

EFEITO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO NA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS ÓLEOS DE SEMENTE DE ROMÃ.**SILVA, N.K.¹; RIBEIRO, L.O.¹; NOGUEIRA, R.I.²; FREITAS, S.P.³**

¹Alunos do Programa de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos – EQ/UFRJ. [Email:leilson@eq.ufrj.br](mailto:leilson@eq.ufrj.br), ninakatia@ufrj.br

²Pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Planta Piloto. [Email:nogueira@ctaa.embrapa.br](mailto:nogueira@ctaa.embrapa.br)

³Docente da EQ/UFRJ, Departamento de Engenharia Química. [Email:freitasp@eq.ufrj.br](mailto:freitasp@eq.ufrj.br)

Resumo: O Brasil dispõe de uma grande variedade de resíduos agrícolas e agroindustriais cujo processamento poderá ser de interesse ambiental, econômico e social. O resíduo gerado no processamento de frutas tem uso restrito como adubo ou como complemento protéico para ração. As sementes de romã possuem, em média, 20% de óleo vegetal e contém ácidos graxos essenciais e antioxidantes, com propriedades comprovadas na prevenção de infecções. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do método de extração da semente de romã na capacidade antioxidante do extrato obtido. Para este fim, as sementes foram separadas do bagaço por peneiramento úmido e secas em estufa a 50°C e 60°C. A seguir, o óleo foi extraído por prensagem a frio e por extração sólido-líquido, usando etanol como solvente. Na matéria prima, avaliou-se a umidade e o teor de óleo e no produto o índice de acidez (IA) e a capacidade antioxidante (CA). Os óleos de semente de romã obtidos por prensagem, com etanol anidro e etanol hidratado (90 °GL) apresentaram valores de EC₅₀ (expressos em µg.mL⁻¹) iguais a 38,0, 16,5 e 9,17 respectivamente. O índice EC₅₀ indica a massa de óleo necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH. O óleo com maior CA foi obtido usando-se etanol hidratado como solvente. Portanto, a extração com etanol favoreceu a remoção de compostos antioxidantes na fração lipídica, se comparado com a prensagem a frio. Entretanto, a prensagem a frio consome menos energia, causa menores impactos ao meio ambiente e foi o método mais efetivo na preservação dos triglicerídeos.

Palavras chaves: Óleos vegetais, capacidade antioxidante, extração com etanol, prensagem a frio.

1. INTRODUÇÃO

A busca por fontes alternativas para suprir a demanda por óleos vegetais tem revelado que a fração lipídica obtida a partir de co-produtos da agroindústria (em particular das sementes de frutas) contém um teor importante de ácidos graxos poliinsaturados. Estes ácidos graxos são recomendados para suplementação da dieta, pois reduzem a incidência de doenças inflamatórias de alto risco para a saúde humana.

Com relação à produção nacional de romã (*Punica granatum Linn*), a tendência aponta para o crescimento desta cultura no país. Segundo a Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo, foram comercializadas em média 50 toneladas por ano da fruta de 2001 a 2004 (JARDINI e MANCINI FILHO, 2007), porém no ano de 2011 registrou-se um aumento para 380 toneladas anuais, comercializadas no mesmo local (KRATZ, 2011). Esta cultura despertou interesse dos produtores do semiárido brasileiro. A região já possui um plantio comercial de uma variedade importada da Turquia.

Com o crescente interesse da população por alimentos saudáveis e funcionais, o óleo de semente de romã já é utilizado mundialmente como ingrediente bioativo, por se tratar de um óleo com propriedades anti-inflamatória e até mesmo antitumoral (WERKMAN e GRANATO, 2008).

A extração do óleo de sementes é feita industrialmente por prensagem seguida de uma etapa de extração com solventes orgânicos, particularmente hexano. Devido à toxicidade desse solvente, o processo é potencialmente perigoso para os trabalhadores e para o meio ambiente. Por ser um solvente renovável, menos agressivo à saúde e ambientalmente mais amigável, o etanol tem sido avaliado para extração de óleos vegetais (FREITAS et al., 2007). Além disso, a grande produção de etanol a partir de cana-de-açúcar no Brasil coloca o país em um lugar de destaque na busca mundial por combustíveis renováveis.

No cenário acima exposto, constata-se que os resíduos gerados no processamento da romã já contribuem para a elaboração de produtos fitoterápicos destinados ao consumo humano. Além de promover uma redução nos impactos causados ao meio ambiente devido ao descarte inadequado do resíduo, esta atividade tem potencial para a geração de novos empregos e renda nas regiões produtoras. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do método de extração na CA do óleo extraído a partir das sementes de romã geradas como resíduo na industrialização deste fruto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Matéria-prima

A semente de romã foi obtida a partir dos frutos da variedade *wonderful* originários da Fazenda Boa Fruta, Petrolina-PE e foram separadas do suco em despoldadeira (Bonina). O bagaço, fração do despoldamento, é composto de sementes e resíduos da polpa. Este foi armazenado em câmara fria (-20°C) para posterior processamento.

2.2. Preparo da amostra

O bagaço da romã foi lavado por peneiramento úmido para remoção da polpa residual, açúcares e outras substâncias aderidas às sementes. As sementes limpas, destinadas à extração, foram secas em secador convectivo a 50 e 60°C até atingir a umidade de equilíbrio. Parte do bagaço foi utilizada sem pré-tratamento.

2.3. Extração do óleo

Prensagem: Para a extração do óleo, utilizou-se uma prensa semi-piloto do tipo parafuso sem fim, (marca Oekotec -Alemanha, modelo CA59G). As sementes secas foram pesadas e em seguida prensadas a frio. O óleo foi coletado em recipiente de massa conhecida e, por gravimetria, calculou-se a massa obtida de óleo bruto. O óleo bruto foi decantado por 24 horas para remoção da borra e a fração clarificada foi pesada, armazenada a frio (-20°C) e posteriormente utilizada nos ensaios analíticos. O mesmo procedimento foi conduzido com o bagaço *in natura*, para efeito de comparação.

Extração com etanol: As sementes de romã destinadas à extração com solvente foram desidratadas em estufa convectiva a 60°C até que variações na massa do material não fossem significativas. As amostras foram moídas em moinho de facas (MA048 da marca Marconi) para se obter partículas com diâmetro médio inferior a 1,0 mm. Esta condição foi recomendada por Silva (2009) para aumentar a eficiência de extração dos lipídeos. As sementes moídas foram peneiradas em conjunto de peneiras vibratórias por 15 minutos. As frações contendo partículas com diâmetro médio de 0,4 mm foram selecionadas para a etapa de extração do óleo. O processo foi avaliado usando-se etanol anidro e etanol hidratado (90 °GL) como solvente extrator, mantendo-se constante a temperatura e a razão solvente/substrato, respectivamente 70°C e 4:1 (m/m), previamente selecionados por meio de um planejamento fatorial completo de dois níveis e três fatores com triplicata no ponto central, conforme dados reportados por Silva et al. (2012).

2.4. Análises físico-químicas

A umidade foi determinada pelo método de secagem direta em estufa a 105°C, segundo normas recomendadas pela AOAC (2000); o teor de óleo das sementes foi determinado em extrator de gordura, utilizando-se éter de petróleo como solvente, conforme normas padrões da AOCS (2004); o IA, expresso em equivalente de ácido oleico, foi quantificado de acordo com o método oficial, Cd 8-53, da AOCS (2004) modificado para minimizar a quantidade de

amostra utilizada na análise e a CA foi determinada segundo metodologia proposta por Rufino (2007) para análise em frutas utilizando-se o radical livre DPPH. Neste trabalho, o método de Rufino foi modificado, substituindo-se o solvente metanol por isopropanol, para melhor solubilização dos compostos apolares. A partir dos resultados de absorvância em diferentes concentrações, ajustou-se uma curva padrão para o cálculo da CA expressa em massa de óleo necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (concentração efetiva, EC₅₀). Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados obtidos foram tratados estatisticamente com auxílio do software *Statistica 7.0*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como reportado por Melgarejo e Artes (2000), Kýralan, Gölükcü, e Tokgöz (2009), o teor de óleo nas sementes depende de vários fatores tais como: variedade, clima, grau de maturidade do fruto durante a colheita, entre outros. Na Tabela 1 estão apresentados os resultados obtidos para a semente e bagaço de romã, após extração com éter de petróleo em aparelho Soxhlet e comparados com outros resultados da literatura.

Tabela 1- Teor de óleo das sementes, média \pm desvio padrão, usando éter como solvente extrator.

Amostra	Teor de óleo (g.100 g ⁻¹)
Romã (semente) ¹	27,5 \pm 0,52
Romã (bagaço) ¹	13,7 \pm 0,44
Semente de romã ²	13,9 a 24,1
Semente de romã ³	6,20 a 12,1

¹Neste trabalho; ²Melgarejo e Artes (2000); ³Kýralan, Gölükcü, e Tokgöz (2009); ⁴(Silva, 2013)

A semente de romã apresentou alto teor de óleo (27,5g.100g⁻¹) superior à média registrada na literatura. Melgarejo e Artes (2000) encontraram valores entre 6,20 e 12,1 g.100g⁻¹. Kýralan, Gölükcü, e Tokgöz (2009) estudaram 15 cultivares de romã na Turquia e obtiveram, por prensagem, entre 13,9 e 24,1 g.100g⁻¹ de óleo. Como esperado, o teor de óleo diminuiu quando se processou a semente sem a remoção do bagaço. Este representa 40% do resíduo e contém elevado teor de fibras e baixo teor de óleo (Tabela 1).

Na Tabela 2 estão ilustrados os valores de umidade das amostras *in natura* e após secagem a 50 e 70°C.

Tabela 2 - Umidade das sementes *in natura* e após processamento.

Sementes	Inicial	Umidade de equilíbrio (%) a 50°C	Umidade de equilíbrio (%) a 60°C
Romã	62,2 \pm 1,4 ^a	11,9 \pm 0,31 ^b	4,15 \pm 0,22 ^c

Letras diferentes, na mesma linha, indicam valores estatisticamente diferentes de acordo com teste de Fisher LSD (p<0,05).

É importante controlar o teor de umidade das amostras, pois este parâmetro interfere no rendimento do processo de prensagem. A presença de água até um valor específico é necessária, pois durante a prensagem o óleo removido deixa espaços vazios na torta. As moléculas de água presentes na matriz preenchem este espaço, favorecendo a remoção do óleo. Se a umidade é muito baixa, parte do óleo fica retida nos poros reduzindo o rendimento da extração e para valores elevados de umidade, a água se mistura ao óleo e proteína dificultando a etapa de extração e purificação. O valor de umidade, recomendado para a prensagem das sementes, se situa próximo a 12% (SILVA et al., 2012). Este valor foi alcançado neste trabalho quando a temperatura de secagem das sementes foi de 50°C.

A análise de IA só foi realizada nas amostras de óleo obtidas por prensagem. Não foi possível avaliar o teor de ácidos graxos livres no extrato obtido com etanol. Isto ocorre, pois a mistura etanol/água remove outros ácidos orgânicos presentes no bagaço. Os valores obtidos e o desvio padrão estão mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 -Índice de acidez dos óleos prensados.

Amostra	Índice de Acidez (% ácido oléico)
Semente de romã	0,74±0,01
Bagaço de romã	0,79±0,03

O valor do IA tem relação estreita com a qualidade da amostra, uma vez que os ácidos graxos livres são gerados pela hidrólise dos triglicerídeos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1999) estabelece uma acidez máxima de 2% para óleos e gorduras vegetais não refinados. Os valores encontrados (0,74 a 0,79) são muito inferiores ao exigido pela Legislação e, portanto, o IA das amostras indicam que os processos de despulpamento, lavagem e prensagem a frio preservaram a integridade dos triglicerídeos. Isto ocorre, provavelmente, devido à rigidez da parede celular que envolve a fração lipídica da semente de romã. Valores de IA para o óleo de semente de romã não foram encontrados na literatura.

Os rendimentos médios e desvios padrão dos processos de prensagem das sementes de romã, obtidos a partir dos ensaios em triplicata, estão apresentados na Tabela 4. O rendimento da prensagem se refere à massa de óleo obtida por 100 gramas de amostra prensada enquanto a eficiência da prensagem refere-se à massa de óleo extraída em relação à massa de óleo contida na amostra.

Tabela 4 -Rendimento e eficiência do processo de prensagem das sementes de romã.

Sementes	Rendimento da prensagem (g.100 g ⁻¹)	Eficiência da prensagem (%)	Umidade (%)
Semente de romã	12,0 ^a	44,0 ^a	7,9±0,10 ^a
Bagaço de romã	5,73 ^b	41,8 ^b	12±0,30 ^b

Letras diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes, de acordo com teste de Fisher LSD (p<0,05).

A prensagem das sementes de romã não apresentou as dificuldades reportadas por Silva (2013) para prensagem das sementes de uva. Isto ocorreu devido à composição da parede celular da semente de romã, cujo teor de lignina é muito inferior ao da semente de uva o que a torna mais fácil de romper quando submetida à mesma pressão. Não foram encontrados dados na literatura do rendimento da prensagem do óleo de semente de romã.

Os resultados para atividade antioxidante dos óleos de romã obtidos por extração com solvente e prensagem a frio, bem como, a eficiência dos processos estão comparados na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultados obtidos para a extração por solvente e prensagem a frio para o óleo de romã.

Processo	Temperatura (°C)	Granulometria (mm)	Eficiência da extração (%)	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
Extração com etanol anidro	70	0,40	62,07 ^a	16,54 ^a
Extração com etanol hidratado (90 °GL)	70	0,40	51,42 ^b	9,17 ^b
Prensagem a frio	-	-	41,8 ^c	38,0 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes de acordo com teste de Fisher LSD (p<0,05).

O teor de água no etanol é uma variável pouco explorada na extração de óleos vegetais, pois a água reduz a solubilidade dos lipídeos. Entretanto, pesquisas recentes mostraram que uma quantidade baixa de água aumenta o teor de compostos insaponificáveis na fração lipídica e contribui para aumentar a estabilidade do óleo (MELO, 2010).

O uso de etanol anidro apresentou uma maior eficiência no processo de extração, porém com relação aos compostos antioxidantes dos óleos obtidos, a presença de água no etanol favoreceu a extração de compostos bioativos aumentando a CA do óleo. Em termos comparativos, o óleo extraído por solvente apresentou maior CA quando comparado ao óleo obtido por prensagem a frio com valores de EC₅₀ iguais a 9,17 e 38,0 respectivamente. O óleo de

romã obtido neste trabalho, por meio da extração com solvente, apresentou na melhor condição um valor de CA em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ maior ($\text{EC}_{50}= 9,17$) que os reportados na literatura para antioxidantes naturais.

4. CONCLUSÕES

A extração com etanol favorece a remoção de compostos antioxidantes na fração lipídica, se comparado com a prensagem a frio. Entretanto, a prensagem a frio consome menos energia, causa menores impactos ao meio ambiente e é mais efetiva na preservação dos triglicerídeos. Com os resultados obtidos neste trabalho é possível avaliar o potencial antioxidante dos resíduos do processamento de romã de modo a fornecer dados técnicos para a utilização dos mesmos em escala comercial.

REFERÊNCIAS

- AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 17th Edition. Horwitz, W. (ed.). 2200+ pages, 2 volumes, loose-leaf. Indexes. ISBN 0-935584-67-6. 2000.
- AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. American Oil Chemists' Society, Champaign, 2004.
- BRASIL, Ministério da Saúde. (1999). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 482, de 23 de setembro de 1999. Regulamento técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras vegetais. Brasil, 1999. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em 13/01/2013.
- FREITAS, S.P. et al. Extração e fracionamento simultâneo do óleo da castanha-do-Brasil com etanol. **Ciência e tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 27 (supl.), p. 14-17. 2007.
- JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, jan./mar. 2007.
- KRATZ, V. Vinícola do Rio Grande do Sul utiliza resíduos de uva para geração de energia. **Notícias de Agricultura Ruralbr**. 17 nov. 2011. Disponível em: <<http://agricultura.ruralbr.com.br/>>. Acesso em: 27 de maio de 2012.
- KÝRALAN, M., GÖLÜKCÜ, M., & TOKGÖZ, H. Oil and conjugated linolenic acid contents of seeds from important pomegranate cultivars (*Punicagranatum* L.) grown in Turkey. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 86 (10), 985–990, 2009.
- MELGAREJO, P., ARTES, F. Total lipid content and fatty acid composition of oilseed from lesser known sweet pomegranate clones. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Spain, v. 1454 (February), p. 1452–1454. 2000.
- MELO, P. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais**. 2010, 136p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Comunicado Técnico 127. In: **Comunicado Técnico online**. EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat>>. Acesso em 12/09/2012.
- SILVA, I.C.C. **Uso de processos combinados para o aumento do rendimento da extração e da qualidade do óleo de macaúba**, 2009. 99p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- SILVA, N. K. **Extração de óleos vegetais a partir de coprodutos gerados na produção de vinhos e de suco de romã**. 2013, 106p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SILVA, N. K. et al. Obtenção e caracterização de óleo de semente de romã (*Punica granatum*) por prensagem a frio. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, COBEQ 2012, Búzios. **Anais** p. 9989 – 9995. Búzios – RJ, 2012.

UVIBRA - UNIÃO BRASILEIRA DE VITIVINICULTURA; Secretaria da Agricultura do RS. *Dados estatísticos: Produção de uvas, elaboração de vinhos e derivados– Safra 2002 a 2011*. Rio Grande do Sul, 2012. Disponível em: <<http://www.uvibra.com.br/>>. Acesso em: 18 de junho de 2012.

WERKMAN, C., GRANATO, D. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum L.* (romã). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n. 3, 104–111, 2008.