

COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE *Eucalyptus dunnii*

NIDRIA DIAS CRUZ¹; EZEQUIEL GALLIO²; IVANDRA IGNÊS DE SANTI²; DARCI
ALBERTO GATTO³

¹Universidade Federal de Pelotas – nidria_cruz@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – egeng.florestal@gmail.com; ivandra.santi@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – darcigatto@yahoo.com

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* ocupa a maior parte da área de florestas plantadas do Brasil, portanto, diversas espécies são amplamente cultivadas e estão disponíveis em abundância (IBA, 2017).

Suas folhas são fontes de compostos bioativos, como os fenólicos, os quais caracterizam-se por possuírem um anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxílicos e derivados funcionais (ÂNGELO; JORGE, 2007). Esses biocompostos apresentam excelente atividade antioxidante, ou seja, são capazes de sequestrar radicais livres (XYNOS et al., 2012), estes podem ocasionar sérios danos a moléculas de DNA, proteínas e lipídios, causando diversas doenças (DIMITRIOS, 2006). Além disso, a reatividade com o oxigênio presente no ar, que causa o escurecimento de frutos, pode ser retardada através da utilização de antioxidantes.

Devido à importância desses compostos se faz necessário estudos para determinar as melhores metodologias de extração dos mesmos, provenientes de folhas, frutos e outros precursores. Duas técnicas bastante empregadas para este fim são o banho-maria e o banho ultrassônico.

O banho-maria é considerado um meio convencional de extração, no qual a amostra da qual os compostos serão extraídos é colocada, juntamente com o solvente, em recipiente imerso em água quente por um determinado tempo. Já o banho ultrassônico com aquecimento, além de estar imerso em água quente, existe a aplicação de ondas ultrassônicas em frequência de 40 KHz (dependendo do equipamento), as quais produzem o efeito da cavitação, caracterizado pela formação de microbolhas, que quando implodem causam o aumento da temperatura e da pressão próximas a si (ESCLAPEZ et al., 2011; CARCEL et al., 2012; VEILLET et al., 2010).

Em virtude dessa diferença, o objetivo deste trabalho foi analisar o rendimento em compostos fenólicos totais utilizando as duas técnicas citadas, mantendo fixos os parâmetros de tempo e temperatura.

2. METODOLOGIA

2.1 Obtenção e processamento da matéria-prima

As folhas de *Eucalyptus dunnii* Maiden foram obtidas em uma propriedade particular na zona rural da cidade de Morro Redondo, interior do estado do Rio Grande do Sul. As árvores possuem de em torno de 3 anos de idade.

As folhas foram secas em estufa com circulação forçada de ar por 48 horas a 36 °C e moídas em moinho de facas tipo Willey. O pó obtido foi mantido sob refrigeração e ao abrigo de luz.

2.3. Extração de compostos fenólicos

Para as extrações foram utilizados 10g de folhas moídas em 100 mL de etanol P.A. Para comparação da diferença de rendimento foi realizado duas metodologias de extração, fixando-se os parâmetros em 55 °C e 75 min, uma utilizando banho-maria e a outra utilizando banho ultrassônico. Os ensaios foram realizados em triplicata.

2.2 Quantificação de fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu segundo metodologia adaptada de Singleton et al. (1999). A curva padrão de ácido gálico foi construída com sete pontos variando a concentração de 0 a 250 mg.L⁻¹ e a leitura foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 765 nm. As amostras foram diluídas na proporção 1:30 para realizar a análise.

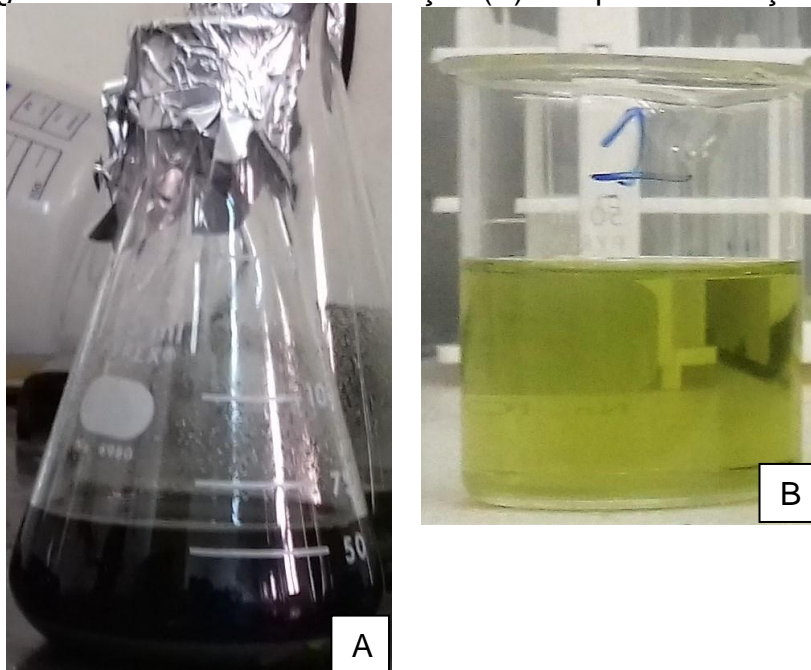
2.3 Análise estatística

A análise da variância (ANOVA) visou verificar à existência de diferenças significativas entre as diferentes concentrações, executando-se o teste de comparação de médias LSD de Fisher. As análises estatísticas foram desenvolvidas utilizando probabilidade de erro de 5% com auxílio do software Statgraphics Centurion.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1A demonstra a amostra sem diluição, devido a sua cor escura e o método de análise dos compostos fenólicos ser colorimétrico, se fez necessário a diluição da amostra (Figura 1B).

Figura 1 – Extrato antes da diluição (A) e depois da diluição (B)



A curva padrão de ácido gálico (Eq. 1) apresentou um coeficiente de correlação (R^2) de 0,9961 e foi utilizada para determinar a concentração de fenólicos totais nas duas metodologias de extração.

$$y = 0,0023x + 0,0087 \quad \text{Eq. 1}$$

A Tabela 1 contém os resultados das triplicatas da análises expressos em miligramas de equivalentes em ácido gálico por grama de amostra ($\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}$).

Tabela 1 - Rendimento de compostos fenólicos em $\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}^{-1}$

Triplicatas	Banho-maria	Banho ultrassônico
1	14,96	25,00
2	15,22	25,00
3	12,87	26,44
Média e DP	$14,35^a \pm 1,29$	$25,48^b \pm 0,83$

Em que: as médias seguidas por letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste LSD Fisher.

O processo de extração por banho-maria (também chamado de maceração) é extremamente simples e barato, porém a eficiência em muitos casos deixa a desejar, além de que dependendo do meio extrator o processo pode levar de algumas horas até dias (CASTRO; GARCIA-AYUSO, 1998; CASTRO; CAPOTE, 2010).

A extração utilizando ultrassom apresentou concentração de fenólicos 43,68% maior do que a utilização apenas da temperatura em banho-maria.

Este resultado demonstra que a aplicação de ultrassom aumenta significativamente a extração dos compostos de interesse, devido provavelmente, a implosão das microbolhas formadas no fenômeno de cavitação, estas geram turbulência e colisões que faz com que as células vegetais se rompam, facilitando a difusão do solvente para a matriz extratora (CASTRO; CAPOTE, 2007; SHIRSATH et al., 2012).

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que para a extração de compostos fenólicos de *Eucalyptus dunnii* a técnica utilizando ondas ultrassônicas é significativamente superior que apenas a aplicação de temperatura.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÂNGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

CARCEL, J. A.; PÉREZ, J. V. G.; BENEDITO, J.; MULET, A. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 200-207, 2012.

CASTRO, M. D. L.; CAPOTE, F. P. Analytical applications of ultrasound. **Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 413, 2007.

CASTRO, M. D. L.; CAPOTE, F. P. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2383-2389, 2010.

CASTRO, M. D. L.; GARCIA-AYUSO, L. E.; Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analtica Chimica Acta**, n. 369, p. 1-10, 1998.

DIMITRIOS, B. Sources of a natural Phenolic antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 505-512, 2006.

ESCLAPEZ, M. D.; PÉREZ, J. V. G.; MULET, A.; CÁRCEL, J. A.; Ultrasound-assisted extraction of natural products. **Food Engineering Reviews**, v. 3, p. 108-120, 2011.

IBÁ, Indústria Brasileira de Árvores. **Anuário estatístico: ano base 2016**. [s.l.] Studio 113, 2017. 80 p. Acessado em 30 agosto 2018. Disponível em: <http://www.ipef.br/estatisticas/relatorios/anuario-iba_2015.pdf>.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations – A review of current status. **Chemical Engineering and Processing**, v. 53, p. 10-23, 2012.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p.152–178, 1999.

VEILLET, S.; TOMAO, V.; CHEMAT, F. Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatization of olive with basil. **Food Chemistry**, v. 123, p. 905-911, 2010.

XYNOS, N.; PAPAEFSTATHIOU, G.; PSYCHIS, M.; ARGYROPOLOU, A.; ALIGIANNIS, N.; SKALTSOUNIS, A. L. Development of a green extraction procedure with super/subcritical fluids to produce extracts enriched in oleuropein from olive leaves. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 67, p. 89-93, 2012.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.