

OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS NA EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

MARINA DA SILVA^{1,2*}, MOISE DOSSOUS², GUSTAVO HENRIQUE FIDELIS DOS
SANTOS^{2,3}

1 Introdução

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St Hill) é uma árvore nativa da América do Sul, e está presente em países como Brasil, Paraguai e Argentina. Sua composição possui polifenóis, flavonoides, metilxantinas e saponinas, além de propriedades funcionais e biológicas devido aos compostos fenólicos, que são metabólicos secundários produzidos pelas plantas e atuantes como antioxidantes (DUTRA, 2010). Diferentes metodologias são utilizadas para extrair os compostos bioativos presentes nas matrizes vegetais. Estudo sobre extratos de erva-mate, apresentou que a quantificação de compostos fenólicos varia de acordo com o cultivo da planta, localização e o tipo de solvente utilizado para a extração (DUTRA, 2010).

Solventes eutéticos profundos (DES-Deep Eutetic Solvents) são estudados como opções para a extração de compostos bioativos, uma vez que apresentam baixo custo, preparo simples e não são tóxicos, atendendo os princípios de química verde, proporcionando uma extração limpa, livre de reagentes nocivos à saúde e ambientalmente amigável. Os DES's são uma mistura de sais quaternários de haletos orgânicos, composto por um receptor de hidrogênio (HBA) e um composto orgânico doador de hidrogênio (HBD) (LIU, 2008). O cloreto de colina é um sal de amônio quaternário que pode ser utilizado para formação de DES's, em conjunto com doadores de hidrogênio como ácido cítrico, ácido lático, ureia e glicerol. Desta forma, o presente estudo tem como finalidade analisar compostos bioativos presentes na folha de erva-mate a partir da extração com DES's.

2 Objetivos

Avaliação do potencial de extração dos compostos fenólicos e flavonóides totais presentes nas folhas de erva-mate utilizando solventes eutéticos profundos.

¹Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul, contato: marina15.06@hotmail.com,

²Grupo de Pesquisa: Produção, transformação e armazenamento de alimentos, campus Laranjeiras do Sul

³Doutor em Engenharia Química, Universidade Federal da Fronteira Sul, Orientador.

3 Metodologia

As folhas de erva-mate foram doadas por indústria ervateira local, higienizadas com solução de hipoclorito de sódio 1%, secas em estufa com circulação de ar forçado (30 °C/ 4 dias), trituradas em moinho de facas (American Lab), e separadas por granulometria em peneiras na faixa de 40 a 120 mesh. As partículas foram unidas, embaladas e armazenadas em ultrafreezer (-80 °C).

Os DES's foram sintetizados (1:1 m/m) a partir do sal cloreto de colina (ChCl) combinados com: etanol, glicerol, ácido láctico e água, utilizando o método de aquecimento descrito por DAI, (2013). Após combinações as misturas foram agitadas (220 rpm a 50 °C) até completa homogeneização. Uma mistura de água e etanol (1:1) a partir da diluição de solução de etanol 70% em água foi utilizada como referência.

Os extratos foram obtidos a partir de 0,5 g de erva-mate e 20 g de DES's. A condução dos ensaios ocorreu em incubadora com agitação orbital (100 rpm, 50 °C, 5 h). As soluções foram transferidas em tubos falcons e centrifugadas por 20 min. O volume dos extratos líquidos foi aferido e o armazenamento em ultrafreezer (-80 °C). Os dados obtidos nas extrações foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05). Os resultados foram apresentados como média ± intervalo de confiança com nível de 95%.

A cinética de extração foi realizada a partir de 0,5 g de erva-mate e 20 g de solvente, nas condições de ChCl 50%, 80 °C e 60 rpm. As amostras foram coletadas nos tempos 1, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 180, 360 minutos. Modelos matemáticos-físicos (pseudo primeira e segunda ordem) e empíricos (Peleg, Page) foram utilizados para descrever matematicamente o processo de extração. A Figura 1 apresenta os modelos matemáticos utilizados.

Figura 1: Modelos matemáticos

Modelo cinético de pseudo-primeira ordem	Modelo cinético de pseudo-segunda ordem	Modelo empírico de Peleg	Modelo empírico de Page
$C(t) = C_{eq}(1 - e^{-k_1 t})$	$C(t) = \frac{C_{eq}^2 k_2 t}{1 + C_{eq} k_2 t}$	$C(t) = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 t}$	$C(t) = e^{-k t^n}$

t:tempo; **k1**: constante cinética 1ª ordem; **Ceq**:solutos extraídos no equilíbrio; **C**:solutos extraídos em função do tempo; **k2**:constante cinética 2ª ordem; **K1**:taxa de Peleg; **K2**: capacidade de Peleg; **C0**: concentração inicial de soluto no extrato; **k**:constante de extração; **n**:constante Page resistência interna a extração.

A determinação dos compostos fenólicos foi realizada através do método Folin-Ciocauteau em microplaca, descrito por BUCIC-KOJIC et al., (2007). Foram utilizados 10 µL de extrato, 204 µL H₂O e 44 µL Folin a 10% (v/v) para a geração de cada mistura. As misturas foram homogeneizadas em espectrofotômetro de microplacas com agitação linear, repousadas e uma solução de carbonato de sódio (22 µL) foi adicionado. Após o repouso por

2 h com ausência de luminosidade, a leitura da absorbância foi realizada na faixa de 765 nm (Thermo Scientific). Os resultados foram expressos em equivalência de mg de ácido gálico por 100 g de erva-mate (mg EAG 100 g⁻¹).

Para a determinação dos flavonoides totais foi utilizado a metodologia de ZHISHEN; MENGCHENG; JIANMING (1999), em microplaca, a partir de 30 µL de extrato, 120 µL H₂O e 9 µL de NaNO₂ 10% (m/v). As misturas foram agitadas no espectrofotômetro de microplacas, repousadas e adicionadas de 9 µL AlCl₃ 20 % (m/v). Após o repouso, 60 µL de NaOH (1M) e 72 µL de H₂O foram adicionados e as amostras homogeneizadas. A leitura de absorbância foi realizada no comprimento de onda 510 nm. Os cálculos expressos em equivalência de mg de catequina por 100 g⁻¹ (mg ECA 100 g⁻¹).

4 Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados dos extratos de erva-mate obtidos por diferentes solventes eutéticos profundos e um solvente orgânico convencional.

Tabela 1: Volume de extração, concentração de compostos fenólicos e flavonoides totais, e, eficiência para os extratos de erva-mate obtidos por diferentes solventes.

Solventes	Volume de Extração (mL)	Compostos Fenólicos (mg EAG/100g)	Flavonoides Totais (mg ECA/100g)
ChCl + Etanol	23,5	7.522 ± 72	82.522 ± 2371
ChCl + Glicerol	13	9.954 ± 88	107.863 ± 26.256
ChCl + Ácido Acético	11	11.788 ± 105	130.110 ± 2.83
ChCl + Água	17,1	6.254 ± 49	71.424 ± 2.105
Etanol + Água*	19,4	4.070 ± 35	45.726 ± 1.224

*solvente orgânico convencional utilizado como referência para avaliar a eficiência dos líquidos iônicos.

Conforme apresentado na Tabela 1, os DES's resultaram em maiores concentrações de compostos fenólicos e flavonóides totais. A combinação de ChCl + Ácido Acético apresentou melhor desempenho de extração (185%), enquanto ChCl + Água foi o solvente entre os DES que menos performou (55 [%]), sendo ainda maior que a extração com Etanol + Água, afirmando o efeito positivo do cloreto de colina na extração.

O estudo cinético foi conduzido por ChCl + Água devido a melhor homogeneização e transparência do solvente. Os resultados experimentais da cinética de extração e ajustes dos modelos matemáticos são apresentados na Figura 2.

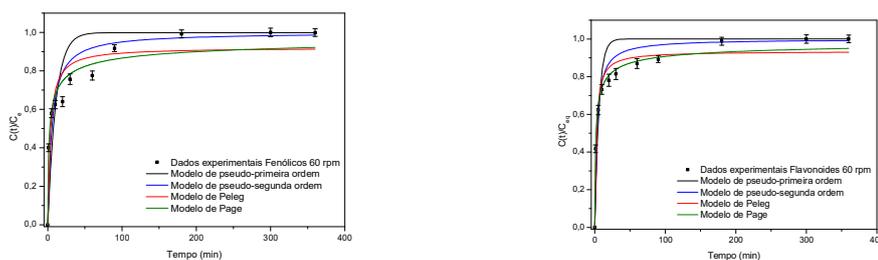


Figura 2: Cinética da extração de compostos fenólicos e de flavonoides totais na velocidade de 60 rpm.

Conforme Figura 2, o rendimento de extração aumentou com o passar do tempo até atingir equilíbrio para ambos os compostos: fenólicos 6250 mg EAG 100 g⁻¹ a 180 min e flavonóides 71500 mg ECA 100 g⁻¹ a 210 min. A Tabela 2 apresenta os resultados e parâmetros ajustados dos modelos matemáticos.

Tabela 2: Parâmetros obtidos pelos modelos cinéticos para Compostos Fenólicos e Flavonóides Totais

Modelos	Parâmetros Compostos Fenólicos	Compostos Fenólicos	Parâmetros Flavonóides Totais	Flavonoides Totais
Pseudo-primeira ordem	k_1 (min ⁻¹)	0,093 ± 0,003	k_1 (min ⁻¹)	0,173 ± 0,024
	C_{eq} (mg EAG 100 g ⁻¹)	6.252	C_{eq} (mg ECA 100 g ⁻¹)	71.466
	R^2	0,71	R^2	0,81
Pseudo-segunda ordem	k_2 (min ⁻¹)	0,19 ± 0,01	k_2 (min ⁻¹)	0,33 ± 0,07
	C_{eq} (mg EAG 100 g ⁻¹)	6.259	C_{eq} (mg ECA 100 g ⁻¹)	71.424
	R^2	0,87	R^2	0,94
Peleg	K_1 (min g mg ⁻¹)	3,54 ± 0,12	K_1 (min g mg ⁻¹)	2,18 ± 0,25
	K_2 (g mg ⁻¹)	1,09 ± 0,06	K_2 (g mg ⁻¹)	1,07 ± 0,03
	R^2	0,88	R^2	0,95
Page	k (min ⁻¹)	1,08 ± 0,06	k (min ⁻¹)	0,95 ± 0,09
	n	-0,44 ± 0,07	n	-0,49 ± 0,04
	R^2	0,94	R^2	0,99

De acordo com os coeficientes de determinação (R^2), os modelos de Page e Peleg foram melhor ajustados a cinética de extração dos compostos fenólicos e flavonóides totais. O mesmo comportamento foi observado na extração sólido-líquido de compostos fenólicos em tâmaras vermelhas (LIN, 2018), refletindo os modelos empíricos com maior adaptação.

5 Conclusão

A partir dos resultados encontrados, a extração de compostos bioativos foi favorecida com a utilização de cloreto de colina em relação ao solvente orgânico Etanol + Água, sendo a maior resposta com ChCl + Ácido Acético: compostos fenólicos (11.788 ± 105 mg EAG/100 g) e flavonóides totais (130.110 ± 2.833 mg ECA/100 g). O estudo cinético mostrou que o tempo de equilíbrio variou de acordo com os componentes extraídos, sendo compostos

fenólicos em 180 min e flavonóides totais em 210 min. O modelo cinético que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o modelo empírico de Page.

Referências Bibliográficas

- BUCIĆ-KOJIĆ, A; PLANINIĆ, M; TOMAS, S; BILIĆ, M; VELIĆ, D. Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 1, p. 236-242, 2007.
- DAI, Y., SPRONSEN, J., WITKAMP, G. J., VERPOORTE, R., CHOI, Y. H. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green Technology, **Analytica Chimica Acta**, Leiden University, The Netherlands, v. 766, p. 61-68, 2013.
- DUTRA, F. L. G; HOFFMANN-RIBANI, R.; RIBANI, M. Determinação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência isocrática durante estacionamento da erva-mate. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 119-123, 2010.
- LIN, C. B., LENG, C. Y. Solid-liquid extraction kinetics of total phenolic compounds (TPC) from red dates. **MATEC Web of Conferences**, v. 152, 2018.
- LIU, L.; KONG, Y.; XU, H.; LI, J. P.; DONG, J.X.; LIN, Z. Ionothermal synthesis of a three-dimensional zinc phosphate with DFT topology using unstable deep eutectic solvent as template-delivery agent. **Microporous and Mesoporous Materials**, p. 624-628, 2008.
- ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, 1999.

Palavras-chave: Erva-mate; solventes eutéticos profundos; compostos bioativos.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2021 – 0397.

Financiamento: Fundação Araucária