

UTILIZAÇÃO DO DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO NA CONCENTRAÇÃO DE TOCOFERÓIS DO DESTILADO DESODORIZADO DO ÓLEO DE SOJA¹

JÚLIO MARIA DE ANDRADE ARAUJO², ANA PAULA NOGUEIRA NICOLINO³ e CELSO BLATT⁴

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi examinar a possibilidade do uso do dióxido de carbono supercrítico na extração e concentração de tocoferóis a partir do destilado desodorizado do óleo de soja. Trata-se da combinação seqüencial de duas extrações: pré-extração à temperatura de 80°C e pressão de 76 bars para remoção de substâncias interferentes e extração dos tocoferóis a 50°C e 197 bars. O coletor utilizado foi o octadesil-silica, lavado com acetonitrila na pré-extração e hexano na extração, e a análise dos extratos obtidos foi feita por cromatografia de fase gasosa em coluna capilar. O resultado mostrou que o desodorizado do óleo de soja, contendo inicialmente 9,2% de tocoferóis totais, pôde ser concentrado para 40,6%. Sob as condições otimizadas, a extração pode ser realizada em 37 minutos.

Termos para indexação: extração supercrítica, cromatografia de fase gasosa.

UTILIZATION OF SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE FOR CONCENTRATION OF TOCOPHEROLS FROM SOYBEAN OIL DEODORIZER DISTILLATE

ABSTRACT - The aim of this work was to test the feasibility of the use of supercritical carbon dioxide for extraction and concentration of tocopherols from soybean sludge at temperatures of 80°C and pressures of 76 bars to remove interferers during pre-extraction, and 50°C at 197 bars to extract tocopherols. An octadecyl-silica trap, washed with acetonitrile after pre-extraction following by hexane after extraction was used. The analysis of extracts was checked by capillary gas chromatography. The results showed that soybean sludge initially containing about 9.2% of tocopherols could be enriched to about 40.6%. Under optimized conditions the extraction was performed in 37 minutes. The content of tocopherols in the extracts collected was checked by capillary gas chromatography.

Index terms: soybean sludge, supercritical extraction, gas chromatography.

INTRODUÇÃO

Os tocoferóis são compostos lipossolúveis que possuem atividade de vitamina E. A síntese do α -tocoferol foi descrita por Karrer et al. (1938). O produto sintético apresenta dois isômeros óticos, d e l-tocoferol, enquanto o produto natural possui somente a forma d. Os tocoferóis (α , β , γ e δ -) têm diversas atividades biológicas ainda não totalmente

esclarecidas como prevenção da impotência sexual e de antioxidante natural.

Uma das fontes de vitamina E, com grande potencial de utilização industrial, são os resíduos da indústria de óleo de soja. O destilado obtido da desodorização desse óleo é composto principalmente por material orgânico volátil, que consiste em uma mistura complexa de ácidos graxos, glicérides (mono-, di- e triglicérides), aldeídos insaturados, hidrocarbonetos, pigmentos, esteróis, tocoferóis e água, além de produtos oxidados não identificados. Segundo Woerfel (1981), os tocoferóis perfazem em torno de 9% a 15% do peso total do resíduo.

O método tradicional utilizado em escala comercial na concentração de tocoferóis, após a remoção de esteróis via recristalização em álcool, é a destilação molecular. A técnica consiste em passar a amos-

¹ Aceito para publicação em 14 de abril de 1999.

² Eng. Agrôn., Ph.D., Dep. de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV), CEP 36571-000 Viçosa, MG. E-mail: jaraujo@mail.ufv.br

³ Eng. Alimentos, M.Sc., UFV.

⁴ Quím., D.Sc., HP-Brasil, Av. Araunã nº 125, CEP 06460-010 Barueri, São Paulo.

tra através de um trocador de calor num sistema de alto vácuo. A destilação geralmente é efetuada à temperatura próxima de 200-210°C e pressão de 0,001 mm Hg por determinado período de tempo (Quaife & Harris, 1946; Hickman, 1947). Entretanto, esse processo requer grandes quantidades de solventes orgânicos, diversos estádios para recuperação destes, e elevado consumo de energia.

Um método alternativo que vem sendo avaliado (Saito et al., 1989; Lee et al., 1991; Nicolino, 1995) para a produção de concentrado de tocoferóis é a extração com fluido supercrítico (EFS), com vantagens em relação ao processo de separação convencional, como extração líquido-líquido, destilação e adsorção. A principal vantagem da EFS é a fácil separação do solvente e material extraído isento de resíduos orgânicos. Além disso, os fluidos supercríticos oferecem maior e mais rápida transferência de massa, do que os processos tradicionais de separação.

O objetivo deste trabalho foi examinar a possibilidade do uso do dióxido de carbono supercrítico sob várias condições de extração, na concentração de tocoferóis, a partir do destilado desodorizado do óleo de soja (DDOS).

MATERIAL E MÉTODOS

O DDOS contendo 9,2% de tocoferóis totais foi doado pela indústria de óleo Olivebra Industrial S.A., Eldorado do Sul, RS. Esse destilado foi acondicionado num recipiente de polietileno, protegido de luz e calor, prevenindo-se, assim, sua oxidação.

A solução-padrão para quantificação do α -tocoferol é formada por d,l- α -tocoferol Merck (1 mg) dissolvido em hexano (grau cromatográfico) (1 mL). Dessa solução prepararam-se diluições para concentrações de 250, 125, 62,5 e 31,25 μ g do padrão, as quais foram injetadas numa mesma quantidade (1,6 μ L) no cromatógrafo de fase gasosa.

A solução-padrão utilizada na otimização dos parâmetros da extração supercrítica dos tocoferóis foi: padrão Merck, contendo os quatro isômeros (α -, β -, γ - e δ -tocoferol), numa concentração de 1 mg/mL de hexano (grau cromatográfico): 50 μ L da solução foram adsorvidos em papel-filtro.

Foi utilizado o cromatógrafo Hewlett Packard, modelo 5890, série II, com detector de ionização de chama equipado com sistema de injeção *split-splitless* em coluna capilar de sílica fundida (fase estacionária Metil-Silicone, equi-

valente a SE-30, de 25 m de comprimento, 0,2 mm de diâmetro interno e espessura do filme de 0,33 μ m). As condições de análise segundo Slover et al. (1983) e Marks (1988) foram: temperatura do injetor: 250°C; temperatura da coluna: 200°C por 1 min e, então, programada na razão de 20°C/min até a temperatura máxima de 300°C, permanecendo isotérmica por 11 min; temperatura do detector: 300°C. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio, a uma vazão de 0,6 mL/min e velocidade de 33,7 cm/s; para a chama, usaram-se o hidrogênio e o ar sintético. Utilizou-se injeção do tipo *Split* com fluxo do septo da purga de 3,7 mL/min e pressão de 13,2 psi.

O equipamento básico utilizado neste trabalho foi o extrator de fluido supercrítico Hewlett Packard, modelo 7680A, equipado com restritor variável, permitindo o controle independente de fluxo e pressão. Os componentes extraídos são depositados no coletor empacotado com octadesil-sílica (ODS), localizado na saída do restritor, e lavados com solventes adequados (grau cromatográfico) para frascos de 2,0 mL.

A amostra (20 μ L de DDOS) foi adsorvida em papel-filtro e transferida para o cartucho de extração de 7,0 mL. O procedimento de extração consistiu inicialmente de uma extração estática, seguida pela extração dinâmica à temperatura e pressão apresentadas na Tabela 1. A quantificação dos tocoferóis foi realizada utilizando-se a cromatografia de fase gasosa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extração de produtos naturais por meio do dióxido de carbono supercrítico (CO₂-SC) requer otimização das condições de extração e a caracterização do produto obtido. Neste estudo, a eficiência na extração dos tocoferóis foi medida à temperatura de 40, 50 e 60°C e pressão variando de 110 a 318 bars (Tabela 1). A extração de tocoferóis do DDOS, após a definição das condições otimizadas (Tabela 2), procedeu-se de forma rápida, e o extrato resultante foi utilizado diretamente na análise por cromatografia de fase gasosa.

Dados iniciais do destilado bruto (Fig. 1) sugerem que a maioria das substâncias detectadas são ácidos graxos livres (Gonçalves et al., 1991; Lee et al., 1991), os quais são mais solúveis que os monoglicerídeos, tocoferóis e diglicerídeos no CO₂-SC, o que foi confirmado retirando-se uma alíquota e promovendo a metilação, sendo aquela

analisada por cromatografia gasosa (CG). Portanto, a concentração de tocoferóis utilizando o CO₂-SC sem nenhuma preparação inicial da amostra requer uma pré-extração em condições tais que promova a remoção de interferentes com propriedades de solubilidade similares às dos tocoferóis. Assim, avaliou-se a possibilidade de uma pré-extração, visando à remoção de impurezas da amostra, o que permitiria maior concentração de tocoferóis na fase de extração.

Entre todas as temperaturas e densidades testadas na fase de pré-extração, a combinação que promoveu a maior remoção de interferentes foi 80°C e 0,15 g/mL (76 bars) durante oito minutos, com fluxo de 3 mL/min.; e, dos solventes testados na lavagem do coletor mantido a 20°C, a acetone nitrila permitiu a eliminação de mais compostos, sem a remoção dos tocoferóis (Fig. 1).

Mudanças na temperatura e pressão foram utilizadas para controlar a densidade do fluido

TABELA 1. Condições testadas na otimização dos parâmetros para extração de tocoferóis.

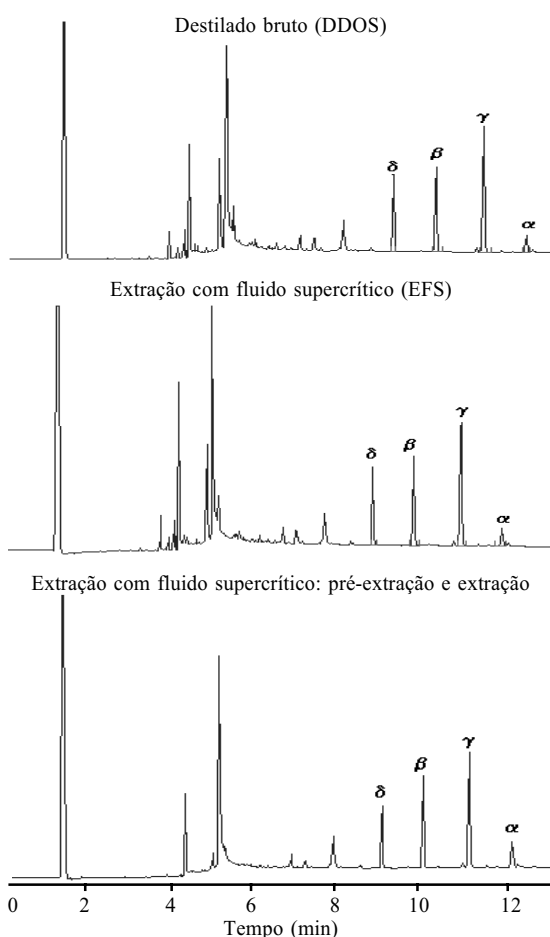
Pré-extração ¹		
Fluxo do CO ₂ -SC (mL/min)	Tempo de extração (min)	
	Estática	Dinâmica
0,5	0	5
1,0	5	8
3,0		
Temperatura (°C)	Pressão (bars)	Densidade (g/mL)
40	77	0,25
50	85	0,25
60	82	0,20
70	88	0,20
80	93	0,20
80	76	0,15
Extração ²		
Fluxo do CO ₂ -SC (mL/min)	Tempo de extração (min)	
	Estática	Dinâmica
2	5	15
3	10	20
4		25
		30
Temperatura (°C)	Pressão (bars)	Densidade (g/mL)
40	200	0,84
40	250	0,88
40	318	0,92
50	110	0,50
50	170	0,74
50	197	0,78
50	234	0,82
50	284	0,86
60	149	0,60
60	169	0,66
60	187	0,70
60	244	0,78
60	287	0,82

¹ Solventes para reconstituição da amostra: hexano, clorofórmio, acetona, acetone nitrila e metanol.

² Solvente para reconstituição da amostra: hexano.

TABELA 2. Condições otimizadas de extração supercrítica estabelecidas para tocoferóis.

Condições de extração	Pré-extração	Extração
Temperatura da câmara de extração	80°C	50°C
Pressão	76 bars	197 bars
Densidade	0,15 g/mL	0,78 g/mL
Fluxo do CO ₂ -SC	3,0 mL/min	3,0 mL/min
Tempo de extração (dinâmica)	8 min	25 min
Temperatura do restritor	55°C	55°C
Temperatura do coletor	20°C	20°C
Condições de reconstituição		
Solvente de lavagem do coletor	Acetonitrila	Hexano
Volume do solvente	1,8 mL	1,8 mL
Fluxo do solvente	2,0 mL/min	2,0 mL/min
Temperatura do coletor	20°C	60°C

**FIG. 1. Cromatogramas para a avaliação da extração supercrítica na obtenção do concentrado de tocoferóis a partir do destilado desodorizado do óleo de soja (DDOS).**

supercrítico, o que possibilitou o controle da capacidade de solvatação do solvente para o composto de interesse, permitindo a otimização da extração e, ou, a seletividade de uma classe de composto presente na amostra (Li et al., 1994). A variação da pressão comportou-se da mesma forma em todas as temperaturas. Sob condições isotérmicas, a densidade e a capacidade de solvatação do CO₂-SC aumentaram com a elevação da pressão, até atingir seu valor máximo. A variável densidade apresentou-se significante apenas quanto à temperatura de 50°C, obtendo o ótimo a 0,78 g/mL (197 bars). Em razão do alto coeficiente de difusão do fluido supercrítico, o tempo de extração, dependendo da complexidade da amostra e da solubilidade relativa dos respectivos compostos de interesse (Levy et al., 1989), varia de 2 a 45 minutos. Inicialmente, utilizou-se a extração estática de 0, 5 e 10 minutos, seguida por 20 minutos de extração dinâmica à temperatura de 50°C e pressão de 197 bars (0,78 g/mL). A extração estática trata-se de uma diluição em que a amostra permanece por determinado tempo embebida no fluido supercrítico. Geralmente, é utilizada quando não se consegue uma separação rápida e completa do composto de interesse. Esta variável não apresentou significância quanto à extração dos tocoferóis.

Durante a extração dinâmica, dois processos ocorrem simultaneamente: transporte do componente extraído, e coleta desse composto após a expansão do CO₂. Os tempos de extração dinâmica avaliados foram 15, 20, 25 e 30 minutos. Melhor rendimento de extração foi obtido no tempo de 25 minutos.

Antes da primeira extração, o extrator supercrítico foi checado para assegurar que os tocoferóis foram quantitativamente extraídos e retidos no coletor. Isso foi realizado extraíndo-se 50 µL da solução-padrão de tocoferóis adsorvidos em papel-filtro. O extrato foi lavado do coletor com 1,8 mL de hexano, e analisado por cromatografia de fase gasosa. A mesma solução-padrão adicionada de 1,8 mL de hexano foi injetada no cromatógrafo de fase gasosa. Através da comparação das áreas dos picos foi possível observar uma recuperação de 100% dos tocoferóis pelo método de extração otimizado.

CONCLUSÕES

1. É possível utilizar o dióxido de carbono supercrítico na extração de tocoferóis.

2. A combinação de duas extrações, em que variam densidade, temperatura e tempo de extração, eleva a concentração de tocoferóis totais do destilado desodorizado do óleo de soja; a pré-extração, em baixa pressão, ocasiona a remoção de interferentes.

REFERÊNCIAS

- GONÇALVES, M.; VASCONCELOS, A.M.P.; GOMES, A. Application of supercritical fluid extraction to the deacidification of olives oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.68, p.474-480, 1991.
- HICKMAN, K.C.D. Commercial molecular distillation. **Industrial and Engineering Chemistry**, Washington, DC, v.39, p.686-694, 1947.
- KARRER, P.V.; FRITZSHE, B.H.; RINGIER, B.H. α -tocopherol. **Helvetica Chemical Acta**, Washington, DC, v.21, p.520-521, 1938.
- LEE, H.; CHUNG, B.H.; PARK, Y.H. Concentration of tocopherols from soybean sludge by supercritical carbon dioxide. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.68, p.571-573, 1991.
- LEVY, J.M.; CAVALIER, R.A.; BOSCH, T.N.; RYNASKI, A.F.; HUHAK, W.E. Multidimensional supercritical fluid chromatography and supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatographic Science**, Niles, IL, v.27, p.341-346, 1989.
- LI, K.; ONG, C.P.; LI, S.F.Y. Systematic multivariate optimization of supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatographic Science**, Niles, IL, v.32, p.53-56, 1994.
- MARKS, C. Determination of free tocopherols in deodorizer distillate by capillary gas chromatography. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.65, p.1936-1939, 1988.
- NICOLINO, A.P.N. **Utilização do CO₂ supercrítico para concentração de tocoferóis do destilado desodorizado do óleo de soja**. Viçosa, MG : UFV, Impr. Univ., 1995. 64p. Tese de Mestrado.
- QUAIFE, M.L.; HARRIS, P.L. Molecular distillation as a step in the chemical determination of total and gamma tocopherols. **Industrial and Engineering Chemistry**, Washington, DC, v.18, p.707-709, 1946.
- SAITO, M.; YAMAUCHI, Y.; INOMATA, K.; KOTTKAM, P.W. Enrichment of tocopherols in wheat germ by directly coupled supercritical fluid extraction with semipreparative supercritical fluid chromatography. **Journal of Chromatographic Science**, Niles, IL, v.27, p.79-85, 1989.
- SLOVER, H.T.; THOMPSON, R.H.; MEROLA, G.V. Determination of tocopherols and sterols by capillary gas chromatography. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.60, p.1524-1528, 1983.
- WOERFEL, J.B. Processing and utilization of by-products from soy oil processing. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.58, p.188-191, 1981.