Comparação das propriedades da berberina nanoencapsulada com a curcumina

Comparison between the properties of nanoencapsulated berberine and curcumin

RESUMO

Bruna Franzon Rossi
brunarossi@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Fernanda Vitória Leimann
fernandaleimann@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Odinei Hess Gonçalves
odinei@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

A berberina é um alcalóide natural presente nas raízes e rizomas de várias plantas que está associada a efeitos benéficos a saúde. A curcumina é um composto fenólico presente nas raízes do açafrão, que assim como a berberina, está ligada à benefícios na saúde devido a sua capacidade anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante, além do mais, pode atuar como corante amarelo natural em alimentos. No entanto, a ingestão ou uso desses compostos bioativos por si só não possuem tanta eficácia, tendo-se que recorrer a técnica de nanoencapsulação por dispersão sólida utilizando-se o surfactante Poloxamer 407 como encapsulante. O objetivo do presente trabalho foi comparar as propriedades tecnológicas da curcumina e berberina nanoencapsuladas. Após as análises de caracterização das nanopartículas, a curcumina foi selecionada para formulação de gelatina comestível como comparativo para o corante sintético tartrazina, que vem sendo associado a efeitos adversos a saúde. As gelatinas foram avaliadas e comparadas sensorialmente, além da realização das análises de textura e cor para a caracterização das mesmas.

PALAVRAS-CHAVE: Nanoencapsulação. Gelatinas. Tartrazina.

ABSTRACT

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

Berberine is a natural alkaloid present in the roots and rhizomes of various plants that is associated with beneficial health effects. Curcumin is a phenolic compound present in the roots of turmeric, which, like berberine, is linked to health benefits due to its anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant capacity, moreover, it can act as a natural yellow dye in foods. However, the ingestion or use of these bioactive compounds alone are not as effective, having to resort to the solid dispersion nanoencapsulation technique using the Poloxamer 407 surfactant as an encapsulant. The objective of the present work was to compare the technological properties of nanoencapsulated curcumin and berberine. After the characterization analyzes of the nanoparticles, curcumin was selected for edible gelatin formulation as a comparison to the synthetic dye tartrazine, which has been associated with adverse health effects. The gelatins were evaluated and compared sensorially, in addition to the analysis of texture and color for their characterization.

KEYWORDS: Nanoencapsulation. Gelatin. Tartrazine.

INTRODUÇÃO

A berberina é um alcalóide natural existente em rizomas e raízes de várias plantas. Foi inicialmente utilizado como agente detoxificante e anti-inflamatório na medicina chinesa. A curcumina é um composto fenólico presente naturalmente nas raízes do açafrão. Além do uso como corante alimentício, estudos demonstram que a curcumina tem poder anti-inflamatório, atividade antioxidante e antimicrobiana. No entanto, o uso da curcumina por si só não possui tanta eficácia, devido a sua baixa solubilidade e biodisponibilidade, provocando uma baixa absorção e eliminação rápida (RAUF et al., 2018).

Uma alternativa para contornar a baixa eficácia do uso desses compostos puros é a utilização da nanoencapsulação por dispersão sólida, utilizando-se Poloxamer 407 como encapsulante. Após a caracterização e comparação dos dois bioativos nanoencapsulados e a verificação de que a curcumina apresenta mais vantagens na aplicação em alimentos, foram produzidas gelatinas contendo nanopartículas de curcumina atuando como corante amarelo.

O corante amarelo sintético comumente utilizado pela indústria alimentícia é o amarelo tartrazina, no entanto, o aditivo vem sendo associado a efeitos negativos a saúde, com isso, aumenta o interesse por alternativas naturais na aplicação dos produtos. As gelatinas foram analisadas sensorialmente pelos alunos e professores, levando-se em consideração os efeitos na saúde de cada um dos corantes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Na obtenção das nanopartículas de curcumina e berberina foi usada a técnica de dispersão sólida. Tween 80 (0,036g) foi solubilizado em etanol (150 ml) com o auxílio de agitação magnética a 50°C. O encapsulante (Poloxamer 407), foi diluído durante a agitação. O composto bioativo (0,360g) - curcumina comercial ou berberina - foram adicionados à mistura que recebeu banho de ultrassom (Fisher Scientific) por 3 minutos (30 segundos ligado e 10 segundos desligado). A dispersão resultante foi evaporada em estufa com circulação e renovação de ar. As amostras secas foram refrigeradas e protegidas da luz.

Para avaliar o estado físico dos bioativos puros e das nanopartículas foi empregada a análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC, Perkin Elmer 4000). Para a constatação da existência de possíveis interações químicas entre os reagentes utilizados na obtenção das nanopartículas foi realizada análise de Espectroscopia no Infravermelho por Transmissão de Fourier (FTIR, Shimadzu-IRAffinity-1). Para a base das produções das pastilhas, utilizou-se brometo de potássio (KBr).

Gelatinas foram formuladas utilizando-se os diferentes corantes: nanopartículas de curcumina, tartrazina, curcumina comercial e uma formulação sem corante. Para a caracterização da gelatina, realizou-se uma análise mecânica com um texturômetro (Stable Micro Systems, TA.XT Express). Foram analisadas amostras de cada formulação e os parâmetros avaliados foram dureza, adesividade, elasticidade, mastigabilidade, gomosidade, coesão e resiliência. Assim também, as gelatinas foram submetidas ao teste de cor, utilizando-se os

parâmetros de luminosidade (L^*), coordenada vermelho/verde (a^* , valores positivos indicando vermelho e negativos indicando verde); coordenada amarelo/azul (b^* , valores positivos indicando amarelo e negativos indicando azul). A Eq. (1) foi utilizada para mensurar a variação de cor (ΔE) entre as amostras em relação ao controle (branco).

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (1)$$

As amostras de gelatina foram avaliadas sensorialmente por testes de aceitação global e avaliação da influência dos apelos de saúde na aceitação dos produtos (CAAE: 13717219.6.0000.5547). As formulações foram avaliadas por 60 provadores não treinados, com relação aos atributos aparência e impressão global, utilizando escala hedônica de 9 pontos (9 = gostei muitíssimo, 1 = desgostei muitíssimo). Os resultados da análise sensorial foram avaliados por Análise de Variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância.

Na sessão 1, antes do início do teste sensorial, os consumidores preencheram um questionário que permite avaliar a escala de consciência de saúde (Health Consciousness Scale) validado para a população brasileira (PINTO et al., 2017), a fim de avaliar o nível de preocupação com a saúde dos participantes da pesquisa.

Na sessão 2 (análise das informações veiculadas na embalagem), foi realizada a avaliação da aceitação dos apelos ou possíveis prejuízos à saúde. Os apelos utilizados na sensorial em relação ao uso da curcumina foram informadas aos provadores da seguinte forma: “Essa gelatina possui ingrediente com atividades farmacológicas comprovadas cientificamente, entre elas atividades anticancerígenas, antidiabéticas, protetoras cardiovasculares, antiobesidade, antimicrobianas e atividades nefroprotetoras” (RAUF et al., 2018).

Para a análise dos produtos contendo tartrazina, a seguinte informação foi repassada aos provadores: “O corante utilizado na amostra de gelatina pode causar reação alérgica aos provadores” (Food and Drug Administration (FDA)). Na sessão 3 (produto + informações veiculadas na embalagem), as amostras foram apresentadas aos provadores juntamente com as informações de apelos/prejuízos à saúde.

A análise dos escores médios hedônicos obtidos nas três sessões foi realizada de acordo com intervalos de aceitação pré-estabelecidos, onde:

a) Intervalo 1 (zona de aceitação): pontuações de 6 a 9 (localizadas entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei muitíssimo”), indicando que os provadores gostaram da amostra;

b) Intervalo 2 (zona de rejeição): pontuações de 1 a 5 (localizadas entre os termos hedônicos “desgostei muitíssimo” e “indiferente”), indicando que os consumidores não gostaram da amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação a caracterização das nanopartículas de curcumina e berberina, a Figura 1 a seguir apresenta os termogramas de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e os espectros de infravermelho (FTIR) de ambas nanopartículas

Figura 1 – Termogramas de DSC e Espectros (FTIR) das nanopartículas de curcumina e berberina.

Fonte: Autoria própria (2020).

No termograma das nanopartículas de curcumina, o pico de fusão do P407 foi encontrado aproximadamente em 56,8°C. O pico da curcumina em cerca de 170°C, que também foi encontrado na mistura física de forma atenuada devido à baixa concentração de curcumina na amostra. O pico de fusão não apareceu nas nanopartículas, sugerindo a conversão do estado cristalino para amorfo. No espectro de FTIR das nanopartículas de curcumina é possível identificar as bandas características da curcumina em 3510 cm^{-1} atribuídas ao grupo hidroxila (O-H), 1630 cm^{-1} (grupos carbonila, C = O) e 1500 cm^{-1} (ligações C = C). A ausência da banda do grupo hidroxila nas nanopartículas sugere a eficiência da encapsulação.

Na análise de DSC da berberina, o pico de fusão do P407 foi encontrado em aproximadamente 56°C, assim como no termograma das nanopartículas de curcumina. O pico de fusão da berberina está próximo de 100°C, sendo que há um pico exotérmico próximo de 196°C e um endotérmico em cerca de 200°C. Esses picos não são notados nas nanopartículas da berberina, sugerindo sua encapsulação. No espectro de FTIR da berberina acima é possível observar banda característica de absorção do bioativo em aproximadamente 3000 cm^{-1} referente as ligações de hidrocarbonetos, entre 1500 – 1600 cm^{-1} (C=C), a N-vibração de estiramento na região próxima a 3400 cm^{-1} , cuja região é característica da ligação de H entre C=O, com o grupo amina da berberina, evidenciam a eficiência de encapsulação do composto bioativo.

Pode-se concluir que a técnica de encapsulação escolhida foi eficiente em encapsular tanto a curcumina quanto a berberina. Em ambos os casos, as análises de caracterização fortemente sugerem que esses compostos estão dentro das nanopartículas formando uma solução sólida homogênea com o encapsulante (Poloxamer 407). Para a formulação de um alimento, foi selecionada a curcumina, que apresenta uma série de propriedades bioativas descritas na literatura.

A Tabela 1 apresenta os resultados para a análise de textura e de cor das formulações de gelatina (médias $\pm$ desvio padrão).

Tabela 1 - Valores obtidos em relação aos parâmetros da análise de textura e os parâmetros dados pelo colorímetro para as diferentes formulações de gelatinas.

	Nanopartículas curcumina	Curcumina	Tartrazina	Branco
Análise de Textura				
Dureza	7.66 ^a $\pm$ 0.30	18.71 ^c $\pm$ 1.95	19.17 ^c $\pm$ 1.14	12.86 ^b $\pm$ 1.21
Adesividade	-0.01 ^b $\pm$ 0.008	-0.31 ^a $\pm$ 0.13	-0.18 ^a $\pm$ 0.18	-0.24 ^a $\pm$ 0.07
Elasticidade	1.64 ^b $\pm$ 0.02	1.30 ^a $\pm$ 0.25	1.16 ^a $\pm$ 0.26	1.20 ^a $\pm$ 0.21
Mastigabilidade	1158.27 ^a $\pm$ 59.97	2087.62 ^b $\pm$ 477.13	1818.26 ^a $\pm$ 524.78	1017.20 ^a $\pm$ 372.04
Gomosidade	715.23 ^a $\pm$ 33.01	1596.82 ^c $\pm$ 119.77	1573.41 ^b $\pm$ 88.44	859.84 ^b $\pm$ 138.10
Coessão	0.93 ^c $\pm$ 484.52	0.83 ^b $\pm$ 0.05	0.71 ^a $\pm$ 0.078	0.66 ^a $\pm$ 0.08
Resiliência	0.61 ^a $\pm$ 0.05	0.64 ^a $\pm$ 0.07	0.64 ^a $\pm$ 0.02	0.65 ^a $\pm$ 0.02
Análise de Cor				
L	23.61 ^b $\pm$ 2.14	28.44 ^b $\pm$ 2.46	26.92 ^b $\pm$ 1.96	30.83 ^c $\pm$ 4.00
A	2.14 ^c $\pm$ 1.53	-0.45 ^a $\pm$ 1.58	0.25 ^b $\pm$ 0.89	-0.28 ^{a,b} $\pm$ 0.53
B	17.98 ^b $\pm$ 2.80	6.43 ^a $\pm$ 1.36	31.25 ^c $\pm$ 4.14	5.47 ^a $\pm$ 1.75
C	18.15 ^b $\pm$ 2.83	6.58 ^a $\pm$ 1.18	31.25 ^c $\pm$ 4.11	5.47 ^a $\pm$ 1.75
H	83.19 ^a $\pm$ 4.88	93.33 ^c $\pm$ 16.07	89.57 ^b $\pm$ 2.14	94.29 ^c $\pm$ 5.33
ΔE	14.65 $\pm$	2.58 $\pm$	26.08 $\pm$	-

Fonte: Autoria própria (2019).

A textura é um fator importante na aceitação do consumidor (LEMES et al., 2017), por isso, é importante que a adição do bioativo não altere negativamente e significativamente os parâmetros de textura do produto, e portanto, as propriedades sensoriais. Não houve alteração significativa da coessão entre as gelatinas. A gomosidade da gelatina com as nanopartículas ficou próxima ao branco, no entanto, a com curcumina comercial não teve diferença significativa com a de tartrazina. Os valores de elasticidade ficaram próximos entre as amostras, enquanto verificou-se diminuição da dureza na adição das nanopartículas em relação às outras gelatinas. Os valores obtidos na avaliação de cor das gelatinas estão descritos na Tabela 2 abaixo, sendo referentes as médias e desvios padrões.

O parâmetro b* apresentou valores positivos, já que o esperado é a coloração amarela. Embora o valor de ΔE para a gelatina contendo as nanopartículas de gelatina seja menor do que o caso da tartrazina, percebe-se que as gelatinas que receberam curcumina não encapsulada não apresentaram coloração amarela, demonstrando a falta de capacidade da curcumina em conferir cor à gelatina. Ao contrário, a curcumina encapsulada favoreceu a coloração da gelatina quando usada na mesma concentração da curcumina não encapsulada. Isso demonstra a eficiência da técnica de encapsulação em aumentar a afinidade pela água da curcumina, que apresenta caráter altamente hidrofóbico na sua forma *in natura*.

A Tabela 2 apresenta os resultados estatísticos acerca da aceitação das amostras de gelatina contendo as nanopartículas de curcumina e tartrazina oferecidas na análise sensorial. Ela demonstra (sessão 1) a aceitação da aparência das amostras de gelatina com curcumina e com tartrazina, foi de 7,82 e 7,97, respectivamente, sendo que essas médias não diferem entre si ($p < 0,05$).

Na sessão 2, quando se avaliou a aceitação do impacto à saúde de cada um dos corantes, detectou-se maior média para o impacto da curcumina, já que esta tem propriedades relacionadas à promoção de saúde, ao contrário da tartrazina. Na sessão 3, onde se apresentou a gelatina juntamente com o impacto do consumo de seu corante na saúde, verificou-se que apesar da aceitação da aparência dos produtos ser inicialmente igual (sessão 1), quando o provador conhece o impacto à saúde de cada um dos produtos, a aceitação pelo produto elaborado com curcumina cresce significativamente.

Tabela 2 - Estimativas do teste *t* entre a segunda sessão (teste de apelo) e a primeira sessão (teste de aparência) para gelatinas, representando a variável expectativas, e entre a terceira sessão (teste com alegações relacionadas à saúde) e a primeira sessão, representando a variável salubridade ($n = 60$).

Gelatina	Sessão 1	Média ± DV		<i>t</i> – valor	
		Sessão 2	Sessão 3	Sessões 2 e 1 (expectativa)	Sessões 3 e 1 (salubridade)
G1	7,82 ^a ±0,17	8,52 ^a ±0,10	8,15 ^a ±0,13	3,701*	1,815
G2	7,97 ^a ±0,16	4,22 ^b ±0,35	4,83 ^b ±0,27	-9,644*	-10,783*

Legenda: G1 - gelatina com curcumina; G2 - gelatina com tartrazina; médias seguidas de letras distintas na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey (*significativo, $p < 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2019).

Para os resultados do teste *t*, observou-se que a gelatina que continha curcumina na sua composição apresentou aumento não significativo do escore médio da salubridade, embora tenha sido a que recebeu a maior média de aceitação no teste do apelo. Já a gelatina que continha o corante tartrazina apresentou um aumento significativo tanto nas expectativas quanto na salubridade, o que representa que esses achados demonstram até que ponto o apelo levou o consumidor a renunciar aos atributos sensoriais em função de sua saúde, embora tenha tido a maior nota na aparência. A Tabela 3 apresenta os resultados da média das questões do questionário de consciência em saúde aplicado aos provadores antes da sessão 1.

Tabela 3 - Itens avaliados no questionário de consciência em saúde ($n = 60$).

Itens de consciência em saúde	Nota (média ± DV)
1. Tenho a impressão de que me sacrifico muito pela minha saúde.	3,80±2,24
2. Eu me considero muito consciente em relação à saúde.	5,89±2,34
3. Estou preparado(a) para viver muito. Comer o mais saudável possível.	4,89±2,34
4. Acho que levo muito em consideração a saúde em minha vida.	5,51±2,30
5. Acho importante saber como é comer de forma saudável.	8,13±1,66
6. Minha saúde é tão importante para mim, que estou preparado(a) para sacrificar muitas coisas por ela.	4,74±1,92
7. Tenho a impressão de que as outras pessoas dão mais atenção à saúde delas do que eu.	3,19±2,58
8. Não me pergunto frequentemente se algo é bom para mim ou não.	4,39±2,78

9. Na verdade, não penso com frequência se tudo o que faço é saudável.	4,34±2,80
10. Não quero me perguntar a todo o momento se as coisas que como são boas para mim ou não.	3,70±2,78
11. Eu me concentro em minha saúde com frequência.	5,15±2,21

Fonte: Autoria própria (2019).

As questões citadas acima foram avaliadas pela escala não estruturada de nove centímetros, sendo 0 cm – concordo plenamente; 9 cm – discordo totalmente. Para que os valores mais altos correspondam à alta consciência em saúde, os itens 7, 8, 9 e 10 foram revertidos, subtraindo 9 do score dado pelos participantes (LIMA FILHO et al., 2015). Os consumidores foram divididos em três segmentos, representando baixa (0 a 47,18), média (47,19 a 76) e alta (76,01 a 92) preocupação com a saúde. Os intervalos para cada segmento foram obtidos a partir da soma dos valores das perguntas (58,49), mais ou menos um desvio-padrão (15,01).

Ainda pelas médias apresentadas na Tabela 3, verifica-se que a maior nota (8,13) ficou por conta da importância que os avaliadores atribuem ao saber comer de forma saudável e a menor nota (3,19) para a questão que demonstra a impressão dos participantes que as outras pessoas dão mais atenção à saúde do que eles próprios. Os valores obtidos podem ser justificados pela idade média dos provadores, sendo estudantes de pouca idade, com estilo de vida que não prioriza a saúde.

CONCLUSÃO

A técnica de encapsulação da curcumina utilizando-se Poloxamer 407 foi eficiente devido à ausência do pico de fusão no termograma e a não presença da banda do grupo hidroxila no espectro de infravermelho das nanopartículas. Para aplicação em alimentos, decidiu-se utilizar as nanopartículas de curcumina como corante amarelo natural, devido às suas propriedades bioativas superiores conforme descrito em literatura.

Os testes de cor e textura foram importantes para demonstrar as diferenças nas características da gelatina utilizando-se de diferentes corantes. Através da análise sensorial realizada, juntamente com o teste acerca da consciência sobre a saúde, verificou-se que existe uma preferência significativa do produto contendo curcumina quando este está vinculado à informação sobre os benefícios na saúde em relação ao produto contendo o corante artificial tartrazina.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ pelo apoio financeiro e pela disponibilização da bolsa de estudos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

LEMES, G. F. et al. Enzymatically crosslinked gelatin coating added of bioactive nanoparticles and antifungal agent: Effect on the quality of Benitaka grapes. **Lwt**, v. 84, p. 175–182, 2017.

LIMA FILHO, T. et al. A Qualitative Study on the Perceptions and Attitudes of Brazilians Toward Irradiated Foods. **Journal of Sensory Studies**, v. 30, n. 3, p. 237–246, 2015.

PINTO, V. R. A. et al. Influence of package and health-related claims on perception and sensory acceptability of snack bars. **Food Research International**, v. 101, n. April, p. 103–113, 2017.

RAUF, A. et al. Health perspectives of a bioactive compound curcumin: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 74, n. February, p. 33–45, 2018.