

**APROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DA CULTURA DE  
MARACUJÁ PARA A PRODUÇÃO DE ANTIOXIDANTES (ÉSTERES DE  
FLAVONÓIDES) UTILIANDO CATÁLISE ENZIMÁTICA POR LIPASE DE  
*CANDIDA ANTARTICA* TIPO B**

**Bruno Alves Sousa da Silva<sup>1</sup>, Ítalo Ximenes Marques<sup>2</sup>, Juliana Rabelo de Sousa<sup>2</sup>,  
Luciana Rocha Barros Gonçalves<sup>2</sup>, Maria Cristiane Martins de Souza<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável, e-mail: bruno\_sousa92@hotmail.com, mariacristiane@unilab.edu.br; <sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Química, e-mail: lrg@ufc.br.

**RESUMO**

Flavonóides possuem grande espectro de ação, tais como, atividade antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral. A esterificação por lipases é uma alternativa para melhorar a solubilidade desses compostos. Desta forma, avaliou-se a espécie *Passiflora edulis* (maracujá) como matéria-prima para obtenção de flavonoides que foram esterificados utilizando lipase de *Candida antarctica* tipo B (CALB) imobilizada em resina acrílica comercial (Novozyme 435) e em nanopartículas magnéticas (NPM). Os extratos etanólicos foram obtidos a partir da casca do maracujá seca e pulverizada. Quantificou-se o teor de flavonoides por cromatografia líquida - HPLC. Obteve-se 35 mg/L de flavonoides nos extratos, indicando o potencial do maracujá como fonte destes antioxidantes. O trabalho desenvolvido teve como objetivo analisar as diferentes técnicas de extração de flavonoides, isolar e quantificar flavonoides glicosilados isoorientina e isovitexina e produzir ésteres de flavonoides através da reação de esterificação utilizando a CALB.

**PALAVRAS-CHAVE:** Flavonóide, Maracujá, Esterificação, Lipase.

## INTRODUÇÃO

Flavonoides são compostos fenólicos naturais presentes em uma grande variedade de espécies vegetais e exibem inúmeros efeitos benéficos sob a saúde humana (atividade antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral). Esses flavonoides podem ser encontrados na espécie *Passiflora edulis* (Passifloraceae), popularmente conhecida como maracujá amarelo (RUDNICKI et al., 2007).

Apesar dos flavonoides apresentarem elevado potencial antioxidante, sua baixa hidrofobicidade leva a uma baixa capacidade em atravessar membranas biológicas e, consequente redução na distribuição tecidual em organismos vivos (WANG et al., 2010). Para que tais problemas possam ser resolvidos, as propriedades físico-químicas destas substâncias devem ser modificadas de modo que sua lipofilicidade aumente de forma que atravessem as barreiras biológicas efetivando a ação farmacológica desejada. Para isso, reações de esterificação podem ser realizadas com o intuito de se introduzir uma cadeia apolar nestes compostos. Reações enzimáticas utilizando lipase como catalisador podem ser realizados em condições mais brandas, com alta seletividade e eficiência catalítica de maneira "limpa", seguindo os preceitos da química verde (XANTHAKIS et al., 2010).

## MATERIAL E MÉTODOS

As diferentes técnicas de extração de flavonóides foram utilizadas a partir do descrito na literatura (Liu et al., 2014). As seguintes técnicas foram avaliadas: Soxhlet e ultrassônica. Utilizou-se como solvente para a extração, solução de etanol 60 % (v/v) a temperatura ambiente e 60°C. Quantificou-se o teor de flavonoides empregando cromatógrafo Finnigan acoplado a um detector UV/PAD e controlado pelo software ChromQuest.

A solubilidade do extrato liofilizado foi avaliada frente a diferentes solventes orgânicos e sistemas de solventes: hexano, 1,4-dioxano, n-heptano, terc-butanol, metanol, acetona, álcool tert-amílico, álcool iso-amílico, dimetilsulfóxido (DMSO), acetona/piridina (9/1), tert-butanol/piridina (9/1). A mistura foi mantida sob agitação orbital a 50 °C durante 12 – 24 horas e utilizou-se, ainda, ultrassom para auxiliar a dispersão do extrato no solvente. A mistura, solvente mais extrato liofilizado, foi submetida ultrassom durante 60 segundos e potência de 100 Watts. Após este período a mistura foi mantida sob agitação orbital a 50 °C durante 12 – 24 horas. As misturas que apresentaram dispersão e/ou solubilização no solvente testado foram analisadas por CLAE para determinação de flavonoides totais glicosilados.

A reação foi conduzida em agitador rotativo durante 48 horas a 50 °C. A concentração inicial de flavonoides totais foi equivalente à 10 mg/L. Utilizou-se o dimetilsulfóxido

(DMSO) como solvente, após secagem. A CALB imobilizada em nanopartículas magnéticas (NPM) ou resina acrílica foi fornecida a uma concentração de 10 g/L no meio reacional. Empregou-se o ácido oleico como doador acil e sua concentração foi correspondente à uma razão molar ácido oleico/flavonoide equivalente a 10. Após o período da reação, separou-se o derivado do meio reacional e este foi analisado por CLAE para quantificação dos flavonoides totais. As reações de esterificação foram avaliadas em um sistema modelo em que a rutina foi utilizada como flavonoide glicosilado, devido a dificuldade de solubilização do extrato liofilizado da casca de maracujá. A reação foi conduzida em agitador rotativo a 200 rpm durante 72 horas a 50 °C. O acompanhamento cinético foi realizado através de amostragens a cada 24 horas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As técnicas estudadas para a extração por ultrassom apresentou melhor resultado nas seguintes condições: razão sólido-líquido de 1/20 (g/mL), tempo de extração de 2 horas dividido em 4 ciclos e temperatura ambiente. Obteve-se 0,95 mg/g casca seca. O teor de flavonoides foi comparativamente equivalente ou maior ao reportado para outras fontes de flavonoides encontradas na literatura, tais como, cebola (0,71 – 0,80) (Rhodes e Price, 1996), tomate (0,005 – 0,03) (Willcox et al., 2003), mel (0,03) (Yao et al., 2003) expressos em termos de mg de flavonoides/g de matéria-prima, resultados apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Técnicas de extração, condições operacionais, teor de flavonoides e produtividade

Técnica	T (°C)	N ciclos	Tempo (h)	Razão S/L (g/mL)	Teor (mg/g)	Produt. (mg/g h)
Soxleht	60	1	2	1/100	0,79	0,35
Soxleht	60	1	2	1/20	0,16	0,08
Soxleht	60	2	4	1/20	0,27	0,07
Ultrassom	25	2	1	1/20	0,4	0,4
Ultrassom	25	4	2	1/20	0,95	0,45

Fonte: Autores

Dentre os solventes testados, o álcool tert-amílico foi capaz de dispersar o extrato liofilizado e o DMSO mostrou-se como único solvente capaz de solubilizar completamente o extrato.

Dadas as dificuldades de avaliar a esterificação dos flavonoides presentes no extrato da casca de maracujá, optou-se por testar um sistema modelo utilizando a rutina como flavonoide glicosilado padrão, dada a sua disponibilidade sob a forma purificada.

A esterificação enzimática da rutina foi avaliada em dois sistemas com e sem controle da atividade de água durante a reação através da adição de zeólita 3A ao meio reacional, sendo monitorada nos tempos de 0, 24, 48 e 72 horas. Observou-se que o controle de água no meio reacional favoreceu a formação do produto e o consumo da rutina. A redução da concentração de produto no ensaio com menor atividade de água pode estar relacionada à redução da solubilidade da rutina no meio reacional o que acarretou sua precipitação durante a reação.

## **CONCLUSÕES**

A utilização de flavonoides, a partir da biomassa da casca do maracujá amarelo, tem como aplicação seu uso farmacêutico ou alimentício. Dos métodos utilizados para extração, o ultrassom é o que obteve-se melhor resultado, considerando os parâmetros adotados. A dificuldade em solubilizar o extrato liofilizado da casca de maracujá em um solvente adequado à condução da reação demonstrou a necessidade de realizar uma separação/purificação para obtenção dos flavonoides isoorientina e isovitexina, para posterior esterificação utilizando CALB imobilizada. O estudo realizado com a rutina mostrou que houve formação de produto e que a concentração deste foi fortemente influenciada pela atividade de água.

## **REFERÊNCIAS**

- LIU, Y., HONGWU, W., CAI, X. Optimization of the extraction of total flavonoids from *Scutellaria baicalensis* Georgi using the response surface methodology, *Journal of Food Science and Technology*, 2014.
- RUDNICKI, M.; DE OLIVEIRA, M. R.; PEREIRA, T. V.; REGINATTO, F. H.; DALPIZZOL, F.; MOREIRA, J. C. F. "Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts". *Food Chem.*, 100, 719-724, 2007.
- WANG, A.; ZHANG, F.; HUANG, Y.; LI, H.; WANG, Q.; ZHAOWU, Z.; XIE, T. "New progress in biocatalysis and biotransformation of flavonoids". *J. Med. Plant Res.*, 4 (10), 847-856, 2010.
- XANTHAKIS, E.; THEODOSIOU, E.; MAGKOUTA, S.; STAMATIS, H.; LOUTRARI, H.; ROUSSOS, C.; KOLISIS, F. "Enzymatic transformation of flavonoids and terpenoids: structural and functional diversity of the novel derivatives". *Pure Appl. Chem.*, 82 (1), 1-16, 2010.