÃO

2015



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Departamento de Tecnologia e Engenharia de
Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

**OBTENÇÃO DE MICROCRISTAIS DE GLICOSE E ENCAPSULAÇÃO EM MATRIZES
LIPÍDICAS**

POR

EDUARDO DE SOUZA ESPERANÇA

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado em 03 de julho de 2015 às 08:10h como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **APROVADO**.

Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves
Orientador

Prof. Dr. Augusto Tanamati
Membro da banca

Prof. Dr. Manuel Plata
Membro da banca

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR *Campus* Campo Mourão.

AGRADECIMENTOS

Se não fosse minha fé em Deus, eu até poderia alcançar todos os objetivos que sempre almejei, mas o caminho seria, com certeza, mais doloroso. Agradeço a Deus por ter me guiado para o melhor lugar possível, onde fui acolhido, aprendi a ser adulto, conheci pessoas inesquecíveis e vivi os melhores cinco anos de toda a minha vida. Se, em algum momento, fraquejei, só consegui levantar e olhar em frente por acreditar que tudo o que Ele prepara para os meus caminhos é sempre o melhor.

Agradeço aos meus pais (Waldir e Neide) e minha irmã (Mayra), que sempre foram meu apoio, meu porto seguro e acreditaram em mim até mesmo quando eu mais duvidava. Agradeço também minha tia (Aparecia Fátima), meu tio (Francisco Dantas) e a minha prima (Nádia), que me deram tanto suporte quanto meus pais nessa pequena longa jornada. Além destes, agradeço a todos meus familiares que sempre me motivaram, aconselharam e apoiaram minhas escolhas ao longo destes anos.

Agradeço ao professor Dr. Odinei, meu orientador de iniciação científica a alguns 5 anos, e agora meu orientador do trabalho de conclusão de curso, por ter me concedido as melhores oportunidades no âmbito acadêmico, por confiar no meu trabalho e por ter escolhido me orientar em todas as fases da minha vida acadêmica. Obrigado pelos conselhos profissionais e para a vida. Agradeço também por sempre ter me influenciado a buscar algo que eu pensara estar além da minha capacidade no momento, o que me ajudou a crescer como pessoa e como profissional.

Agradeço também meu coorientador Bogdan, que mesmo aparecendo no final me auxiliou, apoiou e ensinou muito nestes poucos meses.

Obrigado meus amigos, pessoas que conheci no decorrer destes anos, quer seja do Brasil ou de fora, que só acrescentaram em minha vida, não quero citar nomes, pois cada um sabe como e onde, foi e é importante para mim. Obrigado pelos laços de amizade e muitos momentos felizes que me proporcionaram.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação acadêmica e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, por sua excelência em ensino.

Enfim, a todos que contribuíram de algum modo para a minha formação, meu muito obrigado!

ESPERANCA, E. S. **Obtenção de microcristais de glicose e encapsulação em matrizes lipídicas**. 2015. 29. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

Resumo: A hipoglicemia noturna é um problema comum para as crianças e adolescentes com diabetes tipo 1 (*mellitus*). Seu tratamento normalmente é feito através da administração de glicose ou glucagon, porém quando a hipoglicemia ocorre durante o sono, a capacidade de percepção desta condição encontra-se reduzida. Uma alternativa aos tratamentos convencionais pode ser o uso de sistemas de liberação modificada para administração de carboidratos durante a noite através da sua encapsulação. É conhecido que o tamanho das cápsulas de onde a substância de interesse é liberada, é de suma importância na manutenção de uma liberação prolongada. A diminuição da granulometria de sólidos atingindo as escalas micro ou nanométrica tende a potencializar a atividade biológica de fármacos. Objetiva-se neste trabalho, obter cristais micrométricos de glicose e realizar sua encapsulação em matrizes lipídicas. Glicose foi utilizada como material a ser encapsulado e Compritol como matriz lipídica. A obtenção dos microcristais deu-se mediante utilização de um dispersor do tipo Ultraturrax e sua encapsulação foi feita pela técnica de dispersão a quente. A caracterização morfológica foi realizada através de microscopia óptica. A concentração de glicose realmente encapsulada foi determinada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A forma como a agitação foi realizada influenciou na morfologia final dos cristais, variando desde aglomerados macrométricos até cristais micrométricos sem aglomerações. A glicose pode ser encapsulada em uma matriz lipídica de maneira eficiente e o método se mostrou robusto frente a variações das condições experimentais. Esta eficiência dependerá principalmente do tamanho de partícula e de sua concentração.

Palavras chave: Microcristais, glicose, encapsulação, lipídio, hipoglicemia, liberação modificada, liberação controlada, compritol.

ESPERANCA, E. S. **Obtention of glucose microcrystal and lipid encapsulation matrices**. 2015. 29. Course conclusion work (Food Engineering), Federal Technological University of Paraná. Campo Mourao, 2015.

Abstract: Nocturnal hypoglycemia is a common problem for children and young adults with type 1 diabetes (mellitus). Treatment is usually made through the administration of glucose or glucagon, but when hypoglycemia occurs during sleep, the perception capacity of this condition is reduced. An alternative to conventional treatments can be adjusted by the use of delivery systems for delivering carbohydrates overnight through their encapsulation. It is known that the size of the capsules where the substance of interest is released, it is of paramount importance in maintaining a prolonged release. The reduction in solids particle size reaching the micro or nanometer scale tends to enhance the biological activity of drugs. Our objective is to get micrometric crystals of glucose and perform their encapsulation in lipid matrices. Glucose was used as a material to be encapsulated and Compritol as lipid matrix. Obtaining micro crystal took place through using an Ultraturrax disperser type and its encapsulation was made by hot dispersion technique. The morphological characterization was carried out using optical microscopy. The concentration of glucose actually encapsulated was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). The way the turbulence was performed influence on the final crystal morphology ranging from micron to macro meter agglomerated crystals without agglomeration. Glucose can be encapsulated in a lipid matrix efficiently and the method was robust against variations of experimental conditions. This efficiency depends mainly on the particle size and its concentration.

Key words: Microcrystals, glucose, encapsulation, lipid, hypoglycemia, modified release, controlled release, compritol.

Sumário

1. Revisão Bibliográfica.....	9
2. Objetivos e Metas	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
3. Métodos e Procedimentos	13
3.1 Material.....	13
3.2 Obtenção dos microcristais de glicose.....	13
3.3 Encapsulação por dispersão a quente	13
3.4 Caracterização	14
4. Resultados e Discussão	16
4.1. Obtenção dos microcristais de glicose.....	16
4.2. Encapsulação dos microcristais de glicose	19
5. Conclusões e trabalhos futuros.....	24
6. Referências Bibliográficas	25

1. Revisão Bibliográfica

A incidência de diabetes na infância tem aumentado cerca de 3% ao ano, o que significa que cerca de 79 mil crianças no mundo estão propensas a desenvolver diabetes tipo 1 (*mellitus*) e anualmente cerca de 8% destas acabam morrendo devido a casos graves de hipoglicemia (SAWKA et al., 2007). A hipoglicemia noturna é um problema comum para as crianças e adolescentes com diabetes tipo 1 (PATTERSON et al., 2014). Estima-se que até 75% dos episódios de hipoglicemia que ocorrem a noite estão associados a coma ou convulsão e muitas vezes os sintomas não são fortes o suficiente para despertar o indivíduo. A exposição repetida a hipoglicemia noturna pode levar à diminuição de defesas fisiológicas contra episódios subsequentes de hipoglicemia e a mudanças comportamentais, aumentando o risco a longo prazo de experimentar coma ou convulsão associados à hipoglicemia, em qualquer período do dia ou da noite. Além disso, crianças com diabetes tipo 1 que experimentam hipoglicemia severa também correm um risco maior de sofrer deficiências neuropsicológicas do que aquelas que evitam tais episódios (AHMET et al., 2011).

O tratamento da hipoglicemia normalmente é feito através da administração de glicose ou glucagon. Porém, quando a hipoglicemia ocorre durante o sono, a capacidade de percepção desta condição encontra-se reduzida. Assim, medidas no sentido de prevenir ou reduzir a possibilidade de episódios de hipoglicemia noturna trariam benefícios não apenas ao diabético, mas às pessoas envolvidas no cuidado do paciente para as quais há preocupação com este aspecto negativo da insulinoterapia. Enquanto “um simples copo de água com açúcar” poderia debelar um episódio de hipoglicemia diurna, um procedimento semelhante, mesmo antes de dormir não teria nenhum efeito, considerando que a glicose ingerida por via oral é absorvida em poucos minutos. A Sociedade Brasileira de Diabetes recomenda o consumo de um lanche antes de dormir (ceia), que pode auxiliar na prevenção de hipoglicemia noturna. Os alimentos mais recomendados para este lanche devem conter carboidratos e proteínas (leite ou pão com queijo e presunto, por exemplo). Contudo, a ceia não evita por completo a ocorrência da hipoglicemia noturna pois sua eficácia varia de acordo com a sua composição e com o metabolismo do paciente.

Uma alternativa aos tratamentos convencionais pode ser o uso de sistemas de liberação modificada para administração de carboidratos durante a noite através da sua encapsulação. Esta tem sido aplicada tanto na indústria alimentícia (MADENE et al., 2006) quanto no caso de

fármacos (MUSTAFIN, 2011), sendo que a nano/microencapsulação é definida como um processo de empacotamento de pequenas partículas, aplicáveis em sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso chamado de recheio ou núcleo, envolvidos por um material de parede ou matriz. A substância encapsulada é isolada totalmente ou parcialmente, podendo liberar seu conteúdo sob taxas e condições específicas.

Uma vantagem da encapsulação é que o material do núcleo pode ser liberado de forma gradativa no sítio específico de ação e no momento adequado ou a partir da ocorrência de um certo evento. Esse conceito é denominado de liberação controlada, programada, sustentada, modificada, entre outras, podendo, portanto, referir-se ao controle do início da liberação ou da taxa de liberação. A liberação modificada é de grande interesse, pois liberam compostos ativos continuamente, em velocidades que são controladas o suficiente para fornecer períodos de ação terapêutica prolongada após cada administração de uma dose única (DE LYRA et al., 2007; KIM; LEE, 1992; PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007)

As micropartículas podem utilizar diversos materiais como agentes encapsulantes para seu revestimento, como os lipídicos (fosfolipídios, triacilgliceróis, ceras, ácidos graxos ou suas misturas). Os sistemas lipídicos de encapsulação em geral são eficientes no transporte de recheios hidrofílicos, contudo existe a necessidade de diminuir a cristalinidade intrínseca desses materiais. Isso pode ser conseguido pelo uso de lipídios líquidos, sendo um exemplo comum os triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico, que reduzem a cristalinidade do lipídio sólido, elevando a carga de recheio e evitando a sua expulsão durante estocagem (CAVALLI et al., 1999; CHAMBI et al., 2008; MÜLLER; RADTKE; WISSING, 2002; SILVA et al., 2003).

Alguns trabalhos tratam da encapsulação da glicose e sua liberação modificada. Kim et al. (KIM; MUKERJEA; ROBYT, 2010) avaliaram a liberação modificada em água de D-glicose contida no interior de grânulos de amido hidrolisados com glucoamilase e recobertos com um polímero hidrofóbico (Eudragit L100-55). A liberação foi mais lenta na proporção direta da quantidade de recobrimento dos grânulos, demonstrando que é possível retardar a saída da glicose dos grânulos. Contudo, apesar de ser biocompatível, o Eudragit L100-55 não é um composto biodegradável. A liberação controlada de glicose através de membranas de quitosana modificadas com 2-hidroxietyl metacrilato (HEMA) foi estudada por Singh e Ray (SINGH; RAY, 1999). Contudo, os autores utilizaram a glicose apenas como composto hidrofílico modelo. A

liberação de glicose em sistemas de emulsão foi avaliada por Ferreira et al. (1995). Os autores demonstraram a importância da morfologia do material resultante nas taxas de liberação. Chambi et al. (2008) avaliaram a eficiência de incorporação, morfologia, diâmetro médio e comportamento da glicose em micropartículas lipídicas sólidas produzidas por *spray chilling*, concluindo que matrizes de ácido esteárico/oleico foram mais eficientes na retenção e incorporação de glicose, superior a 75%.

É conhecido que o tamanho das cápsulas de onde a substância de interesse é liberada, é de suma importância na manutenção de uma liberação prolongada (WASHINGTON, 1990). A diminuição da granulometria de sólidos atingindo as escalas micro ou nanométrica tende a potencializar a atividade biológica de fármacos (RATNAM et al., 2006). Propriedades como solubilidade e dissolução também são melhoradas com a diminuição do tamanho médio dos sólidos (DEVALAPALLY; CHAKILAM; AMIJI, 2007). Como exemplo, a atividade antimicrobiana (BHAWANA et al., 2011) e antioxidante (YEN et al., 2010) da curcumina tende a aumentar consideravelmente com a diminuição do tamanho das partículas.

Contudo, o uso de microcristais de glicose por si só não deve ser eficiente como um sistema de liberação controlada. Estes devem ser encapsulados em uma matriz que o proteja da rápida absorção após a administração. O uso de matrizes lipídicas biocompatíveis tem sido investigado como uma forma de proteger o composto encapsulado e promover a sua liberação modificada (CHAMBI et al., 2008; DESAI; JIN PARK, 2005; MÜLLER; RADTKE; WISSING, 2002). Materiais biocompatíveis/biodegradáveis como a cera de carnaúba podem ser utilizados como encapsulantes tanto na indústria farmacêutica quanto alimentícia (LACERDA, 2009).

Em geral, a glicose é utilizada como modelo de composto hidrofílico no desenvolvimento de sistemas de encapsulação devido à facilidade de manuseio e quantificação bem como sua estabilidade (FERREIRA et al., 1995; SINGH; RAY, 1999). Contudo, existe a necessidade de avaliar a sua encapsulação em um sistema que tenha baixo custo e apresente alta eficiência de encapsulação. Nesta condição, na qual o paciente permanece com reduzida capacidade de percepção da hipoglicemia é possível criar uma importante ferramenta terapêutica visando evitar episódios de hipoglicemia noturna.

2. Objetivos e Metas

2.1 Objetivo geral

Obter cristais micrométricos de glicose e realizar sua encapsulação em matrizes lipídicas.

2.2 Objetivos específicos

- Utilizar a técnica de precipitação por adição de não solvente para obter microcristais de glicose;
- Avaliar o efeito de variáveis experimentais como concentração de glicose e forma de agitação na morfologia dos cristais;
- Encapsular os cristais em uma matriz lipídica sólida e avaliar a morfologia resultante;
- Avaliar a eficiência de encapsulação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

3. Métodos e Procedimentos

3.1 Material

Glicose anidra (96%, Sigma-Aldrich) foi utilizada como material a ser encapsulado. Água destilada e álcool etílico (99%, Dinâmica) foram utilizados na obtenção dos microcristais de glicose. Compritol (Brasquim, 2,3- dihidroxipropil éster ácido docosanóico) ($\geq 95\%$, Sigma-Aldrich) e Miglyol (ésteres de ácidos cáprico e caprílico) foram utilizados como matriz para a encapsulação da glicose. Água ultrapura foi utilizada como fase contínua nas análises por CLAE.

3.2 Obtenção dos microcristais de glicose

Para a obtenção dos cristais de glicose, foram dissolvidos 3 g de glicose em 10 mL de água destilada sob agitação magnética durante 1 minuto. Após isto, em um banho de gelo, foram adicionados 90 mL de álcool etílico sob agitação usando um dispersor do tipo Ultraturrax (IKA, modelo T25) a 10.000 rpm, durante 5 minutos.

A amostra foi centrifugada em tubos *falcon* (50 mL) durante 10 minutos a 6000 rpm, logo após, retirou-se o sobrenadante (água e etanol), adicionou-se mais 40 mL de etanol e centrifugou-se novamente durante 10 minutos. Por fim, a amostra foi seca em estufa a 40°C por 24 horas.

3.3 Encapsulação por dispersão a quente

Utilizou-se o método descrito por Müller et al. (MÜLLER; RADTKE; WISSING, 2002) com modificações. O lipídio sólido (compritol) foi derretido em um recipiente de vidro encamisado a 85°C. Após a fusão do lipídio sob leve agitação, foi adicionado o Miglyol. Passados 5 minutos sob agitação magnética, foram adicionados os microcristais de glicose. Após 10 minutos sob agitação magnética, a mistura fundida foi vertida em forma de silicone em banho de gelo para solidificação e a amostra armazenada sob refrigeração.

As amostras congeladas (-90°C) foram trituradas e classificadas granulometricamente com peneiras com diâmetros de corte de 300 e 106 micrômetros. As formulações utilizadas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Formulação utilizada na encapsulação da glicose.

Experimento	[Glicose] (g gli/g partícula)	Glicose (g)	Compritol (g)	Miglyol (g)
0103	0,3	1,50	2,80	0,70
0105	0,1	0,50	3,60	0,90
0205	0,5	2,50	2,00	0,50
0405	0,3	1,50	3,50	0,00
0305	0,5	2,50*	2,00	0,50

* Glicose antes da obtenção dos microcristais.

3.4 Caracterização

A caracterização morfológica foi realizada através de microscopia óptica (Alltion, modelo 200901883 acoplado a uma câmera fotográfica). O material foi congelado a -90°C e cortado a fim de expor seu interior.

Para a determinação da eficiência de encapsulação, as respectivas frações granulométricas (90 mg) foram adicionadas em erlenmeyer contendo água destilada (5 mL). Após 2 minutos, uma alíquota foi filtrada (Millipore, Nylon 0,45 µm) e acondicionadas em vials para a análise cromatográfica. O procedimento foi realizado em triplicata. A eficiência de encapsulação (EE%) foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$EE\% = 100 - \left(\frac{[glicose]_{\text{não encapsulado}}}{[glicose]_{\text{adicionada}}} 100 \right) \quad (1)$$

onde $[glicose]_{\text{não encapsulado}}$ foi determinada através da curva de calibração e $[glicose]_{\text{adicionada}}$ se refere à concentração de glicose total presente nas microcápsulas.

Para o ensaio de liberação modificada, as respectivas frações granulométricas (900 mg) foram adicionadas em erlenmeyer contendo água destilada (50 mL). A solução foi mantida em banho termostático a 37°C, enquanto alíquotas de 1,5 mL foram coletadas ao longo do tempo, sendo repostas a água destilada a fim de manter o volume total constante.

Tanto para a eficiência de encapsulação quanto para o ensaio de liberação modificada, a concentração de glicose foi determinada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em triplicata. As alíquotas foram filtradas em membrana de Nylon com porosidade de 0,45 µm (Millipore) e o volume de 10 µL (não diluído) foi injetado no cromatógrafo: Thermo Scientific Dionex (modelo UltiMate™ 3000, Bannockburn, IL, EUA) equipado com amostrador automático (Dionex, modelo WPS-3000TSL Analytical, Bannockburn, IL, EUA) operando a 40°C. A fase móvel previamente filtrada em membrana de 0,45 µm foi provida por uma bomba analítica quaternária (Dionex, modelo LPG-3400SD, Bannockburn, IL, EUA) em fluxo constante de 1,0 mL.min⁻¹ e composta por água ultrapura. A separação da glicose foi executada em uma coluna Nucleosil® 100-5 NH₂, fase amino, dimensões de 250x4,6mm, diâmetro de partícula de 5µm, equipada com uma pré-coluna Nucleosil® 100-5 NH₂, fase amino, dimensões de 4x3mm, diâmetro de partícula de 5µm, a 40°C no compartimento da coluna (Dionex, modelo TCC-3000SD, Bannockburn, IL, EUA). As corridas foram monitoradas com auxílio de um detector de índice de refração (Shodex RI 2300) e a glicose foi identificada pela comparação do tempo de retenção na amostra com a solução padrão.

A quantificação foi realizada utilizando uma curva de calibração de glicose na faixa de concentração esperada nas amostras e os resultados expressos em gramas do composto por mL de solução (mg. mL⁻¹). A curva foi obtida em triplicata e os valores médios foram utilizados.

4. Resultados e Discussão

4.1. Obtenção dos microcristais de glicose

Experimentos foram conduzidos a fim de determinar a melhor forma de obter os microcristais de glicose, com o objetivo de obter cristais micrométricos e não aglomerados (Tabela 1). O tempo de agitação foi mantido constante em 3 minutos. As imagens relativas à cada experimento e da glicose antes do procedimento de formação dos cristais são apresentadas na Figura 1 a 4.

Tabela 1. Experimentos para obtenção dos microcristais de glicose.

Experimento	Formulação	Agitação	Resultado qualitativo
1	3g glicose/10mL H ₂ O /90mL etanol	Agitação magnética a 50 rpm	Cristais grandes e aglomerados.
2	3g glicose/10mL H ₂ O /90mL etanol	Ultraturrax a 3.400 rpm	Cristais micrométricos, porém aglomerados.
3	3g glicose/10mL H ₂ O /90mL etanol	Ultraturrax a 10.000 rpm	Cristais micrométricos e não aglomerados.
4	1,5g glicose/10mL H ₂ O /90mL etanol	Ultraturrax a 10.000 rpm	Não ocorreu precipitação dos cristais.

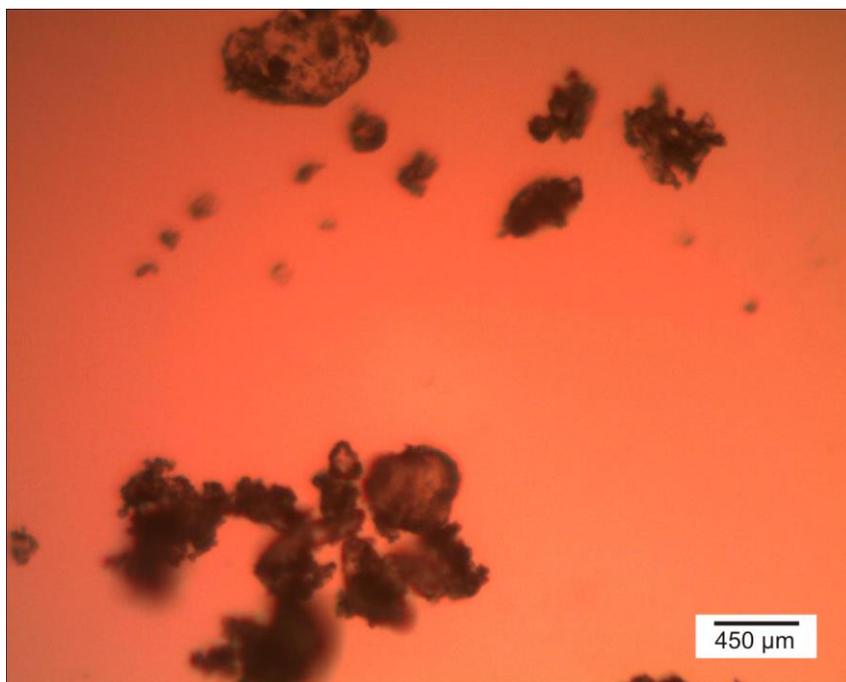


Figura 1. Glicose antes do procedimento de formação dos cristais.

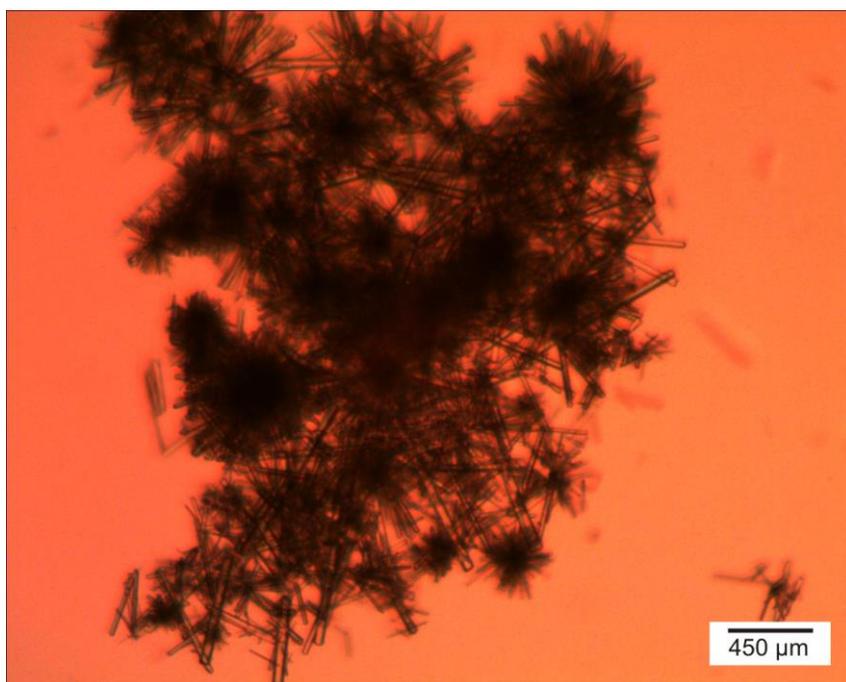


Figura 2. Cristais de glicose obtidos pelo Experimento 1 (3g glicose/10mL H₂O/90mL etanol; agitação magnética a 50 rpm).

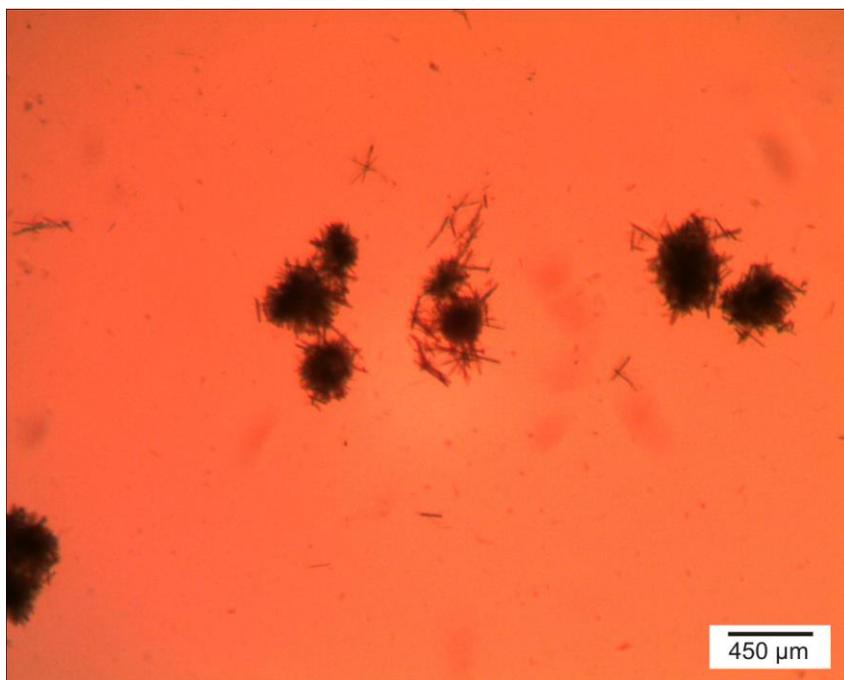


Figura 3. Cristais de glicose obtidos pelo Experimento 2 (3g glicose/10mL H₂O/90mL etanol; Ultraturrax a 3.400 rpm).

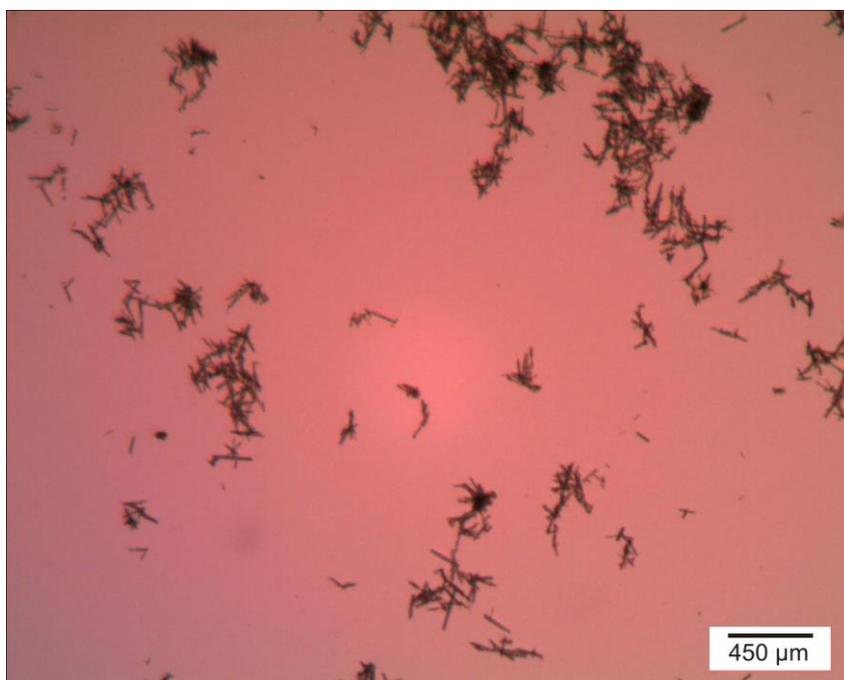


Figura 4. Cristais de glicose obtidos pelo Experimento 3 (3g glicose/10mL H₂O/90mL etanol; Ultraturrax a 10.000 rpm).

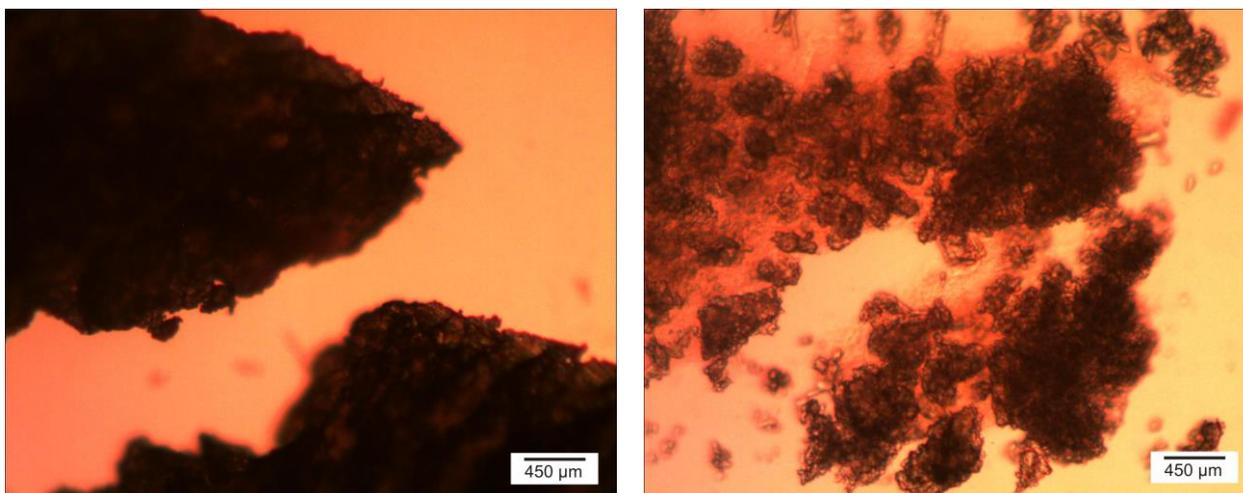
É possível observar que a forma como a agitação foi realizada influenciou a morfologia final dos cristais. A agitação magnética foi descartada devido ao tamanho dos cristais obtidos e

também porque os experimentos demonstraram ter pouca reprodutibilidade quando realizados em duplicata. O dispersor Ultraturrax se mostrou eficiente na dispersão dos cristais durante a sua precipitação, contudo a aglomeração foi evitada apenas para altas taxas de agitação (10.000 rpm). Uma quantidade menor de glicose foi avaliada, contudo não ocorreu precipitação de glicose, provavelmente devido à solubilidade, ainda que pequena, da glicose na mistura etanol/água.

Dessa forma, optou-se por utilizar o procedimento experimental correspondente ao Experimento 3 da Tabela 1, por levar a formação de cristais micrométricos, não aglomerados e de forma reprodutível.

4.2. Encapsulação dos microcristais de glicose

É necessário avaliar se os microcristais de glicose se encontram uniformemente distribuídos no interior da matriz lipídica, pois é provável que isso influencie uma possível aplicação do material (FERREIRA et al., 1995). Nas imagens de microscopia, contudo, não é possível distinguir entre o lipídio e a glicose, devido à falta de contraste das imagens (Figura 5a). Dessa forma, realizou-se a dissolução da matriz lipídica das microcápsulas pela adição de um solvente seletivo, ou seja, que dissolva apenas a fase lipídica mas não a glicose, como é o caso do clorofórmio. Uma pequena quantidade das microcápsulas (Formulação 0103, Tabela 1) foi colocada sobre uma lâmina de microscopia e, em seguida, uma gota de clorofórmio foi adicionada. Assim, rapidamente o lipídio foi dissolvido, expondo os microcristais de glicose, como pode ser observado na Figura 5b.



(a) antes da adição do solvente da matriz lipídica.

(b) depois da adição do solvente da matriz lipídica.

Figura 5. Microcápsulas lipídicas contendo microcristais de glicose antes e depois da adição de clorofórmio.

Dessa forma, foi possível observar que os cristais sofreram aglomeração provavelmente durante a secagem na estufa, formando grânulos maiores que os cristais originais. Mesmo assim, estes se encontram uniformemente distribuídos na matriz lipídica.

A curva de calibração de glicose obtida por CLAE é apresentada na Figura 6. Nas Figuras 7 e 8 são apresentadas a eficiência de encapsulação em relação ao tamanho das microcápsulas e à quantidade de glicose adicionada, respectivamente. A liberação de glicose em água destilada é apresentada na Figura 9.

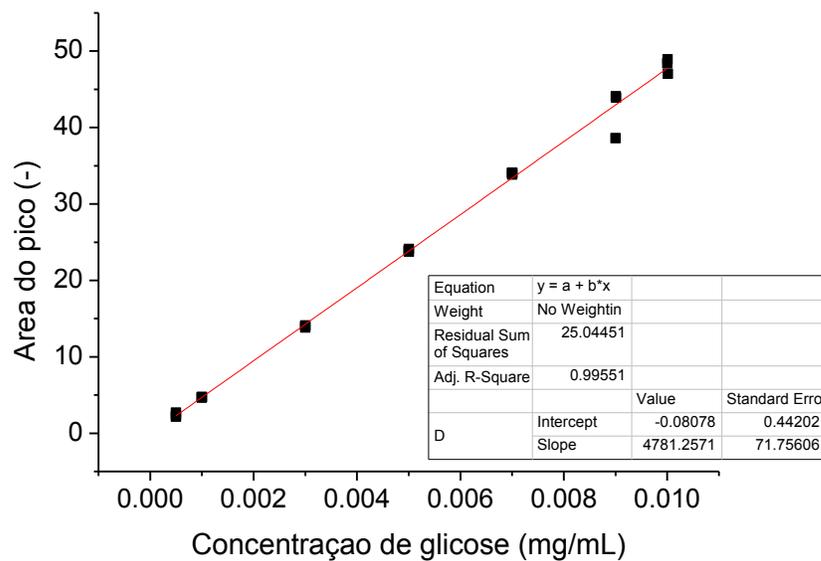


Figura 6. Curva de calibração obtida para a concentração de glicose por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (triplicata).

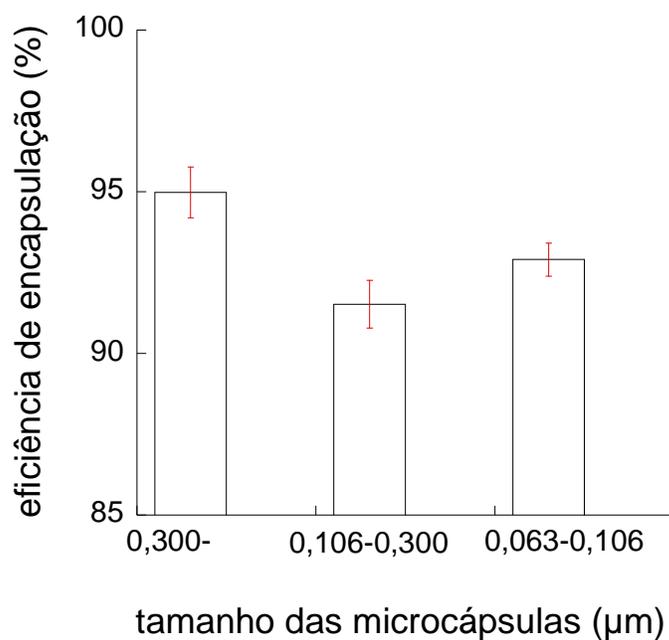


Figura 7. Influência do tamanho das microcápsulas na eficiência de encapsulação da glicose (Experimento 0103, Tabela 1).

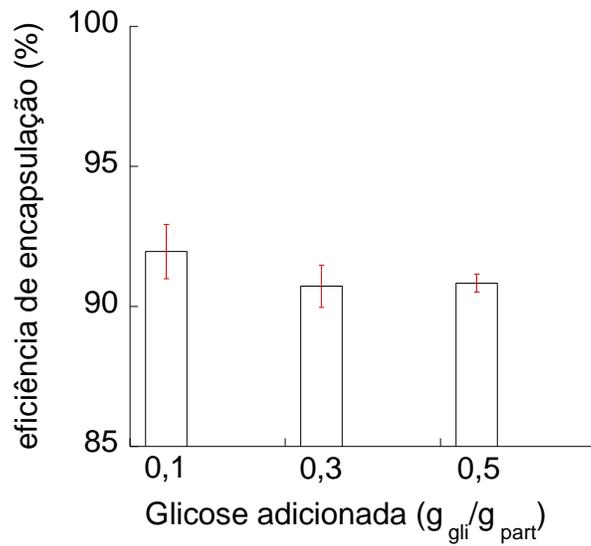


Figura 8. Influência da concentração de glicose adicionada na eficiência de encapsulação da glicose (Experimentos 0105, 0405, 0205, Tabela 1; tamanhos das microcápsulas entre 106 e 300 μm).

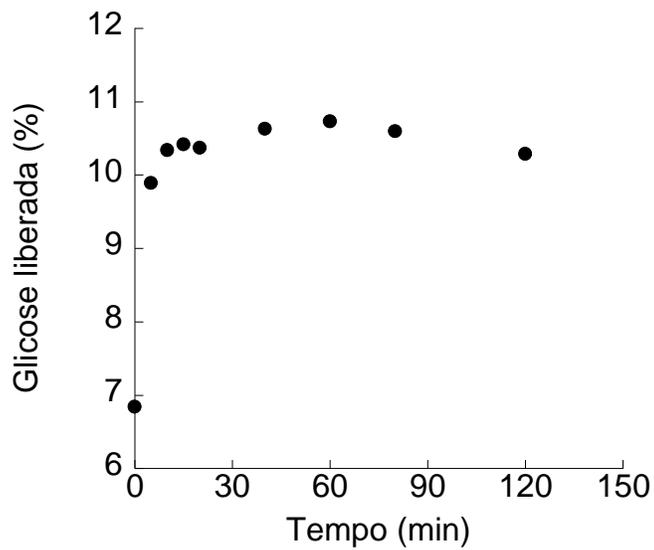


Figura 9. Liberação de glicose das microcápsulas ao longo do tempo em água destilada (Experimento 0103, Tabela 1, tamanhos das microcápsulas entre 106 e 300 μm).

A relação entre a área do pico cromatográfico e a concentração de glicose se mostrou linear dentro das concentrações de 0,01 a 0,005 g_{glicose}/mL. A curva de calibração obtida foi $\text{Área} = 4.781,257 * [\text{glicose}] - 0,081$, com coeficiente de correlação ajustado de 0,99557.

A eficiência de encapsulação diminuiu com a diminuição do tamanho das microcápsulas. Durante a moagem do material ocorre exposição da glicose que inicialmente se encontrava no interior da matriz lipídica, devido ao aumento da área superficial todas das microcápsulas. Quanto menor o tamanho médio destas, maior a área superficial total, levando à maior exposição dos microcristais de glicose e, conseqüentemente, maiores perdas da glicose encapsulada (DEVALAPALLY; CHAKILAM; AMIJI, 2007; WASHINGTON, 1990). Em relação ao teor de glicose adicionada na formulação das microcápsulas, esta não apresentou influência sobre eficiência de encapsulação (Figura 8), demonstrando que o processo de encapsulação, devido à sua simplicidade, é robusto e permite a encapsulação de diferentes teores de glicose sem prejuízo da eficiência (CHAMBI et al., 2008).

Pela análise da Figura 9 e comparação com os dados de eficiência de encapsulação se conclui que não houve liberação da glicose encapsulada ao longo do tempo, apenas dissolução da glicose não encapsulada, mesmo após duas horas em água destilada. Isso pode ser explicado considerando que os cristais de glicose, apesar de possuírem tamanho micrométrico, possuem pouca mobilidade na matriz sólida lipídica, impedindo sua difusão para o exterior das microcápsulas. Esse resultado sugere que, na ocasião da ingestão dessas microcápsulas, a liberação da glicose deve ocorrer por erosão da matriz lipídica causada pelas enzimas do sistema digestivo.

5. Conclusões e trabalhos futuros

Glicose foi modificada pela técnica de precipitação em não solvente obtendo-se cristais de tamanhos micrométricos. Altas taxas de agitação levaram à formação de cristais não aglomerados e de morfologia uniforme. Estes foram encapsulados em uma matriz lipídica biocompatível, sendo que a eficiência de encapsulação foi superior a 90% em todas as condições experimentais avaliadas. A moagem do material levou à perda de parte da glicose devido ao aumento da área superficial das microcápsulas com a diminuição do tamanho médio. Quanto menor o tamanho médio, menor a quantidade de glicose efetivamente encapsulada. A concentração de glicose adicionada na formulação não apresentou influência significativa sobre a eficiência de encapsulação.

Os resultados aqui apresentados indicam que esse é um sistema promissor para a encapsulação da glicose. É preciso investigar mais a fundo a sua liberação do interior da matriz lipídica pela adição de uma lipase hidrossolúvel no meio de liberação, por exemplo. Também é possível realizar estudos *in vivo* a fim de verificar se os níveis glicêmicos serão afetados pela liberação mais lenta da glicose.

6. Referências Bibliográficas

AHMET, A. et al. Prevalence of nocturnal hypoglycemia in pediatric type 1 diabetes: a pilot study using continuous glucose monitoring. **The Journal of pediatrics**, v. 159, n. 2, p. 297–302.e1, ago. 2011.

BHAWANA et al. Curcumin nanoparticles: preparation, characterization, and antimicrobial study. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 5, p. 2056–61, 9 mar. 2011.

CAVALLI, R. et al. Solid lipid nanoparticles as carriers of hydrocortisone and progesterone complexes with β -cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 182, n. 1, p. 59–69, 1999.

CHAMBI, H. N. M. et al. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterisation and release profiles. **Food Research International**, v. 41, n. 3, p. 229–236, jan. 2008.

DE LYRA, M. A M. et al. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 784–793, 2007.

DESAI, K. G. H.; JIN PARK, H. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. **Drying Technology**, v. 23, n. 7, p. 1361–1394, jul. 2005.

DEVALAPALLY, H.; CHAKILAM, A.; AMIJI, M. M. Role of nanotechnology in pharmaceutical product development. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 96, n. 10, p. 2547–65, out. 2007.

FERREIRA, L. A. M. et al. Vehicle influence on in vitro release of glucose : w/o , w/o/w and o/w systems compared. **Journal of Controlled Release**, v. 33, p. 349–356, 1995.

KIM, C. K.; LEE, E. J. The controlled release of blue dextran from alginate beads. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 79, n. 1, p. 11–19, 1992.

KIM, Y.-K.; MUKERJEA, R.; ROBYT, J. F. Controlled release of D-glucose from starch granules containing 29% free D-glucose and Eudragit L100-55 as a binding and coating agent. **Carbohydrate research**, v. 345, n. 8, p. 1065–7, maio 2010.

LACERDA, S. D. P. **Carreador Lipídico Nanoestruturado à Base de Cera de Carnaúba: Desenvolvimento, Caracterização e uso na Encapsulação de Benzofenona-3.** [s.l.: s.n.].

MADENE, A. et al. Flavour encapsulation and controlled release - a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 1–21, jan. 2006.

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. **International journal of pharmaceutics**, v. 242, n. 1-2, p. 121–8, ago. 2002.

MUSTAFIN, R. I. Drug synthesis methods and manufacturing technology - Interpolymer combinations of chemically complementary grades of Eudragit copolymers : a new direction in the design of peroral solid dosage forms of drug delivery systems with controlled release (revie. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 45, n. 5, p. 285–295, 2011.

PATTERSON, C. et al. Diabetes in the young - a global view and worldwide estimates of numbers of children with type 1 diabetes. **Diabetes research and clinical practice**, v. 103, n. 2, p. 161–75, fev. 2014.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, 2007.

RATNAM, D. V. et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society**, v. 113, n. 3, p. 189–207, jul. 2006.

SAWKA, A. M. et al. Low Socioeconomic Status and Increased Risk of Severe Hypoglycemia in Type 1 Diabetes: A Systematic Literature Review. **Canadian Journal of Diabetes**, v. 31, n. 3, p. 233–241, jan. 2007.

SILVA, C. et al. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 1, p. 1–20, 2003.

SINGH, D. K.; RAY, A. R. Controlled release of glucose through modified chitosan membranes. **Journal of membrane science**, v. 155, p. 107–112, 1999.

WASHINGTON, C. Drug release from microdisperse systems: a critical review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 58, n. 1, p. 1–12, jan. 1990.

YEN, F.-L. et al. Curcumin nanoparticles improve the physicochemical properties of curcumin and effectively enhance its antioxidant and antihepatoma activities. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 12, p. 7376–82, 23 jun. 2010.