



## VIII-Oktoberforum – PPGEQ

20, 21, 22 e 23 de outubro de 2009

### EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE *Butia capitata* UTILIZANDO DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO

Daniel Toss<sup>1</sup>, Talita Furlanetto Mendes<sup>1</sup>, Evandro Steffani<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Processos de Separação

<sup>2</sup> Laboratório de Óleos Essenciais e Extratos Vegetais, Universidade de Caxias do Sul  
Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)  
R. Eng. Luis Englert, s/n. Campus Central. CEP: 90040-040 - Porto Alegre - RS - BRASIL,  
E-MAIL: dtoss@enq.ufrgs.br, talita@enq.ufrgs.br

**Resumo:** Estudos recentes revelam que compostos fenólicos como rutina, quercetina e canferol, estão presentes nos frutos do butiá. Atualmente existem diferentes formas para a obtenção de compostos fenólicos de matrizes vegetais, porém muitas delas utilizam solventes orgânicos a altas temperaturas, o que deprecia o valor comercial dos extratos. Neste estudo é utilizada uma tecnologia limpa, que tem como solvente o dióxido de carbono em condições supercríticas. Uma característica importante deste processo é a possibilidade de utilizar baixas temperaturas na extração, comparativamente aos processos que utilizam solventes líquidos, tendo em vista que os compostos fenólicos são termolábeis. Os experimentos têm como objetivo a obtenção de compostos fenólicos dos frutos do butiá, através da extração com fluido supercrítico. Para tal finalidade, apenas a polpa será utilizada. O planejamento experimental foi elaborado avaliando a influência de três variáveis de processo: pressão, temperatura e teor de cossolvente (água). Cada variável será estudada em três níveis, totalizando 27 experimentos. Os níveis propostos para a variável pressão são 150, 200 e 250 bar, enquanto que para a variável temperatura os níveis são 40, 50 e 60°C. Para o teor de cossolvente serão utilizados os níveis 1, 3 e 5%. Os extratos serão analisados em cromatografia líquida de alta eficiência e os rendimentos expressos em termos de mg de compostos fenólicos por kg de polpa de butiá desidratada. Os extratos também serão avaliados quanto ao poder de redução do radical DPPH. Os resultados possibilitam determinar as condições que permitem maximizar os rendimentos em compostos fenólicos, dentro das faixas estudadas para as variáveis.

**Palavras-chave:** Butiá – Extração supercrítica – compostos fenólicos

#### 1 Introdução

*Butia capitata* (popularmente conhecido como butiá) é uma planta que ocorre no Brasil, Uruguai, Paraguai e Argentina (HENDERSON *et al.*, 1995). Seus frutos são comestíveis e bastante apreciados pelas populações locais, que os consomem ao natural ou na forma de licores e geléias (LORENZI *et al.*, 2004). Os compostos fenólicos estão presentes em concentrações elevadas na polpa do butiá (163-259 mg de catequina equivalente por 100g de polpa), sendo que as antocianinas se encontram, principalmente, nos frutos de coloração avermelhada (FARIA *et al.*, 2008).

Atualmente, inúmeras indústrias dos ramos farmacêutico e alimentar empregam solventes orgânicos em seus processos. Embora seja comum essa aplicação, devem ser levados em conta os efeitos provenientes dos solventes residuais, do ponto de vista da saúde humana e do risco ambiental (VEMAVARAPU *et al.*, 2005). Em um esforço para reduzir a utilização de solventes orgânicos, processos industriais alternativos vêm sendo desenvolvidos. Dentre eles, destaca-se a utilização do dióxido de carbono supercrítico como solvente, que é não-tóxico e não-inflamável, o que leva a uma opção mais

segura, quando comparado a outros solventes. Além das vantagens já citadas, o dióxido de carbono permite obter condições bastante favoráveis para a extração, como altas difusividades, massas específicas elevadas e possibilidade de utilizar temperaturas mais brandas para a extração (característica importante quando as substâncias de interesse são termolábeis).

As substâncias polares, tais como os compostos fenólicos, apresentam baixa solubilidade em dióxido de carbono supercrítico, assim, é comum a adição de pequenas quantidades de modificadores de polaridade, chamados de cossolventes (LANGENFELD *et al.*, 1994). Como cossolventes são empregados o metanol (LIN *et al.*, 1999; SCALIA *et al.*, 1999), etanol (CAVERO *et al.*, 2006, YU *et al.*, 2007, WANG *et al.*, 2007) ou água (CASAS *et al.*, 2007, IHEOZOR-EJIOFOR & DEY, 2009, KIM *et al.* 2008).

O objetivo deste trabalho é realizar extrações com CO<sub>2</sub> supercrítico, utilizando os frutos do butiá e buscar as condições, tais como pressão, temperatura e teor de cossolvente para o CO<sub>2</sub>, que permitam maximizar os rendimentos em compostos fenólicos.

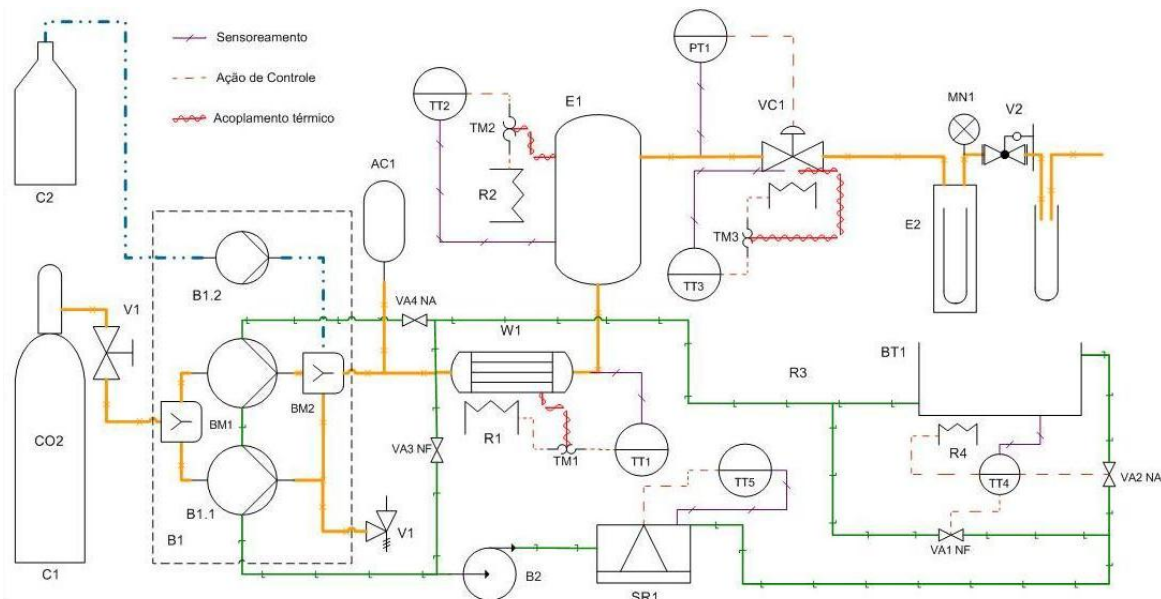


Figura 1. Fluxograma de processo do equipamento de extração supercrítica.

## 2 Materiais e Métodos

### 2.1 Coleta do material vegetal

O material vegetal, compreendido pelos frutos de butiá da variedade *Butia capitata*, foi coletado no município de Barra do Ribeiro (30°31' latitude Sul, 51°21' longitude Oeste), no dia 29 de março de 2009. A data de coleta corresponde ao final da frutificação das plantas de butiá, porém algumas plantas ainda apresentavam frutos imaturos e inflorescências. Foram selecionadas 13 plantas, sendo coletado um cacho, no estágio médio de maturação, de cada exemplar. Esses cachos foram armazenados em embalagens individuais e transportados para o Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul. Os frutos, então, foram separados da respectiva ráquis, lavados e mantidos sob refrigeração. Para os experimentos foi utilizada apenas a polpa, que foi separada manualmente. Para aumentar o período de armazenamento, a polpa do butiá foi desidratada num secador com circulação forçada de ar a uma temperatura monitorada de 32°C, pelo tempo de oito dias e, após isso acondicionada em embalagens de papel.

### 2.2 Equipamento de extração supercrítica

A Figura 1 mostra o fluxograma de processo do equipamento de extração supercrítica utilizado neste trabalho. O equipamento é constituído por um vaso de extração (E1) com capacidade de 1 L e aquecido por uma resistência elétrica. O CO<sub>2</sub> é fornecido, no estado líquido, por um cilindro (C1) e pressurizado através de uma bomba de diafragma de alta pressão (B1). A bomba apresenta duas cabeças reservadas para o CO<sub>2</sub>, resfriadas com fluido refrigerante (água e etilenoglicol), fornecido pelo sistema de refrigeração (SR1). Para experimentos que necessitam de um cossolvente a bomba disponibiliza uma terceira cabeça para esta função. A pressão no interior da célula de extração é mantida constante por uma válvula de controle (VC1), localizada imediatamente após o vaso. Ao passar pela válvula de controle o CO<sub>2</sub> volatiliza, ocorrendo a

separação dos extratos, que são coletados em frascos de vidro, mantidos em banho de resfriamento.

Esta unidade foi projetada e montada pela empresa TRENDTECH e foram necessários trabalhos prévios para o início das operações, tais como testes de estanqueidade, levantamento de curvas de vazão para a bomba e testes com o sistema de instrumentação e controle. Foi implementado um controlador tipo PID (Proporcional-Integral-Derivativo) para efetuar o controle da pressão no vaso de extração, o qual necessita de ajustes nos parâmetros do ganho proporcional ( $k_p$ ) e tempo integral ( $\tau_i$ ).

A taxa mássica de CO<sub>2</sub>, proporcionada pela bomba, depende, dentre outros fatores, do curso percorrido pelo pistão que aciona o diafragma (*stroke*), o qual pode ser ajustado entre os valores de 0 a 20 mm, para cada cabeça. Outro fator que influencia na taxa mássica de CO<sub>2</sub>, é a velocidade de rotação do motor, que depende dos dados emitidos pelo inversor de frequência (0 – 60 Hz), o qual é ajustado via software de gerenciamento. Ainda é observada uma redução na taxa mássica com a elevação na pressão da linha de recalque.

### 2.3 Experimentos

Os parâmetros avaliados neste estudo serão pressão e temperatura do CO<sub>2</sub>, bem como o teor de cossolvente (água) adicionado à extração. A taxa mássica utilizada será de 4 kg/h de CO<sub>2</sub>, observando a mesma relação entre o volume do extrator e a taxa de CO<sub>2</sub> reportada por PENG *et al.* (2006) que utilizaram um equipamento com 10 L de capacidade. Outra referência a respeito é o trabalho de KOTNIK *et al.* (2007) que utilizaram um extrator de 4 L e taxa de CO<sub>2</sub> de 13 kg/h, resultando numa relação entre a taxa e o volume do extrator de 3,25 kg/h para cada litro de capacidade da célula de extração. Para o cálculo do teor de cossolvente leva-se em conta a massa total de CO<sub>2</sub> utilizada. A Tabela 1 mostra os níveis de cada parâmetro. O planejamento experimental segue o modelo 3<sup>3</sup>, totalizando 27 experimentos.

**Tabela 1.** Níveis de cada parâmetro utilizado no planejamento dos experimentos.

Parâmetro	Níveis
Temperatura (°C)	40, 50 e 60
Pressão (bar)	150, 200 e 250
Teor de cossolvente (% em massa)	1, 3 e 5

#### 2.4 Métodos analíticos

As análises para a determinação dos compostos fenólicos serão realizadas em equipamento HPLC marca HP modelo 1100, coluna Lichrospher RP18 (5 µm) equipado com detector UV a 350 nm e sistema quaternário de bombas. A análise em fase reversa será constituída de: solvente A - metanol e solvente B - água/ácido acético (100/1 v/v). O sistema de bombeamento da fase móvel será gradiente, como mostra a Tabela 2. O tempo total de análise será de 60 min e o fluxo padrão será mantido a 1 mL/min de acordo com CRISTEA *et al.* (2003).

**Tabela 2.** Gradiente da fase móvel.

Tempo (min)	Início	25	40	50	55	60
MeOH (%)	5	40	60	90	90	5

#### 2.5 Determinação da atividade antioxidante

Para cada extrato obtido, serão preparadas soluções de 0,1, 1,0, 10,0, 50,0 e 100,0 % v/v. De acordo com YAMAGUCHI *et al.* (1998), 200 µM de cada solução será misturada em tampão Tris-HCl 100 mM (pH 7,4, 800 µL) e adicionada em 1 mL de DPPH• 500 µM. A mistura será agitada e ficará por 20 minutos ao abrigo da luz e em temperatura ambiente. A absorbância será medida a 517 nm. Os resultados serão expressos como IC50, ou seja, a concentração de extrato necessária para varrer 50% do radical livre DPPH•.

### 3 Resultados e Discussões

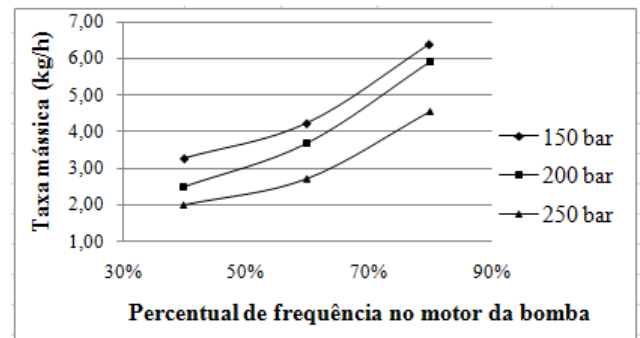
#### 3.1 Curva de vazão da bomba

Para o levantamento da curva de vazão da bomba foi fixado o valor para o *stroke* de 15 mm, para as duas cabeças que bombeiam o CO<sub>2</sub>. As variáveis foram a pressão no vaso de extração, nas faixas de realização dos experimentos (150, 200 e 250) e o percentual da frequência emitida pelo inversor (40, 60 e 80% - 24, 36 e 48 Hz, respectivamente). Os valores obtidos encontram-se na Tabela 3. As curvas da taxa mássica de CO<sub>2</sub> podem ser vistas na Figura 2.

**Tabela 3.** Taxa mássica de CO<sub>2</sub> em kg/h, para diferentes condições de operação.

Percentual de frequência	Pressão (bar)		
	150	200	250
40%	3,28	2,48	2,00
60%	4,24	3,68	2,72
80%	6,40	5,92	4,56

Os valores de taxa mássica de CO<sub>2</sub> estão dentro do valor proposto para este trabalho (4 kg/h), para os três níveis de pressão que serão utilizados.

**Figura 2.** Curvas da taxa mássica de CO<sub>2</sub>.

### 4 Conclusão

Após a realização dos experimentos será possível determinar as condições do processo de extração supercrítica (pressão, temperatura e teor de cossolvente), que irão maximizar os rendimentos em compostos fenólicos. Além disto, os extratos obtidos terão sua capacidade antioxidante avaliada.

### 5 Referências

- CASAS, L.; MANTELL, C.; RODRÍQUEZ, M.; TORRES, A.; MACÍAS, F. A.; OSSA, E. M. Effect of the addition of cosolvent on the supercritical fluid extraction of bioactive compounds from *Helianthus annuus* L. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 41, p. 43-49, 2007.
- CAVERO, S.; GARCÍA-RISCO, M. R.; MARÍN, F. R.; JAIME, L.; SANTOYO, S.; SEÑORÁS, F. J.; REGLERO, G.; ILBAÑEZ, E. Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano: Chemical and functional characterization via LC-MS and in vitro assays. *Journal Supercritical Fluids*, v. 38, p. 62-69, 2006.
- CRISTEA, D.; BAREAU, I.; VILAREM, G. Identification and quantitative HPLC analysis of the main flavonoids present in weld (*Reseda luteola* L.). *Dyes and Pigments*, v. 57, p. 267-272, 2003.
- FARIA, J. P.; ALMEIDA, F.; SILVA, L. C. R.; VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). *Rev. Bras. Frutic.*, v. 30, p. 827-829, 2008.
- HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. *Field guide to the palms of the Americas*. Princeton University Press, Princeton, 352p., 1995.
- IHEOZOR-EJIOFOR, P.; DEY, E. S.; Extraction of rosovin from *Rhodiola rosea* root using supercritical carbon dioxide with water. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 50, p. 29-32, 2009.
- KIM, W. J.; KIM, J. D.; KIM, J.; OH, S. G.; LEE, Y. W. Selective caffeine removal from green tea using supercritical carbon dioxide extraction. *Journal of Food Engineering*, v. 89, p. 303-309, 2008.
- KOTNIK, P.; ŠKERGET, M.; ŽELJKO, K. Supercritical

fluid extraction of chamomile flower heads: Comparison with conventional extraction, kinetics and scale-up. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 43, p. 192-198, 2007.

LANGENFELD, J. J.; HAWTHORNE S. B.; MILLER, D. J.; PAWLISZYN, J. Role of Modifiers for Analytical-Scale Supercritical Fluid Extraction of Environmental Samples. *Analytical Chemistry*, v. 66, p. 909-916, 1994.

LIN, M.; TSAI, M.; WEN, K. Supercritical fluid extraction of flavonoids from *Scutellariae Radix*. *Journal of Chromatography A*, v. 830, p. 387-395, 1999.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. *Palmeiras Brasileiras: exóticas e cultivadas*. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova Odessa, SP: 303p., 2004.

PENG, J.; FAN, G.; CHAI, Y.; WU, Y. Efficient new method for extraction and isolation of three flavonoids from *Patrinia villosa* Juss. by supercritical fluid extraction and high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, v.1102, p. 44-50, 2006.

SCALIA, S.; GIUFFREDA, L.; PALLADO, P. Analytical and preparative supercritical fluid extraction of Chamomile flowers and its comparison with conventional methods.

*Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 21, p. 549-558, 1999.

VEMAVARAPU, C.; MOLLAN, M. J.; LODAYA, M.; NEEDHAM, T. E. Design and process aspects of laboratory scale SCF particle formation systems. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 292, p. 1-16, 2005.

WANG, L.; PAN, B.; SHENG, J.; XU, J.; HU, Q. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*, v. 105, p. 36-41, 2007.

YAMAGUCHI, T.; TAKAMURA, H.; MATOBA, T.C.; TERÃO, J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* v. 62, p. 1201–1204, 1998.

YU, J.; DANDEKAR, D. V.; TOLEDO, R. T.; SINGH, R. K.; PATIL, B. S. Supercritical fluid extraction of limonoids and naringin from grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) seeds. *Food Chemistry*, v. 105, p. 1026-1031, 2007.