

## POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EMBALAGENS À BASE PLA E EXTRATO DE LÚPULO (*Humulus lupulus* L.)

Tarsila Rodrigues Arruda 1; Clara Suprani Marques 2; Márcia Teixeira Bittencourt 1; Patrícia Campos Bernardes 3; Allan Robledo Fialho e Moraes 4; Taíla Veloso de Oliveira 1; Nilda de Fátima Ferreira Soares 1.

### RESUMO

Embalagens ativas antioxidantes têm sido amplamente estudadas como uma tecnologia aliada à conservação de alimentos, principalmente fazendo-se uso de fontes naturais de bioatividade. Nesse contexto, investigou-se a utilização de extrato de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) (EL) para o desenvolvimento de embalagens ativas antioxidantes à base de poli(ácido láctico) (PLA). O EL foi adicionado em diferentes concentrações (0-5% m/m) em proporção de sais de potássio de  $\beta$ -ácidos de lúpulo. Os materiais obtidos foram investigados quanto ao seu potencial antioxidante por meio dos ensaios com os radicais ABTS e DPPH. Foi verificado o impacto da adição do extrato à estrutura morfológica dos materiais: a incorporação em maiores concentrações do EL promoveu a redução da homogeneidade superficial dos mesmos. Por outro lado, a atividade antioxidante das embalagens foi proporcional ao conteúdo de EL adicionado, associado à interessante atividade antioxidante dos  $\beta$ -ácidos de lúpulo presentes no extrato. Logo, tais resultados indicam a potencialidade do lúpulo, em especial os  $\beta$ -ácidos, como matéria-prima para o desenvolvimento de embalagens ativas antioxidantes para alimentos.

### INTRODUÇÃO (LETRA MAIÚSCULA NEGRITO)

Os processos oxidativos são um dos grandes entraves na conservação de alimentos, principalmente no que concerne alimentos com alto teor lipídico. Na tentativa de controlá-los, a indústria de alimentos faz uso de aditivos antioxidantes, ainda em sua maioria de origem sintética. Todavia, tem crescido o interesse pela utilização de aditivos naturais, como extratos de plantas e óleos essenciais, com propriedades antioxidantes, visando a redução/substituição dos antioxidantes químicos sintéticos (1). Neste contexto, o lúpulo (*Humulus lupulus* L.), matéria-prima amplamente conhecida da produção de cervejas, tem sido investigado quanto à sua bioatividade visando a ampliação da sua aplicabilidade na indústria de alimentos (2,3). Além da composição rica em compostos fenólicos, o lúpulo também apresenta outras substâncias com importantes propriedades bioativas (antimicrobianas/antioxidantes): os  $\alpha$ - e  $\beta$ -ácidos (4).

Além disso, novas tecnologias têm sido associadas à conservação de alimentos, como é o caso das embalagens ativas. Para além da funcionalidade básica das embalagens convencionais de alimentos, ditas “passivas”, as embalagens ativas interagem com o alimento embalado (5). Um exemplo são embalagens ativas antioxidantes, nas quais componentes com propriedades antioxidantes são incorporados ao material da embalagem ou adicionadas à sachês/pads/sheets (6). Como exemplos de materiais base para a elaboração de embalagens ativas para alimentos, os polímeros *bio-based* tais como o poli(ácido láctico) (PLA) têm ganhado destaque. Mais ainda, inúmeros estudos têm sido conduzidos visando o desenvolvimento de embalagens antioxidantes para alimentos cuja bioatividade seja oriunda de fontes naturais (7–10). Recentemente, as propriedades antioxidantes do lúpulo têm sido também exploradas neste contexto (11)

1 - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

2 - Instituto Federal de Minas Gerais, Campus Bambuí, Bambuí-MG, Brasil.

3 - Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, Alegre-ES, Brasil.

4 - Universidade Federal de Viçosa, Campus Rio Paranaíba, Rio Paranaíba-MG, Brasil.

## **OBJETIVO**

Diante do mencionado, o presente trabalho objetivou desenvolver embalagens ativas à base de PLA com incorporação de extrato de lúpulo rico em sais de potássio de  $\beta$ -ácidos (EL) e avaliá-las quanto ao seu potencial antioxidante.

## **MATERIAL E MÉTODOS (LETRA MAIÚSCULA NEGRITO)**

Os materiais à base de PLA adicionados com diferentes concentrações de EL, 0% (controle), 0,1% (P.EL0,1%), 1% (P.EL1%), 2,5% (P.EL2,5%) e 5% (P.EL5%) m/m em proporção de sais de potássio de  $\beta$ -ácidos (principal bioativo; componente majoritário do extrato), foram produzidos pela técnica de *casting*, utilizando clorofórmio como solvente (12,13).

A espessura dos materiais foi avaliada com auxílio de um micrômetro (modelo 547–401, Mitutoyo, Japão) morfologia da superfície dos materiais foi avaliada, então, utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura (modelo TM3000, Hitachi High-Technologies, Japão), operado a uma voltagem de 15 kV sob vácuo.

A atividade antioxidante dos plásticos foi avaliada por meio dos ensaios utilizando os radiais ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) e DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), conforme metodologias descritas por Re et al. (15) e Brand-Williams et al. (16), respectivamente. A atividade anti-radical das embalagens foi calculada conforme a Equação 1.

$$\text{ABTS/DPPH}(\%) = [(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}})/A_{\text{controle}}] \times 100 \quad (1)$$

Na qual  $A_{\text{controle}}$  é a absorbância da solução radical sem contato com as amostras e  $A_{\text{amostra}}$  corresponde à absorbância do radical após adição da solução extratora obtida a partir dos materiais à base de PLA (11).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A espessura dos materiais não foi alterada pela incorporação do EL ( $p \geq 0.05$ ), e os plásticos obtidos apresentaram uma espessura média de 329,39  $\mu\text{m}$ . Em contrapartida, a morfologia superficial dos materiais plásticos foi afetada gradualmente, conforme a incorporação do EL (Figura 1).

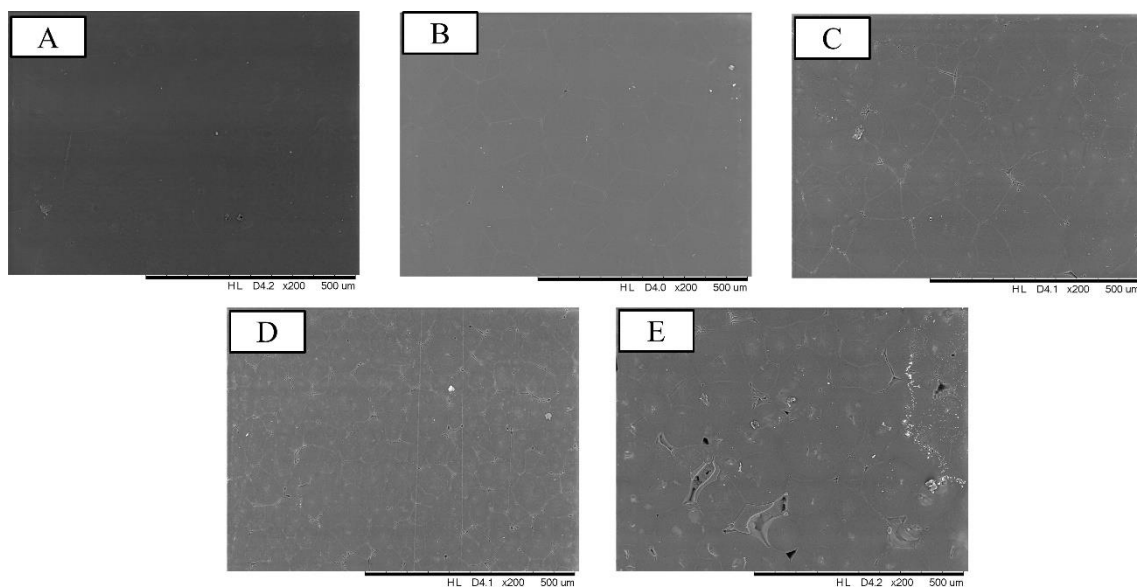


Figura 1: Imagens de MEV referente ao controle (A) e aos materiais plásticos à base de PLA adicionados com o extrato de lúpulo P.EL0,1% (B), P.EL1% (C), P.EL2,5% (D) e P.EL5% (E).

A partir da Figura 1 pode-se verificar uma redução da homogeneidade na superfície dos materiais, proporcionalmente à incorporação do extrato: plásticos adicionados com as maiores concentrações do EL apresentaram maior índice de imperfeições e furos em sua superfície. A perda da uniformidade superficial dos materiais está condicionada principalmente à incorporação e posterior localização dos componentes do extrato na matriz polimérica. Considerando os  $\beta$ -ácidos de lúpulo, devido à sua natureza hidrofóbica, podem estar localizados entre as cadeias poliméricas do PLA, promovendo uma alteração na conformação das mesmas. Tal comportamento pode estar atrelado a uma possível atividade plastificante, a ser confirmada por análises complementares. Um comportamento semelhante foi verificado por Villegas et al. (14), ao adicionar timol e cinamaldeído à filmes à base de PLA.

O potencial bipativo antioxidante dos filmes foi avaliado por meio das metodologias utilizando os radicais ABTS e DPPH. Os resultados referentes à investigação da atividade antioxidante dos materiais à base de PLA incorporados com EL podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1: Atividade anti-radical (%) dos materiais à base de PLA incorporados com 0% (controle), 0,1% (P.EL0,1%), 1% (P.EL1%), 2,5% (P.EL2,5%) e 5% (P.EL5%) de extrato de lúpulo, em proporção de sais de potássio de  $\beta$ -ácidos.

<b>Tratamento</b>	<b>ABTS (%)</b>	<b>DPPH (%)</b>
Controle	13,70 $\pm$ 0.36 c	14,56 $\pm$ 0.42 c
P.EL0,1%	14,12 $\pm$ 0.55 c	13,97 $\pm$ 0.10 c
P.EL1%	17,54 $\pm$ 0.91 b	14,45 $\pm$ 0.10 c
P.EL2,5%	18,01 $\pm$ 0.40 b	17,18 $\pm$ 0.11 b
P.EL5%	64,51 $\pm$ 0.50 a	45,77 $\pm$ 1.02 a

Médias (3 repetições) seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p \geq 0,05$ ).

Conforme apresentado, em ambos os ensaios, a atividade anti-radical das embalagens aumentou com a incorporação do EL. Considerando o ensaio com o radical ABTS, as embalagens adicionadas com extrato a partir de 1% m/m já apresentaram maior atividade antioxidante quando comparada ao controle ( $p < 0,05$ ). Para o ensaio com o radical DPPH, entretanto, esta diferença só foi significativamente perceptível a partir do tratamento P.EL2,5% ( $p < 0,05$ ). O tratamento P.EL5% destacou-se por seu potencial antioxidante, evidenciando maior atividade em ambos os ensaios ( $p < 0,05$ ). Estes resultados são corroborados pela elevada capacidade antioxidante dos  $\beta$ -ácidos do lúpulo (17), principalmente devido à presença de grupos hidroxila ativos (18).

## CONCLUSÃO

O EL pode interferir na homogeneidade da superfície de embalagens plásticas à base de PLA. Todavia, a adição do extrato não interferiu significativamente na espessura dos materiais obtidos. Por outro lado, é notório o aumento da atividade anti-radical dos plásticos obtidos, principalmente quando produzidos a partir da adição das maiores concentrações do EL. Tais resultados são indício de que o EL pode ser uma importante fonte de atividade antioxidante na elaboração de embalagens ativas para alimentos, como é o caso das produzidas utilizando-se o PLA.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. ARRUDA, T. R.; BERNARDES, P. C.; MORAES, A. R. F. E; SOARES, N. DE F. F. Natural bioactives in perspective: The future of active packaging based on essential oils and plant extracts themselves and those complexed by cyclodextrins. **Food Research International**, v. 156, p. 111160, 2022.
2. ARRUDA, T. R.; PINHEIRO, P. F.; SILVA, P. I.; BERNARDES, P. C. Exclusive Raw Material for Beer Production? Addressing Greener Extraction Techniques, the Relevance, and Prospects of Hops (*Humulus lupulus* L.) for the Food Industry. **Food and Bioprocess Technology**, v. 15, p. 275–305, 2022.
3. ARRUDA, T. R.; PINHEIRO, P. F.; SILVA, P. I.; BERNARDES, P. C. A new perspective of a well-recognized raw material: Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities and  $\alpha$ - and  $\beta$ -acids profile of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 141, n. July 2020, p. 110905, 2021.
4. HRNCIC, M. K.; SPANINGER, E.; KOSIR, I. J.; KNEZ, Z.; BREN, U. Hop Compounds : Extraction Techniques, Chemical Analyses, Antioxidative, Antimicrobial, and Anticarcinogenic Effects. **Nutrients**, v. 11, n. 257, p. 1–37, 2019.
5. MOREIRINHA, C.; VILELA, C.; SILVA, N. H. C. S.; et al. Antioxidant and antimicrobial films based on brewers spent grain arabinoxylans, nanocellulose and feruloylated compounds for active packaging. **Food Hydrocolloids**, p. 105836, 2020
6. YILDIRIM, S.; RÖCKER, B.; PETTERSEN, M. K.; et al. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 1, p. 165–199, 2018.
7. ANDRADE-DEL OLMO, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; HERNÁEZ, E.; RUIZ-RUBIO, L.; VILAS-VILELA, J. L. Antibacterial multilayer of chitosan and (2-carboxyethyl)-  $\beta$ -cyclodextrin onto polylactic acid (PLLA). **Food Hydrocolloids**, v. 88, n. July 2018, p. 228–236, 2019.
8. ZHANG, X.; ZHAO, Y.; SHI, Q.; et al. Development and characterization of active and pH-sensitive films based on psyllium seed gum incorporated with free and microencapsulated mulberry pomace extracts. **Food Chemistry**, v. 352, n. July 2020, p. 129333, 2021.
9. BI, F.; QIN, Y.; CHEN, D.; KAN, J.; LIU, J. Development of active packaging films based on chitosan and nano-encapsulated luteolin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 182, p. 545–553, 2021
10. DOMÍNGUEZ, R.; BARBA, F. J.; GÓMEZ, B.; et al. Active packaging films with natural

- antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food Research International**, v. 113, p. 93–101, 2018.
11. TIAN, B.; LI, W.; WANG, J.; LIU, Y. Functional polysaccharide-based film prepared from chitosan and  $\beta$ -acids: Structural, physicochemical, and bioactive properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 181, p. 966–977, 2021.
  12. ANUAR, H.; NUR FATIN IZZATI, A. B.; SHARIFAH NURUL INANI, S. M.; et al. Impregnation of Cinnamon Essential Oil into Plasticised Polylactic Acid Biocomposite Film for Active Food Packaging. **Journal of Packaging Technology and Research**, v. 1, n. 3, p. 149–156, 2017.
  13. HOSSAIN, K. M. Z.; FELFEL, R. M.; OGBILIKANA, P. S.; et al. Single Solvent-Based Film Casting Method for the Production of Porous Polymer Films. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 303, n. 4, p. 1–7, 2018.
  14. VILLEGAS, C.; ARRIETA, M. P.; ROJAS, A.; et al. PLA/organoclay bionanocomposites impregnated with thymol and cinnamaldehyde by supercritical impregnation for active and sustainable food packaging. **Composites Part B: Engineering**, v. 176, n. August, p. 107336, 2019
  15. RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEHENTE, A.; et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231–1237, 1999.
  16. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
  17. LIU, Y.; LU, N.; TANG, J. Synthesis, characterization, crystal structure, and antioxidant activity of hexahydro- $\beta$ -acids. **Journal of Molecular Structure**, v. 1175, p. 721–727, 2019.
  18. WU, C. N.; SUN, L. C.; CHU, Y. L.; et al. Bioactive compounds with anti-oxidative and anti-inflammatory activities of hop extracts. **Food Chemistry**, v. 330, n. May, p. 127244, 2020.