

DETERMINAÇÃO DE VARIÁVEIS QUE INTERFEREM NA LIXIVIAÇÃO DA CEBOLA ROXA (*Allium cepa* L.) VIA METODOLOGIA DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

GT GALO¹, NC de SENA², ME dos S TAQUEDA¹, MPA MARIN², JL de PAIVA¹

¹ Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, Departamento de Engenharia Química

² Centro Universitário FEI, Departamento de Engenharia Química

E-mail para contato: ggalo@usp.br, jolpaiva@usp.br

RESUMO – O flavonoide quercetina é um metabólito secundário, pertencente ao grupo de compostos fenólicos, que pode ser sintetizado por diversos seres do reino vegetal. Tal substância apresenta características antioxidantes, antivirais, anticarcinogênicas, entre outras, o que desperta interesse de setores farmacêutico e alimentício, principalmente. Nesse trabalho é apresentado um procedimento para obtenção da quercetina a partir de uma matriz vegetal, a cebola roxa (*Allium cepa* L.). Avaliou-se o processo de lixiviação com etanol, investigando-se a influência das seguintes variáveis de processo: temperatura de secagem (°C), composição do solvente, temperatura de lixiviação (°C), agitação (rpm) e relação carga/solvente (g mL⁻¹). Para o planejamento dos ensaios e análise empregou-se a metodologia estatística de análise de variância, via um *design* quadrado hiper-greco-latino. Constatou-se que todas as variáveis estudadas de fato interferem na operação.

1. INTRODUÇÃO

Os flavonoides são substâncias fenólicas que fazem parte dos chamados metabólitos secundários, por sua vez sintetizados por vegetais. Em termos estruturais são substâncias que apresentam dois anéis fenólicos ligados entre si por uma outra cadeia (Huber; Rodriguez-Amaya, 2008). O flavonoide quercetina, representada na Figura 1, apresenta propriedades farmacológicas e bioativas, tais como anti-inflamatória, anticarcinogênica, antitumoral, etc (Huber; Rodriguez-Amaya, 2008; Naczki; Shahidi, 2004). Esse flavonoide pode ser encontrado na cebola roxa (*Allium cepa* L.) com um teor de 660 µg quercetina/g cebola (Huber; Rodriguez-Amaya, 2008), além de ser um vegetal que apresenta bom cultivo no país.

Selecionada a fonte dessa substância, a fim de se obtê-la é necessário submeter as matrizes sólidas vegetais a algum processo, sendo mais indicada a extração sólido-líquido ou lixiviação (Seader et. al., 2011). Essa operação unitária consiste na transferência do soluto contido na matriz sólida para o solvente, pela ação do mesmo via transferência de massa (McCabe et. al., 1993).

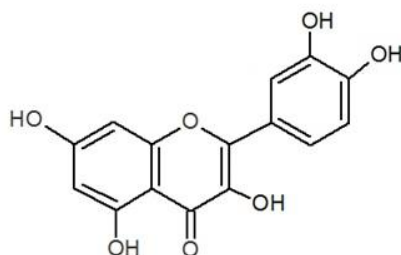


Figura 1 – Estrutura do flavonoide quercetina.

Assim, nesse trabalho investigou-se a influência de algumas variáveis, sendo elas: temperatura de secagem ($^{\circ}\text{C}$), composição do solvente, temperatura de lixiviação ($^{\circ}\text{C}$), agitação (rpm) e relação carga/solvente (g mL^{-1}), para determinação de uma melhor condição de operação desse processo, a fim de obter a maior taxa de lixiviação possível.

2. METODOLOGIA

2.1. Materiais

Cebola roxa (*Allium cepa* L.) (CEAGESP), etanol 99,8 % P.A. (Neon), metanol P.A. (Neon), metanol grau HPLC (Merck), hexano P.A. (Neon) e padrão de quercetina grau HPLC $\geq 95\%$ (Sigma Aldrich).

2.2. Design do quadrado hiper-greco-latino e ensaios de lixiviação

Primeiramente foram escolhidos os níveis de estudo de cada uma das variáveis, descritos na Tabela 1. Dessas variáveis, temperatura de secagem ($^{\circ}\text{C}$), agitação (rpm) e relação carga/solvente (g mL^{-1}) foram admitidas como tratamentos. O quadrado hiper-greco-latino foi criado de modo que cada experimento fosse único. Assim, os tratamentos foram dispostos de forma que não houvesse repetição de seus níveis na coluna, na linha e nem nas células. Esse *design* totalizou 25 ensaios. Para realizar os ensaios, a matéria-prima foi submetida a secagem, nas diferentes temperaturas estudadas, até obtenção de três massas constantes e, posteriormente, triturada. Os ensaios foram conduzidos de modo descontínuo e em duplicatas. O tempo de contato entre as fases foi de 5 horas, para todos os ensaios. Somente o extrato foi analisado, em HPLC, para determinação da quantidade de flavonoide quercetina.

Tabela 1 – Níveis de cada uma das variáveis estudadas.

Variáveis	Níveis
Temperatura de secagem ($^{\circ}\text{C}$)	70, 80, 90, 102 e 110
Tipo e composição do solvente	Água, etanol 60 % (v/v), etanol 70 % (v/v), etanol comercial (96 °GL) e etanol absoluto
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	30, 40, 50, 60 e 70
Agitação (rpm)	50, 100, 150, 200 e 250
Relação carga/solvente (g mL^{-1})	1:2,5, 1:5, 1:10, 1:20 e 1:50

2.3. Determinação da quantidade de flavonoide quercetina via HPLC

Os extratos produzidos e devidamente separados da matriz sólida foram submetidos a análise cromatográfica. Para essa etapa foi utilizado um cromatógrafo da Shimadzu LC-20A Prominence composto por bombas LC-20AD, detector UV/VIS SPD-20A, forno para coluna CTO-20A e controlador CBM-20A. A fase estacionária usada foi a coluna blindada Prodigy ODS (3) 100A, de dimensões 250x4,6mm (5 µm), em fase reversa. Foi usado como fase móvel uma mistura de dois solventes: metanol (A) e água (B). A eluição se decorreu na vazão de 1 mL min⁻¹ da seguinte maneira: gradiente de 98 a 80 % B em 5 minutos, gradiente de 80 a 55 % B em 10 minutos, gradiente de 55 a 0 % B em 25 minutos, isocrático 0 % B por 2 minutos e gradiente de 0 a 98 % B em 3 minutos. A detecção foi feita em comprimento de onda de 362 nm. O mesmo procedimento foi utilizado para a eluição de soluções de padrão de flavonoide quercetina em diferentes concentrações previamente estipuladas. Salienta-se que, unicamente com intuito de se preservar a coluna, uma lavagem dos extratos com hexano antes da injeção foi realizada para remover eventuais apolares.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Determinado a massa de quercetina presente em cada extrato, após a análise em HPLC, foi realizada a análise de variância, com seus resultados vistos na Tabela 2. Um modelo que consiste na transformação dos dados via inverso da raiz quadrada foi utilizado para efetuar o ajuste.

Tabela 2 – Análise de variância.

Fator de Variação	GL	SQ	QM	Valor F	<i>p-value</i>
Temperatura de secagem	4	1,055	0,264	31,63	0,000
Tipo e composição do solvente	4	1,655	0,414	49,62	0,000
Temperatura de lixiviação	4	0,135	0,034	4,04	0,010
Relação matéria-prima/solvente	4	2,541	0,635	76,18	0,000
Agitação	4	0,130	0,032	3,89	0,012
Erro	29	0,242	0,008	-	-
Falta de Ajuste	4	0,026	0,007	0,77	0,556
Erro Puro	25	0,215	0,009	-	-
Total	49	5,757	-	-	-

Foi adotado como crivo da análise um nível de significância de 0,05. Da análise da Tabela 2 verifica-se que todas as variáveis estudadas apresentam interferência na operação e influenciam na taxa de lixiviação do flavonoide quercetina, pois todos os *p-value* foram inferiores ao nível de significância admitido. Constata-se ainda que a escolha do modelo não linear não foi incorreta, uma vez que se observa uma baixíssima falta de ajuste. Devido ao aspecto não linear do modelo, afirma-se que podem existir interações entre os efeitos das variáveis estudadas. Infelizmente a técnica não prediz quais são essas interações e nem informa o peso da influência das variáveis quantitativamente.

Na Figura 2 observa-se o histograma dos resíduos, mostrando que esses estão bem distribuídos. Na Figura 3 pode ser visto o comportamento dos resíduos frente ao valor estimado da resposta, sendo essa estimativa dada pelo modelo não linear ao qual o ajuste foi feito, e nota-se que os pontos encontram-se dispersos e que esse gráfico não apresenta nem forma parabólica nem forma afunilada, corroborando assim os resultados e as conclusões tomadas da interpretação da Tabela 2.

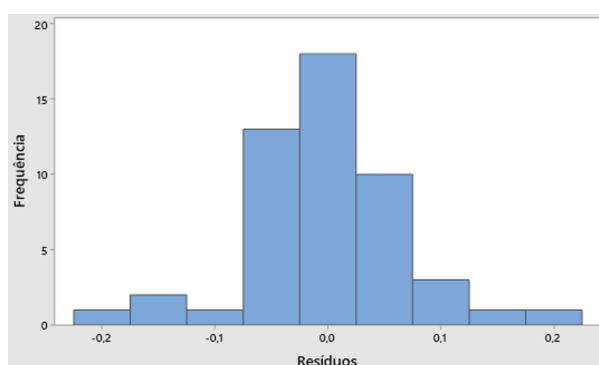


Figura 2 – Histograma dos resíduos.

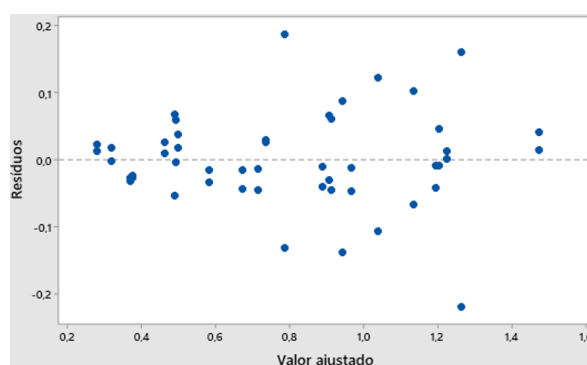


Figura 3 – Comportamento dos resíduos frente ao valor estimado pelo modelo.

4. CONCLUSÃO

Nesse trabalho foi feito um estudo qualitativo para avaliar a influência de algumas variáveis na operação de lixiviação. Com os resultados obtidos, afirma-se que as cinco variáveis estudadas de fato interferem na operação e que há, também, uma possível influência de efeitos cruzados entre duas ou mais variáveis na taxa de lixiviação, pois o modelo melhor ajustado foi um não linear. Estudos posteriores devem ser realizados a fim de uma análise quantitativa e melhor elucidação.

5. REFERÊNCIAS

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição do alimento. *Alim. Nutr.*, v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

MCCABE, W. L. et. al.. *Unit operations of chemical engineering*. 5ª edição. [S.l.]: McGraw-Hill, 1993.

NACZK, M.; SHAHIDI, F.. Extraction and analysis of phenolics in food. *J chromatogr A*, v. 1054, p. 95-111, 2004.

SEADER, J. D. et. al. *Separation process principles: chemical and biochemical operations*. 3ª edição. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2011.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, ao Centro Universitário FEI e a agência CAPES de fomento à pesquisa e ciência brasileira.