



Extrato de hibisco e a imobilização de enzimas

Hibiscus extract and the enzyme immobilization

Ana Carolina Szolomicki Lorenção (orientado)*, Patrícia Salomão Garcia (orientador)[†],
Alessandra Machado Baron (a)[‡], Eduardo Candido Milani[§]

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi produzir um material em que extrato de hibisco (material de recheio), rico em antioxidantes naturais, estivesse encapsulado em uma matriz polimérica a base de alginato de sódio (material de parede). O material foi obtido por gelificação iônica a partir do gotejamento da emulsão material de parede/recheio (3% de sólidos totais – polímero e extrato) em solução de cloreto de cálcio (2% m/v) e tempo de cura de 30 min. A permanência do material de recheio no interior das cápsulas apenas foi macroscopicamente alcançada após a inserção de amido de milho na composição da matriz polimérica que melhor estruturou a parede da cápsula. Previamente à aplicação do material como suporte para imobilização de enzimas, deverá ser realizada sua caracterização quanto às propriedades mecânicas, solubilidade em água e em solventes orgânicos e propriedades térmicas. De acordo com o plano de trabalho submetido, apenas alguns testes preliminares puderam ser realizados tendo em vista a continuação da suspensão das atividades presenciais na Universidade.

Palavras-chave: encapsulamento, extratos naturais, polímeros biodegradáveis.

ABSTRACT

Objective of this work was to produce a material in which hibiscus extract (filling material), rich in natural antioxidants, was encapsulated in a polymer matrix based on sodium alginate (wall material). The material was obtained by ionic gelling from the dripping of the wall material/filling emulsion (3% of total solids – polymer and extract) in calcium chloride solution (2% m/v) and curing time of 30 min. The permanence of the filling material inside the capsules was only macroscopically achieved after the insertion of corn starch in the composition of the polymer matrix that better structured the capsule wall. Prior to the application of the material as a support for enzyme immobilization, its characterization as to its mechanical properties, solubility in water and organic solvents and thermal properties must be carried out. According to the work plan submitted, only some preliminary tests could be carried out with a view to the continuation of the suspension of on-site activities at the University.

Keywords: encapsulation, naturals extract, biodegradable polymers.

1 INTRODUÇÃO

Em condições adversas de processamento e estocagem, compostos bioativos podem ser instáveis, que solução teria para este problema? A técnica de encapsulamento vem ganhando destaque como um método efetivamente protetivo das propriedades funcionais destes compostos. A produção de cápsulas tem agregado valor na indústria farmacêutica e alimentícia, tal como nas diversas áreas das ciências, como agronomia e meio ambiente viabilizando o consumo consciente, a alimentação saudável e o desenvolvimento sustentável.

A emulsificação está entre as técnicas mais eficazes para encapsulação, pois possibilita encapsular compostos hidrofílicos e hidrofóbicos (HOLKEM; CODEVILLA; MENEZES, 2015). Biocompostos encapsulados em hidrogéis de polissacarídeos, proteínas e blendas de polissacarídeos-proteína possuem maior estabilidade bem como melhor biodisponibilidade (GOMEZ-ESTACA et al., 2017).



É de grande potencial, o uso de compostos bioativos microencapsulados como ingredientes funcionais, que possuem diversas aplicações em alimentos e bebidas, já que permitem o seu enriquecimento alimentar (MOURA et al, 2018).

As cápsulas podem ser classificadas quanto ao tamanho, em macro- (>5000 m), micro- (0,2-5000 m) e nanocápsulas (<0,2 m) e aos aspectos físicos, em polinucleares e mononucleares conforme a distribuição do núcleo no interior da partícula revestida. Elas podem ser, ainda, homogêneas ou heterogêneas conforme a substância ativa se encontra no estado molecular - dissolvido ou na forma de suspenso (SILVA, 2003).

O método de encapsulamento para substância com sensibilidade térmica, como óleos essenciais e a maioria dos compostos naturais bioativos, mais comum são às técnicas baseadas em gelificação iônica, em que polissacarídeos aniônicos como pectina, alginato, goma carragena e goma gelana formam gel em contato com soluções iônicas contendo cátions, como o íon cálcio, por exemplo. As interações dos íons com os grupos carboxila dos polissacarídeos, resultam na formação de géis insolúveis onde o endurecimento das partículas ocorre instantaneamente, começando na superfície na qual os íons bivalentes reagem com as cadeias poliméricas mediada por cátion de polissacarídeos carregados negativamente, formando uma estrutura tridimensional rígida (ARANHA, 2015). A matriz gelificada por gelificação iônica é caracterizada por baixa resistência mecânica e alta porosidade e algumas estratégias, como o revestimento de micropartículas com um polieletrólito com carga oposta à do gel, foram propostas para melhorar essa funcionalidade através de interações eletrostáticas (SILVERIO, 2018).

As partículas de gelificação iônica podem ser preparadas pelos métodos de extrusão e atomização. No processo de extrusão, a solução, a solução polimérica e o material nuclear, são gotejadas em uma solução iônica por meio de uma agulha, com ou sem velocidade controlada. Na atomização, o ar comprimido mistura-se à solução a ser encapsulada, pressionando a passagem da solução por um orifício de tamanho controlado (ARANHA, 2015).

Moura et al. (2018) encapsularam antocianinas de extrato de hibisco empregando como material de parede pectina amidada metoxilada. A alta solubilidade em água e capacidade de formar complexos com polifenóis levaram Gomez-Estaca et al. (2017) a produzirem cápsulas de gelatina de pele de porco contendo curcumina como material de recheio.

O *Hibiscus rosa-sinensis* L. é uma excelente fonte de antioxidantes naturais. Neste sentido, o extrato desta planta pode ser utilizado como uma substituição ou como uma melhor alternativa para conservantes a base de produtos químicos, proporcionando a possibilidade de conservar a qualidade e prolongar a vida útil de produtos na indústria de alimentos (MAK et al, 2013), já que os antioxidantes mais usados, como o hidroxianisol butilado (BHA) e o hidroxitolueno butilado (BHT), são suspeitos por serem responsáveis por gerar danos no fígado e carcinogênese.

Além de ser uma fonte de antioxidante, o extrato de hibisco tem atividade antibacteriana e possui ação hepatoprotetora que alivia a fome e possui também efeitos no metabolismo lipídico, ou seja, anti-colesterol. Também possui efeitos diuréticos, antidiabético, efeitos anti-hipertensivos, atividades anti-inflamatórias e outros efeitos biológicos, como prevenção do câncer e atividades de proteção do fígado (ZHEN et al, 2016).

Por este motivo, a ingestão de compostos bioativos naturais, como o extrato de hibisco, é de grande interesse. Entretanto, há algumas dificuldades associadas à disposição desses compostos a efeitos externos adversos, ou condições prejudiciais de processamento e instabilidade química, fornecendo desta maneira, esforços para melhorar a biodisponibilidade oral. Sendo assim, a microencapsulação apresenta-se como uma solução promissora para tais adversidades (MOURA et al, 2018).



Este trabalho teve como objetivo encapsular o extrato de hibisco usando uma emulsão pelo método de gotejamento para proteger o material bioativo contra condições ambientais adversas. Outro propósito é o estudo da eficiência e os benefícios que a flor de hibisco possui a saúde.

2 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DA PESQUISA

2.1 Extrato do *Hibiscus rosa-sinensis* L.

Os extratos foram obtidos a partir das folhas secas do *Hibiscus rosa-sinensis* L. comercial (vendido em lojas de produtos naturais). Para o preparo da infusão, 100mL de água foram aquecidas em chapa de aquecimento. Iniciada a ebulição, o aquecimento foi suspenso e 3 g de folhas de hibisco foram adicionados. Por fim, a solução permaneceu 15 horas em repouso para que houvesse uma maior transferência de massa, além disso o recipiente foi isolado com papel alumínio para proteger a solução da incidência de luz e não perder suas propriedades antioxidantes, até o uso posterior.

2.2 Emulsificação

A solução de hibisco foi filtrada, descartando-se as pétalas, sendo então transferida para um béquer de 250 mL, onde então, foram adicionados 3g de alginato de sódio sob agitação magnética. Esta solução foi submetida a emulsificação por meio de um mixer doméstico para garantir sua total homogeneização. Como houve formação de bolhas na solução ao utilizar o mixer, ela foi então mantida no ultrassom durante 15 minutos à temperatura ambiente.

Foi preparada a solução de cloreto de cálcio (CaCl_2) 2%(m/v), à qual foi gotejada a emulsão contendo alginato e extrato de hibisco com auxílio de uma seringa de 20mL, com diâmetro de 1 mm, sob agitação lenta. A distância entre a seringa e a solução de CaCl_2 foi de 10 cm. Além disso, as cápsulas formadas foram mantidas no banho de gelificação por 30 minutos (tempo de cura). Sendo assim, após esse período as cápsulas foram separadas cuidadosamente da solução de cloreto de cálcio com o auxílio de uma peneira.

Para as cápsulas contendo amido, a composição da matriz polimérica foi de 1:1 de amido de milho e alginato de sódio, totalizando 3g de polímeros (3% de sólidos totais).

3 RESULTADOS

Nas condições experimentais utilizadas inicialmente, foi possível obter cápsulas em que o extrato de hibisco estivesse encapsulado pela matriz de alginato. No entanto, durante o tempo de cura das cápsulas observou-se que o extrato de hibisco foi lixiviado da cápsula.

Moura et al. (2018) relata que materiais hidrofílicos ou de baixo peso molecular apresentam fácil difusão e liberação rápida através da rede de gel iônico independentemente do pH, então, algumas estratégias precisam ser aplicadas, como, sistema de emulsão, material de revestimento, para então reter os compostos ativos, como neste caso, a adição do amido de milho.

Por esta razão, na tentativa de reter o material de recheio no interior da cápsula foi adicionado amido de milho comercial à composição polimérica do material de parede.

A estratégia de adicionar o amido tem como objetivo aumentar a eficiência de carregamento e modular a liberação do bioativo (Figura 1). Testes de liberação ainda não puderam ser realizados no presente trabalho,

no entanto, Córdoba et al. (2013) em seu estudo com cápsulas contendo erva mate, cita que, assim como a erva mate, o hibisco possui propriedades antioxidantes, e as cápsulas reforçadas com grânulos de amido de milho melhoraram o sistema clássico de alginato de cálcio, com valores entre 10 e 30% de amido de milho. Sendo assim, esta é uma estratégia promissora para proteger e controlar a liberação dos antioxidantes contidos no hibisco presentes nas cápsulas.

Figura 1 - Cápsulas sem (esquerda) e com (direita) amido de milho na composição do material de parede.



Fonte: Autoria Própria (2021).

Em relação a atividade antioxidante, Córdoba et al.(2013) relata que a presença de amido não modifica as propriedades antioxidantes do extrato encapsulado, conforme observado em relação ao DPPH. Este fato foi verificado pelos autores por meio de análise FT-IR, que comprovou a presença de compostos ativos na matriz de alginato.

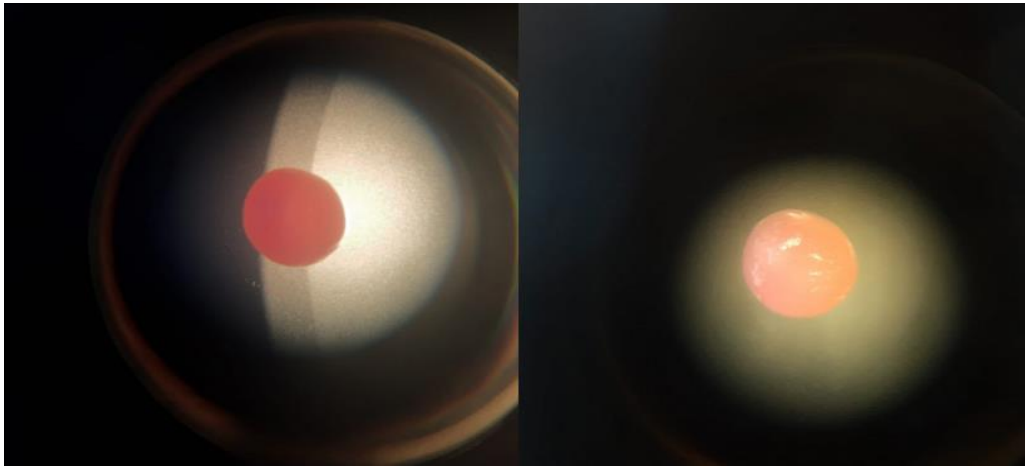
Nos estudos realizados por Zhen et al (2016) os autores concluíram que as folhas de *Hibiscus sabdariffa* apresentam níveis elevados de compostos polifenólicos.

Assim como nas uvas, é possível que a coloração intensa do hibisco seja decorrente de uma estrutura polifenólica complexa. A ação antioxidante de produtos ricos em antocianinas e taninos polimerizados, como o hibisco, é bem (re)conhecida. De maneira geral, os flavonóides agem como protetores de antocianinas, ligando-se a elas e a outros compostos, diminuindo assim o processo de oxidação. Por esta razão, visando obtenção de cápsulas com propriedades antioxidantes, a retenção da cor característica do extrato de hibisco é fator importante para o desenvolvimento das cápsulas no presente trabalho.

A Figura 1 mostra que a presença de amido de milho na composição da matriz polimérica melhorou a capacidade de retenção do material de recheio no interior da cápsula, uma vez que as mesmas apresentaram coloração vermelha mais intensa.

As cápsulas obtidas a partir da incorporação de amido apresentaram superfície lisa e homogênea, conforme observado na Figura 2.

Figura 2 - Cápsula sem (direita) e com (esquerda) incorporação de amido de milho no microscópio óptico.



Fonte: Aatoria Própria (2021).

Embora o diâmetro médio das cápsulas não fora determinado, Córdoba et al. (2013) relatam, por meio de micrografias eletrônicas de varredura, que a estrutura dos hidrogéis de alginato de cálcio mostraram algumas rachaduras já em sua superfície. Quando o amido foi adicionado, as estruturas interna e externa dos grânulos mudaram, uma vez que o enchimento ocupou parcialmente os espaços intersticiais do sistema, ou seja, os grânulos de amido foram distribuídos de forma homogênea dentro das cápsulas, o que contribuiu muito para manter sua forma esférica.

4 CONCLUSÃO

É possível obter cápsulas, por gelificação iônica, em que o extrato de hibisco (material de recheio) esteja protegido por uma matriz polimérica de alginato (material de parede). A ultrassonificação da solução emulsionada com mixer doméstico é eficiente para a remoção de bolhas e obtenção de cápsulas com superfície lisa e homogênea. Outro ponto muito importante é que a adição de amido de milho melhora, visualmente, a capacidade de retenção da cor das cápsulas. Vale ressaltar que, a cor está relacionada com a presença de compostos fenólicos que possuem atividades antioxidante comprovadas. Além disso, a presença de amido de milho aumenta a resistência mecânica das cápsulas, avaliada subjetivamente, ou seja, sua presença à matriz de alginato aumentou a capacidade de aprisionamento dos polifenóis do hibisco, podendo ser esta, uma estratégia promissora para proteger e entregar antioxidantes naturais em produtos alimentícios.

Algumas considerações importantes: Ao longo dos meses de pandemia e com a suspensão das atividades presenciais, foram realizados encontros quinzenais via Google Meet para estudo sobre os temas das linhas de pesquisa das professoras Patrícia Salomão Garcia e Alessandra Machado Baron, como uma maneira de mantermos a pesquisa em ação, mesmo que sem prática; Em um dos encontros foi apresentado o trabalho de Córdoba et al. (2013) que preparam extrato aquoso de erva mate que foi liofilizado para encapsulamento no formato de pó; Na tentativa de melhorar as condições de produção das cápsulas, novos extratos para liofilização foram preparados, no entanto, o liofilizador do Campus apresentou problemas.

AGRADECIMENTOS

Gratidão à UTFPR pela concessão da bolsa.



REFERÊNCIAS

- ARANHA, Caroline Pereira Moura. **Microencapsulação por gelificação iônica e interação eletrostática do corante de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.)**. 2015. 117 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2015.
- CORDOBA, Alex López; DELADINO, Lorena; MARTINO, Miriam; **Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants**. Carbohydrate Polymers. v. 95, Issue 1, 2013. p.315-323, ISSN 0144-8617. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.019>. Acesso em: 01 set. 2021.
- GOMEZ Estaca, J.; BALAGUER, M.P.; LOPEZ Carballo, G.; GAVARA, R.; HERNANDEZ Munhoz, P.. **Improving antioxidant and antimicrobial properties of curcumin by means of encapsulation in gelatin through electrohydrodynamic atomization**. Food Hydrocolloids, v. 70, p. 313-320, 2017.
- HOLKEM, A . T . ; CODEVILLA, C. F.; MENEZES, C. R.. **Emulsificação/gelificação iônica interna: Alternativa para microencapsulação de compostos bioativos**. Ciência e Natura, v. 37, Ed-Especial - Nano e Microencapsulação de compostos bioativos e probióticos em alimentos, p. 116-124, 2015.
- MAK, Y.W; CHUAH, L.O; AHMA, D. R; BHAT, R. **Antioxidant and antibacterial activities of Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and Cassia (*Senna bicapsularis* L.) flower extracts**. Journal of King Saud Uni-Sci. Vol.25, pág. 275-82. Malásia, 2013. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1018364712000638?token=B843AAFD05333F26ADA933C7BB750D7DEE7FBBDC4585AB4243317D0E9F5692881612A2697FCA79029513AB8E2CECD604&originRegion=us-east-1&originCreation=20210915184220>. Acesso em: 15 set. 2021.
- MOURA Sílvia de. Et al. **Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles**. Food Chemistry. v.241, 2018, p. 317-327. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.095>. Acesso em: 01 set. 2021.
- SILVA, Catarina et al. **Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação**. Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences, Coimbra, v. 39, n. 1, p.1-20, jan. 2003.
- SILVERIO, Gabriela Barros et al . **Production and characterization of alginate microparticles obtained by ionic gelation and electrostatic adsorption of concentrated soy protein**. Cienc. Rural, Santa Maria , v. 48, n. 12. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180637>. Acesso em: 01 set. 2021.
- ZHEN, Jing et al. **Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves**. Food Chemistry. Volume 190, 2016, Pages 673-680, ISSN 0308-8146. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006>. Acesso em: 01 set. 2021.