

MICROENCAPSULAÇÃO DE EXTRATO DE OLEUROPEÍNA EM MATRIZ POLIMÉRICA DE GELATINA/TRAGACANTO

FERNANDA MOREIRA OLIVEIRA¹; JULIANA RODRIGUES PEREIRA²; RAQUEL MOREIRA OLIVEIRA²; ALDO GIRARDI POZZEBON²; CAROLINE DELLINGHAUSEN BORGES²; RUI CARLOS ZAMBIAZI³

¹*Universidade Federal de Pelotas – fer.moroli@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – juliana_rope@hotmail.com; raquelmoroli@gmail.com; aldogirardipozzebon@outlook.com; caroldellin@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – zambiazi@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A Oliveira (*Olea europaea L.*) é uma das frutíferas mais antigas cultivadas pelo homem e a única espécie da família botânica Oleaceae com frutos comestíveis. Na indústria oleícola, seus frutos servem como matéria-prima para extração de azeite e produção de azeitona em conserva (COUTINHO, 2007). Ainda, permite o uso de suas folhas que são comumente descartadas no sistema de produção através da poda das árvores. As folhas são ricas em compostos fenólicos, sendo a oleuropeína, um éster heterosílico do ácido elenoico e dihidroxietanol, o mais abundante (24,5%) (BENAVENTE-GARCÍA et al., 2000; EFMORFOPOULOU; RODIS, 2004; FERNÁNDEZ-BOLAÑOS et al., 2006; GUINDA, 2006).

A oleuropeína possui capacidade de atuar como um antioxidante natural, assim possui potencial para aplicação em alimentos para fins tecnológicos (DUA; BHAT; KUMAR, 2015; KHEMAKHEM et al., 2017), indicando que pode ser aplicado em alimentos tanto para fins funcionais quanto tecnológicos.

Um desafio a aplicação direta de oleuropeína em matrizes alimentícias é sua instabilidade a luz, oxigênio e alta temperatura, além do sabor amargo. Uma maneira de contornar essas adversidades é promover a microencapsulação desse composto. Além disso, a microencapsulação também pode promover o aumento da biodisponibilidade e a liberação controlada do composto ativo (ABBAS et al., 2012).

Uma das tecnologias empregadas para microencapsulação de compostos antioxidantes é a coacervação complexa, que envolve a interação eletrostática entre polímeros de cargas opostas. Interações entre proteínas e polissacarídeos, em substituição a utilização isolada dos polímeros pode melhorar a funcionalidade do material de parede das partículas (DONG; HUA, 2018).

Com base no que foi exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de encapsulação do extrato de oleuropeína de folhas de oliveira (*Olea europaea L.*) em gelatina tipo B e a goma tragacanto por coacervação complexa.

2. METODOLOGIA

A obtenção do extrato de oleuropeína foi realizada conforme COPPA et al. (2017), com alterações. Em 10 g de folhas de oliveira moídas foram adicionados 50 mL de solvente etanol/água (70:30 v/v), com acréscimo de 1% de ácido acético na mistura que foi deixada sob agitação magnética por 2 h. As amostras foram filtradas e o material retido no papel filtro lavado com 25 mL de etanol. O filtrado foi submetido à rotaevaporação a 40 °C, com posterior congelamento (-75 °C) e liofilização.

Para preparação das micropartículas, foi utilizada a metodologia de JUNYAPRASERT et al. (2001), com algumas modificações. Soluções de 1% (p/v) de gelatina e 1% (p/v) de goma tragacanto foram preparadas inicialmente, por agitação a 40 °C, em 100mL de água destilada cada uma (SHINDE; NAGARSENKER, 2009; SIOW; ONG, 2013).

Foram preparadas micropartículas com os polímeros em separado, para isso as soluções foram elaboradas conforme descrito anteriormente, sendo homogeneizadas (13500 rpm por 3 min) cada uma com 0,5 g de extrato, para se obter uma proporção 2:1 parede:extrato (p/p), posteriormente as amostras foram congeladas e liofilizadas.

Para realizar a coacervação complexa, 1 g de extrato foi adicionado à 100 mL da solução de gelatina e homogeneizados a 13500 rpm por 3 min. Cem mililitros de solução de goma tragacanto foram adicionados ao sistema e realizou-se novamente uma homogeneização (13500 rpm por 3 min). Obtendo-se um peso total de biopolímero de 2 g em um volume final de 200 mL, com uma proporção parede:extrato de 2:1. O pH da solução foi ajustado para 4 por adição de HCl (0,5 e 1 M) para induzir a coacervação complexa (ALVIM; GROSSO, 2010; SIOW; ONG, 2013). Após procedeu-se a centrifugação por 10 min a 4500 rpm para a separação dos coacervados, que foram congelados e liofilizados (RUTZ et al., 2016).

A determinação de compostos fenólicos totais foi adaptada da metodologia de SWAIN; HILLS (1959). O extrato e as micropartículas foram dissolvidos em etanol, e 250 µL das amostras pipetados, adicionados de 4 mL de água destilada e 250 µL do reagente Folin-Ciocalteau (0,25 N), agitados e mantidos em repouso por 3 min para reação. Decorridos os minutos foram adicionados de 500 µL de carbonato de sódio (1 N), agitados e mantidos por 2 h no escuro para posterior leitura de absorbância em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis) em 725 nm. O ácido gálico foi utilizado para construir a curva de calibração e o teor de compostos fenólicos foi expresso em mg equivalente de ácido gálico por g de extrato seco (mg EAG.g⁻¹).

A eficiência de encapsulação foi determinada utilizando o método de ALISHAHI et al. (2011), com modificações. Cinquenta miligramas de micropartículas foram dissolvidas em 5 mL de etanol 95% (v/v). Para a quantificação do teor total de compostos fenólicos as partículas foram previamente abertas, com homogeneização em Ultra-Turrax a 12000 rpm durante 1 min, seguida por centrifugação a 3820 rpm durante 10 min.

A quantificação do teor de compostos fenólicos presentes na superfície das partículas após diluição, foi realizada através de homogeneização da amostra em vórtex por 1 min, seguido por centrifugação a 3820 rpm por 5 min.

A eficiência de encapsulação foi calculada usando a Equação 1, onde CT representa o total de compostos fenólicos presente nas partículas e CS representa o teor de compostos fenólicos na superfície das partículas.

$$EE\% = \frac{CTotal - CSuperfície}{CTotal} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

As determinações foram realizadas em triplicata, com resultados expressos em médias e desvio padrão, e estes foram submetidos à análise de variância, e os tratamentos aos testes de comparações múltiplas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A eficiência de encapsulação se refere ao percentual de compostos fenólicos encapsulados com relação à quantidade de compostos fenólicos totais presentes no extrato de oleuropeína, sendo descontado o conteúdo de compostos fenólicos da superfície das micropartículas (ALISHAHI et al., 2011).

De modo geral, houve influência dos diferentes materiais de parede na eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos do extrato de oleuropeína. Não houve distinção significativa de eficiência de encapsulação entre as micropartículas de gelatina e gelatina/tragacanto ($p>0,05$) (Tabela 1). Entretanto, essas micropartículas apresentaram significativamente ($p<0,05$) os maiores valores de retenção de compostos fenólicos, em relação as micropartículas de tragacanto, (Tabela 1).

Tabela 1. Eficiência de encapsulação das micropartículas de oleuropeína.

Micropartículas	Eficiência de encapsulação (%) [*]
Gelatina	87,69±0,89a ^{**}
Tragacanto	52,89±1,03b
Gelatina/Tragacanto	85,98±3,19a

* Média de três repetições ± desvio padrão. **Médias acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p\leq0,05$).

A eficiência de encapsulação é dependente das características químicas do material de parede e da interação química com o composto ativo. GHAYEMPOUR et al. (2016) avaliaram a eficiência de encapsulação de partículas de extrato de Aloe Vera revestidas com goma tragacanto e obtiveram valor superior de eficiência de encapsulação (91%), em relação ao obtido neste estudo. Por outro lado, SAWALE et al. (2017) obtiveram valor inferior de eficiência de encapsulação (31%) ao encapsular o extrato de *Terminalia arjuna* em revestimento de gelatina e maltodextrina. Não foram encontrados na literatura, estudos de microencapsulação por coacervação complexa utilizando gelatina e tragacanto. Fazendo-se necessário a realização de mais análises para melhor compreensão da interação entre os materiais de parede, e entre eles e o extrato.

4. CONCLUSÃO

Obteve-se altos valores de eficiência de encapsulação dos compostos fenólicos do extrato de oleuropeína nas matrizes gelatina e gelatina/tragacanto, sugerindo que a utilização destes materiais de parede acarreta em melhor proteção do extrato antioxidante de oleuropeína do que a goma tragacanto.

5. REFERÊNCIAS

- ABBAS, S.; DA WEI, C.; HAYAT, K.; XIAOMING, Z. Ascorbic acid: Microencapsulation techniques and trends - A review. **Food Reviews International**, v. 28, n. 4, p. 343-374, 2012.
- ALISHAHI, A.; MIRVAGHEFI, A.; TEHRANI M. R.; FARAHMAND. H; SHOJAOSADATI, S. A.; DORKOOSH, F. A.; ELSABEE, M. Z. Shelf life and delivery enhacement os vitamin C using chitosan nanopartocles. **Food Chemistry**, v. 126, p. 935-940, 2011.



- ALVIM, I.B.; GROSSO, C.R.F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.4, p.1069-1076, 2010.
- BENAVENTE-GARCÍA, O.; CASTILLO, J.; LORENTE, J.; ORTUNO, A. J. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. **Food Chemistry**, v. 68, n. 4, p. 457-462, 2000.
- COPPA, C. F. S. C.; ROSIM, R. E.; OLIVEIRA, C. A. F.; RODRIGUES, C. E. C.; GONÇALVES, C. B. Extração de oleuropeína a partir de folhas de oliveira utilizando solvente hidroalcoólico. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, e2016169, 2017.
- GHAYEMPOUR, S.; MONTAZER, M.; RAD, M. M. Encapsulation of Aloe Vera extract into natural Tragacanth Gum as a novel green wound healing product. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 344-349, 2016.
- COUTINHO, E. F. **A cultura da Oliveira**. 1 ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007.
- DONG, D.; HUA, Y. Emulsifying behaviors and interfacial properties of different protein/ gum arabic complexes: Effect of pH. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 289-295, 2018.
- DUA, S.; BHAT, Z. F.; KUMAR, S. Effect of oleuropein on the oxidative stability and storage quality of *Tabaq-Maz*, fried mutton ribs. **Food Bioscience**, v. 12, n. 1, p. 84-92, 2015.
- EFMORFOPOULOU, E.; RODIS, P. Complexation of oleuropein and trans-cinnamic acid with cyclodextrins. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 40, n.4, p. 362-366, 2004.
- FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J.; RODRÍGUEZ, G.; RODRÍGUEZ, R.; GUILLÉN, R.; JIMÉNEZ, A. Potential use of olive by-products, Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste, **Grasas y Aceites**, v. 57, p. 95-106, 2006.
- GUINDA, A. Use of solid residue from the olive industry. **Grasas Y Aceites**, v. 57, p. 107-115, 2006.
- JUNYAPRASERT, V. B.; MITREVEJ, A.; SINCHAIPANID, N.; BOONME, P.; WURSTER, D. E. Effect of process variables on the microencapsulation of vitamin A palmitate by gelatin-acacia coacervation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, p. 561-566, 2001.
- KHEMAKHEM, I.; GARGOURI, O. D.; DHOUIB, A.; AYAD, M. A.; BOUAZIZ, M. Oleuropein rich extract from olive leaves by combining microfiltration, ultrafiltration and nanofiltration. **Separation and Purification Technology**, v. 172, p. 310-317, 2017.
- RUTZ, J. K.; BORGES, C. D.; ZAMBIAZI, R.C.; DA ROSA, C. G.; DA SILVA, M. M. Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. **Food Chemistry**, v. 202, p. 324-333, 2016.
- SAWALE, P. D.; PATIL, G. R.; HUSSAIN, S. A.; SINGH, A. K.; SINGH, R. R. B. Release characteristics of polyphenols from microencapsulated *Terminalia arjuna* extract: Effects of simulated gastric fluid. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 12, p. 3170-3178, 2017.
- SHINDE, A. U.; NAGARSENKER, M. S. Characterization of Gelatin-Sodium Alginate Complex Coacervation System. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 71, n. 3, p. 313-317, 2009.
- SIOW, L.; ONG, C. Effect of pH on garlic oil encapsulation by complex coacervation. **Journal of Food Process Technology**, v. 4, n. 1, p. 199, 2013.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 10, p. 63-68, 1959.