

Adsorção de carotenos de óleo de palma utilizando celulose como adsorvente

Erislene Silva de Almeida¹, Raquel Campanha Bombarda², Leonardo Valadares³, Marcos Ene Oliveira⁴, Simone Mendonça⁵

Resumo

Carotenos são compostos antioxidantes com importante função na manutenção da saúde humana. O óleo de palma é uma importante fonte natural de carotenos, sendo os isômeros α -caroteno e β -caroteno presentes majoritariamente. O processo industrial de refino desse óleo leva à destruição dos carotenos durante o branqueamento com terras diatomáceas (que também podem favorecer a oxidação) e durante a etapa de desodorização. Diferentes tipos de celulose que passaram por pré-tratamento com gordura refinada de palma se mostraram um material promissor e alternativo às terras diatomáceas. Por outro lado, as celulosas puras, nas condições estudadas, não foram capazes de concentrar quantidade significativa de carotenos. Considerando α -celulose, celulose microfibrilada e celulose nanocristalina com pré-tratamento, essa última apresentou maior potencial em adsorver os carotenos do óleo de palma.

Termos para indexação: óleo de palma, carotenos, celulose, cromatografia.

Introdução

Carotenoides podem ser precursores da vitamina A em humanos e podem desempenhar um papel na prevenção de alguns tipos de câncer, doenças cardíacas, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, hipertensão, diabetes, além de auxiliar no crescimento e na renovação celular (Corrêa-Filho et al., 2019; Embrapa, 2023)

O β -caroteno é um pigmento com atividade antioxidante e de alto valor agregado, porém é suscetível à degradação por ação de luz, presença de oxigênio e temperatura (Corrêa-Filho et al., 2019). O processo de refino industrial leva à destruição de quase a totalidade dos carotenos do óleo de palma. Na etapa de branqueamento, são utilizadas terras diatomáceas, que são adsorventes que podem favorecer a oxidação, além de promover adsorção irreversível e consequente destruição de parte dos carotenos do óleo. Já os carotenos remanescentes dessa etapa são degradados durante a desodorização em processo chamado *heat bleaching* (Ribeiro et al., 2018; Almeida et al., 2019). Desse modo, estudos sobre materiais adsorventes que garantam maior preservação e possibilidade de outros usos dos carotenos são importantes por agregar valor à cadeia produtiva do dendê. Nesse sentido, este trabalho estuda a eficiência de diferentes tipos de celulose (α -celulose, celulose microfibrilada e celulose nanocristalina) na adsorção de carotenos do óleo de palma, para que posteriormente possam ser adicionados em ração animal, já que a terra diatomácea destrói os carotenos após a adsorção, e não é material seguro para a alimentação.

¹ Química, doutora em Tecnologia Química, Embrapa Agroenergia, erislene.almeida@colaborador.embrapa.br

² Química, mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Embrapa Agroenergia, raquel.campanha@embrapa.br

³ Químico, doutor em Química, Embrapa Agroenergia, leonardo.valadares@embrapa.br

⁴ Engenheiro químico, doutor em Bioengenharia, Embrapa Amazônia Oriental, marcos-ene.oliveira@embrapa.br

⁵ Farmacêutica e bioquímica, doutora em Saúde Pública, Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br

Materiais e métodos

Para realização dos experimentos, foram utilizadas α -celulose (Sigma-Aldrich); celulose nanocristalina (CNC) (CelluForce); celulose microfibrilada (MFC), produzida na Unidade Embrapa Floresta, em Colombo, PR; gordura refinada de palma da marca Tauá, adquirida via comércio; óleo de palma híbrido (*Elaeis guineenses x Elaeis oleifera*), cedido pela indústria de óleo Marborges, localizada no Pará; e padrões de α -caroteno, β -caroteno e 9-*cis*- β -caroteno (Sigma-Aldrich).

Pré-tratamento dos adsorventes α -celulose, celulose microfibrilada e celulose nanocristalina

Em béquer de 100 mL, foram pesados 50 g de gordura refinada de palma. Em seguida, 1,5 g (3%) do respectivo adsorvente: α -celulose, CNC ou MFC foi adicionado à gordura em três alíquotas de 0,5 g. O béquer contendo a mistura (gordura e primeira alíquota) foi levado ao ultraturrax por 2 minutos a 10.650 x g. A cada 2 min, foi adicionada uma alíquota de adsorvente. A agitação foi mantida por 30 minutos, e a cada 10 min a mistura era levada ao banho de gelo para resfriar até cerca de 30 °C. O adsorvente foi separado do óleo por centrifugação a 10.650 x g, temperatura ambiente, por 5 minutos. Com auxílio de pipeta, as fases foram separadas; por fim, o excesso de gordura da fração sólida foi extraído com de papel toalha. Os materiais foram preparados em duplicata.

Adsorção dos carotenos em celulose

Os ensaios de adsorção foram realizados com os adsorventes pré-tratados, e com α -celulose, CNC e MFC puras, conforme procedimento descrito a seguir, em triplicata. Em balão de fundo redondo de 250 mL foram pesados 50 g de óleo de palma e adicionado aproximadamente 0,15 g de solução aquosa de ácido cítrico 30% (m/m), seguido da adição de 0,50 g do material adsorvente. A mistura foi agitada manualmente para homogeneizar o sistema, e o balão foi levado ao rotaevaporador nas seguintes condições: temperatura de 80 °C e tempo de processamento de 1 hora.

A seguir, o óleo branqueado com as celulosas foi centrifugado, com o material ainda quente, a 10.000 x g por 20 min. A fração oleosa (óleo branqueado) foi coletada em frasco âmbar para posterior determinação de isômeros de caroteno por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A fração adsorvente impregnada com óleo residual foi seca com auxílio de papel toalha, para se extrair o excesso de óleo ainda presente nesses materiais, para posteriormente realizar a dessorção de carotenos dos adsorventes e a avaliação de possível degradação de carotenos.

Dessorção dos carotenos da celulose

Em microtubos com capacidade de 2 mL, foi pesado, aproximadamente, 0,05 g dos adsorventes obtidos no tópico anterior. Foi adicionado 1 mL de uma mistura metanol:MTBE (1:1); foi realizada agitação em vórtex por aproximadamente 1 min e em seguida os microtubos foram centrifugados por 2 min a 650 x g. A fração líquida foi coletada em balões de 50 mL, previamente pesados. Essa extração dos carotenos da celulose foi repetida até o solvente permanecer incolor. Os balões foram levados ao rotaevaporador a 40 °C. O óleo obtido foi pesado para posterior realização de análise dos carotenos dessorvidos dos diferentes tipos de celulose por HPLC.

Perfil de carotenoides HPLC

As análises de HPLC foram realizadas para se determinar o conteúdo de α -caroteno, β -caroteno e 9-*cis*- β -caroteno, nos óleos branqueados com α -celulose, MFC e CNC com e sem pré-tratamento, e também no material obtido da dessorção.

Extração dos carotenos

Em tubo de ensaio, foi pesado 0,13 g de óleo branqueado, e foi utilizado todo material obtido da dessorção. Para extração dos carotenos, primeiramente foram adicionados 2 mL de acetona, seguido de homogeneização em banho ultrassônico durante 1 min. Posteriormente, foram adicionados 3 mL de éter de petróleo e 10 mL de água destilada. A fase superior (éter de petróleo + carotenoides) foi coletada e, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur de vidro, foi transferida para um tubo de ensaio com tampa. Uma nova extração na fase aquosa foi realizada com 2 mL de acetona, com posterior agitação em vórtex durante 5 seg, adição de 3 mL de éter de petróleo e sonicação durante 1 min. As frações ricas em carotenos foram coletadas e agregadas ao primeiro extrato. A extração foi repetida até que a fase etérea ficasse incolor.

Saponificação

A saponificação foi feita com uma solução de 10% de KOH em metanol. Em tubos de ensaio com tampa, essa solução foi adicionada aos carotenos extraídos anteriormente, permanecendo no escuro *overnight* em temperatura ambiente. Após esse período, a fase rica em carotenos foi coletada com pipeta de Pasteur e transferida para um funil de separação, e 5 mL de éter de petróleo foram adicionados ao extrato metanólico do tubo de ensaio, sendo a fase etérea coletada, juntando-a com a anteriormente retirada. À fase rica em carotenos coletada em funil de separação, foram adicionados 50 mL de água destilada. A lavagem da fase etérea do funil com água destilada foi repetida por três vezes. O extrato etéreo foi recolhido e passado através de um funil contendo algodão e sulfato de sódio anidro para eliminar o excesso de umidade, alíquotas de éter foram utilizadas para 'lavar' o sulfato e minimizar perda dos carotenos. A filtração foi feita diretamente para um balão. O extrato final obtido foi concentrado em rotaevaporador em balões de 50 mL. O extrato rico em carotenos obtidos da dessorção foi ressuscitado em 2 mL de metanol:MTBE e o extrato obtido do óleo branqueado foi ressuscitado em 3 mL de metanol:MTBE.

HPLC

A análise cromatográfica foi executada em um cromatógrafo a líquido de alta eficiência (HPLC) (Agilent 1290 Infinity LC), equipado com detector de arranjo de diodos, ajustado para aquisição de dados em 450 nm. Os carotenoides foram separados em uma coluna C30 *YMC Carotenoid* (250 × 4.6 mm) a 25 °C. Empregou-se eluição por gradiente, utilizando-se diferentes proporções de misturas de metanol:MTBE:água 81:15:4 v/v/v (A) e metanol:MTBE:água 46:50:4 v/v/v (B), com fluxo de 1 mL/min e volume de injeção de 10 µL. O tempo da corrida cromatográfica foi de 40 minutos. Padrões comerciais foram usados para identificar os picos dos carotenoides. Os padrões de α -caroteno, β -caroteno e 9-*cis*- β -caroteno foram solubilizados em diclorometano grau HPLC, e preparam-se oito diluições em metanol: MTBE 50:50 em concentrações abrangendo a faixa de 0,1 µg/mL a 50 µg/mL para realizar a calibração.

Resultados e discussão

O pré-tratamento das celuloses foi realizado em duplicada. Para cada replicata das celuloses tratadas, bem como para as celuloses puras, realizou-se o ensaio de adsorção com três repetições.

Para determinar a influência das condições experimentais na degradação dos carotenos, foram realizados três tipos de controles, que seguiram o procedimento descrito na metodologia, porém sem adição dos adsorventes. No controle C1, o experimento foi realizado em temperatura ambiente e adição de ácido cítrico. O C2 foi realizado com temperatura de 80 °C e adição de ácido cítrico. Já C3 foi realizado com temperatura de 80 °C e sem o ácido cítrico. Os resultados foram comparados

pela aplicação do teste de Tukey ($p \leq 0,05$), indicando que a temperatura tem alguma influência na degradação de carotenos.

Para comparação do teor dos carotenos destruídos e adsorvidos, uma amostra de óleo bruto (CPO) foi saponificada e analisada em HPLC. O CPO apresentou, respectivamente, 175 μg de α -caroteno, 663 μg de β -caroteno e 97 μg de 9-*cis*- β -caroteno por grama de óleo. Esses valores foram comparados aos encontrados nos óleos branqueados (Figura 1). Os óleos branqueados com as celulosas que passaram pelo pré-tratamento apresentaram um menor teor de carotenos que o CPO, indicando que houve adsorção. As celulosas sem tratamento com gordura, por sua vez, não foram capazes de adsorver significativamente nenhum dos três carotenos em estudo, nas condições experimentais trabalhadas. Uma possível explicação é o fato de a gordura utilizada no pré-tratamento ser hidrofóbica, assim como os carotenos presentes majoritariamente no óleo, enquanto a celulose pura é um material de caráter hidrofílico.

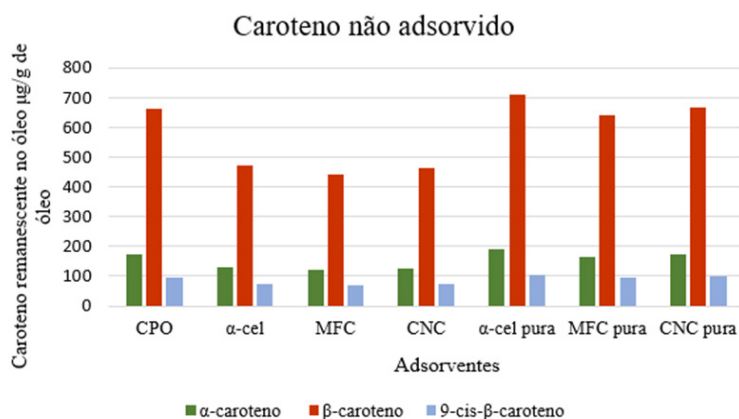


Figura 1. Comparação entre os carotenos quantificado no CPO e os carotenos remanescentes no óleo após adsorção.

Considerando a quantidade de cada caroteno presente no óleo de palma bruto (CPO) como 100%, foi calculada a porcentagem de cada isômero adsorvido utilizando apenas 1% em massa dos adsorventes. As celulosas com pré-tratamento adsorveram percentual considerável dos três carotenos estudados, enquanto entre as celulosas pura apenas a MFC mostrou pequena capacidade adsorptiva, o que pode ser explicado pela forma como a MFC é preparada, a partir de celulose microcristalina (Sigma) que passa por tratamento com ácidos graxos, semelhante ao descrito na metodologia deste trabalho. Porém, como essa celulose passou por processo de lavagem com hexano e secagem em estufa, acredita-se que, mesmo sendo feita a lavagem, algum percentual de ácidos graxos permanece aderido à celulose, favorecendo a interação com os carotenos.

Tabela 1. Porcentagem de carotenos adsorvidos pela celulose em comparação com o CPO.

	% caroteno adsorvido do óleo branqueado		
	α -caroteno	β -caroteno	9- <i>cis</i> - β -caroteno
α -cel	25,45	28,82	23,94
MFC	30,28	33,45	28,19
CNC	27,82	30,25	25,33
α -cel pura	0	0	0
MFC pura	4,95	3,72	2,1
CNC pura	0	0	0

A Figura 2 mostra os carotenos desorvidos das celuloses com pré-tratamento. Pôde ser observado um aumento na concentração de α -caroteno no final do processo, o que ocorreu com os três tipos de celulose estudadas. O 9-*cis*- β -caroteno também teve um aumento considerável em sua concentração. Dos três tipos de celulose estudados, a CNC foi a que demonstrou maior capacidade de concentrar os carotenos citados. Considerando o β -caroteno, a α -celulose foi o adsorvente que apresentou maior capacidade de concentrar esse caroteno.

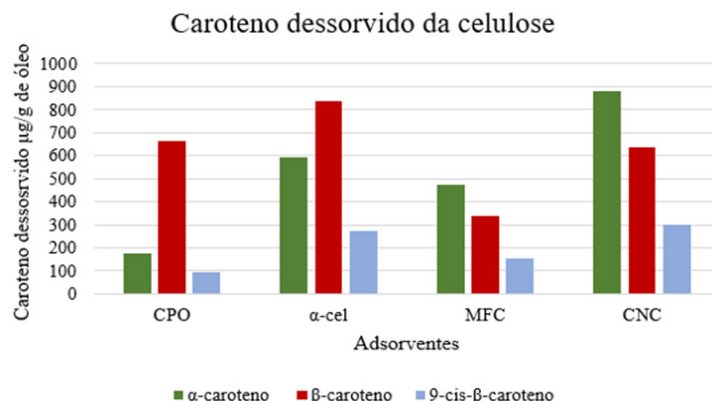


Figura 2. Comparação entre o teor de carotenos do CPO e o extraído dos adsorventes.

Conclusão

Os ensaios de adsorção de carotenos do óleo de palma mostraram que é possível concentrá-los em diferentes tipos de celulose, desde que essas passem por pré-tratamento com a gordura, que possui maior afinidade com os carotenos. Um possível seguimento para o estudo será testar novas condições experimentais, como temperaturas mais brandas e diferentes concentrações de adsorventes para se aumentar a quantidade de carotenos recuperados/adsorvidos pela celulose, além de celulose de fontes renováveis, como a nanofibra de celulose, que é produzida na Embrapa Agroenergia, a partir de engajo de dendê.

Referências bibliográficas

ALMEIDA, E. S.; CARVALHO, A. C. B.; SOARES, I. O. DE S.; VALADARES, L. F.; MENDONÇA, A. R. V.; SILVA JR, I. J.; MONTEIRO, S. Elucidating how two different types of bleaching earths widely used in vegetable oils industry remove carotenoids from palm oil: Equilibrium, kinetics and thermodynamic parameters. *Food Research International*, v. 121, p. 785-797, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.061>

CORRÊA-FILHO, L. C.; LOUERENÇO, M. M.; MOLDÃO-MARTINS, M.; ALVES, V. D. Microencapsulation of β -Carotene by spraydrying: effect of wall material concentration and drying inlet temperature. *International Journal of Food Science*, e8914852, 2019. DOI: 10.1155/2019/8914852

EMBRAPA. **Pesquisadores desenvolvem método para microencapsular betacaroteno presente na fibra do dendê**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/65866779/pesquisadores-desenvolvem-metodo-para-microencapsular-betacaroteno-presente-na-fibra-do-dende>. Acesso em: 19 set. 2023.

RIBEIRO, J. A. A.; ALMEIDA, E. S.; NETO, B. A. D.; ABDELNUR, P. V.; MONTEIRO, S. Identification of carotenoid isomers in crude and bleached palm oils by mass Spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*. v. 89, p. 631-637, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.039>