

Influência da temperatura e do solvente na obtenção de extrato de milho de grãos pretos.

Natália Alves Barbosa⁽¹⁾; Maria Cristina Dias Paes⁽²⁾; Joelma Pereira⁽³⁾.

⁽¹⁾ Estudante de doutorado em Ciências dos Alimentos; Universidade Federal de Lavras; Lavras, Minas Gerais; nataliaalvesb@yahoo.com.br; bolsista de agência de fomento (CNPq); ⁽²⁾ Cientista de Alimentos; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Milho e Sorgo); cristina.paes@embrapa.br; ⁽³⁾ Professora associada; Universidade Federal de Lavras; joper@dca.ufla.br.

RESUMO: O interesse no estudo de compostos fenólicos está associado à capacidade antioxidante destas substâncias em sequestrar radicais livres, os quais são prejudiciais à saúde humana. No setor alimentício, muitos pesquisadores tem investigado a ação de extratos desses compostos adicionados como corantes naturais em alimentos e cosméticos e também à filmes e coberturas comestíveis, por apresentarem, dentre outras funções, atividades antioxidante e antimicrobiana. A eficiência da extração de compostos fenólicos depende, principalmente, da escolha do solvente. O uso da temperatura pode ser favorável para extração de fenólicos, entretanto temperaturas extremas podem degradar essas substâncias. O objetivo deste trabalho foi identificar a melhor combinação de solvente e temperatura de extração para obtenção de extrato de milho contendo maior concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. O experimento foi planejado em delineamento estatístico inteiramente casualizado, em esquema fatorial constituído de dois fatores temperatura (20°C, 40°C, 60°C) e solvente (etanol 80%, etanol puro, metanol puro). Os solventes metanol e etanol não diferiram na capacidade extrativa. A concentração de fenólicos e a atividade antioxidante do extrato etanólico do milho TO002 reduziu com a elevação da temperatura de extração. A combinação do solvente etanol 80% com temperatura de extração 20°C resultou em extrato fenólico com maior concentração de compostos antioxidantes.

Termos de indexação: pigmento, fenólicos, atividade antioxidante.

INTRODUÇÃO

Para extração de um pigmento muitas vezes é utilizado como solvente o metanol, porém para

aplicação em alimento não é viável, uma vez que é tóxico para consumo e tem sido declarado, inclusive, como prejudicial por meio de sua exposição em longo prazo, podendo causar doenças como o mal de Parkinson (Finkelstein & Vardi, 2002).

Segundo Cowan (1999), a eficiência da extração depende principalmente da escolha do solvente. A polaridade do composto alvo é o fator mais importante nessa decisão. Afinidade molecular entre solvente e soluto, transferência de massa, segurança ambiental, toxicidade para humanos e viabilidade financeira também devem ser considerados na seleção do solvente para extração de pigmentos (Oliveira, 2014). Extrações com diferentes solventes para atingir o máximo de rendimento de fenóis tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores. Além do metanol, a acetona, o etanol e a água são os solventes mais frequentemente usados para a extração, devidos ao seu caráter polar, que resulta em afinidade com compostos fenólicos em geral (Finkelstein & Vardi, 2002; Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2006; Garzón, 2008).

O uso da temperatura pode ser favorável para extração de fenólicos. O calor pode tornar as paredes celulares permeáveis, aumentando a solubilidade e a difusão dos compostos a serem extraídos e diminuindo a viscosidade dos solventes, facilitando dessa forma, a extração. No entanto temperaturas extremas podem degradar os compostos fenólicos (Oliveira, 2014).

Esse experimento teve por objetivo identificar a melhor combinação de solvente e temperatura de extração para obtenção de extrato de milho contendo maior concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante.

MATERIAL E MÉTODOS

Os grãos de milho do genótipo TO 002 foram moídos em moinho tipo ciclone MA 020 MARCONI (Piracicaba – SP), sendo o material acondicionado em frasco de vidro, tampado, lacrado com parafilm M e envoltos em papel alumínio.

O extrato foi preparado na relação 1:2 (soluto:solvente). Os solventes para análise foram de grau (P.A.) marca Vetec. Foram utilizados etanol 80% em água; etanol 100% e metanol em diferentes temperaturas (20; 40; 60°C).

As amostras moídas foram maceradas em cadinho de porcelana e pistilo com o solvente em teste e o homogenato foi filtrado em filtro Whatman N°1. O resíduo do filtro foi macerado por mais três vezes.

Para o experimento nas temperaturas de 40 e 60°C os extratos foram incubados em banho maria, marca Precision Scientific (modelo 66722). A temperatura do extrato foi monitorada com termômetro. O extrato foi concentrado em evaporador rotativo marca Buchi (modelo R-144) acoplado com banho maria (Waterbath B-480, Switzerland) em temperatura entre 25 e 30 °C até aproximadamente 10 mL. O extrato foi mantido em temperatura ambiente durante 10 minutos e em seguida armazenado em geladeira até a condução das análises químicas.

O experimento foi realizado em triplicata.

Determinação de fenólicos totais

A determinação de fenólicos totais nos extratos foi conduzida de acordo com a metodologia de Singleton et al. (1999). A análise foi realizada em triplicata.

Determinação da atividade antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante foi determinada de acordo com a metodologia de Roesler, et al. (2007). A análise foi realizada em triplicata.

Delineamento e análise estatística

O experimento foi planejado em delineamento estatístico inteiramente casualizado, em esquema fatorial constituído de dois fatores temperatura (20°C, 40°C, 60°C) e solvente (etanol 80%, etanol puro, metanol puro), constituindo nove tratamentos, (Tabela 1). O experimento foi preparado em triplicata.

Tabela 1 - Tratamentos utilizados para as análises

Tratamento	Temperatura	Solvente
1	20°C	etanol 80%
2	20°C	etanol 80%
3	20°C	etanol 80%
4	40°C	metanol puro

5	40°C	metanol puro
6	40°C	metanol puro
7	60°C	etanol puro
8	60°C	etanol puro
9	60°C	etanol puro

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando significativo, foi realizada análise de regressão para os fatores quantitativos e teste de média Least Significant Difference (LSD) para os fatores qualitativos, estabelecendo-se o nível de 5% de significância.

Para análise dos dados, utilizou-se o programa Sisvar versão 5.3 (Build 77) (Ferreira, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto para a concentração de fenólicos totais como para a determinação de atividade antioxidante, não houve diferença significativa para a interação temperatura x solvente, porém a influência dos fatores isolados foi significativa para as duas análises. A extração com metanol e etanol 80% resultou em extratos com concentrações de fenólicos totais superiores ao obtido com etanol (Tabela 2) e com as maiores atividades antioxidante (Tabela 3).

Tabela 2 - Médias da concentração de fenólicos totais dos extratos em diferentes solventes.

Solventes	Fenólicos Totais (mg.100mg ⁻¹)
Etanol 80%	958,6±1,11 ^{ab}
Etanol	957,1±1,17 ^b
Metanol	959,8±0,61 ^a

¹Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente pelo teste de LSD a 5% de probabilidade (p<0,05).

²DP: Desvio padrão

Tabela 3 - Médias da atividade antioxidante dos extratos em diferentes solventes.

Solventes	Atividade antioxidante (%)
Etanol 80%	73,17±1,02 ^{ab}
Etanol	72,99±1,10 ^b
Metanol	74,31±0,16 ^a

¹Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente pelo teste de LSD a 5% de probabilidade (p<0,05).

²DP: Desvio padrão.

Apesar de se tratar de solventes com diferentes polaridades não foi observada diferença na concentração de fenólicos totais e da atividade antioxidante entre os solventes etanol 80% e metanol puro.

O aumento da temperatura de extração resultou em diminuição na concentração de fenólicos totais (Figura 1) e na atividade antioxidante (Figura 2), independente do solvente utilizado.

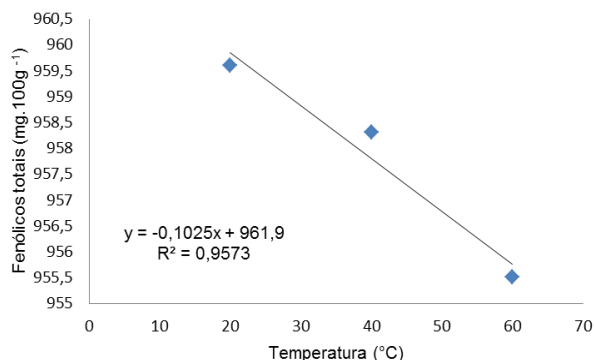


Figura 1 Representação gráfica, equação de regressão e coeficiente de determinação das médias de fenólicos totais (mg.100g⁻¹) nos extratos em diferentes temperaturas.

Para Khan et al. (2010), a temperatura em torno de 40°C é ideal para extração de fenólicos em laranja. Já Aybastier et al. (2013) relata que a temperatura em torno de 60°C é ideal para extração de fenólicos em folha de amora. Luzia e Jorge (2010) usaram temperaturas de 40°C para obtenção de extrato fenólico de limão. Entretanto, outros autores não utilizam aquecimento para obtenção de extratos fenólicos (Vieira et al. 2011; Irakli et al. 2012; Montilla et al. 2011).

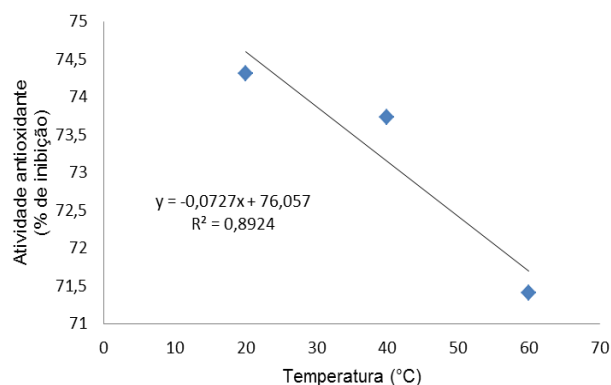


Figura 2 Representação gráfica, equação de regressão e coeficiente de determinação das médias da atividade antioxidante (% de inibição) nos extratos em diferentes temperaturas.

Percebe-se que a atividade antioxidante diminuiu com a perda da concentração de fenólicos totais, indicando que estes compostos podem estar correlacionados com a atividade antioxidante.

CONCLUSÕES

O aumento de temperatura de extração resultou em redução na concentração de fenólicos totais e na atividade antioxidante dos extratos ricos em compostos bioativos dos grãos pretos de milho TO 002.

A aplicação da combinação temperatura (20°C) e solvente etanol 80% é ideal para obtenção de extrato de milho de grãos pretos com maior concentração de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante. Uma vez que esse solvente não é tóxico como no caso do metanol, podendo dessa forma ser utilizado para aplicação em alimentos.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Milho e Sorgo pelo financiamento da pesquisa e ao CNPq pela bolsa de doutorado.

REFERÊNCIAS

AYBASTIER, O.; SAHIN, S.; DEMIR, C. Response Surface Optimized Ultrasonic-Assisted Extraction of Quercetin and Isolation of Phenolic Compounds From *Hypericum perforatum* L. by Column Chromatography. **Separation Science and Technology**, v. 48, n. 6, p.1665–1674, 2013.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

FERREIRA, D. F. **Sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 2000. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielf/dff02.htm>>. Acesso em 6 janeiro de 2016.

FINKELSTEIN Y., VARDI J., Progressive Parkinsonism in a young experimental physicist following long-term exposure to methanol, **Neurotoxicol Journal**, v. 23, n. 22, p. 521-525, 2002.

GARZÓN G. Las antocianinas como colorants naturales y compuestos bioativos: Revisión, **Acta Biológica Colombiana**, v. 13, n. 3, p. 27-36, 2008.

IRAKLI, M. N.; SAMANIDOU, V. F.; BILIADERES, C. G.; PAPADOYANNIS, I. N. Development and validation of an HPLC-method for determination of free and bound phenolic acid in cereals after solid-phase extraction. **Food Chemistry**, v. 7, p. 1624-1632. 2012.

KHAN, M.K.; ABERT-VIAN, M.; FABIANO-TIXIER, A-S.; DANGLES, O.; CHEMA, F. Ultrasound-assisted extraction of Polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 851-858, 2010.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Potencial antioxidante de extratos de semente de limão (*Citrus limon*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, p. 489-493, 2010.

MONTILLA, E. V.; HILLEBRAND, S.; ANTEZANA, A. WINTERHALTER, P. Soluble and bound phenolic compounds in different bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivares. **Journal Agro and Food Chemistry**, v. 59, n. 13, p. 7068-7074, 2011.

OLIVEIRA, D. S. **Nova metodologia para extração de compostos fenólicos de vinho tinto e avaliação da estabilidade dos extratos obtidos**. 150f. 2014. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. 2014.

PEDRESCHI R.; CISNEROS-ZEVALLOS L. Antimutagenic and antioxidant properties of phenolic fractions from andean purple corn (*Zea mays* L.) **Journal Agricultural Chemistry**, v. 32, n. 3, p. 4557-4567, 2006.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutos do cerrado. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocateau reagent. **Methods Enzymol**, San Diego, v. 299, n. 26, p. 152- 178, 1999.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.



XXXI CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO

**"Milho e Sorgo: inovações,
mercados e segurança alimentar"**
