

EXTRAÇÃO E ENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NA AMORA PRETA CULTIVAR GUARANI

NARALICE HARTWIG¹; CLEONICE GONÇALVES ROSA²; JOSIANE KUHN RUTZ³; FERNANDA DORING KRUMREICH⁴; CAROLINE DELLINGHAUSEN BORGES⁵; RUI CARLOS ZAMBIAZI⁵

¹UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS- naralicehartwig@hotmail.com

²UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA- cleorosaqm@yahoo.com.br-

³UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS Josianekr@gmail.com

⁴UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS nandaalimentos@gmail.com

⁵UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS- caroldellin@bol.com.br zambiaz@gmail.com

1.INTRODUÇÃO

A amora-preta ("blackberry") pertence ao gênero *Rubus*, que contém aproximadamente 740 espécies. A amoreira-preta (*Rubus* sp.) é uma espécie arbustiva de porte ereto ou rasteiro, nativa da Ásia, Europa e América. Seus frutos possuem cerca de quatro a sete gramas, de coloração negra e sabor ácido a doce-ácido (HIRSCH et al., 2012). As frutas contêm em torno de 85% de água, 10% de carboidratos, minerais, vitaminas do complexo B, A e C, além de serem fonte de compostos bioativos, dentre os quais destacam-se os compostos fenólicos (MOTA, 2006).

Os polifenóis apresentam uma estrutura química que possibilita a ligação com radicais livres, por apresentarem hidroxilas nos anéis das estruturas fenólicas que são propensas a doar um átomo de hidrogênio ou um elétron para o radical livre, sendo assim, capazes de agir como antioxidantes. Os polifenóis contribuem para o benefício da saúde e são classificadas como flavonoides e não flavonoides, de acordo com sua estrutura química (Jacques et al., 2010).

No entanto, estes compostos apresentam alta instabilidade quando expostos a luz, oxigênio e altas temperaturas; portanto, uma forma de manter a estabilidade dos polifenóis durante o processamento e estocagem de alimentos consiste na microencapsulação. A liofilização vem-se destacando como uma das técnicas mais eficientes para encapsular fitoquímicos, em função da baixa temperatura de processamento, porém a eficiência do método também é dependente do revestimento utilizado (Gouin, 2004).

Na microencapsulação podem ser utilizados diversos tipos de materiais de parede, dentre os quais destacam-se os carboidratos. A β -ciclodextrina e a quitosana têm sido utilizadas para microencapsular compostos extraídos de plantas. A xantana já foi utilizada como encapsulante no revestimento de aromas (Secouard, Grisel, & Malhiac, 2007), fármacos (Talukdar et al., 1998) e micro-organismos (Papagianni & Anastasiadou, 2009). Uma alternativa para alterar as propriedades químicas e físicas de um revestimento é promover a formação do hidrogel entre a xantana e a quitosana.

Sendo assim, este trabalho teve por objetivo realizar a microencapsulação do extrato fenólico de amora preta cv. Guarani nas matrizes de β -ciclodextrina,

quitosana, xantana e hidrogel (xantana-quitosana), e avaliar a atividade antioxidante do extrato e das microcápsulas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do extrato

A obtenção do extrato de amora-preta cultivar Guarani foi realizada de acordo com o método descrito por Häkkinen, Karenlampi, & Heinonen (1998), com algumas modificações. Em torno de 5 g do fruto foi macerado e o extrato extraído com solução de metanol acidificado (1,2 M), por um período de 24 h na ausência de luminosidade à temperatura ambiente. O sobrenadante foi concentrado em rotaevaporador, por 40 min a 35 °C até obtenção de pó em atmosfera de vácuo.

Encapsulação

As microcápsulas foram preparadas na presença do EF/ β -CDS, EF/Q, EF/X e EF/H, pelo método de liofilização, como descrito por Pralhad & Rajendrakumar (2004) e por Wang, Cao, Sun, & Wang (2011), com algumas modificações. A encapsulação foi realizada com 0,003 mol do polímero e a mesma proporção do extrato metanólico em massa, ambos diluídos em 50 mL de água. A mistura foi agitada por 5 h à temperatura ambiente e posteriormente deixada em repouso por 12 h. A solução foi congelada a -80°C por 24 h, com posterior liofilização em equipamento LIOBRAS L101, até a obtenção de pó.

Medida da eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi determinada como descrito por Sansone et al. (2011). Aliquotas de 10 mg de cada uma das microcápsulas foram dissolvidos em 4 mL de metanol (MeOH), sonicadas durante 5 min, centrifugadas durante 10 min a 3000 rpm.

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos compostos presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), de acordo com o método descrito por Brand-Willians, Cuvelier e Berser (1995), com pequenas modificações. Utilizou-se 1 mg do extrato ou cápsula foi suspensa em 1 mL de álcool metílico e submetido a centrifugação a 900 rpm por 10 min. Após, 100 μ L do sobrenadante foram adicionados a 3,9 mL da solução de DPPH. Após 24 h foram realizadas leituras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm, sendo os resultados expressos em percentual de inibição do radical DPPH.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos de amora-preta foi dependente do revestimento utilizado. Apenas na matriz de β -Ciclodextrina ocorreu a encapsulação de todos os compostos fenólicos inicialmente identificados no extrato, que foram o ácido gálico (3,4 mg.g⁻¹), ácido *p* hidroxibenzóico (11,1 mg.g⁻¹) e epicatequina (3,2 mg.g⁻¹), entretanto de forma equitativa somente para o ácido gálico e epicatequina.

A utilização do revestimento de Quitosana propiciou a encapsulação somente do ácido gálico e da epicatequina, sendo capaz de encapsular mais eficientemente ácido gálico quando comparado aos outros revestimentos utilizados. Já as cápsulas de Xantana apresentaram um comportamento semelhante de encapsulação para ambos os compostos. As cápsulas de Hidrogel de xantana e quitosana apresentaram capacidade de encapsular a catequina em maior concentração que o ácido gálico.

Kalogeropoulos et al. (2010), ao analisarem a eficiência de encapsulação do extrato fenólico bruto de *Hypericum perforatum* (erva de São João), na presença de β -Ciclodextrina, também constataram que a eficiência foi dependente do tipo de composto encapsulado.

Tabela 1 - Eficiência de encapsulação e atividade antioxidante pelo método DPPH.

| Amostras | Eficiência de encapsulação (%) | | | Percentual de Inibição (%) |
|-----------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Ácido Gálico | Epicatequina | Ácido β -hidroxibenzoico | |
| Extrato puro | | | | 93.07 \pm 1.9 ^a |
| Extrato/ β -CDS | 52 \pm 1.4 ^{cd} | 51.5 \pm 5.0 ^a | 14.5 \pm 2.2 | 84.43 \pm 3.5 ^{bc} |
| Extrato/C | 75.5 \pm 5.0 ^a | 24.5 \pm 3.5 ^b | 0 | 80.38 \pm 3.5 ^{cd} |
| Extrato/X | 46.5 \pm 3.5 ^d | 48.5 \pm 2.1 ^a | 0 | 90.75 \pm 0.09 ^{bc} |
| Extrato/H | 66 \pm 4.2 ^{bc} | 41.0 \pm 2.8 ^a | 0 | 70.21 \pm 2.05 ^c |

Letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes (P < 0.05). Os resultados são expressos como médias de três determinações \pm desvio padrão.

A microencapsulação do extrato fenólico de amora-preta realizada na presença do polímero Xantana apresentou o maior percentual de inibição (90,75%), porém não diferiu significativamente do valor obtido com a matriz β -Ciclodextrina (84,43%). Com isto, pode-se relacionar a atividade antioxidante com a presença equitativa dos compostos fenólicos, ácido gálico e da epicatequina, conforme resultados de eficiência de encapsulação.

Sugere-se que a diferença de atividade antioxidante entre o extrato e as microcápsulas seja devido a extração incompleta dos compostos fenólicos encapsulados e também devido as interações estruturais, o que contribui para uma menor atividade antioxidante.

Weerakody et al. (2008), ao microencapsular o antioxidante ácido lipoico na presença de matrizes de quitosana, observou que o ácido lipoico apresentou um percentual de inibição de 26%, enquanto que as microcápsulas apresentaram um percentual de inibição de 20%.

4. CONCLUSÃO

A eficiência de encapsulação foi dependente do composto fenólico encapsulado e do revestimento utilizado. A maior atividade antioxidante foi relacionada à presença equitativa dos compostos fenólicos, ácido gálico e da epicatequina, nas microcápsulas revestidas com β -Ciclodextrina e Xantana.

5. REFERÊNCIAS

- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSER, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant. **Lebensm-Wiss Technologic**, v. 28, p.25-30, 1995.
- DEGÁSPARI, C. H. WASZCZYNSKYJ, N. PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DE COMPOSTOS FENÓLICOS. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, Jan.- Jun./2004.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, 15, 330–347, 2004.
- HÄKKINEN, S. H.; KÄRENLAMPI, S. O.; HEINONEN, M.; MYKKANEN, M.; TORRONEN, A. R. HPLC Method for screening of flavonoids and phenolic acids in berries. **Journal Science Food Agricultural**, v.77, p. 543-551, 1998.
- HIRSCH, G. E; FACCO, E. M. P; RODRIGUES, D. B; VIZZOTTO, M; EMANUELLI, T; Caracterização físico-química de variedades de amora-preta da região sul do Brasil **Cienc. Rural** vol.42 no.5 Santa Maria May 2012 Epub May 22, 2012.
- JACQUES, A. C., PERTUZATTI, P. B., BARCIA, M. T., ZAMBIAZI, R. C., CHIM, J. F. Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*rubus fruticosus*) cv.tupy. **Química Nova**, v. 33, p. 1720-1725, 2010.
- JACQUES, A. C; ZAMBIAZI, R. C; Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus* spp). Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 245-260, jan./mar. 2011.
- KALOGEROPOULOS, N., YANNAKOPOULOU, K., GIOXARI, A., CHIOU, A., MAKRIS, D. P. Polyphenol characterization and encapsulation in β -cyclodextrin of a flavonoid-rich *Hypericum perforatum* (St John's wort) extract. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 882–889, 2010.
- MOTA, R.V. CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DE GELÉIA DE AMORA-
- PAPAGIANNI, M., ANASTASIADOU, S. Encapsulation of *Pediococcus acidilactici* cells in corn and olive oil microcapsules emulsified by peptides and stabilized with xanthan in oil-in-water emulsions: Studies on cell viability under gastro-intestinal simulating conditions. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, p. 514–522, 2009.
- Pralhad, T., & Rajendrakumar, K. (2004). Study of freeze-dried quercetin–cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 34, 333–339.
- PRETA **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(3): 539-543, jul.-set. 2006.
- SANSONE, F., PICERNO, P., MENCHERINI, T., VILLECCO, F., D'URSI, A. M., AQUINO, R. P., & LAURO, M. R. Flavonoid microparticles by spray-drying: Influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 188–196, 2011.
- SECOUARD, S., GRISEL, M., MALHIAC, C. Flavour release study as a way to explain xanthan–galactomannan interactions. **Food Hydrocolloids**, v. 2, p. 1237-1244, 2007.
- TALUKDAR, M. M., VAN DEN MOOTER, G., AUGUSTIJNS, P., TJANDRAMAGA, T., VERBEKE, N., KINGET. R. In vivo evaluation of xanthan gum as a potential excipient for oral controlled-release matrix tablet formulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 169, p. 105–113, 2008.