

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI SALERNO

Dipartimento di ingegneria industriale

Corso di Dottorato di Ricerca in Ingegneria Chimica

X Ciclo – Nuova serie

TESI DI DOTTORATO

**NANOINCAPSULAMENTO DI COMPOSTI BIOATTIVI PER
APPLICAZIONI ALIMENTARI**

Abstract

Negli ultimi anni l'aumento delle malattie legate all'alimentazione, come l'obesità, le malattie cardiovascolari, l'ipertensione, il diabete e il cancro, hanno promosso lo sviluppo di alimenti con effetti benefici per la salute. Studi clinici hanno dimostrato tangibili benefici per la salute derivanti dal consumo di composti bioattivi. Tuttavia, molte difficoltà sono associate con la loro incorporazione in matrici alimentari, a causa di una solubilità molto bassa in acqua e una rapida degradazione a causa di condizioni ambientali ostili, una volta estratti dai tessuti vegetali. Inoltre, la scarsa solubilità significa anche un minore assorbimento nel tratto gastrointestinale e, quindi, una limitata biodisponibilità. Nell'industria alimentare si è reso evidente la necessità di sviluppare sistemi di veicolazione in grado di incapsulare, proteggere e rilasciare i composti bioattivi per la produzione di alimenti funzionali.

Questa tesi è stata indirizzata allo studio e alla progettazione di sistemi di nanoincapsulamento, soprattutto nanoemulsioni e nanoparticelle lipidiche solide, in grado di: a) proteggere i composti bioattivi incapsulati dall'interazione con gli ingredienti dell'alimento, mantenendo le loro proprietà funzionali e prevenendo il deterioramento del cibo stesso, b) ridurre l'impatto sulle proprietà organolettiche dei prodotti alimentari e c) migliorare l'assorbimento e la biodisponibilità dei composti bioattivi, a causa delle dimensioni subcellulari delle nanocapsule, migliorando i meccanismi di trasporto passivi (grazie ad un gradiente di concentrazione) attraverso la parete intestinale.

L'attività di ricerca ha contribuito al progresso della conoscenza nel campo della scienza dei colloidali, attraverso lo studio degli effetti della formulazione e dei parametri di processo che influenzano la produzione delle nanoemulsioni, nonché una migliore comprensione degli aspetti tecnologici e biologici dell'incorporazione dei composti nanoincapsulati nelle matrici alimentari.

Tre diverse classi di composti bioattivi sono stati scelti come sistemi modello durante il lavoro sperimentale, in particolare curcumina, resveratrolo e oli essenziali. Sia la curcumina che il resveratrolo sono composti antiossidanti con scarsa solubilità sia in fase acquosa che in quella lipidica e che richiedono, quindi, lo sviluppo di formulazioni specifiche. Al contrario, gli oli essenziali possono essere facilmente miscelati con una fase lipidica, ma è necessaria la loro diffusione attraverso la fase acquosa per attaccare la membrana cellulare dei microrganismi e agire come composti antimicrobici.

Pertanto, nuove formulazioni sono state sviluppate utilizzando una combinazione di emulsionanti idrofilici (sucrestere, lecitina di soia disoleata, polisorbato 20) e lipofili (lecitina di soia, glicerolo monooleato) per incapsulare il resveratrolo in goccioline di olio di arachidi e disperderle successivamente in un sistema acquoso ad una concentrazione di 100 mg/L, dieci volte superiore alla concentrazione terapeutica nel sangue. Allo stesso modo, la curcumina è stata incapsulata in particelle lipidiche solide, impiegando acido stearico come fase lipidica, ad una concentrazione massima pari a 1600 volte la solubilità della curcumina in acqua (0,6 mg/L).

Una volta che la formulazione è stata definita, il problema della produzione delle nanocapsule è stato affrontato da un punto di vista fondamentale. In particolare, è stata studiata la produzione di nanoemulsioni

alimentari tramite un processo di omogeneizzazione ad alta pressione (HPH), concentrandosi sull'effetto del tipo e della concentrazione di emulsionante, nonché della geometria della camera di omogeneizzazione sulle dimensioni delle goccioline. I risultati riportati hanno dimostrato che i parametri cinetici del processo di emulsificazione possono essere principalmente correlati con le proprietà interfacciali e dinamiche degli emulsionanti, mentre il regime fluido-dinamico indotto nella camera di omogeneizzazione contribuisce solo in misura minore. Tuttavia, la corretta progettazione della camera di omogeneizzazione può aiutare ad ottenere condizioni fluidodinamiche uniformi, che assicurano una distribuzione granulometrica delle particelle monodispersa.

Le problematiche relative alla stabilità fisico-chimica dei composti bioattivi nanoincapsulati sono state affrontate per il resveratrolo e la curcumina, cercando di migliorare la formulazione sulla base degli input derivanti da studi di invecchiamento accelerato, che potrebbero simulare i processi dell'industria alimentare e la shelf life del prodotto finale. I risultati ottenuti hanno dimostrato che le nanoemulsioni a base di lecitina di soia/sucrestere e glicerolo monooleato/Tween 20 riescono meglio ad incapsulare il resveratrolo nella matrice lipidica, proteggendolo sia in fase di invecchiamento accelerato che durante la digestione gastro-intestinale, promuovendo un rilascio prolungato. Inoltre, queste formulazioni, aventi un minore diametro medio delle goccioline (inferiore a 200 nm), rimangono fisicamente stabili anche dopo il processo di digestione, permettendo al resveratrolo di raggiungere la parete intestinale rimanendo intrappolato nelle goccioline lipidiche.

Le formulazioni messe a punto, grazie alla dimensione subcellulare e ad una compatibilità con le membrane cellulari, favoriscono una maggiore permeabilità attraverso la parete intestinale, che è stata simulata studiando il trasporto attraverso un monolayer di cellule Caco-2 coltivate su supporti permeabili. Generalmente, la permeabilità apparente della maggior parte dei composti rientra in un intervallo di 1×10^{-7} cm/s (composto scarsamente trasportato) a 1×10^{-5} cm/s (composto ben trasportato). La permeabilità apparente del resveratrolo incapsulato in diverse nanoemulsioni è risultata essere sempre nell'intervallo indicato, dimostrando che il nanoincapsulamento può migliorare i meccanismi di trasporto passivo. In particolare, la formulazione a base di lecitina di soia/sucrestere ha una permeabilità maggiore a causa della presenza della lecitina di soia, che, avendo una struttura simile allo strato fosfolipidico della membrana cellulare, favorisce l'assorbimento e l'intrappolamento delle goccioline nei microvilli e il loro conseguente trasporto attraverso la membrana cellulare.

Un altro notevole risultato di questa tesi di dottorato è che è stato studiato, per la prima volta, l'effetto dei sistemi di incapsulamento sull'attività antiossidante dei composti bioattivi, utilizzando un approccio biologico integrato con i saggi chimici classici. In particolare, è stato messo a punto un saggio antiossidante cellulare, che ha permesso di misurare esclusivamente l'attività antiossidante del composto bioattivo nanoincapsulato penetrato all'interno delle cellule Caco-2, fornendo informazioni preziose sulla combinazione della promozione del trasferimento di massa e la protezione dei sistemi di veicolazione. Infine, è stata studiata da un punto di vista tecnologico l'incorporazione di oli essenziali nanoincapsulati in succhi di frutta, avendo come obiettivo la progettazione di sistemi in grado di migliorare l'attività antimicrobica dei composti bioattivi, riducendo al minimo l'impatto sulle proprietà organolettiche del prodotto finale. I risultati hanno dimostrato che, a causa della maggiore attività antimicrobica degli oli essenziali nanoincapsulati, sono necessarie minori concentrazioni di antimicrobici per un'azione battericida con una minima alterazione delle proprietà organolettiche del succo.

Tutor

Prof. Giovanna Ferrari

Dottorando

Mariarenata Sessa

Comitato scientifico

Dr. Ing. Francesco Donsì

Dr. Rong Cao

Coordinatore di dottorato

Prof. Paolo Ciambelli