

BIOLIQUEFAÇÃO MOLECULAR VEGETAL: NOVA TECNOLOGIA PARA FITOCOSMÉTICOS FUNCIONAIS

Dario Zanichelli, Phenbiox s.r.l.; **Leonardo Setti**, Departamento de Química Industrial e Materias, Universidade de Bolonha

O EXTRATO VEGETAL DE HOJE

Apesar da grande atenção que os fabricantes de cosméticos depositam em busca de novos princípios ativos, os extratos vegetais continuam atuando de forma intensa em muitos produtos. Tal sucesso se deve ao aumento da procura pelo “natural” por parte dos consumidores¹, tendo assim cada vez mais disponível no mercado uma gama de moléculas naturais que apresentam eficácia incontestável.

Atualmente, o setor de ingredientes cosméticos derivados de plantas oferece duas categorias principais: moléculas únicas com elevado grau de pureza ou extratos obtidos por técnicas convencionais a base de solventes (ácool, glicerina, glicóis, dióxido de carbono supercrítico, hexano, etc.). O uso de extratos vegetais traz algumas limitações significativas devido a falta eficácia dos processos de extração e da segurança do seu preparo, além dos impactos ambientais relacionados. Para se obter um derivado vegetal para aplicação cosmética, hoje são utilizadas principalmente as tecnologias tradicionais de extração através de solventes onde sua eficácia se baseia na afinidade de diversas moléculas de interesse, entre a fase estacionária (tecido da planta) e a fase móvel (solvente), demonstrada em cromatografias. Este método não permite considerar a grande complexidade e diversidade que o mundo vegetal propõe, o qual dificilmente pode ser desvendada por meio de abordagens simplistas. A presença simultânea de moléculas lipofílicas, total ou parcialmente hidrofílicas, neutras, carregadas ou anfóteras significa que a escolha do solvente e da tecnologia extrativa conduz a extração preferencial de certas classes de compostos classificados como ineficazes em relação a outros. Deve-se também ter em mente que frequentemente muitas moléculas de grande interesse estão covalentemente ligadas a macroestruturas polissacarídeas e proteicas que constituem os tecidos vegetais. Estas moléculas não podem ser extraídas via processos tradicionais, os quais são efetivos apenas em moléculas fisicamente presas pela estrutura do vegetal ou por interações simples.

Um outro problema da extração com solventes é o elevado impacto ambiental, e mesmo ignorando eventuais resíduos de processamento que podem estar presentes

no produto, dada a atenção devida, a aceitação deste tipo de produto poderá ser em breve questionada.

CASCAS DE VEGETAIS UTILIZADAS COMO VERDADEIROS PROTETORES

As plantas são fontes incríveis de uma diversidade química, isso se deve ao fato de que ao contrário dos animais, que podem fugir e se protegerem de perigos, encontram abrigo contra a exposição excessiva as condições meteorológicas, as plantas sobrevivem através da capacidade de sintetizarem substâncias químicas. A planta é capaz de produzir moléculas que a protegem da exposição solar, poluição, fatores climáticos e meteorológicos, colocando em ação um sistema de defesa contra agressões microbianas, o que garante que seus frutos se tornem atraentes na época do plantio.

Estas e muitas outras funções estão presentes no reino vegetal por várias classes de moléculas, geralmente produzidas como metabólitos secundários. Cada família, gênero, espécie, subespécie e clones, muitas vezes diferentes da mesma planta, foram conduzidas por diferentes pressões evolutivas a desenvolverem moléculas químicas específicas funcionais para o metabolismo das plantas e para o ambiente em que elas se encontram. Isto deu origem a diversidade estrutural das moléculas que compõem as diversas classes de fitocompostos como biofenóis, carotenóides, alcalóides, terpenos e sitosteróis, que estão entre os mais conhecidosⁱⁱ. Toda esta complexidade é a principal chave para explicar a melhora na eficácia de alguns fitocomplexos comparado a administração de moléculasⁱⁱⁱ.

Muitas vezes as matrizes vegetais ficam presas física e quimicamente através de ligações covalentes, diferentes moléculas que são parcialmente biodisponíveis e, portanto, muitas vezes mal extraídas com solventes. Na verdade, os ingredientes ativos da matriz da planta podem ser colocados de várias maneiras:

- como parte da cadeia de polissacarídeos vegetais (não extraído por método tradicional);
- fisicamente preso (parcialmente extraído por método tradicional);
- ligadas por ligações químicas das estruturas de polissacarídeos (não extraído por método tradicional).

Cada planta apresenta também macromoléculas estruturais desenvolvidas que constituem uma plataforma, através da qual as plantas crescem. A maior parte destas macroestruturas de suporte são encontradas na parede celular, formando seu exterior, e espalhadas ao redor da membrana plasmática a cumprir diversas funções, sendo a primeira a de barreira entre o interior da célula e o meio externo^{iv}.

A parede celular^y é formada por uma estrutura muito complexa que muda a medida em que a célula cresce. Nas células jovens, é mais fina e elástica, enquanto que nas adultas é mais robusta.

A parede celular dos vegetais é constituída principalmente de polissacarídeos e, em menor quantidade, de glicoproteínas, ésters fenólicos (ácido ferúlico e cumárico), minerais e enzimas (Figura 1). Os principais polissacarídeos que constituem a parede celular são:

- celulose;
- hemicelulose;
- pectina.

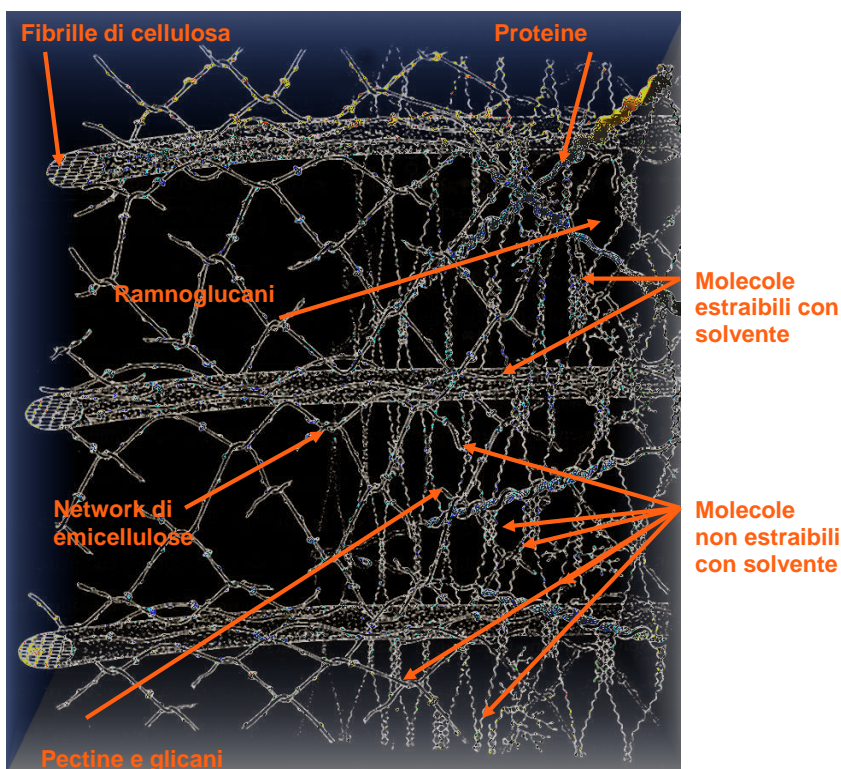


Figura 1: Representação esquemática da parede celular vegetal primária.

BIOCATALISADOR ENZIMÁTICO: SEGURANÇA E EFICÁCIA DA BIOLIQUEFAÇÃO MOLECULAR

Os biocatalisadores enzimáticos são amplamente utilizados em diversos setores das indústrias química e farmacêuticas, assim como em processamento de alimentos devido a sua seletividade intrínseca e potencial como eficientes catalisadores alternativos para a química

verde. A principal vantagem tecnológica no emprego de enzimas biocatalisadoras, comparado a tecnologias tradicionais, consiste na possibilidade de tornar os processos altamente eficientes em soluções aquosas e em condições operacionais (pH, temperatura, pressão, etc.) geralmente leves^{vi, vii, viii, ix}.

Um conhecimento profundo de ambas as matrizes vegetais, molecular e estrutural, é pré-requisito para abordar a obtenção de novas preparações de origem vegetal para aplicação cosmética, sendo elas o mais seguras possíveis, destacando as moléculas de interesse e fazendo uso racional de biocatálise enzimática hoje disponível. A fim de agredir uma estrutura vegetal para recuperar todo o seu princípio ativo, é essencial ter conhecimento da tipologia do polissacarídeo/proteína/fenol que está constituindo a parede celular deste vegetal. Tal informação permite selecionar o tipo de atividade enzimática necessária para hidrolisar as estruturas que ligam e/ou prendem os compostos químicos que compõem os fitocomplexos ativos.

Uma vez identificadas as atividades necessárias, é necessário estudar e preparar as enzimas mais eficientes e planejar uma estratégia hidrolítica que maximize o resultado da hidrólise. O uso de múltiplas atividades em sequência e/ou simultaneamente pode ajudar a evitar problemas de inibição por parte dos biocatalisadores, os quais podem paralisar o processo de hidrólise, como criar uma sinergia, conduzindo a hidrólise a um nível elevado.

Os guias orientativos destinados ao desenvolvimento destas tecnologias devem necessariamente seguir os princípios que inspiram a *Química Verde*^x, sinalizando toda a eficácia e a diminuição de impactos ambientais.^{xi}

A bioliquefação molecular da matriz vegetal baseia-se na utilização sequencial de uma série de processos enzimáticos biotecnológicos que permitem desintegrarem-se a nível molecular e, especificamente, macroestruturas de proteínas e polissacarídeos. Tratamentos biocatalíticos específicos preliminares permitem hidrolisar estruturas moleculares que constituem os tecidos vegetais e recuperar seu princípio ativo, que faz parte da estrutura polissacarídea, tais como arabinoxilanos (em farelo de trigo). Estes tratamentos também podem criar espécies de pontos de acesso não estruturados, permitindo que os biocatalisadores façam uma completa bioliquefação, tornando todas as outras moléculas funcionais biodisponíveis em solução aquosa (Figura 2).

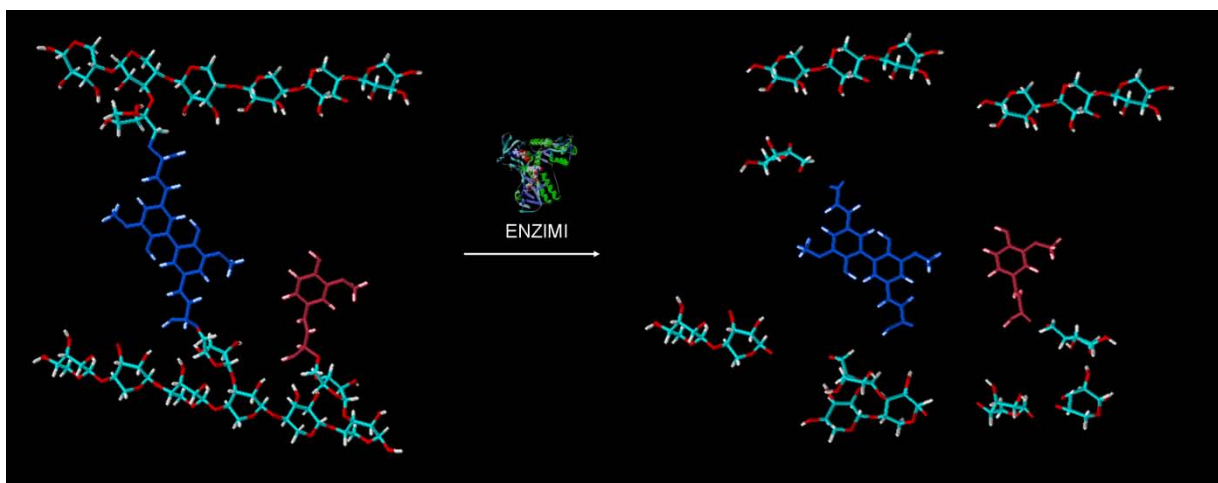


Figura 2: Representação esquemática do processo de bioliquefação molecular de uma parte de hemicelulose em parede celular vegetal

Graças a tecnologia de bioliquefação molecular, é possível formular cosméticos extremamente seguros e eficazes contendo um complexo de moléculas bioativas provenientes dos tecidos vegetais, respeitando o equilíbrio natural dos compostos e concentrações e tornando o cosmético um veículo eficaz proveniente do poder de proteção das plantas para a pele.

Há inúmeras vantagens em utilizar a bioliquefação molecular comparada as tecnologias de extração tradicionais. O consumidor pode ter a certeza em estar adquirindo um produto eficaz e totalmente seguro. Esta tecnologia permite benefícios ambientais como a redução de descarte de resíduos, abolição do uso de recursos não-renováveis (solventes), indo de encontro com a tendência de sustentabilidade, a qual os consumidores demonstram estar bastante conscientes^{xii} a respeito (Figura 3).

Até mesmo os fabricantes de cosméticos podem ter grandes benefícios em termos de facilidade de uso e segurança. Um vegetal bioliquefado, sendo completamente aquoso, pode substituir toda a parte água da formulação cosmética, em processos a quente ou a frio, evitando problemas relacionados a pressão.

Por estas razões a tecnologia de bioliquefação molecular por meio de enzimas catalisadoras, é considerada segura, flexível e eficaz para a fabricação de fitocosméticos funcionais.

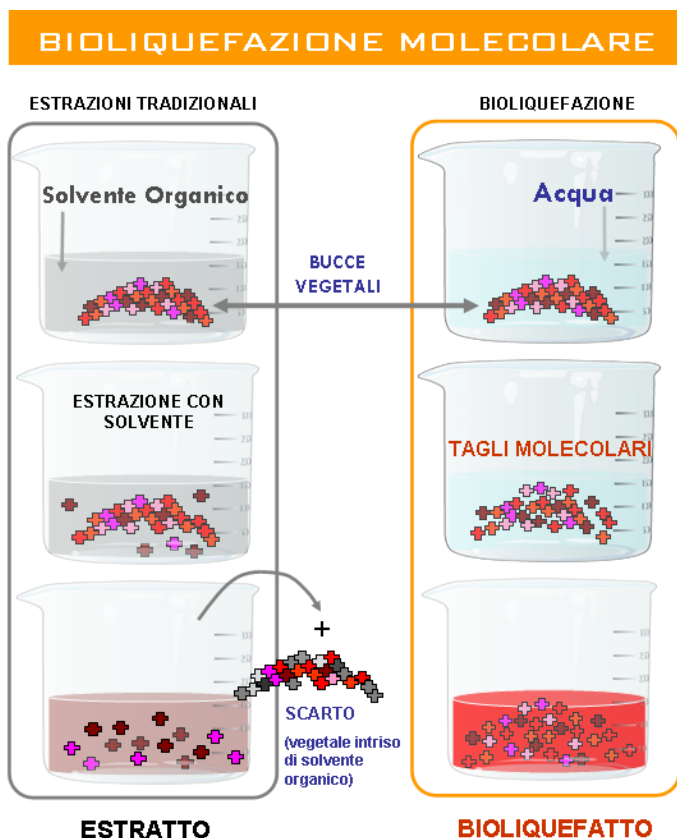


Figura 3: Comparação entre o processo extrativo tradicional (através do uso de solventes) e a tecnologia de bioliquefação molecular.

NOZES BIOLIQUEFADAS: INOVAÇÃO EM HAIR CARE

O Pro-structure, Hydrolyzed Walnut Extract (INCI name), é um exemplo claro de efetividade da tecnologia biocatalítica na obtenção de novos ingredientes ativos para cosméticos.

Nozes são tradicionalmente utilizadas em processos de bronzamento artificial devido ao seu alto teor de moléculas fenólicas capazes de interagirem com as proteínas, conferindo

estabilidade e resistência a pele. Esta particularidade pode ser explorada das nozes enquanto a mesma ainda não atingiu seu amadurecimento, quando a fruta apresenta teor de moléculas significativo a interagirem com as proteínas. A noz acumula os compostos fenólicos pouco antes da formação de sua casca, onde neste estágio, apresenta seu maior teor de moléculas ativas. (Figura 4).

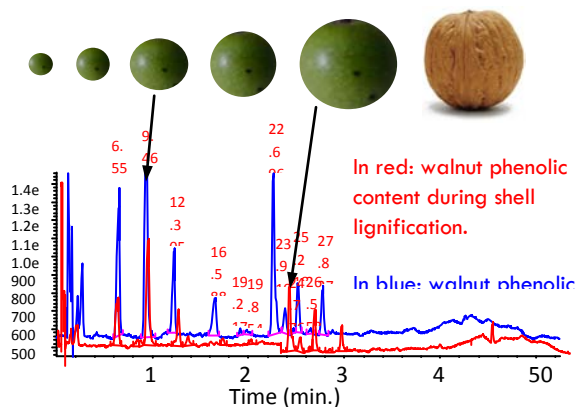


Figura 4: HPLC - perfil fenólico da noz em diferentes estágios

A eficácia da interação entre a fração fenólica da noz bioliquefada com as proteínas, tanto animais como vegetais, foi testada in vitro. Os resultados positivos deste teste foram a base para outros testes feitos com formulações cosméticas para pele e cabelos.

A poderosa propriedade antioxidante da noz bioliquefada é capaz de fazer com que os fios de cabelo passem a apresentar uma característica antioxidante, selando a queratina dos cabelos de forma permanente. Os cabelos foram tratados com formulações apresentando diferentes concentrações do ativo durante 5 minutos, então enxaguados em água corrente. Na figura 5 é possível notar a eficácia das formulações contendo o ativo. Ambos os cabelos naturais como os tingidos obtiveram um aumento visível na sua proteção por parte dos radicais. O efeito protetor é mais eminente nos fios danificados. Cabelos coloridos artificialmente ou que tenham passado por outros processos químicos, apresentaram uma maior capacidade antioxidante, aumentando sua proteção. Após 72 horas do tratamento, os cabelos continuam protegidos contra os radicais, mantendo alta ação antioxidante.

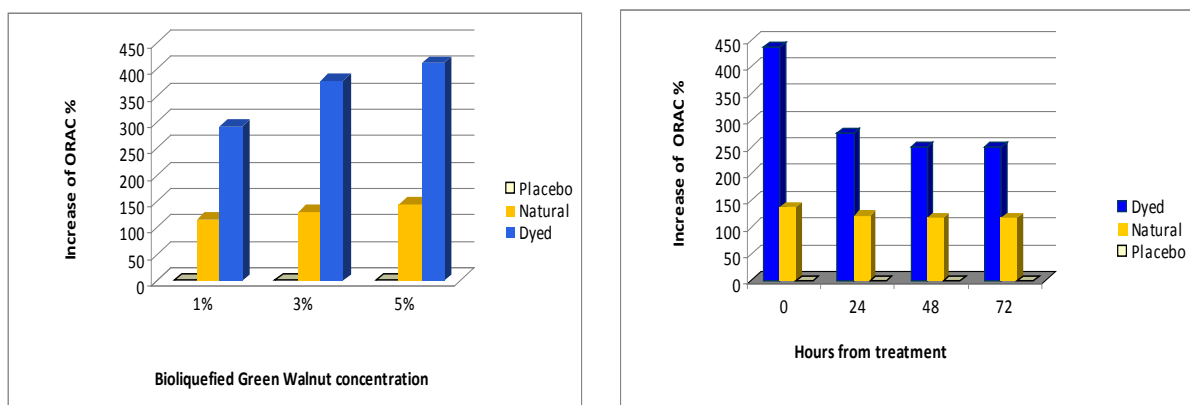


Figura 5: capacidade antioxidante dos fios tratados com formulações contendo diferentes concentrações do ativo bioliquefado comparados ao placebo

Para melhor avaliar o efeito protetor que o Pro-structure promove nos cabelos coloridos, amostras foram tratadas com uma loção contendo 1% da noz bioliquefada e comparadas ao placebo. As amostras foram expostas por 48h sob radiação UV. Cabelos tingidos sofrem um processo de foto-degradação devido a rupturas nos fios geradas pelos radicais sob a exposição solar. Este processo pode danificar tanto os fios como a coloração.

A proteção conferida pela fração ativa do Pro-structure é capaz de preservar as moléculas da tintura, o que dificulta a ação UV em desbotar a cor final dos fios (Figura 6).

Uma formulação cosmética apresentando 1% da noz bioliquefada é capaz de proteger a coloração dos fios de forma eficaz contra as degradações dos raios UV.

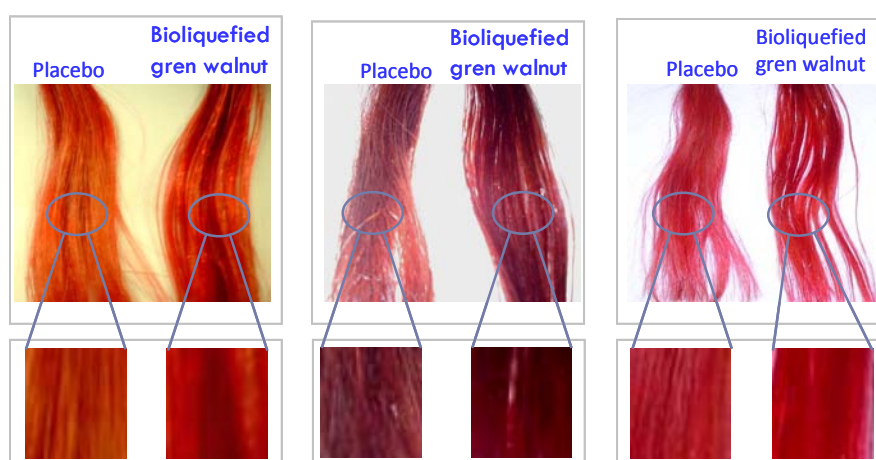


Figura 6: efeito de proteção em cabelos coloridos tratados com shampoo (concentração a 1% de noz bioliquefada)

REFERÊNCIAS

- ⁱ G. D'Agostino, "Lo 'spirito della pianta' ", *Kosmetica*, n.2, p.7, marzo 2008.
- ⁱⁱ G. Proserpio, "Piante aromatiche profumi, aromi sostanze odorose dermofunzionali per uso farmaceutico, alimentare, cosmetico ed erboristico", SEPEN Editore, Milano, 1995.
- ⁱⁱⁱ M. Pedretti, "Chimica e farmacologia delle piante medicinali", Studio Edizioni, Milano, 2001.
- ^{iv} S. Vorwerk, S. Somerville, C. Somerville; "The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance" *Trends in plant science* , n.4, pp. 203-209, 2004.
- ^v J. Rose, "The plant cell wall annual plant reviews", Vol. 8, Blackwell Publisher, Oxford, 2003.
- ^{vi} R. S. Jayani, S. Saxena, R. Gupta, "Microbial pectinolytic enzymes: A review", *Process Biochemistry*, n. 40, pp. 2931-2944, 2005
- ^{vii} C.B. Faulds, D. Zanichelli, V.F. Crepin, I.F. Connerton, N. Juge, M.K. Bhat, K.W. Waldron, "Specificity of feruloyl esterases for water-extractable and water-unextractable feruloylated polysaccharides: influence of xylanase", *Journal of Cereal Science*, n. 38, pp. 281-288, 2003
- ^{viii} R. Sharma, Y. Chisti, U.C. Banerjee, "Production, purification, characterization, and applications of lipases", *Biotechnology Advances*, n. 19, pp. 627-662, 2001
- ^{ix} H.G. Shin, Y.M. Choi, H.K. Kim, Y.C. Ryu, S.H. Lee, B.C. Kim, "Tenderization and fragmentation of myofibrillar proteins in bovine *longissimus dorsi* muscle using proteolytic extract from *Sarcodon aspratus*", *LWT - Food Science and Technology*, n. 8, pp. 1389-1395, 2008.
- ^x <http://www.epa.gov/greenchemistry/pubs/principles.html>
- ^{xi} G. Bersaglio, "La chimica verde per tutelare l'ambiente", *Kosmetica*, n. 2, pp. 42-45, marzo 2008.
- ^{xii} E. Perani, "Cosmetico sostenibile una scelta possibile?", *Kosmetica*, n. 5, pp. 36-40, giugno 2007.

Tradução e Adaptação: Marina Fonseca. Marketing Técnico da Focus Tecnologia Comercial Química Ltda.