



## Otimização da extração de compostos fenólicos do açafrão-da-terra utilizando ultrassom

## Optimization of the extraction of phenolic compounds from turmeric using ultrasound

Laura Domingues Alcarria<sup>1</sup>, Lilian Tatiani Dusman Tonin<sup>2</sup>

### RESUMO

Este trabalho otimizou a extração dos compostos fenólicos antioxidantes dos rizomas do açafrão-da-terra (*Curcuma longa*). Os extratos foram obtidos por extração assistida por ultrassom, utilizando-se um planejamento experimental 2<sup>3</sup>, utilizando como variáveis independentes tempo, temperatura e porcentagem de etanol, e variável dependente a quantificação de fenólicos totais pelo método Folin Cicalteau. As superfícies de resposta demonstraram a influência das três variáveis no processo de extração. As melhores respostas foram obtidas nas condições: 15 minutos, 55 °C, EtOH 75%, 30 minutos, 45 °C, EtOH 68%, 30 minutos, 45 °C, EtOH 85% e 30 minutos, 62 °C, EtOH 85%, não apresentando diferença significativa entre seus valores. Os extratos possuem potencial para aplicação nas indústrias cosméticas, alimentícias e farmacêuticas.

**PALAVRAS-CHAVE:** açafrão-da-terra; antioxidantes; extração.

### ABSTRACT

This work optimized the extraction of antioxidant phenolic compounds from turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes. The extracts were obtained by ultrasound-assisted extraction, using an experimental design 2<sup>3</sup>, using time, temperature and percentage of ethanol as independent variables, and the dependent variable was the quantification of total phenolics using the Folin Cicalteau method. Response surfaces demonstrated the influence of the three variables on the extraction process. The best responses were obtained under the conditions: 15 minutes, 55 °C, EtOH 75%, 30 minutes, 45 °C, EtOH 68%, 30 minutes, 45 °C, EtOH 85% and 30 minutes, 62 °C, EtOH 85%, showing no significant difference between their values. The extracts have potential for application in the cosmetic, food and pharmaceutical industries.

**KEYWORDS:** antioxidants; saffron; extraction.

### INTRODUÇÃO

Conhecida como cúrcuma, açafrão-da-terra, açafrão ou açafrão-da-Índia, a *Curcuma longa* é uma planta originária do sudeste da Ásia e pertencente à família Zingiberaceae. Seu componente principal é o composto fenólico curcumina, que se faz presente em concentração de 2,8 a 8%, e os fitoquímicos secundários desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina (GOVINDARAJAN, 1980). A curcumina tem recebido considerável interesse como potencial agente terapêutico para a prevenção de várias doenças (ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011). Diversos estudos confirmaram que seus extratos têm diversas atividades biológicas, entre elas, antioxidante (WOJDYŁO; OSZMIAN´SKI; CZEMERYS, 2007).

Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que atrasa ou inibi a oxidação de um substrato oxidável, diminuindo a concentração dos radicais livres no organismo. Os radicais livres atacam moléculas biológicas, levando a doenças

<sup>1</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: lauraalcarria@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 9054663161081468

<sup>2</sup>Docente no Curso Licenciatura em Química/COLIQ/Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: liliandusman@utfpr.edu.br. ID Lattes: 5182710800072951.



degenerativas, câncer, inflamação, aterosclerose e envelhecimento precoce (LABUZA, 1971).

A extração é um dos processos de obtenção de compostos bioativos, na qual um solvente age na estrutura celular do vegetal, retirando os compostos de interesse. Há diversos fatores que influenciam o resultado final da extração, como por exemplo, o tipo e polaridade do solvente, o método de extração, tempo e temperatura. De acordo com Kowalczyk *et al.* (2013) o emprego de solventes hidroalcoólicos favorece a extração de compostos fenólicos, o que justifica a escolha do solvente utilizado.

Entre os métodos de extração está a extração assistida por ultrassom (EAU), que consiste na aplicação de ondas mecânicas em uma frequência acima de 20 KHz. A utilização do ultrassom intensifica a extração por meio da cavitação, no qual os efeitos causados pelas ondas ultrassônicas criam um ciclo de bolhas de gás e cavidades no solvente. Quando ocorre o colapso das bolhas, são geradas ondas de energia muito elevadas na zona de cavitação, e quando este processo ocorre próximo à parede celular da matriz vegetal, a energia gerada exerce um forte impacto sobre a superfície sólida, conduzindo à desestruturação celular e tecidual, aumentando assim a permeabilidade da parede celular, favorecendo a entrada do solvente e o contato com os componentes da matriz (CHEMAT; E-HUMA; MUHAMMED, 2011)

O presente trabalho teve o objetivo de otimizar a extração dos compostos fenólicos do açafraão-da-terra, utilizando a extração assistida por ultrassom.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### AMOSTRAS

Os rizomas do açafraão-da-terra foram obtidos na feira do produtor em Apucarana-PR. Foram higienizados e submetidos à desidratação em estufa de circulação de ar (marca SOLAB, modelo 102/480) à 40 °C (TONIN *et al.*, 2011), até peso constante. Após a secagem, os produtos desidratados foram triturados e armazenados em geladeira para a realização das análises.

### PREPARO DOS EXTRATOS

Os extratos foram preparados em duplicata, pesando-se 1,0000 g do rizoma desidratado com 100,0 mL de solvente EtOH:H<sub>2</sub>O nas proporções v/v descritas na Tabela 1. A extração foi realizada em ultrassom (Cristófoli, com frequência operacional de 42 KHz e capacidade total 2,5 L), conforme o planejamento experimental apresentado na Tabela 1, ao abrigo da luz (C = 20 g L<sup>-1</sup>). Os extratos foram filtrados e armazenados sob refrigeração e ao abrigo da luz.

### PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Foi conduzido um estudo de otimização das variáveis independentes, tempo (min), temperatura (°C) e proporção de etanol (%EtOH), a partir de um delineamento composto central rotacional (DCCR) 2<sup>3</sup> com duplicata no ponto central, conforme a Tabela 1. O planejamento consistiu no desenvolvimento de um modelo preditivo elaborado pelo software Statistica® 10.

As condições de extração apresentadas na Tabela 1 mostra os níveis codificados –  $\alpha$  (-1,68) e  $+\alpha$  (+1,68), como pontos extremos aos quais o processo de extração é



submetido (pontos axiais), -1 e +1 como os pontos mínimos e máximos, respectivamente, definidos para o processo experimental, e 0 representando o ponto central das condições de extração.

**Tabela 1 - Delineamento composto central rotacional (DCCR) 2<sup>3</sup> para otimização do tempo, temperatura e proporção de etanol/água**

Variáveis/Níveis	-1,68	-1	0	+1	+1,68
X <sub>1</sub> : Tempo (min)	5	15	30	45	55
X <sub>2</sub> : Temperatura (°C)	28	35	45	55	62
X <sub>3</sub> : %EtOH	68	75	85	95	100

Fonte: Autoria própria (2023).

O desenho experimental foi adequado ao seguinte modelo polinomial de segunda ordem apresentado na Equação 1.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (1)$$

onde, X<sub>1</sub> é o tempo de extração, X<sub>2</sub> é a temperatura de extração, X<sub>3</sub> é a concentração de etanol e  $\beta_0$ ,  $\beta_{(1, 2 \text{ e } 3)}$ ,  $\beta_{(11, 22 \text{ e } 33)}$ , e  $\beta_{(12, 13 \text{ e } 23)}$  são os coeficientes de regressão para o intercepto, comportamento linear, comportamento quadrático e para o comportamento de interação entre os termos, respectivamente. A variável dependente para o experimento foi a resposta para a quantificação de fenólicos totais (FT), pelo método Folin Ciocalteu.

## DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos totais dos extratos do coproduto foram quantificados pela metodologia de Singleton; Rossi (1965), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu. Em um tubo Falcon foram adicionados 250 µL de extrato, 250 µL do reagente Folin-Ciocalteu (diluído em água destilada na proporção 1:1), 500 µL de uma solução saturada de carbonato de sódio (35,0 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> em 100,0 mL de água destilada), e 4,0 mL de água destilada. Os tubos foram agitados e ficaram em repouso, ao abrigo de luz, por 25 min, sendo então centrifugados (QUIMIS - AAKER) por 10 min a 5000 rpm.

A leitura das absorbâncias das amostras foi realizada em espectrofotômetro (Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-VIS) em 725 nm. Foi preparado um branco para cada extrato substituindo o extrato por 250 µL de solvente EtOH. As análises foram realizadas em triplicata. Uma curva padrão de ácido gálico nas concentrações de 25, 50, 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup> foi construída ( $y = 0,005x + 0,004$ ;  $R^2 = 0,999$ ) e os resultados foram expressos em mg EAG 100 g<sup>-1</sup> de amostra, onde EAG representa o equivalente em ácido gálico.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados apresentados foram obtidos através da média das repetições ± desvio padrão e foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), com comparações múltiplas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se software Stat Soft. Inc. (2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados de quantificação de fenólicos totais para os extratos do açafrao-da-terra estão apresentados na Tabela 2.



**Tabela 2 - Resultados de quantificação de fenólicos totais para os extratos do açafrão-da-terra.**

Tempo (min)	Temperatura (°C)	EtOH (%)	FT (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> )
5	45	85	458,79 ± 9,33 <sup>e,f</sup>
15	35	95	321,51 ± 9,74 <sup>h</sup>
15	35	75	371,77 ± 7,95 <sup>g</sup>
15	55	95	502,73 ± 9,49 <sup>b,c,d</sup>
<b>15</b>	<b>55</b>	<b>75</b>	<b>529,29 ± 7,39<sup>a,b</sup></b>
30	28	85	450,82 ± 7,01 <sup>e,f</sup>
30	45	100	373,56 ± 3,83 <sup>g</sup>
<b>30</b>	<b>45</b>	<b>68</b>	<b>507,96 ± 6,14<sup>a,b</sup></b>
<b>30</b>	<b>45</b>	<b>85</b>	<b>539,29 ± 14,71<sup>a,b</sup></b>
<b>30</b>	<b>45</b>	<b>85</b>	<b>542,38 ± 5,82<sup>a</sup></b>
<b>30</b>	<b>62</b>	<b>85</b>	<b>528,17 ± 6,86<sup>a,b</sup></b>
45	35	95	327,00 ± 4,70 <sup>h</sup>
45	35	75	359,15 ± 4,95 <sup>g,h</sup>
45	55	95	428,36 ± 8,53 <sup>f</sup>
45	55	75	483,19 ± 4,70 <sup>c,d,e</sup>
55	45	85	466,24 ± 4,71 <sup>d,e,f</sup>

Fonte: Autoria própria (2023).

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=6). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

O modelo proposto se ajustou ao ensaio de fenólicos totais com R<sup>2</sup> de 0,7695. Os dados de ANOVA indicam que as variáveis tempo (Q), temperatura (L e Q), %EtOH (L e Q) e a interação entre as variáveis tempo\*temperatura foram significativas no intervalo de confiança de 95% (Tabela 3). A modelagem dos dados experimentais foi realizada com base no modelo representado na Equação 2:

$$FT = 543,01 + 16,99t - 74,10t^2 + 100,96 T - 51,95T^2 - 66,03 \%EtOH - 98,09 \%EtOH^2 - 28,33t T - 2,54t \%EtOH + 0,25T \%EtOH \quad (2)$$

Negligenciando-se os termos não significativos, foi obtida a Equação 3:

$$FT = 543,01 - 74,10t^2 + 100,96 T - 51,95T^2 - 66,03 \%EtOH - 98,09 \%EtOH^2 - 28,33t T \quad (3)$$

**Tabela 3 - Análise de Variância (ANOVA) para compostos fenólicos totais.**

	GL <sup>a</sup>	SQ <sup>b</sup>	QM <sup>c</sup>	F <sup>d</sup>	Pr (F)	Significância
Tempo (L)	1	5872,3	5872,3	3,90	0,051406	
Tempo (Q)	1	75613,9	75613,9	50,26	0,000000	***
Temperatura (L)	1	210704,2	210704,2	140,04	0,000000	***
Temperatura (Q)	1	39782,4	39782,4	26,44	0,000002	***
% EtOH (L)	1	84638,8	84638,8	56,26	0,000000	***
% EtOH (Q)	1	117160,5	117160,5	77,87	0,000000	***
Tempo*Temperatura	1	9633,7	9633,7	6,40	0,013214	***
Tempo*%EtOH	1	77,2	77,2	0,051	0,821324	
Temperatura*%EtOH	1	0,7	0,7	0,0005	0,982253	
Resíduo	95	561397,8	1504,6			

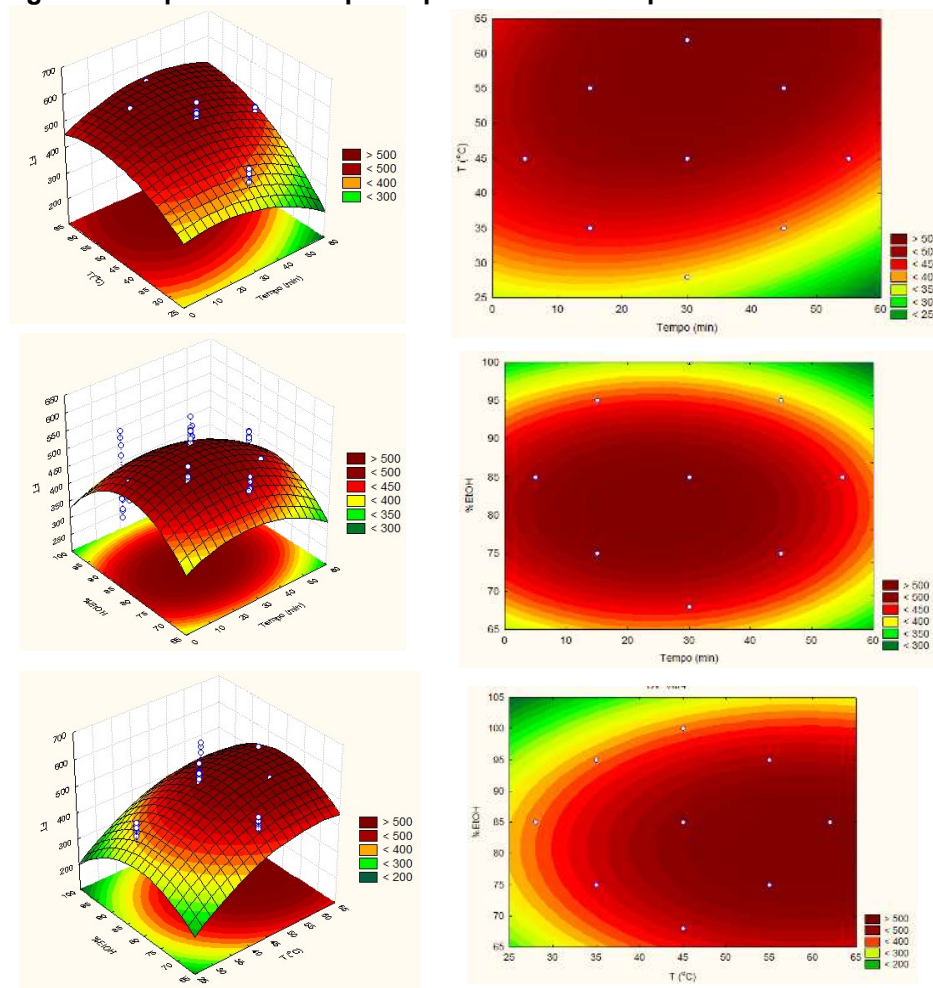
Fonte: Autoria própria (2023).

<sup>a</sup> graus de liberdade; <sup>b</sup> soma dos quadrados; <sup>c</sup> quadrados médios; <sup>d</sup> coeficiente F calculado; Pr (F) Valor do teste T (< 0,05 houve diferença significativa).

A relação entre as variáveis dependentes e independentes está representada tri e bidimensionalmente pela superfície de resposta (Figura 1) gerada pelo modelo (Equação 3). A análise dos resultados demonstra a influência dos três fatores estudados na quantificação de compostos fenólicos dos extratos do açafraão-da-terra.

Os melhores resultados foram obtidos em temperaturas mais altas, entre 50-65 °C, tempos entre 15-40 minutos e %EtOH entre 75-85%. As condições experimentais (Tabela 2): 15 minutos, 55 °C, EtOH 75%, 30 minutos, 45 °C, EtOH 68%, 30 minutos, 45 °C, EtOH 85% e 30 minutos, 62 °C, EtOH 85%, apresentaram os maiores valores de fenólicos totais, sem apresentar diferença significativa entre seus valores ( $p < 0,05$ ).

Figura 1 - Superfície de resposta para a variável dependente FT.



Fonte: Autoria própria (2023).

## CONCLUSÕES

Neste trabalho foram otimizadas as condições de extração dos compostos fenólicos dos rizomas do açafraão-da-terra, obtidos por ultrassom. As melhores respostas foram obtidas nas condições: 15 minutos, 55 °C, EtOH 75%; 30 minutos, 45 °C, EtOH 68%; 30 minutos, 45 °C, EtOH 85% e 30 minutos, 62 °C, EtOH 85%, não apresentando diferença significativa entre seus valores. Foi demonstrada a influência das três variáveis no processo





extrativo. O extrato possui potencial para aplicação nas indústrias cosméticas, alimentícias e farmacêuticas.

### **Agradecimentos**

Ao Laboratório Multiusuário de Apoio à Pesquisa da UTFPR – Campus Apucarana (LAMAP).

### **Conflito de interesse**

Não há conflito de interesse.

### **REFERÊNCIAS**

CHEMAT, F.; E-HUMA, Z.; MUHAMMED, K.K. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 18, p. 813–835, 2011.

GOVINDARAJAN, V.S. *Turmeric: Chemistry, Technology and Quality*. CRC Critical, 1980.

KOWALCZYK, D.; SWIECA, M.; CICHOCKA, J.; GAWLIK-DZIKI, U. The phenolic content and antioxidant activity of the aqueous and hydroalcoholic extracts of hops and their pellets. *Journal of the Institute of Brewing*, v. 119, p. 103-110, 2013.

LABUZA, T.P. Kinetics of lipidoxidation in foods. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, v. 2, p. 355-405, 1971.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 16, p. 144-158, 1965.

TONIN, L.T.D.; DE OLIVEIRA, T.F.V.; DE MARCO, I.G.; PALIOTO, G.F.; DÜSMAN, E. Bioactive compounds and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of extracts of *Curcuma longa*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, v. 15, p. 3752–3760, 2021.

WOJDYŁO, A.; OSZMIAN´SKI, J.; CZEMERYYS, R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, v. 105, p. 940-949, 2007.

ZHOU, H.; BEEVERS, C.S.; HUANG, S. The targets of curcumin. *Current Drug Targets*, v. 12, p. 332–347, 2011.