

# EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS FENÓLICOS DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*)

Drielen Guarise<sup>1</sup>, Arion Zandoná Filho<sup>2</sup>.

1 Acadêmico do curso de Tecnologia em Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR);

2 Processos Biotecnológicos, Prof. Dr. Universidade Tuiuti.

Endereço para correspondência do orientador: Arion Zandoná Filho, a.zandona@globo.com

---

**RESUMO:** A Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta comumente encontrada no Brasil, Argentina e Paraguai, mas seu consumo vem se alastrando devido aos seus efeitos benéficos. Entre essas propriedades terapêuticas está a sua capacidade antioxidante, sendo que os compostos fenólicos são um dos constituintes químicos responsáveis por este efeito. Neste trabalho foram utilizados diferentes solventes para extração destes bioativos. Os solventes de partição escolhidos foram: água deionizada, etanol, etanol tolueno (1:2) e diclorometano. Os extratos orgânicos e o aquoso foram avaliados espectrofotometricamente na região do infravermelho e do ultravioleta e avaliados quanto à presença de ácidos fenólicos.

**Palavras-chave:** *Ilex paraguariensis*, erva mate, compostos fenólicos.

---

**ABSTRACT:** The yerba mate (*Ilex paraguariensis*) is a plant commonly found in Brazil, Argentina and Paraguay, but its use is spreading because of its beneficial effects. Among these therapeutic properties is their antioxidant capacity, and phenolic compounds are one of the chemical constituents responsible for this effect. This work used different solvents for extraction of bioactive. The solvent partition chosen were: deionized water, ethanol, toluene ethanol (1:2) and dichloromethane. The organic and aqueous extracts were analyzed spectrophotometrically in the infrared and ultraviolet and evaluated for the presence of phenolic acids.

**Keywords:** *Ilex paraguariensis*, yerba mate, phenolic compounds.

---

## INTRODUÇÃO

A Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta natural da América do Sul. Sua infusão vem sendo amplamente consumida pelos sul americanos (Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai), mas está rapidamente ganhando o mercado mundial, incluindo os Estados Unidos, Europa e Canadá (KUSSLER *et al.*, 2004).

O Mate vem sendo largamente estudado por apresentar propriedades terapêuticas. A literatura científica aponta que a Erva-Mate é hipolipidêmica (normalização de gorduras no

sangue), hepatoprotetora (FILLIP & FERRARO, 2003), estimulante do sistema nervoso central, diurética (GONZALEZ *et al.*, 1993) e antioxidante (FILLIP *et al.*, 2000; VANDERJAGT *et al.*, 2002). Também possui benefícios no sistema cardiovascular (SCHINELLA *et al.*, 2005) e alguns estudos sugerem um grande potencial no controle da obesidade (ANDERSEN & FOGH, 2001; PITTLER & ERNST, 2004; OPALA *et al.*, 2006).

Esses benefícios se dão pelo fato de haverem inúmeros fitoquímicos ativos (bioativos) presentes já estudados, dentre eles podemos citar os polifenóis e as xantinas, seguidos pelos alcalóides purina, flavonóides, aminoácidos, minerais (P, Fe e Ca) e vitaminas (C, B1 e B2) (POMILIO *et al.*, 2002; ZAPOROZHETS *et al.*, 2004). Além disso, a erva-mate possui saponinas que aumentam a defesa do organismo, mantendo-o mais preparado para combater as infecções (ERVA-MATE). Saponinas são substâncias glicosídeas com a propriedade de provocar, em soluções aquosas, a formação de espumas. Devido à redução da tensão superficial, apresentam ação detergente e emulsificante (Conhecimento Científico).

As metilxantinas são os compostos mais conhecidos desta espécie. As principais encontradas no Mate são a cafeína (0,8 – 0,9%), seguida pela teobromina (0,08 – 0,16%) e com uma pequena quantidade de teofilina (CLIFFORD & MARTINEZ, 1990). Porém, os compostos que mais são abundantes em sua composição são os compostos fenólicos, dentre eles os flavonóides, que contribuem com seu sabor amargo adstringente (FINGER, KUHR & ENGELHARDT, 1992), e os ácidos fenólicos que têm sido muito estudados por suas propriedades antioxidantes.

Os compostos fenólicos possuem ao menos um anel aromático, no qual, no mínimo um hidrogênio é substituído por grupamento hidroxila. Os ácidos fenólicos são algumas das substâncias que constituem o grupo dos compostos fenólicos e caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, são derivados do ácido benzóico e obtidos através de hidrólise ácida (CARVALHO *et al.*, 2002).

A maior parte dos compostos fenólicos não são encontrados no estado livre na natureza, mas sob a forma de ésteres ou de heterosídeos, sendo portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares (Figura 1). Por serem fenólicos, esses compostos são muito reativos quimicamente, são facilmente oxidáveis e por serem muito frágeis, devem-se evitar valores extremos de temperatura e concentrar as soluções extrativas a baixas temperaturas (CARVALHO *et al.*, 2002).

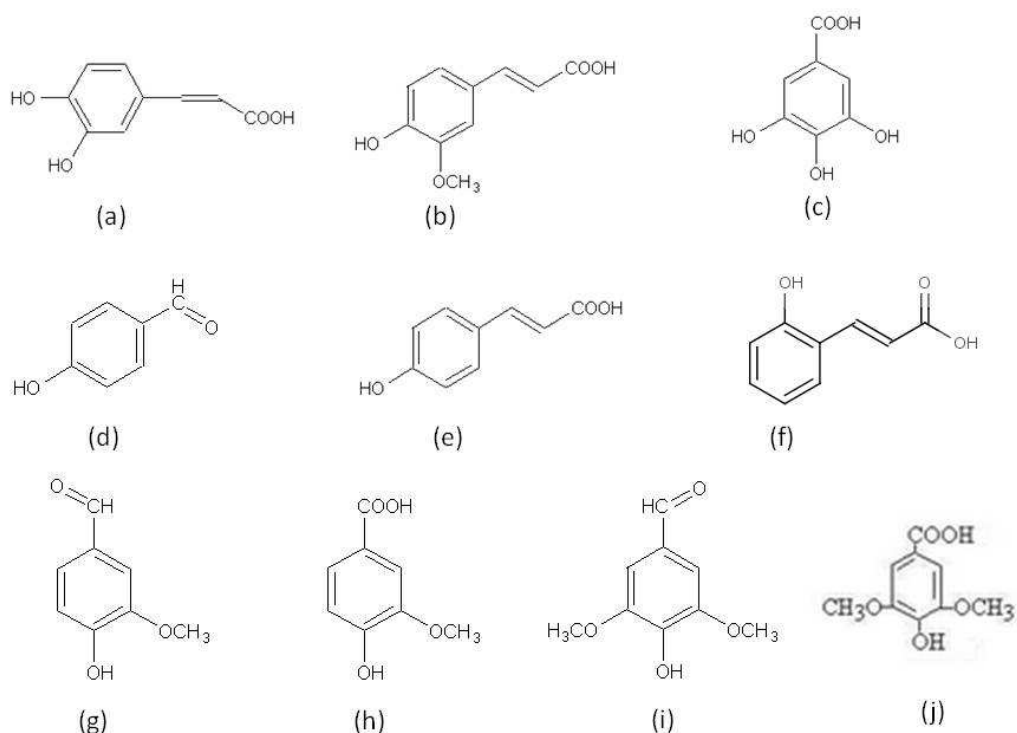


FIGURA 1 – Ácidos fenólicos mais comuns: (a) ácido caféico; (b) ácido ferúlico; (c) ácido gálico; (d) *p*-hydroxybenzaldehyde; (e) ácido *p*-cumárico; (f) ácido *o*-cumárico; (g) vanelina; (h) ácido vanílico; (i) siringaldeído; (j) ácido siríngico;

Em função de suas propriedades farmacêuticas, a erva-mate tem sido recomendada para preparação de estimulantes, antiinflamatório, anti-reumático, tônico e diurético. Além disso, através dela podem ser obtidos corantes e detergentes, especialmente para uso em hospitais. No Brasil, esses produtos estão sendo pesquisados em nível laboratorial, porém, no exterior (especialmente nos países do hemisfério norte), a planta já conquistou mercado em função de suas amplas possibilidades de aproveitamento.

Este trabalho teve como objetivo extrair e caracterizar os ácidos fenólicos contidos na Erva-Mate, para as frações orgânicas em diferentes polaridades e afinidades químicas, caracterizando-as espectrofotometricamente.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Amostra

Segundo o fabricante o produto é um extrato solúvel de Mate (*Ilex paraguariensis*), denominada Matte Leão, e foi cedida à universidade Tuiuti do Paraná pela Leão Junior S.A.

para estudos. O lote usado para este experimento foi o de validade declarada pelo fabricante como: Agosto de 2010 letra A.

### **Reagentes**

Diclorometano P.A. lote G26J00 Mallinckrodt, *n*-hexano P.A. lote K35552374 Merck, etanol absoluto 9D220079E CarloErba, tolueno lote H13C62 J.T.Baker e água ultra pura.

### **Métodos extrativos**

**1º Método de Extração** (líquido/líquido) – Foi preparada uma solução de mate solúvel a 10% (m/v) com água ultra pura. Desta solução, separou-se duas porções de 50 ml e acrescentou a elas 30 ml de dois diferentes solventes em cada porção, sendo eles, diclorometano (a) e *n*-hexano (b).

Nas soluções (a) e (b), fez-se partição líquido/líquido por meio de funil de separação conforme a estrutura química do solvente e sua respectiva polaridade. Após a separação das fases os extratos foram concentrados a temperatura ambiente até quase *secura*.

**2º Método de Extração** (sólido/líquido) – Foram pesados 5 g do mate em filtro e feita extração por refluxo com Soxhlet em balão de 250 mL anteriormente tarado em balança analítica com quatro casas. Foram utilizados quatro solventes diferentes em duplicata, sendo eles: água deionizada, etanol, etanol tolueno (1:2) e diclorometano (DCM).

Após feita a extração, uma parte do solvente foi recuperado com a utilização do Soxhlet, o restante do solvente foi evaporado com ajuda de um rotaevaporador e para chegar a *secura* foi utilizado banho maria a 80°C. Nova pesagem foi realizada para obter a massa do extrato e assim determinar o teor de bioativos extraído.

### **Métodos de identificação**

Os métodos espectrofotométricos de identificação utilizados foram os de ultravioleta e infravermelho. A espectroscopia na região do ultravioleta (UV/VIS – 190–900 nm) mediu a intensidade de luz absorvida pela amostra na faixa do visível, do ultravioleta (UV) próximo e do infravermelho (IV) próximo.

A espectroscopia no infravermelho indicou as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específica e foi usada para identificar composição da amostra através da sua estrutura funcional.

Os espectrofotômetros utilizados são da marca Varian, e seus modelos são Carry 100 (Tabela 1) para o Ultravioleta e FTIR 600 para o Infravermelho.

TABELA 1 – CONDIÇÕES PARA ANÁLISE DE ESPECTRO ULTRAVIOLETA

Parâmetro Analítico	Valor
Varredura (nm)	190- 900
Tempo de varredura (s)	0,1
Intervalo de leitura (nm)	1,0
Velocidade de leitura na varredura (nm/min)	600,00
Fenda do Background (nm)	2,0
Modo de feixe	Duplo
Cela de leitura	Quartzo
Espessura da cela (mm)	100

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de identificação e caracterização das substâncias orgânicas aromáticas presentes no extrato aquoso e nos orgânicos teve como principal foco a polaridade relativa de suas moléculas majoritárias. Os ácidos fenólicos e seus correlatos polares foram extraídos por técnicas convencionais e por percolação contra sílica gel ácida silanizada.

No primeiro método de partição, separação líquido/líquido, não foi possível a caracterização das estruturas moleculares, pois um alto índice de espuma foi formada dificultando a extração e posterior separação. A fase de baixa tensão superficial pode ter sido formada devido à presença das saponinas.

Após análise dos primeiros métodos extrativos foi identificada uma deficiência no processo de extração, partiu-se então para a eluição e partição sólido/líquido. Nestas etapas de macro-caracterização funcional, as extrações foram realizadas em triplicata e os valores dos extratos secos foram obtidos (Tabela 2).

TABELA 2 – TEOR DE EXTRATO SECO (RENDIMENTO) DE MATE SOLÚVEL ATRAVÉS DE DIFERENTES SOLVENTES.

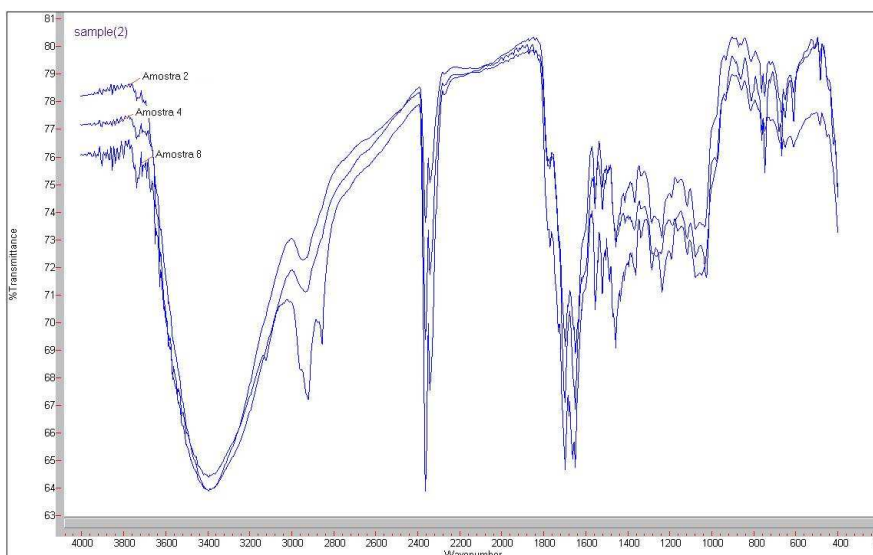
SOLVENTES	MOMENTO DIPOLAR	EXTRATO SECO (%M/M)
1 – Água deionizada	1,85	70,2 %
2 – Etanol	1,69	15,4 %
3 – Etanol/Tolueno (1:2)	1,69 : 0,36	11,0 %
4 – Diclorometano	1,6	0,5 %

A tabela mostra o rendimento da extração dos solventes orgânicos e da água. O rendimento calculado foi feito pela extração total do solvente, ou seja, de todos os compostos extraídos.

Em seguida as extrações e quantificação mássica do extrato, uma quantidade do extrato seco foi separada para identificação espectrofotométrica, sendo que a porção restante foi encaminhada para pesquisas na área farmacológica.

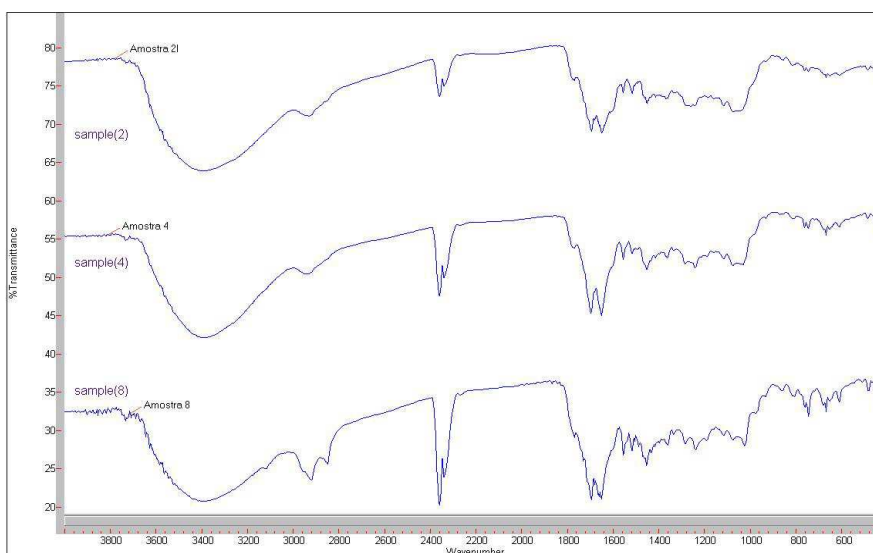
A seguir apresentamos os espectros na região do infravermelho:

FIGURA 2 – ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS DE ERVA-MATE OBTIDOS POR PARTIÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO.



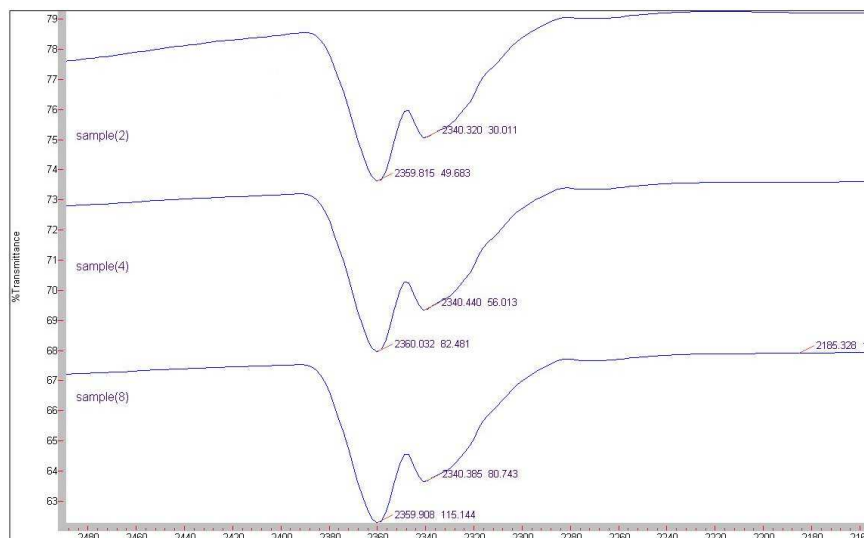
Os espectros acima demonstram a semelhança entre a extração dos solventes. Os espectros estão sobrepostos.

FIGURA 3 – ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS DE ERVA-MATE OBTIDOS POR PARTIÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO.



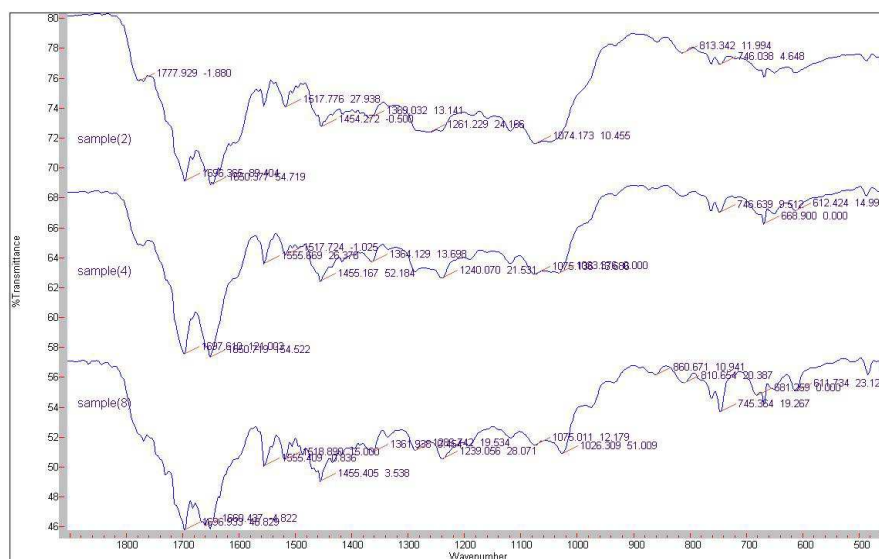
Os espectros acima demonstram a mínima diferença em determinados picos dos espectros. Os espectros foram demonstrados sepradamene.

FIGURA 4 – ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS DE ERVA-MATE OBTIDOS POR PARTIÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO.



Os espectros acima mostram os picos nos comprimentos de onda de 2500 a 2160.

FIGURA 5 – ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS DE ERVA-MATE OBTIDOS POR PARTIÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO.



Os espectros acima mostram os picos nos comprimentos de onda de 1900 a 500.

As amostra (sample) 2, amostra 4 e amostra 8 caracterizam os solventes etanol, etanol tolueno e diclorometano respectivamente

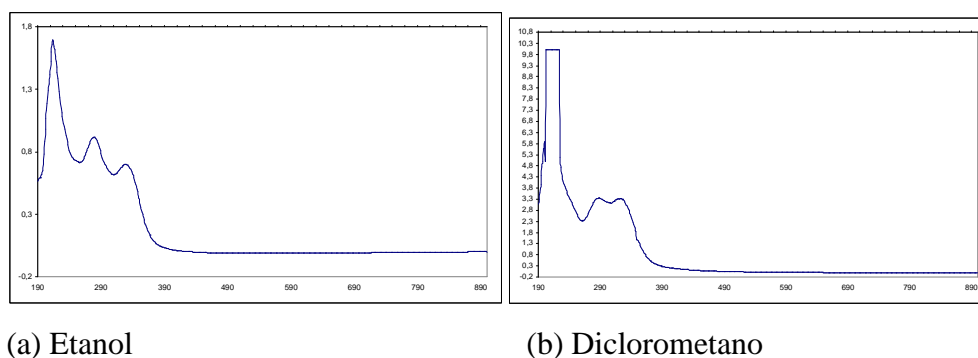
Os extratos dos três solventes orgânicos foram analisados no infravermelho, sendo eles: diclorometano, etanol e etanol tolueno (1:2), na figura 2 até a figura 5 são apresentados esses espectros em regiões características dos ácidos fenólicos. No espectrômetro de ultravioleta, todos os extratos foram analisados e seus espectros também se apresentaram semelhantes para a presença de substâncias cromóforas aromáticas.

Segundo os dados obtidos espectrofotometricamente foram identificados a presença de compostos fenólicos em meio polar aquoso e em meio polar orgânico.

Nas figuras acima demonstradas, percebemos que em todos os extratos obteve-se uma forte deformação axial de O-H em ligação de hidrogênio intermolecular, bem como a deformação axial de C-H aromático. Os espectros caracterizam a presença de compostos orgânicos aromáticos nos três meios extrativos orgânicos. Estas bandas são caracterizadas pela deformação angular fora do plano de ligações entre C-H do anel aromático. Percebem-se também as bandas de deformação angular no plano na região de 1.300 – 1.000 nm. Também de forma características encontramos deformações axiais das ligações entre carbono e carbono do anel aromático (1.600-1585 nm), evidenciando a presença de ácidos fenólicos em todos os meios extrativos.

A análise espectrométrica na região do Ultravioleta evidenciou bandas de absorção muito intensas na região de 200 a 380 nm deixando transparecer a existência de ácidos carboxílicos saturados e cromóforos de benzeno em transição de “pi” asterisco como apresentado na figura 6 abaixo.

FIGURA 6 – ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA DOS EXTRATOS DE ERVA-MATE OBTIDOS POR PARTIÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO.



Os dados indicam que a polaridade dos solventes afeta a extração das moléculas fenólicas. A técnica de partição sólido/líquido utilizando sílica gel, não resultou em separação do extrato em meio aquoso porque houve oclusão de poros e os analitos não percolaram pela coluna.

## CONCLUSÃO

A extração em fase aquosa foi a que rendeu maiores quantidades mássicas de extrato (70,2% m/m), no entanto a sua caracterização foi dificultada devido à grande presença de



moléculas de alta polaridade e que não são possíveis de serem separadas pelo processo de partição volumétrica simples.

Os ensaios espectrométricos demonstraram que as estruturas extraídas possuíam características fenólicas e ácidas.

As ligações de ramificação não puderam ser medidas e caracterizadas por necessitarem métodos específicos e com a presença de padrões primários.

As técnicas de extração foram consideradas aceitáveis por possuir alto teor de extração de ácidos fenólicos (ou estruturas semelhantes) e ainda baixo custo, possibilitando maiores estudos futuros utilizando solventes de baixo valor e alto poder extrativo.

Para se confirmar os resultados nos extratos é necessário se fazer análises mais específicas de complexidade molecular e estrutural.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSEN, T.; FOGH, J. **Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients.** J Hum Nutr Diet. 14:243–50, 2001.

CARVALHO, J.C.T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZS, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento.** 4. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS / Ed. Universidade UFSC, 2002. p. 443-459.

CLIFFORD, M.N.; MARTINEZ, J.R. **Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage.** Food Chemistry. 35, 13–21, 1990.

CONHECIMENTO Científico. Disponível em: <http://www.baldo.com.br/br/ciencia.htm>. Acesso em: 26 mai. 2010.

ERVA-MATE: poderosa arma contra o envelhecimento. Disponível em: <http://arquivinho.wordpress.com/2008/02/19/erva-mate-poderosa-arma-contr-o-envelhecimento/>. Acesso em: 29 mai 2010.

FILIP, R.; FERRARO, G.E. **Researching on new species of "Mate": *Ilex brevicuspis*: phytochemical and pharmacology study.** Eur J Nutr. 42:50–4, 2003.

FILIP, R.; LOTITO, S.B.; FERRARO, G.; FRAGA, C.G. **Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species.** Nutr Res. 20:1437–46, 2000.

FINGER, A.; KUHR, S.; ENGELHARDT, U.H. **Chromatography of tea constituents.** Journal of chromatography. 624, 293-315, 1992.

GONZALEZ, A.; FERREIRA, F.; VAZQUEZ, A.; MOYNA, P.; PAZ, E.A. **Biological screening of Uruguayan medicinal-plants.** J Ethnopharmacol. 39:217–20, 1993.

KUSSLER, A.L. *et al.* **Primeiro registro da *Cochonilla pendullaria paraguariensis* Granara de Willink,1999 (Hemíptera, Coccidae) no Brasil.** Ciência Rural, v.34, n.4, p.1231-1233, 2004.

OPALA, T.; RZYMSKIP, P.; PISCHEL, I.; WILCZAK, M.; WOZNIAK, J. **Efficacy of 12 weeks supplementation of a botanical extract-based weight loss formula on bodyweight, body composition and blood chemistry in healthy, overweight subjects – a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial.** Eur JMed Res. 11:343–50, 2006.

PITTLER, M.H.; ERNST, E. **Dietary supplements for body-weight reduction: a systematic review.** Am J Clin Nutr. 79:529–36, 2004.

POMILIO, A.B.; TRAJTEMBERG, S.; VITALE, A.A. **High-performance capillary electrophoresis analysis of Mate infusions prepared from stems and leaves of *Ilex paraguariensis* using auto mated micellar electro kinetic capillary chromatography.** PhytochemAnal. 13:235–41, 2002.

SCHINELLA, G.; FANTINELLI, J.C.; MOSCA, S.M. **Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitricoxide-dependent mechanism.** ClinNutr. 24:360–6, 2005.

VANDERJAGT, T.J.; GHATTAS, R.; VANDERJAGT, D.J.; CROSSEY, M.; GLEW, R.H. **Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico.** Life Sci. 70:1035–40, 2002.

ZAPOROZHETS, O.A.; KRUSHYNSKA, O.A.; LIPKOVSKA, N.A.; BARVINCHENK, V.N. **A new test method for the evaluation of total antioxidant activity of herbal products.** J Agric Food Chem. 52:21–5, 2004.