

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TEMPERATURA E DA REPETIÇÃO DE LAVAGENS NA EXTRAÇÃO DE CLOROFILA EM FARINHA DE QUIABO (*Abelmoschus esculentus*)

RESUMO

O quiabo (*Abelmoschus esculentus*) é um fruto originário da África, com uma pigmentação esverdeada oriunda da clorofila, uma substância classificada como um pigmento natural comumente encontrada nos cloroplastos. A extração ocorreu em três diferentes temperaturas (4, 25 e 40°C) e com 5 lavagens, além de um procedimento executado conforme mencionado na literatura. Os resultados indicaram que o número de lavagens possui um efeito predominante, sendo todos os ensaios superiores ao método de controle. Quanto a temperatura, a de maior eficiência foi aquela de 40°C, tendo o melhor desempenho na primeira extração, embora tenha sido aquela com os piores desempenhos após a segunda lavagem, indicando que a exposição prolongada a essa temperatura pode degradar o pigmento. Portanto, o número de lavagens para a extração se demonstrou um fator determinante para a extração, associado a etapas de extração com diferentes temperaturas para a extração e conservação da clorofila na matriz estudada.

INTRODUÇÃO

O quiabo (*Abelmoschus esculentus*), conhecido popularmente como dedo de moça, é um fruto pertencente à família Malvaceae, amplamente consumido ao redor do mundo devido aos aspectos climáticos para realizar o seu plantio e obter um bom desenvolvimento do fruto. A plantação de quiabo geralmente é realizada em solos arenosos com pH entre 6,0 e 6,5 e livre de espécies nematódeos, que podem atuar como uma praga para a planta. O teor de compostos bioativos no quiabo depende das condições de cultivo e do tamanho dos frutos, também é relatado na literatura que as hortaliças em diferentes estágios de maturação possuem diferentes quantidades desses compostos (CARVALHO, *et al.* 2013; MARIA, *et al.* 2015; NIKPAYAM, *et al.* 2021).

A clorofila é uma substância classificada como um pigmento natural comumente encontrada nos cloroplastos em diversos tipos de plantas que atribui uma coloração esverdeada para espécies da flora como o quiabo, esse composto bioativo tem propriedades antioxidantes e antimutagênicas que atribuem maior importância comercial e científica as aplicações envolvendo a molécula, sendo essencial para as plantas no processo de fotossíntese por auxiliar na absorção de energia solar em um dado comprimento de onda permitindo converter essa energia solar em energia química (HOSIKIAN, *et al.* 2010).

O nome para a molécula foi inicialmente proposto pelos cientistas Pelletier e Caventou que designaram essa denominação devido ao líquido de coloração verde que era obtido ao extrair a substância das folhas utilizando álcool. As clorofilas podem ser classificadas em dois tipos A e B, que se diferenciam pela presença de um substituinte aldólico em uma terminação da cadeia carbônica lateral da molécula do tipo B que confere uma maior polaridade ao composto, facilitando a extração desse tipo de clorofila. Ambos os pigmentos possuem um átomo de magnésio no centro de seus complexos caracterizando sua estrutura macrocíclica e atribuindo algumas fragilidades a sua estrutura como a fotossensibilidade, sensibilidade a variações térmicas, de pH e as

ligações não covalentes frágeis que possibilitam danificar o composto ao tentar extraí-lo por métodos de maceração (HOSIKIAN, *et al.* 2010; STREIT, *et al.* 2005).

OBJETIVOS

Geral: avaliar o efeito da temperatura e do número de lavagens na extração da clorofila em quiabos desidratados.

Específicos: determinar o teor de clorofila; determinar a melhor temperatura de extração; obter o melhor número de lavagens para extrair a clorofila.

MATERIAIS E MÉTODOS

A extração da clorofila a e b foi feita adaptando o método de Inskeep e Bloom (1985) testando diferentes números de lavagem e três temperaturas de extração. A farinha de quiabo foi obtida em secador a gás com circulação forçada de ar a 60°C até peso constante, triturada em moinho de facas e o tamanho de partícula homogeneizado em peneira de 40 mesh. Para extração da clorofila, foi pesado 0,5 g de amostra de farinha de quiabo em tubos de ensaio com rosca envelopados com papel alumínio e foi adicionado 4 mL de acetona 80%. Em seguida, o tubo foi agitado em vórtex por 2 minutos e mantido em repouso na ausência de luz por 15 minutos a temperatura ambiente, temperatura de 40 °C em banho maria e temperatura refrigerada de 4°C. Após o tempo de cada extração, os tubos foram centrifugados a 3500 rpm por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado e realizado a leitura em espectrofotômetro a 647 e 665 nm com cubeta de 0,5 cm, quando necessário foi efetuado uma diluição. O procedimento foi realizado mais quatro vezes. Um controle foi feito a temperatura ambiente com a mesma razão soluto (1) : solvente (8) e tempo de extração de 6 horas, conforme testes anteriores realizados pela equipe.

O cálculo foi realizado seguindo a equação fornecida no trabalho original, ajustando o fator de diluição utilizado na leitura e convertendo o resultado para miligramas de clorofila por 100 g de amostra (mg/100g Chl).

Todas análises foram realizadas em quadruplicata e os resultados expressos como média seguida do desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e para comparações entre as médias foi utilizado o teste de Tukey ($p < 0,05$) por meio do software Minitab 18®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela a seguir contém os dados obtidos experimentalmente para as extrações em distintas temperaturas.

Tabela 1 - Dados das diferentes temperaturas e lavagens de extração de clorofila.

Lavagem	Temperatura de extração					
	Ambiente (25°C)		Aquecida (40°C)		Refrigerada (4°C)	
	(mg Chl/100g)	% do total	(mg Chl/100g)	% do total	(mg Chl/100g)	% do total
1°	57,64 ± 1,12 ^c	61,25	79,28 ± 1,33 ^a	67,53	66,69 ± 1,86 ^b	61,71
2°	21,64 ± 0,79 ^a	22,99	22,34 ± 0,37 ^a	19,03	22,67 ± 0,31 ^a	20,98
3°	7,25 ± 0,19 ⁿ	7,70	7,76 ± 0,42 ^b	6,61	8,69 ± 0,35 ^a	8,04
4°	3,71 ± 0,08 ^c	3,94	4,52 ± 0,04 ^b	3,85	5,56 ± 0,13 ^a	5,15
5°	3,87 ± 0,10 ^b	4,11	3,50 ± 0,05 ^b	2,98	4,45 ± 0,41 ^a	4,12
Total	94,11 ± 1,09 ^C		117,40 ± 1,80 ^A		108,06 ± 1,83 ^B	
Controle	73,26 ± 2,65 ^D					

*Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa entre os diferentes valores para a lavagem. Letra maiúscula indica diferença estatística entre o valor total da clorofila nas diferentes temperaturas e o controle com $p < 0,05$.

A temperatura que mais favoreceu a extração foi a de 40 °C, enquanto a de menor desempenho foi a extraída a temperatura ambiente, essa diferença se encontra na primeira lavagem, cujo a extração teve o melhor desempenho, extraíndo mais da substância de desejo. A segunda lavagem obteve resultados similares para as temperaturas mais baixas, extraíndo cerca de 22 % do total de clorofila, enquanto a de menor desempenho foi o ensaio com aquecimento. As demais lavagens serviram para a extração dos resíduos de clorofila, sendo a temperatura refrigerada aquela com melhor desempenho após a segunda lavagem (17,30 %), seguida da temperatura ambiente (15,75 %) e por último da temperatura aquecida (13,44%). Todos os ensaios com a etapa de lavagem foram mais eficientes comparado com a extração controle que segue o método de Inskeep e Bloom (1895) modificado, onde é feita somente uma extração sólido-líquido em repouso durante 6 horas. Ressalta-se que o uso de apenas uma lavagem a 40 °C durante 15 minutos possui resultados melhores do que aquele extraído durante 6 horas a temperatura ambiente, indicando a extração incompleta de clorofila da amostra.

A extração da clorofila por um solvente orgânico acontece através da penetração da membrana celular, dissolvendo os lipídios e as lipoproteínas das membranas do cloroplasto, estando associado a capacidade de ruptura com a eficiência da extração (HOSIKIAN *et al.*, 2010; SCHUMANN *et al.*, 2005). Nesse sentido, o aumento da temperatura reduz a densidade do solvente, facilitando a permeabilidade dele na matriz, favorecendo assim uma extração eficiente, o que é condizente com o resultado obtido para a primeira extração.

A eficiência da extração da clorofila também é alterada por outros parâmetros, como condição de armazenamento, duração da extração e o número de etapas envolvidas, além da clorofila ser uma molécula de alta instabilidade, o que compromete o rendimento porque durante o procedimento pode ocorrer degradação (WASMUND, TOPP e SCHORIES, 2006; HU, TANAKA e TANAKA, 2013). Os rendimentos inferiores para as demais lavagens sob aquecimento podem ser justificados pela exposição prolongada a uma temperatura mais elevada, comprometendo a estabilidade deste pigmento. Em contrapartida, a melhor extração após a primeira lavagem ter sido obtida no ensaio da temperatura refrigerada, pode estar associada a conservação da

clorofila em baixas temperaturas, sendo recomendada para amostras com alto teor deste pigmento e extrações prolongadas.

Dado os resultados, uma possível solução para a melhor extração, nessa matriz, seja a primeira etapa ocorrendo a 40 °C e as demais lavagens serem feitas a temperaturas de refrigeração, para que haja a conservação da clorofila.

CONCLUSÃO

A extração da clorofila com adição da etapa de lavagem na sua quantificação melhora o resultado final. Em relação ao uso das diferentes temperaturas, o uso da temperatura de 40 °C obteve uma melhor resposta na extração deste pigmento, seguida da temperatura de 4 °C e 25 °C. Para uma extração mais eficiente o recomendado seria realizar uma primeira extração a temperatura de 40°C e as demais em temperatura refrigerada. Assim, o número de lavagens demonstrou um fator significativo, contribuindo para uma extração mais eficiente nessa matriz e custando menos tempo de extração em relação a extração controle modificada e do método de referência.

REFERÊNCIAS

- CARVALHO, S. P. de.; SILVEIRA, G. S. R. **Cultura do quiabo**. Departamento Técnico da Emater–MG, Minas Gerais, 2013.
- INSKEEP, W. P.; BLOOM, P. R.. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N, N-dimethylformamide and 80% acetone. **Plant physiology**, v. 77, n. 2, p. 483-485, 1985.
- HOSIKIAN, Aris et al. Chlorophyll extraction from microalgae: a review on the process engineering aspects. **International journal of chemical engineering**, v. 2010, 2010.
- HU, Xueyun; TANAKA, Ayumi; TANAKA, Ryouichi. Simple extraction methods that prevent the artifactual conversion of chlorophyll to chlorophyllide during pigment isolation from leaf samples. **Plant methods**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2013.
- MARIA, E. E. C. et al. **Nutritional, antinutritional and phytochemical status of okra leaves (*Abelmoschus esculentus*) subject to different processes**. African journal of biotechnology: academic journals, v. 14, n. 08, p. 683-687, fev. 2015.
- NIKPAYAM, O; SAFAEI, E; BAHREINI, N; SAGHAFI-ASL, M. **The effects of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) products on glycemic control and lipid profile: A comprehensive systematic review**. Journal of functional foods: Elsevier BV, v. 87, dez. 2021.
- WASMUND, N.; TOPP, I.; SCHORIES, D. Optimising the storage and extraction of chlorophyll samples. **Oceanologia**, v. 48, n. 1, 2006.
- SCHUMANN, Rhena et al. Chlorophyll extraction methods for the quantification of green microalgae colonizing building facades. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 55, n. 3, p. 213-222, 2005.
- STREIT, N. M. et al. **As clorofilas**. Tecnologia de alimentos: ciência rural, v. 35, n. 03, p. 748-755, 2005.