Otimização das condições de extração de compostos bioativos em sub produto da produção de chá verde e posterior avaliação de sua capacidade antioxidante

Jose Antonio Montina Balestre (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Patricia Daniele dos Santos (Participante), Oscar de Oliveira Santos Junior (Orientador), e-mail: oosjunior@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas/Maringá, PR.

Área: Química e sub-área: Química Analítica

Palavras-chave: Chá verde, quimiometria, antioxidantes.

Resumo:

Os antioxidantes naturais fazem parte dos compostos bioativos encontrados em ervas, frutas e verduras. Esta atividade antioxidante pode ser tanto utilizada para aumentar a vida útil dos alimentos, quanto para inibir a atividade dos radicais livres no organismos dos seres humanos. O objetivo do presente trabalho foi por meio da metodologia de superfície de resposta otimizar as condições (tempo, temperatura e razão sólido/solvente) para extração dos compostos com maior potencial anti-oxidante, de resíduos da produção de chá verde utilizando água como solvente extrator. Com a utilização de sonicação, no ensaio 2 a atividade sequestradora de radicais DPPH● foi de 7126 µmolL¯1 Trolox, utilizando temperatura de 70°C, 30 min de tempo e relação solvente / soluto de 25. 200 vezes mais rápida do que o relatado na literatura.

Introdução

Os compostos bioativos presentes e isolados no chá verde com maior capacidade antioxidante relatada pela literatura são o ácido carnosóico e o ácido rosmarínico. Seus produtos de degradação também apresentam uma determinada capacidade antioxidante, porém em quantidade consideravelmente inferior, dentre estes compostos podemos citar: rosmanol, galdosol, e o carnosol (OKAMURA *et al.,* 1994).

Segundo TERUEL, *et al*., (2015) observou uma relação direta entre a atividade antioxidante e o poder de redução de certos extratos de plantas, que demonstraram exercer um efeito antioxidante ao quebrar a cadeia de radicais livres através da doação de átomo de hidrogênio.

Para agilizar o processo de extração a metodologia de superfície de resposta (MSR) foi inicialmente introduzida por Box and Wilson (1951) e propõe a otimização de um processo através do número reduzido de experimentos através de um design fatorial e fornecendo resultados estatisticamente aceitos (Hossain et al, 2011). O MSR é utilizado atualmente por diversos pesquisadores em otimização de diversos

processos voltados a otimização de pesquisas relacionadas a alimentos (Hossain et al, 2011).
Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi otimizar as condições de extração dos compostos bioativos contidos nos resíduos da produção de chá verde, utilizando água como solvente.

Materiais e Métodos

Amostragem

As amostras foram doadas por uma empresa do Rio Grande do Sul. Após a chegada a amostra foi triturada em moinho de facas tendo seu tamanho reduzido a partículas menores que 1 mm e em seguida armazenas em frasco plástico e freezer a temperatura de -20ºC.

Análise dos compostos antioxidantes

A análise do potencial antioxidante foi determinada por espectrofotometria UV-VIS com leitura de 517 nm em espectrometro UV-VIS Genesis 10UV UV-VIS spectrophotometer, Thermo Scientific (USA), utilizando a o radical livre DPPH conforme Boroski et al, 2015:

Otimização da extração dos compostos antioxidantes

A metodologia de superfície de resposta foi utilizada para busca das condições ideais de tempo e temperatura para a extração dos compostos bioativos presentes utilizando o solvente universal água. O software utilizado para o design experimental foi o Design Expert® versão 7.0.0 utilizando a técnica da composição central.
A escolha da água, solvente universal, se tornou atrativa por apresentar baixo custo, alta disponibilidade, polaridade adequada para dissolver os analitos a serem extraídos, baixíssima toxicidade residual para a utilização dos extratos em alimentos. Já que a maioria dos trabalhos utiliza uma mistura de solventes, no entanto, como são tóxicos o extrato não pode ser utilizado para aplicação alimentícia.

Resultados e Discussão

A curva analítica de µmolL-1 Trolox confeccionada para o ensaio de atividade sequestradora de radicais DPPH• apresentou coeficiente de correlação linear de 0,9997 e a seguinte equação da reta: Concentração = [(ABS - 0,6554) / -0,0003].
Os resultados da atividade sequestradora de radicais DPPH● para cada procedimento do design experimental são apresentados pela tabela 1.

Tabela 1: Fatores, níveis e resultados da Atividade sequestradora de radicais DPPH● para o procedimento do design experimental

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Relação Solvente / Soluto	Forma de Agitação	Atividade sequestradora de radicais DPPH● (µmol L^{-1} Trolox)
1	40 (-1)[a]	30 (-1)	25 (-1)	Ultrassom	1767
2	70 (+1)[a]	30 (-1)	25 (-1)	Ultrassom	7126
3	40 (-1)	100 (+1)	25 (-1)	Ultrassom	1914
4	70 (+1)	100 (+1)	25 (-1)	Ultrassom	6420
5	40 (-1)	30 (-1)	75 (+1)	Ultrassom	765
6	70 (+1)	30 (-1)	75 (+1)	Ultrassom	2870
7	40 (-1)	100 (+1)	75 (+1)	Ultrassom	1217
8	70 (+1)	100 (+1)	75 (+1)	Ultrassom	2795
9	30 (-α)[b]	65 (0)	50 (0)	Ultrassom	462
10	80 (+α)[b]	65 (0)	50 (0)	Ultrassom	4273
11	55 (0)[c]	6 (-α)	50 (0)	Ultrassom	1676
12	55 (0)	124 (+α)	50 (0)	Ultrassom	2375
13	55 (0)	65 (0)	8 (-α)	Ultrassom	7786
14	55 (0)	65 (0)	92 (+α)	Ultrassom	1100
15	55 (0)	65 (0)	50 (0)	Ultrassom	1748
16	55 (0)	65 (0)	50 (0)	Ultrassom	3167
17	55 (0)	65 (0)	50 (0)	Ultrassom	1414
18	55 (0)	65 (0)	50 (0)	Ultrassom	2395
19	55 (0)	65 (0)	50 (0)	Ultrassom	1392
20	55 (0)	65 (0)	50 (0)	Ultrassom	2088
21	40 (-1)	30 (-1)	25 (-1)	Convencional	1587
22	70 (+1)	30 (-1)	25 (-1)	Convencional	6861
23	40 (-1)	100 (+1)	25 (-1)	Convencional	722
24	70 (+1)	100 (+1)	25 (-1)	Convencional	6342

a (±1) = pontos fatoriais. b (±α) = pontos axiais. c (0) = ponto central..

Com a utilização de sonicação, no ensaio 2 a atividade sequestradora de radicais DPPH● foi de 7126 µmolL-1 Trolox, utilizando temperatura de 70°C, 30 min de tempo e relação solvente / soluto de 25. Para o ensaio 13 com tempo de extração de 65 minutos, relação solvente / soluto de 8 e temperatura de 55°C obteve-se 7786 $\mu molL^{-1}$ de Trolox.
A avaliação estatística do modelo apresentado na tabela 5 evidenciou que o termo D não é significativo, demonstrando que o uso da agitação convencional ou por sonicação não irá apresentar resultados significativamente diferentes. Desta forma, para a agitação ultrassônica, o experimento 2 se mostrou mais atrativo que o 13, por possibilitar resultados próximos ao melhor obtido com agitação convencional e utilizando tempo de extração e quantidade de amostra menores que o ensaio 13, ou seja condições experimentáveis mais favoráveis.

Conclusões

A utilização do design expert foi de fundamental importância para otimização do processo de extração dos compostos antioxidantes em amostras de resíduo da produção de chá verde. Desta forma, com poucos experimentos obteve-se a atividade sequestradora de radicais DPPH● de 7126 µmolL¯1 Trolox, utilizando temperatura de 70°C, 30 min de tempo e relação solvente / soluto de 25. Extração esta 200 vezes mais rápida do que o relatado na literatura.

Agradecimentos

Agradecemos a UEM, Fundação Araucária, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

Referências

BOROSKI, M.; *et al*. **Antioxidantes – Princípios e Métodos Analíticos**. Curitiba, PR: Appris, 2015.

BOX, G. E. P., WILSON, K. G. On the experimental attainment of optimum conditions. **Journal of the Royal Statistical Society**, V. 13, p. 1–45, 1951.

HOSSAIN, M. B.; BARRY-RYAN, C.; MARTIN-DIANA, A. B.; BRUTON, N. P. Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (Rosmarinus officinalis L.), marjoram (Origanum majorana L.) and oregano (Origanum vulgare L.) using response surface methodology. **Food Chemistry**, V. 126, p. 339-346, 2011.

OKAMURA, N.; FUJIMOTO, Y.; KUWABARA, S.; YAGI, A. High-performance liquid chromatographic determination of carnosic acid and carnosol in Rosmarinus oficinalis and Salvia oficinalis. **Journal of Chromatography A**, v.679, p.217-222, 1994.