

AVALIAÇÃO DE IMPRESSÃO DIGITAL VOLTAMÉTRICA DE INFUSÕES AQUOSAS DE FOLHAS DE ERVA MATE PARA FINS DE CONTROLE DE QUALIDADE

Mayara M. FONSECA^{1*}; Ivar WENDLING²; Gustavo G. MARCHAFAVE³; Elen R. SARTORI¹

mayara.martins@uel.br*, elensartori@uel.br

¹Universidade Estadual de Londrina

²Embrapa Florestas

³Universidade Estadual de Campinas

Resumo

As folhas de erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) são amplamente consumidas na forma de chimarrão e utilizadas em diversos setores da indústria alimentícia. Elas podem sofrer adulteração por folhas de outras plantas, o que pode causar danos à saúde dos consumidores e apresentar variação no teor de cafeína. Assim, é importante o desenvolvimento de uma metodologia analítica e matemática alternativa visando o controle de qualidade de folhas de erva-mate. Para isto, a voltametria cíclica em conjunto com o eletrodo de diamante dopado com boro foi associada a análise exploratória e supervisionada multivariada dos dados. Os modelos ASCA combinados com os perfis voltamétricos obtidos a partir das infusões aquosas de folha de erva-mate ofereceu resultados significativos sobre o efeito do melhoramento genético e do sombreamento. Os modelos de discriminação PLS-DA alcançaram resultados de 100% de sensibilidade, especificidade e taxa de eficiência. Não foram registrados valores para taxas de falso-positivo e falso-negativo. O novo método desenvolvido se mostra econômico, rápido e amigável ao meio ambiente para o controle de qualidade de folhas de erva-mate.

Palavras-chave: Impressão digital; Voltametria; PLS-DA; ASCA; Controle de qualidade.

Introdução

As folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) são comumente consumidas na forma de chimarrão e possui ampla aplicação na indústria de alimentos. Elas podem ser adulteradas por folhas de outras plantas, que podem causar danos à saúde dos consumidores e apresentar variação no teor de cafeína e de compostos fenólicos. Nas últimas décadas tem-se avaliado a produção de plantas quimicamente modificadas, no intuito de variar sua composição química, como por exemplo, plantas com teores variados de cafeína e até mesmo descafeinadas. Neste sentido, estudos sobre a impressão digital de plantas têm sido realizados, no intuito de extrair o máximo de informação sobre o cultivo da erva-mate em diferentes condições ambientais (variação de solo, sombreamento e irrigação), além de abranger a detecção de metabólitos presentes na amostra (de Almeida et al., 2023).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção espectrofotométrica, tem sido amplamente utilizada para obtenção dessas impressões digitais metabômicas (Delaroza et al.,

2014). Apesar de ser eficiente, demanda tempo e habilidade para manusear o equipamento. Dessa forma, estudos acerca das impressões digitais voltamétricas podem ser uma alternativa (Silva et al, 2021). Associado a voltametria cíclica (VC), o eletrodo de diamante dopado com boro (EDDB) pode ser usado na obtenção da impressão digital. Este eletrodo possui estabilidade química em meio ácido e básico, fraca adsorção de espécies químicas na sua superfície, ampla janela de potencial de trabalho e facilidade de limpeza da superfície.

A análise de componentes simultâneos ASCA e o uso do modelo de discriminação PLS-DA, podem trazer informações sobre a presença ou não de cafeína na planta a ser comercializada para consumo humano (Tormena et al., 2019). A análise ASCA avalia conjuntamente a composição da erva-mate em virtude da condição ambiental em que a planta é exposta. Enquanto o PLS-DA valida o modelo, sendo uma etapa crítica para garantir sua robustez e capacidade de generalização para novos conjuntos de dados, avaliando o modelo a partir de uma série de figuras de mérito.

Em vista do exposto, este trabalho visa desenvolver impressão digital voltamétrica empregando o EDDB para a classificação de folhas de erva-mate quimicamente modificada condicionadas em cinco níveis de sombra (0%; 40%; 51%; 76% e 82% de sombreamento) aliada a tratamentos quimiométricos.

Material e Métodos

As folhas de erva-mate quimicamente modificadas, foram cedidas pela Embrapa Florestas em Colombo, Paraná, Brasil. Elas foram cultivadas em cinco níveis de sombreamento (C1EC40 e C1EC22 – 0%; C2EC40 e C2EC22 – 40%; C3EC40 e C3EC22 – 51%; C4EC40 e C4EC22 – 76% e C5EC40 e C5EC22 – 82%). As plantas com codificação EC40 são clones de alta cafeína e EC22 são descafeinadas. A extração dos metabólitos presentes nas folhas de erva mate foi feita de acordo com procedimento descrito por Streit et al., 2007, com algumas modificações. Todas as soluções aquosas foram preparadas com reagentes de grau analítico e água ultrapura. As soluções de trabalho, tais como cafeína, teobromina, teofilina e os ácidos clorogênico, *p*-cumárico, cafeico, ferúlico e as saponinas foram preparadas separadamente, em água ultrapura. As medidas voltamétricas foram realizadas em uma célula de vidro contendo três eletrodos: auxiliar (placa de platina), referência de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L⁻¹) e trabalho (EDDB; Windsor Scientific Ltd.). A célula foi acoplada ao potenciostato PalmSens 3 controlado pelo programa PSTrace 5.9. A superfície do EDDB foi polida com alumina em pano de camurça e, em seguida, enxaguado abundantemente com água ultrapura. Este procedimento foi repetido a cada 5 medidas. O tratamento dos dados e a análise quimiométrica foram realizados com o programa Matlab R2016b[®] (MathWorks, Natick, MA, EUA), usando as ferramentas do PLS_toolbox 8.7[®].



Resultado e Discussões

Inicialmente, investigou-se o efeito do pré-tratamento catódico, anódico e polimento com alumina da superfície do EDDB. Para todos estes, observou-se a presença de dois picos de oxidação ($\sim +0,75$ V e $+1,5$ V) e um pico de redução ($+0,20$ V). Eles correspondem a oxidação e redução de compostos fenólicos, tais como: ácido cafeico, ácido clorogênico e ácido ferúlico, e de oxidação de xantinas, tais como: cafeína, teobromina e teofilina, presentes nas infusões de folhas de erva mate. O polimento com alumina promoveu uma melhor definição e intensidade de corrente dos picos de oxidação e de redução, sendo então, este tipo de tratamento de superfície do eletrodo utilizado. Em seguida, no estudo do eletrólito suporte e pH, observou-se que as melhores respostas (intensidade de corrente e repetibilidade) foram obtidas em solução tampão fosfato (pH 3,0). Pelo estudo da velocidade de varredura, observou-se que na velocidade de 50 mV s^{-1} foi possível obter melhor repetibilidade e melhor definição dos picos de oxidação e de redução. Na avaliação da precisão intermediária e repetibilidade, os valores de DPR foram inferiores a 15% (Stöckl et al., 2009). No estudo da estabilidade da amostra armazenada durante 30 dias foi obtido DPR inferior a 15%, indicando que a amostra apresenta estabilidade nesse período avaliado.

Para a análise ASCA foram utilizados os perfis voltamétricos de oxidação, de redução e cíclico (oxidação + redução) para os efeitos do melhoramento genético, sombreamento e sua interação na infusão de folhas de erva mate. Para todos os perfis voltamétricos avaliados o modelo ASCA mostra que o efeito de melhoramento genético é significativo, ao nível de confiança de 95% com p -valor de 0,0001, demonstrando que os efeitos de melhoramento genético, sombreamento e a interação entre eles ocasionam mudanças relevantes no perfil químico das folhas de erva-mate. O efeito de sombreamento e de interação do melhoramento genético com o sombreamento ao nível de confiança de 95%, alcançaram um p -valor de 0,0001, sendo também significativos e demonstrando que esses efeitos são responsáveis por mudanças no perfil metabólico das folhas de erva mate. Além disso, a análise da interação entre melhoramento genético e sombreamento confirmou as diferenças genéticas entre as plantas em todos os perfis voltamétricos avaliados. Demonstrando assim, que o ASCA em conjunto com a voltametria, é uma ferramenta robusta para monitorar plantas de erva-mate quimicamente modificadas.

A análise multivariada supervisionada de discriminação empregou o modelo PLS-DA que alcançou excelentes resultados na discriminação entre amostras com alto teor de cafeína e descafeinadas. Todos os modelos alcançaram sensibilidade, especificidade e eficiência de 100%, sem registros de taxas de falso-positivo ou falso-negativo. Demonstrando assim, a construção de um excelente modelo de controle de qualidade através da impressão digital voltamétrica de plantas de erva-mate quimicamente modificadas.



Conclusões

Neste trabalho, a VC em conjunto com o EDDB foram empregados com sucesso no desenvolvimento de um método de impressão digital para o controle de qualidade de plantas de erva mate quimicamente modificadas submetidas a diferentes níveis de sombreamento. O método ASCA confirmou a diferença genética entre as plantas modificadas quimicamente. O modelo de discriminação PLS-DA resultou em 100% de sensibilidade, 100% de especificidade e 100% de taxa de eficiência, sendo que para as taxas de falso-positivo e de falso-negativo não foram observados valores. Por fim, além do método ser econômico, rápido e ambientalmente amigável, pode ser usado para a avaliação do controle de qualidade de plantas de erva-mate quimicamente modificadas.

Referências

DE ALMEIDA, Andressa Gomes; PAULI, Elis Daiane; TORMENA, Cláudia Domiciano; WENDLING, Ivar; Rakocevic, Miroslava; BRUNS, Roy Edward; MARCHEFAVE, Gustavo Galo; SCARMINIO Ieda Spacino. Portable NIR spectroscopy-chemometric identification of chemically differentiated yerba mate (*Ilex paraguariensis*) clones. **Food Analytical Methods**, v. 16, n. 3, p. 469-477, 2023.

DE FREITAS, Guilherme Barroso Langoni; ANDRIOLA, Alessandra; GAUER, Ana Gabriela; IENK, DELAROZA, Fernanda; RAKOCEVIC, Miroslava; MALTA, Galileu Bernardes; BRUNS, Roy Edward; SCARMINIO, Ieda Spacino. Spectroscopic and chromatographic fingerprint analysis of composition variations in *Coffea arabica* leaves subject to different light conditions and plant phenophases. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 1929-1938, 2014.

SILVA, Alexandra Rangel; SANTOS, João Rodrigo. Screening of antioxidant compounds in green coffee by low-pressure chromatography with amperometric detection. **Food Analytical Methods**, v. 14, n. 10, p. 2175-2185, 2021.

STREIT, Nivia Maria; HECKTHEUER, Luisa Helena Rychnecki; CANTO, Marta Weber; MALLMANN, Carlos Augusto; STRECK, Letícia; Parodi, Thaylise Vey; CANTERLE, Liana Pedrolo. Relation among taste-related compounds (phenolics and caffeine) and sensory profile of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Food chemistry**, v. 102, n. 3, p. 560-564, 2007.

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem ao CNPq (30576/2022-5), Fundação Araucária do Paraná e CAPES pelo suporte financeiro. GGM agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2020/11463-5).

