SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS PARA RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE FOLHAS DE JABUTICABEIRA

RAFAELA SUZANA MARTINS [1], GUSTAVO HENRIQUE FIDELIS DOS SANTOS[1], VANIA ZANELLA PINTO [1], YASMINE MIGUEL SERAFINI MICHELETO [1]

[1] Engenharia de Alimentos – Universidade Federal da Fronteira Sul – CEP: 85.301-970 - Laranjeiras do Sul – PR – Brasil

[2] Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal da Fronteira Sul – CEP: 85.301-970 - Laranjeiras do Sul – PR – Brasil, Telefone: (42) 3635-8695 –

e-mail: vania_vzp@hotmail.com

Resumo: *Os solventes eutéticos profundos (DES) ou solventes eutéticos profundos naturais (NADES) são formados a partir de um composto receptor de ligação de hidrogênio (HBA) e um composto doador de ligação de hidrogênio (HBD). Os DES estão relacionados à extração de analitos orgânicos como ácidos fenólicos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), flavonoides e compostos fenólicos. As plantas frutíferas são reconhecidas como boas fontes de compostos fenólicos, os quais são de grande interesse nutricional para a saúde. No presente trabalho, objetivou-se estudar a eficiência de diferentes DES na extração de compostos fenólicos de folhas de jabuticabeira. Para tanto, cinco diferentes DES foram produzidos e diluídos para a formação de uma mistura eutética de 10%, utilizando-se a extração de compostos fenólicos totais de folhas de jabuticabeira. A mistura eutética composta por 10% de DES formado por ChCl Ác. Lático e ChCl Ác. Cítrico, resultaram em extração equivalente ao etanol 70%. Por outro lado, o DES produzido com ChCl Ác oxálico e Ác. Cítrico Glicose Água foram menos eficientes que o etanol 70%. Os DES são solventes verde com características atóxicas, o que torna seu uso possível para a obtenção de extratos com segurança, tanto no manipulador quanto na aplicação em produtos da indústria de alimentos. As folhas de jabuticabeira são promissoras como fonte de compostos fenólicos, da mesma forma que o estudo de outras plantas frutíferas da mesma família.*

Palavras-chave: *receptor de ligação de hidrogênio; doador de ligação de hidrogênio; cloreto de colina; extração assistida por ultrassom.*

INTRODUÇÃO

Os solventes eutéticos profundos (DES) ou solventes eutéticos profundos naturais (NADES) são formados por um composto receptor de ligação de hidrogênio (HBA) e um

composto doador de ligação de hidrogênio (HBD), dando origem a uma mistura que forma um sistema eutético com ponto de fusão abaixo do apresentado por cada precursor individualmente. Essa classe de solventes é caracterizada por não serem tóxicos, serem biodegradáveis, possuírem alta estabilidade térmica, baixa volatilidade e não serem inflamáveis (ABBOTT *et al*., 2003; DAI; VERPOORTE; CHOI, 2014; YANG, 2018).

Essas substâncias podem substituir componentes de processos químicos tradicionais por novas tecnologias ambientais sustentáveis, eliminando os resíduos, melhorando assim a eficiência e promovendo benefícios ambientais e econômicos. Além disso, são uma alternativa promissora aos solventes orgânicos convencionais para a extração de diferentes compostos. Eles são capazes de dissolver produtos químicos naturais ou sintéticos de baixa solubilidade em água e são considerados alternativas para conceitos e aplicações envolvendo alguns solventes orgânicos e líquidos iônicos. A maior parte das aplicações dos DES está relacionada à extração de analitos orgânicos como ácidos fenólicos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), flavonoides e compostos fenólicos (DAI *et al*., 2013). Eles têm sido utilizados em procedimentos de extração assistida por ultrassom (UAE) e extração assistida por radiação micro-ondas (MAE) para a recuperação de elementos como As, Cd, Hg, Pb, Se e V em tecidos biológicos e amostras vegetais. (SANTANA, 2019).

As plantas frutíferas são consideradas boas fontes de compostos fenólicos, os quais são formados a partir das reações dos metabolitos secundários que acontecem nas plantas, sendo essenciais para seu crescimento e reprodução. Eles apresentam grande interesse nutricional para contribuir à saúde humana, devido às atividades biológicas. Os frutos são as frações com maior concentração de compostos fenólicos, mas tanto folhas, caules e raízes também apresentam consideráveis quantidades destes compostos (UEDA, 2020).

A jabuticaba (*Plinia cauliflora*) é uma árvore frutífera da família das Myrtaceae. Os seus frutos são consumidos *in natura* ou processados como geleias, sucos e sobremesas geladas. As folhas e os frutos são promissores para uso medicinal devido às suas atividades anti-inflamatórias e antioxidantes (REYNERTSOM, YANG, JIANG, BASILE, KENNELY, 2008; UEDA, 2020, SOUZA, 2013). O estudo de folhas de árvores frutíferas tem ganhado destaque, mas as folhas das jabuticabeiras ainda são pouco exploradas. Desta forma, objetivou-se estudar a eficiência de diferentes DES na extração de compostos fenólicos de folhas de jabuticabeira.

METODOLOGIA

As folhas de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) foram doadas por moradores da região de Laranjeiras do Sul, PR, colhidas nos meses de dezembro e janeiro, secas em estufa com circulação de ar à 50°C por 3 dias, moídas em moinho de facas e armazenadas no ultra freezer a -80°C até a utilização.

Os DES foram preparadas a partir de receptores de hidrogênio (HBA) doadoras de hidrogênio (HBD) (Tabela 1). O preparo dos DES foi pela mistura física do HBA e HBD, seguida de agitação constante em agitador magnético (100rpm) e aquecimento brando (80°C), até a formação de um líquido viscoso e transparente.

Após a formação dos DES, uma mistura eutética foi formada, pela diluição de 10% de cada DES em água. A mistura eutética foi empregada para a extração dos compostos fenólicos totais de folhas de jabuticabeira.

Tabela 1 – Doadores de ligações de hidrogênio (HBA) e receptores de ligações de hidrônio (HBD) formadores de solventes eutéticos profundos (DES) e as suas proporções molares

DES	HBA	HBD	Razão Molar
ChCl: AL	ChCl	Ácido lático	1:1
ChCl: AO	ChCl	Ácido oxálico	1:1
ChCl: Á: G	ChCl	Água e glicerol	1:1:2
ChCl: AC	ChCl	Ácido cítrico	1:1
AC: G:A	Ác. Cítrico:	Água e glicose	1:1:0,1
Etanol: Água	-	-	1:1

Fonte: Autoria própria (2023)

A extração dos compostos fenólicos totais foi assistida por ultrassom (Vibra-cell VC 505, Sonics and Material Inc., Newtown, CT, USA) equipado com probe CV33 (5 mm de diâmetro), usando ciclos on/off de 10s) operando a 60 kHz por 8 min, a 30°C.

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 H_2O e 44 µL Folin a 10% (v/v) para a reação. Os reagentes foram homogeneizados em espectrofotômetro de microplacas com agitação linear, repousadas e

uma solução de carbonato de sódio (22 µL) foi adicionado. Após repouso de 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 folha de jabuticabeira (mg EAG 100 g^{-1}).

O planejamento experimental foi uni-variado com três repetições de cada extração. Os dados foram analisados quanto a sua variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey com nível de significância de 5% ($p<0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extração dos compostos fenólicos totais das folhas de jabuticabeira com diferentes misturas eutéticas resultou numa concentração de 832 a 883 mg EGA/100 g de amostra seca (Tabela 1). Os diferentes DES utilizados na mistura eutética apresentaram diferenças na eficiência de extração. A mistura eutética composta por ChCl Ác. Lático e ChCl Ác. Cítrico resultaram em extração equivalente ao etanol 50% enquanto a mistura eutética composta por ChCl Ác. Oxálico foi inferior na extração dos compostos fenólicos das folhas de jabuticaba. Por outro lado, o DES formado Ác. Cítrico Glicose Água apresentou menor Aeficiência de extração, quando comparado com o ChCl Ác. Cítrico (Tabela 2).

Tabela 2 – Compostos fenólicos totais extraídos de folhas de jabuticabeira com diferentes solventes eutéticos profundos (DES)

Misturas eutéticas (10%)	Compostos Fenólicos (mg EAG/100g) *
ChCl Ác. Lático	88,23±0,41A
ChCl Ác. Oxálico	83,22±0,42D
ChCl Água Glicerol	85,67±1,13C
ChCl Ác. Cítrico	88,32±1,41A
Ác. Cítrico Glicose Água	86,69±0,52BC
Etanol: Água	87,72±0,32AB

***Médias de três repetições ± desvio padrão. As médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$)**

Fonte: Autoria própria (2023)

O DES cloreto de colina: ácido lático resultou em menor rendimento de extração de compostos fenólicos das folhas de nogueira, devido a sua elevada viscosidade (VIEIRA *et al.*, 2018). Porém, quando diluído (10% de mistura eutética) apresentou boa extração

comparado com o etanol e demais misturas eutéticas (Tabela 2), sendo possível inferir que o DES formado por ácido lático apresenta boa afinidade com biomassa vegetal, do que os outros ácidos orgânicos (TAN *et al.*, 2018) como o oxálico e o cítrico associado a glicose. O DES produzido com ácido oxálico também resultaram em menor eficiência, em outras condições de extração (ALAÑÓN *et al*., 2020).

O método de extração assistida por ultrassom é uma técnica tecnologicamente viável para a recuperação de compostos de interesse em matérias-primas vegetais. Em um curto período, é possível extrair uma alta concentração de compostos fenólicos usando baixas concentrações do solvente eutético (ROCHA *et al*., 2018). Além disso, a eficiência energética da extração assistida por ultrassom é menor quando comparada a outros métodos convencionais, como a maceração (CHEMAT *et al*., 2017). Isso significa que o método de extração assistida por ultrassom é uma opção eficiente e sustentável para a recuperação de compostos de interesse em matérias-primas vegetais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os DES são solventes verdes seguros para aplicação na indústria de alimentos. O emprego de DES na extração de compostos fenólicos presentes nas folhas de jabuticabeira é eficiente, sendo as misturas eutéticas contendo ChCl Ác. Lático e ChCl Ác. Cítrico resultaram em extração equivalente ao etanol 50%. Por outro lado, DES produzido com ChCl Ác oxálico e Ác. Cítrico Glicose Água foram menos eficientes que o etanol 70%.

Sendo assim, os solventes eutéticos são promissores para a extração de compostos fenólicos de folhas de jabuticabeira, o que desperta o interesse em extrair estes compostos de outras plantas frutíferas da mesma família.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) pela bolsa de iniciação científica (PES-2022-0414).

REFERÊNCIAS

ABBOTT, A. P. *et al*. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. Chemical Communications, v. 9, n. 1, p. 70–71, 2003.

ALAÑÓN, M. E. *et al*. Choline chloride derivative-based deep eutectic liquids as novel green alternative solvents for extraction of phenolic compounds from olive leaf. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 13, n. 1, p. 1685–1701, 2020

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.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, v.34, p. 540-560,2017.

DAI, Y.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food Chemistry*, v. 159, p. 116– 121, 2014.

REYNERTSON, KA, YANG, H., JIANG, B., BASILE, MJ E KENNELLY, EJ (2008). Análise quantitativa de constituintes fenólicos antirradicais de quatorze frutos comestíveis de Myrtaceae. *Food Chemistry, 109*

ROCHA, J. de C. G.; PROCÓPIO, F. R.; MENDONÇA, A. C.; VIEIRA, L. M.; PERRONE, Í. T.; DE BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P. C. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from jussara (*Euterpe edulis* M.) and blueberry (*Vaccinium myrtillus*) fruits. *Food Science and Technology* (Brazil), [s. l.], v. 38, n. 1, p. 45–53, 2018.

SANTANA, A. P. R.; ANDRADE, D. F.; MORA-VARGAS, J. A.; AMARAL, C. D. B.; OLIVEIRA, A.; Gonzalez, M. H.; Talanta 2019, 199, 361.

SOUZA, WAGNER. Avaliação Da Atividade Antioxidante E Compostos Fenólicos De Extratos Vegetais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, [s. l.], p. 05–37, 2013.

TAN, Y. T. *et al*. Industrial Crops & Products Evaluation of fractionation and delignification efficiencies of deep eutectic solvents on oil palm empty fruit bunch. *Industrial Crops & Products*, v. 123, n. June, p. 271–277, 2018.

UEDA, KARINA MAYUMI. Extração De Compostos Fenólicos Provenientes De Folhas De Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.) Empregando Solventes Eutéticos Profundos (Des). Universidade federal do Paraná, [s. l.], 2020

VIEIRA, V. *et al*. Enhanced extraction of phenolic compounds using choline chloride based deepeutectic solvents from Juglans regia L. *Industrial Crops and Products*, v. 115, n. February, p. 261–271, 2018.

YANG, Z. (2018). Natural Deep Eutectic Solvents and Their Applications in Biotechnology. In: Itoh, T., Koo, YM. (eds) Application of Ionic Liquids in Biotechnology. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, vol 168.