

Extração de ácidos graxos em milho crioulo variedade Tupi e alga parda *Durvillaea antarctica* utilizando líquidos iônicos

LETÍCIA BRAATZ FERREIRA¹; LUCAS MORAES BERNEIRA²; MARINA RITTER²; KATHLEEN TAVARES WINKEL²; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA³; MARCO AURELIO ZIEMANN DOS SANTOS³

¹Universidade Federal de Pelotas – leticia.b1995@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – lucas.berneira@hotmail.com, mritter.quimica@gmail.com, kathwinkel@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com, marcziemann@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A aplicação de óleos e gorduras nas mais diversas áreas como indústria, biocombustíveis, aditivos farmacológicos e de alimentos nutracêuticos têm levado cada vez mais pesquisadores a buscar novas alternativas ecologicamente viáveis para o processamento e transformação desta matéria prima em novos produtos de importância comercial (GARCIA, 2006; TRANCOSO, 2013).

Os lipídios estão entre os compostos mais representativo em óleos e gorduras, sendo formado principalmente por triacilgliceróis (VIANNI; BRAZ-FILHO, 1996). Os ácidos graxos são principais componentes desta classe e os mais estudados devido sua importância para a saúde humana (MERCER; ARMENTA, 2011).

Algumas matrizes vegetais são características para a produção de óleos, por apresentarem grandes porcentagens de lipídeos, entre elas, estão o amendoim (42%), colza (44%), girassol (43%), soja (18%), microalgas (11 a 24 %). Outras fontes de lipídeos como o milho e as macroalgas, apresentam baixa concentração de óleo e lipídeos, porém apresentam uma alta incidência de ácidos graxos poli-insaturados de importância nas áreas farmacêutica, cosmética e de alimentos (MERCER; ARMENTA, 2011).

As pesquisas com líquidos iônicos (LIs) nos processos extrativos de compostos de interesse biológico têm aumentado, visto que estão de acordo com os princípios da química verde, que visam principalmente a redução de reagentes e solventes que possam causar impacto ambiental (MERCER; ARMENTA, 2011) e por apresentarem características importantes e diferenciadas dos outros solventes, tais como ponto de fusão, densidade, viscosidade, solvatação, solubilidade, acidez e basicidade (GARCIA, 2006; TRANCOSO, 2013; HALIM et al., 2011; LEE et al., 2010).

Assim, tendo em vista a grande viabilidade do uso de compostos bioativos como os ácidos graxos contidos em grãos como os milhos e nas macroalgas, o objetivo do trabalho foi a utilização de líquidos iônicos no processo extrativo de ácidos graxos em milho crioulo variedade Tupi e na alga parda *Durvillaea antarctica*.

2. METODOLOGIA

Neste trabalho foram utilizados dois tipos de matrizes vegetais, o milho crioulo da variedade Tupi e a macroalga *Durvillaea antarctica*. As extrações foram realizadas utilizando os seguintes LIs: 1-*n*-Butyl-3-methylimidazolium bis

(trifluoromethanesulfonyl)imide [BMIm][NTf₂] ; 1-*n*-Octyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethanesulfonyl)imide [OMIm][NTf₂]; 1-*n*-Butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate [BMIm][BF₄]; 1-*n*-Octyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate [OMIm][BF₄].

O milho variedade Tupi foi fornecido pela Empresa Brasileira de Agropecuária Clima Temperado (EMBRAPA – Cascata, Pelotas) e a macroalga *Durvillaea antarctica* coletada em março de 2017 na região de Punta Arenas (Chile) na localidade designada Seno Otway. As algas foram lavadas com água destilada e posteriormente congelada a -20 ° C. Após, foram secas a 35 ° C durante 30 h e moídas em moinho de facas. Os milhos em espiga foram debulhados, moídos, sendo conservados em dessecador.

A extração dos lípidos seguiu o método descrito por Bligh e Dyer (1959) modificado, onde foi feita a extração a frio empregando uma mistura de metanol, clorofórmio e solução de sulfato de sódio 1,5 % (1: 2: 0,8), juntamente com 0,5 mL de líquido iônico para promover o processo extrativo dos lipídios. Posteriormente, os lipídios extraídos, em uma quantidade média de 200 a 250 mg, foram derivatizados seguindo o procedimento descrito por Hartmann e Lago (1973). Inicialmente, foram adicionados 5 mL de hidróxido de sódio 0,5 mol.L⁻¹ em metanol e a amostra. A mistura foi deixada sob refluxo e agitação por 5 min. Em seguida, foram adicionados 15 mL do reagente de Hartmann (2 g de cloreto de amônio, 60 mL de metanol e 3 mL de ácido sulfúrico concentrado), mantendo o refluxo e agitação por mais 3 min. O conteúdo da reação foi lavado com 50 mL de água deionizada e 25 mL de éter de petróleo, sendo posteriormente seco em rotaevaporador.

A análise cromatográfica foi realizada utilizando o F.A.M.E. (ésteres metílicos de ácidos graxos) C₄C₂₄ (Supelco) e nonadecanoato (19:0) como padrão interno. A identificação dos compostos foi feita através da comparação do tempo de retenção com padrão, utilizando um Cromatógrafo de Gasoso com Detector de Ionização de Chama (GC / FID 2010 Shimadzu) e uma coluna capilar Elite-Wax.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Milho crioulo variedade Tupi

O milho crioulo variedade Tupi apresentou entre 11 e 13 ácidos graxos diferentes extraídos (Tabela 1). A maior representatividade entre os ácidos foi o palmítico (16:0), oléico (18:1*n*-9c) e linoléico (18:2*n*-6c). Na comparação dos resultados entre o método convencional e utilizando os LIs, podemos observar que a extração que houve o acréscimo de LI apresentou um percentual extrativo melhor na maioria dos ácidos. As exceções foram o ácido esteárico (18:0) utilizando o [BMIm][BF₄] e os ácidos oléico (18:1*n*-9c) e linoléico (18:2*n*-6c) para todos os LIs.

Macroalga *Durvillaea Antarctica*

Macroalga *Durvillaea antarctica* apresentou 10 AGs em todas as extrações. A maior representatividade qualitativamente foram os AGs 16:0, 18:1*n*-9c e os ácidos graxos poliinsaturados linoléico (18:2*n*-6c), α -linoleico (18:3*n*-3), eicosanóico (20:2), araquidônico (20:4*n*-6) e eicosapentaenóico (20:5*n*-3). Avaliando cada método podemos ver que o convencional extraiu apenas 4 AGs com concentrações maiores que os LIs (Tabela 2). Analisando os LIs com ânion BF₄ nota-se que o [OMI][BF₄] extraiu maiores concentrações de AGs, tais como, 16:0, 18:0 e 18:1*n*-9c e o [BMI][BF₄] extraiu maior concentração de ácido graxo 14:0, 20:4*n*-6 e 20:5*n*-3.

Nos LIs contendo o ânion [NTF2] observa-se que [OMI][NTF2] extraiu maior concentração de diferentes AGs que o método convencional, onde citamos 14:0, 16:1, 18:1*n*-9c e 20:4*n*-6, enquanto que [BMI][NTF2] extraiu 18:0 e 20:2 em maiores concentrações.

Tabela 1- Porcentagem (%) de ácidos graxos em área do milho variedade Tupi (EMBRAPA- Cascata, Pelotas)

AGs	Conv.	[BMI][BF4]	[OMI][BF4]	[BMI][NTf2]	[OMI][NTf2]
14:00	<0,1	0,6	0,3	**	**
16:00	12,3	12,6	13,0	13,2	13,6
16:01	0,2	1,0	0,6	0,0	1,2
17:00	0,1	0,2	0,3	0,6	0,1
18:00	1,8	1,5	2,0	2,3	2,1
18:1 <i>n</i> 9c	30,5	29,0	28,4	27,7	28,4
18:2 <i>n</i> 6c	52,3	48,8	49,8	46,1	48,0
20:00	0,6	0,6	0,6	1,3	0,7
20:01	0,4	1,2	1,0	1,6	1,3
18:3 <i>n</i> 3	1,2	2,6	2,2	2,9	2,4
21:00	0,0	0,7	0,5	1,2	0,7
22:00	0,3	0,5	0,6	1,6	0,4
24.0	0,3	0,8	0,7	1,5	1,0

** - não detectado; AGs – ácidos graxos; Conv – método convencional

Tabela 2 - Porcentagem (%) de ácidos graxos em área da macroalga *Durvillaea antarctica*

AGs	Conv.	[BMI][BF4]	[OMI][BF4]	[BMI][NTf2]	[OMI][NTf2]
14:0	2,5	7,4	6,9	4,7	4,8
16:0	14,6	11,6	17,5	12,1	13
16:1	2,7	1,5	1,8	1,3	4
18:0	1,2	2,3	2,5	8,8	0,9
18:1 <i>n</i> 9c	9,2	9,8	9,9	11	12,2
18:2 <i>n</i> 6c	6,5	5,4	6,4	4,4	5,2
18:3 <i>n</i> 3	5,4	1,7	3,8	3,8	4,4
20:2	3,3	3	2,4	4,8	4,3
20:4 <i>n</i> 6	38,6	40,8	37,5	36,3	40
20:5 <i>n</i> 3	15,9	16,4	11,3	12,7	11,1

AGs – ácidos graxos; Conv – método convencional

Os resultados quando analisados em relação a massa percentual de cada ácido graxo extraído mostraram que as extrações com LIs foram eficientes, porém não facilitou a extração de diferentes ácidos graxos quando comparados ao método convencional. Quando comparamos as extrações do milho com a alga vimos que os tipos de matrizes influenciaram nas extrações, onde pode ser visto que as extrações com milho apresentaram melhores resultados com os LIs quando comparados a macroalga *Durvillaea antarctica*. Este fato pode estar relacionado a grande quantidade de alginatos que as algas pardas apresentam (QUITRAL et al., 2012).

Comparando os resultados obtidos, em ambas matrizes, com o que há descrito na literatura, podemos ver que nas concentrações obtidas nas extrações da macroalga *Durvillaea antarctica*, no qual que foi obtido maiores concentrações de ácidos graxos poliinsaturados, corrobora como descrito por PATARRA (2008) e os descritos, para milho, por CARVALHO e NAKAGAWA (2012), os quais

observaram concentrações elevadas de oléico (18:1n-9c) e linoléico (18:2n-6c). Quando comparamos os cátions [BMIm] e [OMIm] tanto na associação com ânion [BF4] como o [NTf2] vemos uma diferença no processo extrativo, isto é, o cátion [BMIm] apresentou resultados melhores na extração de AGs em milho tanto na associação com [BF4], bem como [NTf2]. Na extração da macroalga *Durvillaea antarctica* podemos ver que [OMIm] associado a [BF4] como a [NTf2] apresentou os melhores resultados.

4. CONCLUSÕES

Ao analisarmos os resultados do trabalho podemos concluir que o uso de LIs no processo extrativo de AGs, tanto no milho Tupi, como na macroalga *Durvillaea antarctica* se mostraram eficientes para os ácidos graxos saturados, mono e poli-insaturados. O aumento percentual de AGs extraídos a mais pela associação dos LIs em relação ao método convencional nos mostra que a associação de vários LIs, bem como uma maior concentração destes, irá facilitar e melhorar a eficiência do processo extrativo. A utilização destes LIs em substituição aos solventes convencionais se mostra importante, pois estes são menos tóxicos e potencialmente reutilizáveis. Como perspectivas para continuação do trabalho, pretende-se realizar outros experimentos utilizando LIs como solvente extrativo, a fim de melhorar os resultados obtidos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. **A rapid method for total lipid extraction and purification.** Canadian Journal of biochemistry and Physiology, v.37, p.911-917, 1959.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 5ed. Jaboticabal: Funesp, 590p. 2012.
- GARCIA, C. M. **Transesterificação de óleos vegetais.** 2006. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica)- Instituto de Química, Universidade Federal de Campinas, Campinas, São Paulo.
- HALIM, R. GLADMAN, B.; DANQUAH, M. K.; WEBLWY, P. A. Oil extraction from microalgae for biodiesel production. **Bioresource Technology**, n. 102, p. 178-185, 2011.
- HARTMANN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Laboratory Practice. v. 22, p. 474, 1973.
- LEE, J.; YOO, C.; JUN, S.; AHN, C.; OH, H. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. **Bioresource Technology**, n. 101, p. 575-577, 2010.
- MERCER, P.; ARMENTA, R. E.; Developments in oil extraction from microalgae. **European Journal of Lipid Science and Technology**, n. 113, p. 539-547, 2011.
- PATARRA, A. R. F. **Pesquisa de Ácidos gordos em macroalgas marinhas do litoral de Açores.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências do mar- Recursos Marinhos, especialidade em Biologia Marinha)- Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar. Universidade do Porto.
- QUITRAL V., MORALES C., SEPÚLVEDA M., SCHWARTZ M. Nutritional and health properties of seaweeds and its potential as a functional ingrediente. **Revista Chil. Nutr.**, 39:4, 2012.
- TRANCOSO, M. D. Projeto óleos essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. n. 9, p. 89-96, 2013.