Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal



Incorporação de polifenóis de erva-mate em amido de milho

Maria Teresa de Mello Magnabosco¹, Marcelo Lazzarotto^{1,2}

¹UFPR- Universidade Federal do Paraná. E-mail: mtmagnabosco@gmail.com ²EMBRAPA Florestas- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

Resumo

Há um interesse crescente nas propriedades farmacológicas conferidas pelos compostos presentes nas folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). Sabe-se que tais ações biológicas, como ação antioxidante, anti-inflamatória, anti-idade, dentre outras, estão relacionadas aos compostos fenólicos e outras classes de substâncias, como as metilxantinas, presentes nesta planta (BASTOS et al., 2007). Os objetivos deste trabalho foram extrair e incorporar o extrato de erva-mate em amido de milho. No presente estudo, foram preparados extratos em cinco tempos diferentes, dos quais foram analisados a densidade, o teor de sólidos, o teor de cinzas e quantificados os compostos fenólicos. Tais análises foram feitas antes e após a incorporação em amido. Pode-se observar que não houve alteração significativa na densidade dos extratos antes e após a incorporação em amido e que houve retenção de compostos fenólicos no amido de milho. O amido de milho é um insumo altamente utilizado nas indústrias farmacêuticas, cosméticas e de alimentos, por suas características naturais. Neste trabalho, corroborando com outras pesquisas existentes, houve o interesse em conferir ao amido as ações biológicas do extrato das folhas de erva-mate a partir da incorporação dos compostos químicos relacionados a elas. O objetivo do trabalho foi alcançado na determinação do melhor tempo de extração de compostos fenólicos, bem como na incorporação destes compostos em amido. Vale acrescentar que análises mais detalhadas do produto gerado serão necessárias para comprovar a eficácia do método.

Palavras-chave: Ilex paraguariensis; extração; compostos fenólicos.

1. Introdução

Ilex paraguariensis A. St. Hil. é uma árvore da família das Aquifoliáceas nativa das regiões subtropicais e temperadas da América do Sul, popularmente conhecida como erva-mate. Utilizada no preparo do chimarrão, uma bebida estimulante, faz parte dos hábitos culturais da Argentina, do Uruguai, Paraguai e Brasil. Compostos fenólicos e metilxantinas fazem parte de sua constituição (CÓRDOBA; DELADINO; MARTINO, 2013). Em sua composição química, a erva-mate apresenta também grupos químicos, como saponinas, alcaloides e óleo essencial, além das vitaminas A, C, B1, B2 e B6, e os minerais magnésio, ferro, fósforo, potássio, zinco, sódio (NEWALL; ANDERSON; PHILLIPSON, 1996; ALONSO, 1998; HEINRICHS; MALAVOLTA, 2001).

Os compostos fenólicos mais encontrados nas folhas de erva-mate são o ácido clorogênico e seus isômeros (BASTOS et al., 2007). Estes e o ácido caféico são responsáveis por inúmeros efeitos biológicos da erva-mate como antiglicação (GUGLIUCCI et al., 2009) e capacidade antioxidante, sendo esta também atribuída à presença da rutina e outros flavonóides (HECK; MEJIA, 2007; ANESINI et al., 2012; DEETAE et al., 2012). Estudos recentes *in vitro* e *in vivo* têm apontado atividades antioxidantes, hepatoprotetoras, diuréticas, hipocolesterolemicas, antirreumáticas, antitrombótica, anti-inflamatória, anti-obesidade e anti-idade (BRACESCO; SANCHEZ; CONTRERAS; MENINI & GUGLIUCCI, 2011).

O amido é um polissacarídeo de reserva produzido pelas plantas. Sabe-se que 85% da produção mundial de amido é proveniente do milho e apresenta vantagens em relação a outros, como a facilidade de secagem, por exemplo (MALUMBA et. al., 2014). É atóxico e possui diversas aplicações na indústria alimentícia, química e farmacêutica e sua versatilidade é atribuída às suas características



Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal



naturais, como gelificação, viscosidade, capacidade de fazer conexões, espessante e aglutinante, formador de filme, dentre outras. Seu baixo custo e tais características específicas os tornam bons excipientes.

A incorporação de compostos fenólicos em sistemas alimentícios (por exemplo o amido de milho) pode ser uma prática promissora para o desenvolvimento de alimentos funcionais. Estes compostos incorporados podem modificar propriedades como retrogradação, viscosidade e gelatinização destes amidos (LAZZAROTTO, 2017). Assim, o objetivo deste trabalho é de selecionar o melhor tempo de extração dos compostos antioxidantes de folhas de erva-mate visando a incorporação em amido de milho.

2. Material e Métodos

As folhas de erva-mate verde (*Ilex paraguariensis*) foram coletadas na Embrapa Florestas, Colombo/PR em abril de 2018. Amostras de erva-mate do clone A-42 de cultura hidropônica foram selecionadas. O amido de milho utilizado foi adquirido no comércio de Colombo/PR. As folhas de erva-mate foram previamente secas em micro-ondas, trituradas em moinho de facas e as partículas com tamanho entre 355 µm e 1.000 µm foram selecionadas.

A extração dos compostos fenólicos da erva-mate foi realizada de acordo com Dutra e colaboradores (2010) e Hoffmann-Ribani (2006). Foram adicionados 3g de erva-mate em 100 mL de água purificada à 85 °C e as extrações foram realizadas em tempos de 5, 10, 15, 20 e 30 minutos. O procedimento foi realizado em triplicata para cada tempo de fervura. Os extratos foram filtrados a vácuo com papel filtro de 125 mm de diâmetro e retenção de partículas de 1-2 μ m. O volume do extrato filtrado foi completado para 100ml com água purificada.

Visando a incorporação, foram adicionadas 50 ml de cada extrato em 10 g de amido de milho e a mistura permaneceu sob agitação magnética por 30 minutos. A mistura foi filtrada à vácuo, e o extrato remanescente da incorporação em amido foi coletado e armazenado em congelador para análises posteriores. O amido foi recuperado e submetido à secura em estufa à 60 °C por 12 horas. Após este procedimento, as amostras de amido foram trituradas em gral e armazenadas. Os resultados obtidos para este parâmetro foram expressos em gramas de compostos fenólicos incorporados por grama de amido.

A densidade dos extratos foi determinada em triplicata, determinado a massa de 5 mL de cada extrato. A análise de teor de sólidos totais (ST) das amostras foi determinada por medição da perda de peso após secagem em estufa a 60 °C e expresso como teor de sólidos totais/massa total (g/100g). A análise de cinzas das amostras foi determinada por medição da perda de peso após incineração em mufla a 550 °C e expresso como teor de cinzas (TC) totais/massa total (g/100g). A análise do teor de compostos fenólicos das amostras foi determinada por espectrofotometria de acordo com o método Folin-Ciocalteau descrito por Singleton, Joseph e Rossi (1965). Utiliza-se 100 μ L de cada amostra previamente e adequadamente diluídas, realizada em triplicata, e adicionados 100 μ L do reagente de Folin-Ciocalteau (diluído 3X) e 800 μ L de água. Após 5 minutos adiciona-se 100 μ L de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 10% e deixada por 60 minutos em ambiente escuro. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV-vis em comprimento de onda de 760 nm (MARGRAF, T.; KARNOPP, A. R.; ROSSO, N. D.; GRANATO, D., 2016). O teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (20 - 200 mg/mL) expressos como mg de GAE (equivalentes de ácido gálico) por litro de extrato.

3. Resultados e Discussão



Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal



Os resultados permitiram observas que não houve diferença significativa entre as densidades dos extratos de acordo com os diferentes tempos de extração e entre os extratos pré e pósincorporação, Tabela 1. Os extratos pós incorporação apresentaram menores teores de sólidos e cinzas em relação aos extratos pré incorporação, Tabela 1. O processo de incorporação diminuiu os teores de sólidos em $24,55 \pm 2,03\%$ e o de cinzas em $31,53 \pm 6,21\%$. Tais resultados sugerem que uma parcela de compostos sólidos e inorgânicos ficou retida no amido, porém, mais análises serão necessárias para comprovar este fato. Em relação aos tempos de extração, não houve diferença significativa nos teores de sólidos relacionando com os tempos em que foram realizados os extratos. O mesmo foi observado para o teor de cinzas.

Tabela 1 - Densidade, Teor de Sólidos e Teor de Cinzas dos extratos pré e pós incorporação. (Fonte: os autores).

Tempo (min)	D _{pré} (g/mL)	D _{pós} (g/mL)	TS _{pré} (%)	TS _{pós} (%)	C _{pré} (%)	C _{pós} (%)
5	$0,99 \pm 0,02$	$1,01 \pm 0,02$	$0,9948 \pm 0,0393$	$0,7456 \pm 0,1488$	$0,1626 \pm 0,0379$	$0,1051 \pm 0,0369$
10	$1,\!00 \pm 0,\!01$	$1,01 \pm 0,02$	$0,9740 \pm 0,0364$	$0,7277 \pm 0,1239$	$0,1857 \pm 0,0106$	$0,1197 \pm 0,0275$
15	$1,\!00\pm0,\!01$	$1,\!01\pm0,\!01$	$0,9880 \pm 0,0311$	$0,7594 \pm 0,0434$	$0,1675 \pm 0,0167$	$0,1216 \pm 0,0520$
20	$1,\!01\pm0,\!01$	$1,01 \pm 0,01$	$0,9718 \pm 0,0466$	$0,6926 \pm 0,0678$	$0,1482 \pm 0,0229$	$0,1147 \pm 0,0147$
30	0.97 ± 0.01	$1,01 \pm 0,01$	$0,9883 \pm 0,0517$	$0,7411 \pm 0,0523$	$0,1473 \pm 0,0351$	$0,0932 \pm 0,0339$

 $D_{pr\acute{e}} = Densidade$ pré incorporação; $D_{p\acute{o}s} = Densidade$ pós incorporação; $TS_{pr\acute{e}} = Teor$ de sólidos pré incorporação; $TS_{p\acute{o}s} = Teor$ de sólidos pós incorporação; $C_{pr\acute{e}} = Cinzas$ pré incorporação; $C_{p\acute{o}s} = Cinzas$ pós incorporação.

Os resultados de quantificação de compostos fenólicos foram calculados usando ácido gálico como padrão, onde a curva de calibração apresentou um coeficiente de determinação (R²) de 0,9689, Figura 1. Uma análise dos resultados da quantificação de compostos fenólicos nos permite observar que nos extratos recuperados após a incorporação em amido é significativamente menor do que suas nos extratos pré incorporação, Tabela 2. Fato este sugere que os compostos fenólicos dos extratos ficaram incorporados no amido. Os resultados revelam que a extração mais efetiva de compostos fenólicos ocorreu no tempo de 15 minutos de contato da erva-mate com a água à 85 °C. Não obstante este extrato possuir a maior teor de compostos fenólicos foi o que conferiu a maior quantidade de compostos fenólicos retidos por grama de amido.

Tabela 2 – Quantificação de compostos fenólicos no extrato de erva-mate pelo método de Folin-Ciocalteau. Valores expressos em equivalentes de ácido gálico.

Tempo (min)	$E_{\text{pr\'e}}\left(g/mL\right)$	$E_{p\acute{o}s}\left(g/mL\right)$	Fenólicos retidos (g/g)
5'	$9,2339 \pm 0,2614^{b}$	$5,8789 \pm 0,7891^{ab}$	16,7749
10'	$8,9308 \pm 0,5061^{ab}$	$5,7813 \pm 0,4400^{a}$	15,7472
15'	$10,0456 \pm 0,2686^{\circ}$	$6,4746 \pm 0,5231^{b}$	17,8549
20'	$9,6450 \pm 0,9556$ bc	$6,8822 \pm 0,9543^{b}$	13,8136
30'	$8,2444 \pm 0,6357^{a}$	$6,9589 \pm 0,7702^{b}$	6,4278

 $E_{pr\acute{e}}=Extrato$ pré incorporação; $E_{p\acute{o}s}=Extratos$ pós incorporação



Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal



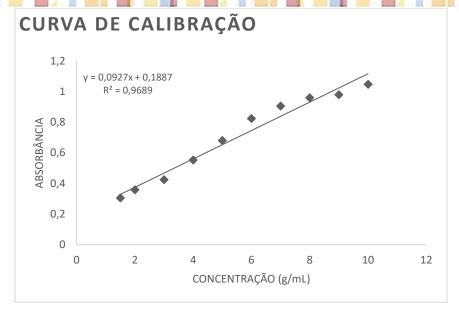


Figura 1 – Curva de calibração do teor de compostos fenólicos (Fonte: os autores).

4. Conclusões

Com os resultados dos tempos de extração em folhas conclui-se que o cozimento a 85 °C por 15 minutos favorece a extração de compostos fenólicos. Em comparação com os outros extratos realizados neste experimento, este foi o extrato que apresentou a maior diferença na quantificação de compostos fenólicos antes e após a incorporação em amido. Sendo assim, além de ser o método com a maior capacidade de extração de compostos fenólicos, também possui a maior capacidade de retenção destes compostos em amido. O trabalho apresentou um método eficaz, que poderá ser utilizado em análises futuras que priorizem a qualificação e quantificação destes compostos no amido de milho, bem como a avaliação das atividades biológicas deste produto. Cabe ressaltar a importância destas análises futuras para que haja um esclarecimento dos mecanismos envolvidos neste processo, assim como das possíveis aplicações deste insumo enriquecido.

5. Agradecimentos

Embrapa, Universidade Federal do Paraná, CNPq.

Referências

ALONSO, J.R. Tratado de Fitomedicina. Buenos Aires: ISIS, 1998. p. 992-995

BENINCA C, DEMIATE IM, LACERDA LG, CARVALHO FILHO MAS, IONASHIRO M, SCHNITZLER E. Thermal behavior of corn starch granules modified by acid treatment at 30 and 50 C. Ecle't Qui'm. 2008

CÓRDOBA, A.L.; DELADINO,L.; MARTINO,M. Release of yerba mate antioxidants from corn starch-alginate capsules as affected by structure. Carbohydrate Polymers, v 99, p. 150-157, 2014

DUTRA, F. L. G.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RIBANI, M. Determination of phenolic compounds by



Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal



isocratic high performance liquid chromatographic method during storage of yerba-mate. Química Nova, v. 33, n.1, p. 119-123, 2010.

HEINRICHS, R.; MALAVOLTA, E. Composição mineral do produto comercial da erva-mate (Ilex paraguariensis St. Hil.). Ciência Rural, v. 31, p. 781-785, 2001

HOFFMANN-RIBANI, R. Compostos fenólicos em erva-mate e frutas. 137 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2006

HORNUNG PS, GRANZA AG, DE OLIVEIRA CS, LAZZAROTTO M, SCHNITZLER E. Study of the effects of ultraviolet light and sodium hypochlorite solutions on properties of cassava starch granules. Food Biophys. 2015

LAZZAROTTO, S.R da S. et al. Incorporação de extrato crioconcentrado de erva-mate em amido de milho. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SIMPÓSIO DE ANÁLISE TÉRMICA, 8., 2017, Ponta Grossa. Livro de resumos. Ponta Grossa: UEPG, 2017

MALUMBA P, ODJO S, BOUDRY C, DANTHINE S, BINDELLE J, BECKERS Y, BE'RA F. Physicochemical characterization and in vitro assessment of the nutritive value of starch yield from corn dried at different temperatures. Starch/Sta¨rke. 2014.

NEWALL, C.A.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. Herbal Medicines. London: The Pharmaceutical Press, p. 189-190, 1996

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. In: Methods in enzymology. Academic press. p. 152-178, 1999

SIQUEIRA, G. L. A.; HORNUNG, P. S.; SILVEIRA, A. C.; LAZZAROTTO, S. R. S.; CORDOBA, L. P.; SCHNITZLER, E.; LAZZAROTTO, M. Impact of treatment with HCL/alcoholic in the modification of corn starch. Journal of Thermal Analysis and Calori Calorimetry, v. 1, p. 1-9, 2017