



## COMPARAÇÃO DOS RENDIMENTOS DA EXTRAÇÃO LIPÍDICA POR FLUIDO SUBCRÍTICO DA SEMENTE DE *Araucaria angustifolia* (BERTOL.) O. KUNTZE E AVALIAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

Claudia Marques da Silva<sup>1</sup>; Ana Beatriz Zanqui<sup>1</sup>; Aloísio Henrique Pereira de Souza<sup>2</sup>; Aline Kirie Gohara<sup>2</sup>; Lúcio Cardozo Filho<sup>3</sup>; Makoto Matsushita<sup>4</sup>

**RESUMO:** Neste trabalho foi investigada a extração do óleo de semente de *Araucaria angustifolia* usando o propano, em condições subcríticas, como solvente. As extrações foram realizadas a partir de um fatorial completo 2<sup>2</sup> com triplicata no ponto central. Os valores de pressão foram de 8, 12 e 16 MPa e temperaturas de 40, 60 e 80°C. Foram avaliados ainda, o perfil dos ácidos graxos através da técnica da cromatografia gasosa com detector de ionização em chama. Os resultados mostram que todas as condições aplicadas na extração subcrítica foram eficientes. A presença do ácido graxo Linoléico (18:2n-6) foi predominante, seguido do ácido graxo Palmítico (16:0) e Oléico (18:1n-9).

**PALAVRAS-CHAVE:** ácidos graxos; *Araucaria angustifolia*; fluido subcrítico; lipídio

### 1. INTRODUÇÃO

*Araucaria angustifolia*, conhecida também como Pinheiro-do-Paraná, Pinheiro-brasileiro e Araucária é uma gimnosperma nativa nos estados do sul do Brasil, estendendo-se em regiões de estados e países vizinhos. Suas sementes são consumidas cozidas, assadas ou em farinha como pratos típicos (ANSELMINI, 2005). Contém cerca de 1,26% de lipídio e 36% de amido (CORDENUNSI, 2004).

A extração com fluido supercrítico é uma alternativa viável na substituição de extrações por técnicas convencionais que empregam solventes orgânicos tóxicos, podendo gerar problemas ambientais e de saúde.

Fluido supercrítico é a definição de uma substância que se encontra em condições acima de sua temperatura e pressão críticas, apresentando características físico-químicas intermediárias entre os estados gasoso e líquido (CARRILHO et al., 2001). Quando apenas uma das condições críticas é atingida, o fluido é definido como subcrítico.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o emprego do propano na extração lipídica da semente de *Araucaria angustifolia* em diferentes condições de pressões e temperaturas

<sup>1</sup>Alunas de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Maringá, UEM Maringá – Paraná. claudia\_marquess@hotmail.com, biazanqui@gmail.com

<sup>2</sup>Alunos de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá UEM Maringá – Paraná. souzaahps@gmail.com, aline.gohara@gmail.com

<sup>3</sup>Co-orientador, Professor Doutor do Departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá UEM Maringá – Paraná. cardozo@deq.uem.br

<sup>4</sup>Orientador, Professor Doutor do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá UEM Maringá – Paraná. mmakoto@uem.br

afim de determinar boas condições para o rendimento. Além disso, identificar o perfil dos ácidos graxos e verificar se as condições empregadas na extração interferem no perfil dos ácidos graxos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *Araucaria angustifolia* foram compradas no mercado local de Maringá, Paraná. As sementes foram descascadas, separadas em casca e endosperma, sendo somente o endosperma considerado para análise. Os endospermas foram moídos em moinho, homogeneizados, liofilizados durante 24 horas e passados por peneiras de 4 mesh. Em seguida, foram armazenados em embalagens de polietileno à vácuo e estocados sob temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ , para análises posteriores.

Foi aplicado um planejamento experimental fatorial completo  $2^2$  (dois níveis e dois fatores) com triplicata no ponto central. As variáveis independentes foram: temperatura e pressão. As condições estabelecidas para temperatura foram: 40, 80 e  $60^{\circ}\text{C}$ , e pressão: 8, 12 e 16 MPa. Para cada experimento, o extrator foi preenchido com 25g de amostra. Esse sistema foi mantido em repouso durante 20 minutos para promover maior solubilização do extrato. Em seguida, abria-se a válvula micrométrica em vazão constante de  $2\text{ cm}^3/\text{min}$  e os extratos eram coletados em tubos de vidro previamente pesados. O processo de extração foi realizado até o rendimento da extração se tornar constante (80 min). A massa de lipídios extraída foi determinada em intervalos de tempo regulares por gravimetria e expressos em porcentagem de massa.

Os ácidos graxos foram convertidos em ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG) segundo por MAIA & RODRIGUEZ-AMAYA (1993) e posteriormente, separados em um cromatógrafo a gás CP-3380 (Varian, EUA), equipado com detector de ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida CP -7420 Select FAME (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de cianopropil). A temperatura inicial da coluna foi de  $165^{\circ}\text{C}$  durante 4 min., e aumentada para a  $185^{\circ}\text{C}$  a uma taxa de  $4^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ , sendo mantida por 5 min., depois até  $225^{\circ}\text{C}$  a  $10^{\circ}\text{C}/\text{min.}$  por 10 min. As temperaturas do injetor e detector foram mantidas em  $235^{\circ}$ . O fluxo dos gases foi de  $1,4\text{ mL min}^{-1}$  para o gás de arraste ( $\text{H}_2$ ),  $30\text{ mL min}^{-1}$  para o gás auxiliar ( $\text{N}_2$ ), 30 e  $300\text{ mL min}^{-1}$ , para o gás  $\text{H}_2$  e ar sintético da chama. O volume injetado foi de  $2,0\text{ }\mu\text{L}$  e o divisor de amostra 1:100. As áreas dos picos foram determinadas através do Software Varian Workstation Star, versão 5.0. A identificação dos EMAG foi realizada por comparação do tempo de retenção de padrões de ésteres metílicos da Sigma (EUA). A quantificação absoluta foi realizada segundo JOSEPH & ACKMAN (1992) utilizando tricosenoato de metila como padrão interno, os resultados foram expressos em mg/g lípideo.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey, através do software do Sistema SAS, versão 9.1

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A tabela 1, apresenta as condições de pressão e temperatura adotados na extração, os diferentes valores de densidade e respectivos rendimentos. A porcentagem do rendimento da extração foi calculado pela razão entre a massa de óleo extraída pela massa de amostra inicial. Resultado de rendimento para o ponto central está expresso como média da triplicata.

Os resultados demonstraram que a elevação da pressão em condição isotérmica, provoca a redução na densidade do solvente, o contrário acontece quando a temperatura é aumentada em condições isobárica. Todas as condições de pressão e temperatura

contribuíram para um rendimento de maneira eficaz do processo, os valores de rendimento foram próximos. Dentre estes, a condição de maior pressão e temperatura (16Mpa 80°C) apontou maior valor com 1,72%.

**Tabela 1:** Parâmetros de extração subcrítica utilizando propano

Temperatura (°C)	Pressão (MPa)	Rendimento (%)	Densidade (kg.m <sup>-3</sup> )*
60	12	1,50	473,83
80	16	1,72	459,07
80	8	1,60	424,26
40	16	1,54	509,10
40	8	1,52	590,44

\* Valores de densidade calculados conforme LINSTROM & MALLARD (2013)

Na tabela 2, são apresentados os ácidos graxos (AG) encontrados. Foram quantificados treze ácidos graxos. O somatório dos ácidos graxos poli-insaturados apresentou-se superior ao somatório dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados em todas as condições. O ácido linoleico foi majoritário, ácido graxo essencial e precursor do ácido araquidônico (AA- 20:4n-6), que quando ingerido de maneira equilibrada na dieta atribui benefícios à saúde. A composição em ácidos graxos revela ainda a concentração dos ácidos palmítico e oléico em proporções expressivas.

Analisando os valores obtidos pelas análises, verifica-se que não houve grande diferença significativa entre o perfil dos ácidos graxos.

**Tabela 2:** Composição dos ácidos graxos no óleo de *Araucaria angustifolia* nas diferentes condições de extração

Ácido graxo	12 MPa 60°C	16 MPa 80°C	8 MPa 80°C	16 MPa 40°C	8 MPa 40°C
14:0	2,22 <sup>a</sup> ±1,11	2,03 <sup>a</sup> ±0,19	2,13 <sup>a</sup> ±0,17	2,24 <sup>a</sup> ±0,02	2,33 <sup>a</sup> ±0,19
16:0	114,18 <sup>b</sup> ±1,00	123,69 <sup>a</sup> ±4,15	121,64 <sup>ab</sup> ±3,53	127,37 <sup>a</sup> ±2,85	120,36 <sup>ab</sup> ±2,77
16:1n-9	1,49 <sup>a</sup> ±0,10	1,26 <sup>a</sup> ±0,02	1,25 <sup>a</sup> ±0,07	1,36 <sup>a</sup> ±0,00	1,46 <sup>a</sup> ±0,20
16:1n-7	2,78 <sup>ab</sup> ±0,03	2,71 <sup>b</sup> ±0,11	2,72 <sup>ab</sup> ±0,14	2,79 <sup>ab</sup> ±0,03	2,98 <sup>a</sup> ±0,05
18:0	22,34 <sup>a</sup> ±0,40	21,97 <sup>a</sup> ±0,95	21,40 <sup>a</sup> ±0,28	22,21 <sup>a</sup> ±0,03	22,36 <sup>a</sup> ±0,48
18:1n-9	117,07 <sup>b</sup> ±0,99	128,39 <sup>ab</sup> ±5,27	125,37 <sup>ab</sup> ±2,80	133,32 <sup>a</sup> ±0,71	124,20 <sup>ab</sup> ±8,83
18:2n-6	517,89 <sup>a</sup> ±6,90	480,13 <sup>ab</sup> ±20,46	488,53 <sup>ab</sup> ±0,31	463,96 <sup>b</sup> ±4,17	489,58 <sup>ab</sup> ±35,56
18:3n-6	6,90 <sup>b</sup> ±0,23	6,94 <sup>ab</sup> ±0,26	7,33 <sup>ab</sup> ±0,23	7,77 <sup>a</sup> ±0,04	7,76 <sup>ab</sup> ±0,49
20:0	18,73 <sup>a</sup> ±0,92	22,81 <sup>a</sup> ±1,20	21,80 <sup>a</sup> ±0,93	23,03 <sup>a</sup> ±0,39	20,66 <sup>a</sup> ±3,18
18:3n-3	35,58 <sup>a</sup> ±0,22	36,13 <sup>a</sup> ±1,88	35,99 <sup>a</sup> ±0,04	37,56 <sup>a</sup> ±0,54	37,89 <sup>a</sup> ±2,82
20:1n-9	15,29 <sup>a</sup> ±0,64	17,96 <sup>a</sup> ±1,05	17,31 <sup>a</sup> ±0,87	17,89 <sup>a</sup> ±0,34	16,88 <sup>a</sup> ±2,48
22:0	55,64 <sup>a</sup> ±1,25	64,74 <sup>a</sup> ±3,51	63,80 <sup>a</sup> ±2,62	66,04 <sup>a</sup> ±0,60	62,86 <sup>a</sup> ±8,61
22:1n-9	10,71 <sup>a</sup> ±1,01	14,24 <sup>a</sup> ±1,11	14,56 <sup>a</sup> ±0,16	14,72 <sup>a</sup> ±0,78	12,26 <sup>a</sup> ±3,22
AGS	213,09 <sup>b</sup> ±3,41	235,23 <sup>a</sup> ±9,98	230,76 <sup>ab</sup> ±0,44	240,88 <sup>a</sup> ±1,87	228,57 <sup>ab</sup> ±13,89
AGMI	147,33 <sup>b</sup> ±2,59	164,55 <sup>ab</sup> ±7,51	161,20 <sup>ab</sup> ±1,99	170,07 <sup>a</sup> ±0,43	157,78 <sup>ab</sup> ±14,38
AGPI	560,37 <sup>a</sup> ±6,81	523,19 <sup>ab</sup> ±18,32	531,84 <sup>ab</sup> ±0,58	509,28 <sup>b</sup> ±3,57	535,23 <sup>ab</sup> ±32,24
AGPI/AGS	2,63 <sup>a</sup> ±0,07	2,23 <sup>ab</sup> ±0,17	2,30 <sup>ab</sup> ±0,00	2,11 <sup>b</sup> ±0,03	2,35 <sup>ab</sup> ±0,28
n-6/n-3	14,74 <sup>a</sup> ±0,25	13,51 <sup>a</sup> ±1,26	13,78 <sup>a</sup> ±0,00	12,56 <sup>a</sup> ±0,29	13,20 <sup>a</sup> ±1,90

Resultados da média de três replicatas±desvio padrão. Valores expressos em mg/g de lipídios totais.

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes entre si pelo teste de

Tukey, a nível de 5% de probabilidade. AGS: somatório dos ácidos graxos saturados, AGMI: somatório dos ácidos graxos monoinsaturados, AGPI: somatório dos ácidos graxos poli-insaturados, AGPI/AGS: razão entre somatório dos ácidos poli-insaturados por saturados e n-6/n-3: razão entre somatório dos ácidos da série n-6 e n-3.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados permitem considerar que a extração subcrítica com propano foi eficiente em todas as condições empregadas e independente da pressão e temperatura aplicada não houve mudança no perfil dos ácidos graxos. O óleo da *Araucaria angustifolia* apresentou elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados (oléico, linoléico,  $\alpha$ -linolênico).

#### 5. REFERÊNCIAS

ANSELMINI, J.I. Fenologia reprodutiva da *Araucaria angustifolia* (BERT.O. KTZE) na região de Curitiba – PR. Dissertação de mestrado em Agronomia - Departamento de Ciências Agrárias, UFPR, 2005.

CARRILHO, E.; TAVARES, M.C.; LANÇAS F.M. Fluidos Supercríticos Em Química Analítica. I. Cromatografia Com Fluido Supercrítico: Conceitos Termodinâmicos. **Quím. Nova**. vol.24, p. 509-515, 2001

CORDENUNSI, B.R.; MENEZES E.W.; GENOVESE M.I.; COLLI, C.; SOUZA, A.G.; LAJOLO F.M. Chemical composition and glycemic index of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p. 3412-3416, 2004.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas-chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl-esters. **Journal of AOAC Inter**. vol. 75, p. 488-506, 1992

LINSTROM, P. J.; MALLARD, W.G. **National Institute of Standards and Technology**, Gaithersburg MD, 20899, <http://webbook.nist.gov/chemistry/fluid>, (acessado em 24 de julho, 2013).

MAIA, E. L.; RODRIGUES-AMAYA, D. Avaliação de um método simples e econômico para metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, vol. 53, p.27-35, 1993.