

USO DE LIPOSSOMAS NO ENCAPSULAMENTO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

MICHEL GOMES DA SILVA^{1,2*}, VANIA ZANELA PINTO³, YASMINE MIGUEL SERAFINI MICHELETTO^{2,4}

1 Introdução

Lipossomas são vesículas formadas em meio aquoso, em que seu interior contém um pequeno volume aquoso e sua membrana é constituída por bicamadas lipídicas, também chamada de membranas (DISCHER; EISENBERG, 2002). O núcleo aquoso dos lipossomas pode ser utilizado para encapsular moléculas hidrofílicas, e na membrana lipídica pode-se dispersar compostos hidrofóbicos, tais como alguns compostos bioativos (ROVOLI et al., 2019). Devido a sua composição lipídica, os lipossomas apresentam baixa toxicidade e são biodegradáveis (DARAEI et al., 2016).

A erva-mate é fonte de ácidos clorogênicos e seus isômeros (mono-caeioiquínicos (CQA) e di-caeioiquínicos (DQA)), flavonoides, como a rutina, saponinas e outros ácidos fenólicos. Os CQA e DQA representam cerca de 10% (MEINHART, et al., 2017) da massa total da erva mate, com concentrações de 7964-9485 µg/mL (DOS SANTOS et al., 2023).

Os compostos fenólicos, encontrados no extrato de erva-mate, são apontados como a principal fonte de antioxidantes naturais. Entretanto, esses compostos bioativos podem ter seus efeitos reduzidos por fatores externos e internos devido à sensibilidade à temperatura, oxidação, pH e luz. Neste contexto, o encapsulamento destas substâncias, em lipossomas, é uma estratégia para aumentar sua estabilidade e melhorar a disponibilidade de antioxidantes (AUGUSTIN; HEMAR, 2008; DE VOS et al., 2010).

2 Objetivos

Quantificação de compostos fenólicos, presentes no extrato de erva-mate

¹Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Laranjeiras do Sul*, contato: gomyanmichel@gmail.com.

²Grupo de Pesquisa em Química Tecnológica e Ambiental.

³Professora Adjunta, Universidade Federal da Fronteira Sul.

⁴Professora Adjunta, Universidade Federal da Fronteira Sul, Orientadora.

encapsulados em lipossomas de fosfatidilcolina.

3 Metodologia

3.1 Materiais

A lecitina na forma de L- α -Lecitina de soja possui 97% de fosfolipídios na forma de 1,2-diacil-sn-glicero-3-fosfocolina (Acros Organics™, Canadá) e o colesterol com 80% de pureza foi obtido na empresa Sigma Aldrich Brasil LTDA. A erva-mate foi adquirida no mercado local.

3.2 Preparação do extrato de erva mate

O extrato de erva-mate foi preparado, utilizando-se 0,058 g de erva mate e 15 mL de álcool etílico (95% P.A). A mistura foi aquecida até 85 °C e mantida em fervura por 3 h, seguida de agitação em um agitador magnético (150 rpm) com posterior filtragem para separação dos sólidos insolúveis.

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada com leitura da absorbância em espectroscopia no ultravioleta e visível (UV-VIS) (Thermo Scientific, Multiskan GO) a 325 nm. A concentração de ácidos clorogênicos foi calculada utilizando uma curva padrão de ácido clorogênico e foi expressa em μg de ácido clorogênico/mL.

3.3 Preparação dos lipossomas

Os lipossomas foram preparados por dois métodos, de evaporação em fase reversa (MERTINS et al., 2005) e hidratação do filme lipídico com e sem adição e de extrato de erva-mate.

Os lipossomas em fase reversa utilizaram fosfatidilcolina (PC), (0,05g), o colesterol (0,01g) e o extrato de erva-mate (1000 μL) que foram dissolvidos em clorofórmio. Após a dissolução, adicionou-se a água ultrapura, ocorrendo a formação de duas fases. Em seguida, iniciou-se por dois minutos para a formação de micelas reversas que, após a evaporação do solvente orgânico em rotaevaporador, obteve-se um filme lipídico, denominado organogel. Por fim, adicionou-se água ultrapura, sob constante agitação, para a formação de uma suspensão concentrada de lipossomas.

Os lipossomas por hidratação do filme lipídico empregaram fosfatidilcolina (PC), (0,05g), o colesterol (0,01g) e o extrato de erva-mate (1000 μL) que foram dissolvidos em clorofórmio. Após, o solvente foi evaporado em rotaevaporador, obtendo-se um filme lipídico

e, com a adição de água ultrapura, sob constante agitação, houve a formação da suspensão concentrada de lipossomas.

3.4 Eficiência de encapsulamento

A suspensão de lipossomas, na presença e na ausência do extrato de erva-mate, foi centrifugada no equipamento Ultracentrifuge CP100NX por 20 minutos, com rotação de 35000 rpm e uma temperatura de 20°C. O sobrenadante foi separado e avaliado em espectro UV-VIS a 325 nm. empregando-se cubeta de quartzo, com caminho óptico de 1 cm. A concentração de ácidos clorogênicos também foi determinada utilizando uma curva padrão de ácido clorogênico e foi expressa em µg de ácido clorogênico/mL.

A eficiência de encapsulamento foi calculada pela diferença da concentração de ácidos clorogênicos presentes no extrato adicionados aos lipossomas e a concentração do ácido clorogênico presente no sobrenadante (após a centrifugação) dos lipossomas com e sem extrato, e expressa em %

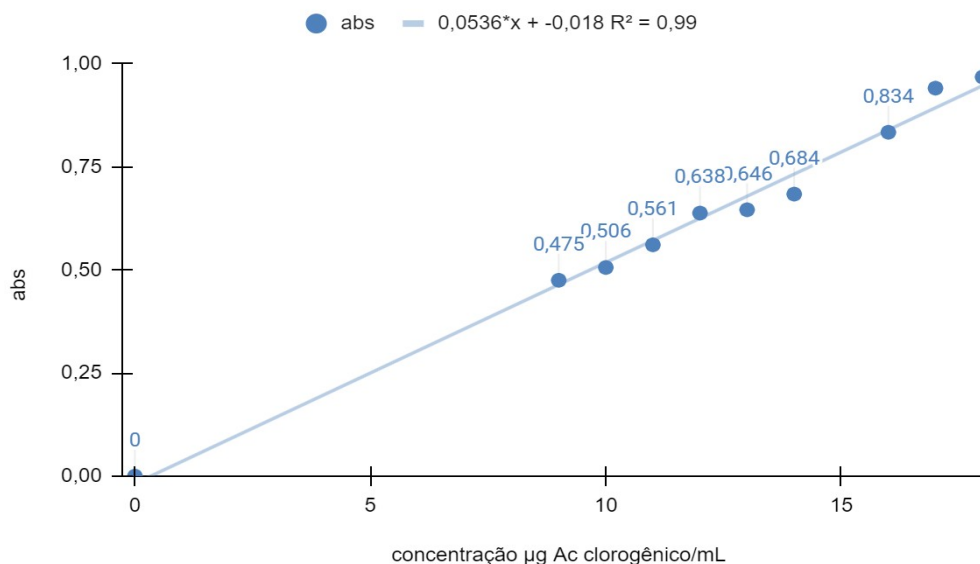
4 Resultados e Discussão

A figura 1 mostra a curva padrão de ácido clorogênico obtida por meio da espectroscopia no UV-VIS, para a quantificação dos compostos fenólicos do extrato de erva-mate e dos lipossomas contendo o extrato de erva-mate.

A curva padrão apresentou $R = 0.99$, o que indica boa representação do 2 comportamento dos dados. Esta curva foi utilizada como base calculo da concentração de ácidos clorogênicos por meio da equação da reta ($y = 0,0536 * x + -0,018$).

A Tabela 1 mostra a concentração de compostos fenólicos no extrato de erva-mate e nos lipossomas produzidos utilizando o método de fase reversa e o de hidratação do filme. O extrato de erva-mate apresentou concentração de 493,66 µg ácidos clorogênicos/mL. Esta concentração é esperada, visto que a erva-mate é fonte de ácidos clorogênicos e seus isômeros (mono- e di-caeioiquínicos), além de saponinas, flavonoides, como a rutina, e outros ácidos fenólicos (DOS SANTOS et al., 2023; MEINHART, et al., 2017)

Figura 1- Curva padrão de ácido clorogênico (ug/mL) obtida por espectroscopia no UV-VIS



O método de elaboração dos lipossomas influenciou a concentração de ácidos clorogênicos presentes no líquido sobrenadante após centrifugação para separação por decantação dos lipossomas (Tabela 1).

Os lipossomas produzidos pelos diferentes métodos sem adição de extrato de erva-mate apresentaram baixa concentração de compostos fenólicos. Este comportamento pode ser resultante da lecitina de soja utilizada para a elaboração dos lipossomas. Este material possui pureza 97% e sua estrutura pode apresentar compostos com capacidade de absorbância na mesma região visível estudada (325 nm).

Tabela 1- Concentração de ácido clorogênico no extrato de erva-mate e a eficiência de encapsulamento.

Amostra	Concentração de ác. clorogênico (µg/mL)	Eficiência encapsulamento (%)
Extrato de erva-mate	493,66	-
Sobrenadante LipR-SE	58,21	-
Sobrenadante LipR-CE	376,12	35,60
Sobrenadante LipH-SE	58,21	-
Sobrenadante LipH-CE	352,24	40,44

LipR: Lipossomas fase reversa; LipH: Lipossoma hidratação do filme; SE: Sem extrato de erva-mate; CE: com adição de erva-mate.

Desta forma, para a quantificação da eficiência do encapsulamento, a concentração de ácidos clorogênicos dos lipossomas sem extrato de erva-mate foi descontada da concentração

total dos lipossomas contendo extrato de erva-mate. O cálculo de eficiência de encapsulamento foi a razão da diferença da contração de ácidos clorogênicos adicionados aos lipossomas e a concentração deles no sobrenadante após a centrifugação. Assim, o método de fase reversa obteve menor poder de encapsulamento do que pelo método de hidratação de filme (Tabela 1).

5 Conclusão

Os lipossomas produzidos pelo método de fase reversa obtiveram menor poder de encapsulamento do que pelo método de hidratação, sendo 35,60% e 40,44%, respectivamente.

6 Referências Bibliográficas

MEINHART, Adriana Dillenburg et al. Chlorogenic acid isomer contents in 100 plants commercialized in Brazil. **Food Research International**, v. 99, p. 522-530, 2017.

DISCHER, Dennis E.; EISENBERG, Adi. **Polymer vesicles**. Science, v. 297, n. 5583, p. 967-973, 2002.

DOS SANTOS, David Fernando et al. Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Processing and Extraction: Retention of Bioactive Compounds. **Plant Foods for Human Nutrition**, p. 1-7, 2023.

DAS, Saumya et al. The extracellular RNA communication consortium: establishing foundational knowledge and technologies for extracellular RNA research. **Cell**, v. 177, n. 2, p. 231-242, 2019.

DARAEI, Hadis et al. Application of liposomes in medicine and drug delivery. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 44, n. 1, p. 381-391, 2016.

ROVOLI, Magdalini et al. In vitro and in vivo assessment of vitamin A encapsulation in a liposome-protein delivery system. **Journal of Liposome Research**, v. 29, n. 2, p. 142-152, 2019.

Palavras-chave: lipossomas; erva mate; clorogênicos.

DE VOS, Paul et al. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International dairy journal**, v. 20, n. 4, p. 292-302, 2010.

DRAGONE, Maria Lúcia Suzigan et al. Voz do professor: uma revisão de 15 anos de contribuição fonoaudiológica. **Revista da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia**, v. 15, p. 289-296, 2010.

MERTINS, Kristin et al. Transition-Metal-Catalyzed Benzoylation of Arenes and Heteroarenes. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 2, p. 238-242, 2005.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES -2022-0410.

Financiamento: Fundação Araucária