

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARLENE GOMES PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE
(*Passiflora alata* Curtis) E DE MARACUJÁ AZEDO (*Passiflora edulis* f.
flavicarpa) OBTIDO POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

CURITIBA

2017

MARLENE GOMES PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE
(*Passiflora alata* Curtis) E DE MARACUJÁ AZEDO (*Passiflora edulis* f.
flavicarpa) OBTIDO POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Engenharia de Alimentos ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Marcos L. Corazza
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Agnes de Paula Scheer

CURITIBA

2017

P436c

Pereira, Marlene Gomes

Caracterização do óleo de sementes de maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis) e de maracujá azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) obtido por diferentes métodos de extração / Marlene Gomes Pereira. – Curitiba, 2017.

118 f. : il. color. ; 30 cm.

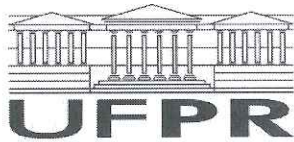
Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2017.

Orientador: Marcos L. Corazza.

Coorientadora: Agnes de Paula Scheer.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Cultivo orgânico. 3. Semente de maracujá. I. Universidade Federal do Paraná. II. Corazza, Marcos L. III. Scheer, Agnes de Paula. IV. Título.

CDD: 664.8



TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MARLENE GOMES PEREIRA** intitulada: **Caracterização do óleo de sementes do maracujá doce (*Passiflora alata Curtis*) e azedo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) obtido por diferentes métodos de extração**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

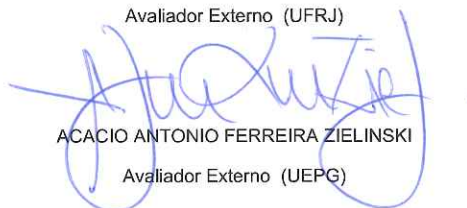
A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 25 de Agosto de 2017.


MARCOS LÚCIO CORAZZA
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


ELIANE PEREIRA CIPOLATTI

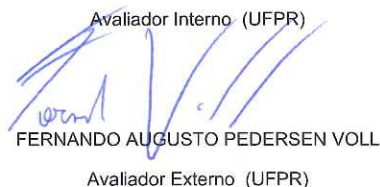
Avaliador Externo (UFRJ)


ACACIO ANTONIO FERREIRA ZIELINSKI

Avaliador Externo (UEPG)


VITOR RENAN DA SILVA

Avaliador Interno (UFPR)


FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL
Avaliador Externo (UFPR)

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Ao Professor Dr. Marcos L. Corazza, minha sincera, profunda e eterna gratidão. Se consegui chegar tão longe foi graças a toda ajuda e contribuição que teve nesse processo. Agradeço pela orientação e oportunidade de realizar este trabalho. Minha admiração pela sua competência, exemplo de profissional e pessoa. Muito obrigada!

A Professora Dra. Agnes de Paula Scheer pela coorientação neste trabalho.

Aos Professores membros da banca examinadora, pela compreensão e agilidade na avaliação do trabalho na pré-defesa, por terem aceitado participar da banca de defesa e pelas valiosas correções e contribuições feitas.

A Universidade Federal do Paraná (UFPR) e aos Professores do PPGEAL pela contribuição para a minha formação.

A Dra. Fabiane Hamerski, obrigada é pouco para te agradecer por todo suporte ao longo dessa jornada. Agradeço pelo auxílio com as análises, pelo suporte no laboratório, pela sua paciência em sanar minhas infindáveis dúvidas, pelas palavras de apoio. Muito obrigada pela amizade construída nesses anos de Doutorado.

Luis Ricardo Shigueyuki Kanda e Madeline de Souza Correa, obrigada por me apresentarem ao extrator supercrítico, pelos ensinamentos e assistência nos experimentos realizados no Laboratório de Cinética e Termodinâmica Aplicada (LACTA - UFPR).

A Dani Olegário, pela parceria e amizade.

A minha amiga Iva Bedin, obrigada por você existir, obrigada por tudo. Graças ao seu inestimável auxílio eu consegui concluir mais essa etapa. Agradeço a você, ao Amauri, a Naraiana e a Carol por cuidarem dos meus tesouros na minha ausência.

A Cleusa Zanella, por sempre estar pronta para auxiliar e ter uma palavra de motivação.

A todos que de alguma forma contribuíram para a concretização deste trabalho.

Muito obrigada!

“O essencial é invisível aos olhos.”

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

No Brasil, parte da produção de maracujá cultivado sob o sistema orgânico é utilizado por algumas indústrias para a fabricação de sucos e geleias. Este processamento gera resíduos, como as sementes, que são subutilizadas. Devido ao interesse em identificar um melhor aproveitamento dessas sementes e da escassez de pesquisas sobre o uso do propano no estado subcrítico na extração de óleos de fontes vegetais, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial da tecnologia subcrítica utilizando o propano comprimido na recuperação do óleo de sementes de maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis) e de maracujá azedo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) orgânicos e comparar os rendimentos e a qualidade dos óleos obtidos por essa tecnologia com as técnicas de extração em Soxhlet utilizando *n*-hexano e etanol como solventes e com a extração assistida por ultrassom utilizando etanol como solvente. A extração com propano comprimido foi realizada em escala piloto, nas seguintes combinações de pressão e temperatura: 2 MPa-30 °C, 2 MPa-60 °C e 8 MPa-30 °C, por 180 minutos. Testes preliminares foram feitos para identificar os parâmetros de processo que proporcionassem o maior rendimento para a extração assistida por ultrassom e os resultados indicaram a razão de semente:solvente (m/v) de 1:50 e a temperatura de 60 °C como sendo as melhores condições de processo. Foram obtidas imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das sementes antes e após os processos de extração. Foram realizadas análises para a caracterização físico-química, do perfil dos ácidos graxos, da estabilidade térmica, além da identificação de tocoferóis e da análise da atividade antioxidante e antimicrobiana dos óleos. Os maiores rendimentos foram de 28,33% e 26,12% para o óleo de sementes de maracujá doce e azedo orgânicos, respectivamente, utilizando a extração em Soxhlet com *n*-hexano. Entre as técnicas não convencionais, a extração com propano comprimido resultou nos maiores rendimentos, de 24,68% para o óleo de sementes de maracujá azedo orgânico obtido a 8 MPa e 30 °C e 23,68% para o óleo de sementes de maracujá doce orgânico obtido a 2 MPa e 60 °C. As imagens de MEV demonstraram o intenso efeito das extrações utilizando Soxhlet com *n*-hexano e com propano comprimido sobre as células oleosas das sementes, o que permitiu maior liberação de óleo dessas estruturas, resultando em alto rendimento de extração. As características físico-químicas dos óleos atendem a legislação vigente e são compatíveis com as de outros óleos vegetais comestíveis. Os óleos são ricos em ácidos graxos poli-insaturados, sendo o ácido linoleico predominante e presente em quantidade significativamente maior no maracujá doce (maior valor de 72,89%, obtido a 8 MPa-30 °C). As extrações com propano comprimido a 30 °C e pressão de 2 e 8 MPa proporcionaram porcentagens maiores de ácidos graxos poli-insaturados nos óleos em relação aos outros métodos. Foram identificados os homólogos α -, γ - e δ -tocoferol em todos os óleos estudados. Os óleos apresentaram alta estabilidade térmica até 300 °C. Todos os óleos apresentaram atividade antioxidante bem como inibiram o crescimento dos microrganismos *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*.

Palavras-chave: Extração subcrítica. Propano comprimido. Extração assistida por ultrassom. Semente de maracujá. *Passiflora alata* Curtis. Cultivo orgânico.

ABSTRACT

In Brazil, part of the passion fruit cultivated under the organic system is used by some industries to manufacture juices and jellies. This processing generates residues, such as seeds, which are underutilized. Due to the interest in identify a better use of these seeds and the scarce researches on the use of compressed (subcritical) propane in the extraction of oils from vegetable sources, the aim of this study was to evaluate the potentialities of subcritical compressed propane technology to recover the oil from sweet (*Passiflora alata* Curtis) and yellow (*P. edulis* f. *flavicarpa*) passion fruit seeds and compare the results with Soxhlet extraction method using *n*-hexane and ethanol as solvents and ultrasound-assisted extraction using ethanol as solvent. The extraction with compressed propane was conducted in pilot scale in the following pressures and temperatures combination: 2 MPa-30 °C, 2 MPa-60 °C and 8 MPa-30 °C, for 180 minutes. Preliminary tests were done to identify process parameters that provided the highest yield for ultrasound-assisted extraction and the results indicated the ratio of 1:50 (seed:solvent; m/v) and the temperature of 60 °C as the best process conditions. Scanning electron microscopy (SEM) images were obtained from seeds before and after extraction processes. Analysis were carried out to identify the physico-chemical characterization, fatty acid profile, thermal stability, tocopherol content, antioxidant and antimicrobial activity of the oils. The higher extraction yields were of 28.33% and 26.12% to the oils of organic *P. alata* and *P. edulis*, respectively, using Soxhlet extraction method with *n*-hexane. Among the unconventional techniques, extraction with compressed propane resulted in the highest yields, with 24.68% at 8 MPa-30 °C (organic *P. edulis* seed oil) and 23.68% at 2 MPa-60 °C (organic *P. alata* Curtis seed oil). SEM images demonstrated the intense effect of extractions using Soxhlet with *n*-hexane and with compressed propane on the oil-bearing cells of the seeds, which allowed greater oil release from these structures, resulting in high extraction yield. Regarding the physico-chemical characteristics of the oils, the results comply with the current legislation and are compatible with those of edible vegetable oils. The oils are rich in polyunsaturated fatty acids, with linoleic acid being predominant and present in significantly greater amounts in sweet passion fruit seed oil (higher value of 72.88% obtained at 8 MPa and 30 °C). The extraction with compressed propane at 30 °C and 2 and 8 MPa provided higher percentage of unsaturated fatty acids than other methods. The homologues α -, γ - and δ -tocopherol were identified in all the oils studied. The oils presented high thermal stability up to 300 °C. All the oils presented antioxidant activity as well as inhibited the growth of the microorganisms *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*.

Keywords: Subcritical fluid extraction. Compressed propane. Ultrasound-assisted extraction. Passion fruit seed. *Passiflora alata* Curtis. Organic farming.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|--|----|
| FIGURA 1 - | CARACTERÍSTICAS DO FRUTO DO MARACUJÁ: (A) <i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (MARACUJÁ AZEDO) E (B) <i>Passiflora alata</i> Curtis (MARACUJÁ DOCE)..... | 21 |
| FIGURA 2 - | ESTRUTURAS DOS ÁCIDOS LINOLEICO (A) E α -LINOLÊNICO (B)..... | 27 |
| FIGURA 3 - | METABOLISMO DOS ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS.... | 28 |
| FIGURA 4 - | ESTRUTURA QUÍMICA DO TOCOFEROL..... | 30 |
| FIGURA 5 - | MECANISMO DE AÇÃO ANTIOXIDANTE DO TOCOFEROL..... | 31 |
| FIGURA 6 - | DIAGRAMA GENÉRICO DE FASES DE UMA SUBSTÂNCIA PURA..... | 45 |
| FIGURA 7 - | CURVA TÍPICA DE EXTRAÇÃO CONTENDO AS TRÊS PRINCIPAIS ETAPAS DO PROCESSO..... | 46 |
| FIGURA 8 - | PREPARO DAS SEMENTES DE MARACUJÁ: (A) SEMENTES MISTURADAS A POLPA; (B) PROCESSO DE REMOÇÃO DO ARILO; (C) ASPECTO DAS SEMENTES SECAS E (D) SEMENTES SECAS EMBALADAS À VÁCUO..... | 53 |
| FIGURA 9 - | DIAGRAMA DO APARATO EXPERIMENTAL MONTADO EM ESCALA DE LABORATÓRIO PARA A OBTENÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS UTILIZANDO FLUIDOS PRESSURIZADOS E SUPERCRÍTICOS COMO SOLVENTE..... | 55 |
| FIGURA 10 - | IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS SEMENTES SECAS DE MARACUJÁ DOCE ORGÂNICO ANTES DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO. SUPERFÍCIE DA SEMENTE INTEIRA (a) AUMENTO 46X, (b) AUMENTO 110X, (c) AUMENTO 1000X, (d) AUMENTO 1,00kX E ESTRUTURA INTERNA DA SEMENTE (e) AUMENTO | |

| | | |
|-------------|--|----|
| | 150X, (f) AUMENTO 920X..... | 64 |
| FIGURA 11 - | EFEITO DA RAZÃO MASSA DE SEMENTE:VOLUME DE SOLVENTE (M/V) NO RENDIMENTO DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS UTILIZANDO A EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM..... | 65 |
| FIGURA 12 - | EFEITO DA TEMPERATURA NO RENDIMENTO MÉDIO (%) DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE (MDO) E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS (MAO) UTILIZANDO A EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM..... | 66 |
| FIGURA 13 - | ASPECTO DO ÓLEO OBTIDO NA EXTRAÇÃO COM PROPANO COMPRIMIDO: (A) MDO 2MPa-30 °C; (B) MAO 2MPa-30 °C; (C) MAO 8MPa-30 °C E (D) MAO 2MPa-60 °C..... | 70 |
| FIGURA 14 - | CURVAS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE ORGÂNICO UTILIZANDO PROPANO COMO SOLVENTE..... | 71 |
| FIGURA 15 - | CURVAS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICO UTILIZANDO PROPANO COMO SOLVENTE..... | 71 |
| FIGURA 16 - | IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICO: (A) ANTES DA EXTRAÇÃO, (B) APÓS A EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM E APÓS A EXTRAÇÃO EM SOXHLET (C) COM <i>N</i> -HEXANO E (D) COM ETANOL. AUMENTO DE 1200X..... | 73 |
| FIGURA 17 - | IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICO: (A) ANTES DA EXTRAÇÃO E APÓS A EXTRAÇÃO COM PROPANO COMPRIMIDO A (E) 8 MPa E 30 °C, (F) 2 MPa E 30 °C E (G) 2 MPa E 60 °C. AUMENTO DE 1200X..... | 74 |

| | | |
|-------------|--|----|
| FIGURA 18 - | IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO APÓS A EXTRAÇÃO: (A) COM <i>N</i> -HEXANO, (B) COM PROPANO COMPRIMIDO A 8 MPa E 30 °C E (C) ASSISTIDA POR ULTRASSOM. AUMENTO DE 3000X..... | 75 |
| FIGURA 19 - | CURVAS TERMOGRAVIMÉTRICAS DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE ORGÂNICO..... | 87 |
| FIGURA 20 - | CURVAS TERMOGRAVIMÉTRICAS DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICO..... | 87 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|---|----|
| TABELA 1 - | CONCENTRAÇÃO DOS ÁCIDOS LINOLEICO E α -LINOLÊNICO EM ALGUNS ÓLEOS VEGETAIS..... | 29 |
| TABELA 2 - | CONTEÚDO DE TOCOFEROL EM ALGUNS ÓLEOS VEGETAIS..... | 32 |
| TABELA 3 - | PROPRIEDADES CRÍTICAS DE ALGUNS SOLVENTES QUE PODEM SER EMPREGADOS NA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA..... | 48 |
| TABELA 4 - | CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E RENDIMENTOS DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS EXTRAÍDOS COM PROPANO COMPRIMIDO, SOXHLET UTILIZANDO HEXANO E ETANOL COMO SOLVENTES E EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM COM ETANOL COMO SOLVENTE..... | 68 |
| TABELA 5 - | PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS..... | 78 |
| TABELA 6 - | PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS (%) ² DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS, OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO..... | 82 |
| TABELA 7 - | QUANTIDADE TOTAL (%) DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS, INSATURADOS, MONOINSATURADOS E POLI-INSATURADOS, ÍNDICE P/S E PROPORÇÃO DO TOTAL DE ÁCIDO OLÉICO/LINOLÉICO DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS, OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO..... | 83 |
| TABELA 8 - | CONTEÚDO DE TOCOFEROL (α , γ E δ) DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS, OBTIDOS POR DIFERENTES | |

| | | |
|-------------|---|----|
| | MÉTODOS DE EXTRAÇÃO..... | 86 |
| TABELA 9 - | ATIVIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> PELOS MÉTODOS DPPH, FRAP E ABTS DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO..... | 90 |
| TABELA 10 - | CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI) (%) DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS DETERMINADA PELO MÉTODO DA MICRODILUIÇÃO..... | 95 |

LISTA DE SIGLAS

| | |
|-----------------|---|
| ABTS | 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) |
| ANOVA | Análise de variância |
| AOAC | <i>Association of Official Analytical Chemists</i> |
| AOCS | <i>American Oil Chemists' Society</i> |
| ATTCC | <i>American Type Culture Collection</i> |
| CER | <i>Constant Extraction Rate</i> |
| CG-FID | Cromatografia gasosa com detector de ionização de chama |
| CMI | Concentração Mínima Inibitória |
| CO ₂ | Dióxido de carbono |
| DC | <i>Diffusional Controlled</i> |
| D_i | Diâmetro de abertura da peneira (mm) |
| D_m | Diâmetro médio das partículas (mm) |
| DPPH | 1,1-difenil-2-picrilhidrazil |
| FER | <i>Falling Extraction Rate</i> |
| FRAP | Potencial antioxidante de redução do ferro |
| LACTA | Laboratório de Cinética e Termodinâmica Aplicada |
| MEV | Microscópio Eletrônico de Varredura |
| OEC | <i>Overall Extraction Curve</i> |
| P _c | Pressão crítica |
| T _c | Temperatura crítica |
| TE | Trolox equivalente |
| TGA | Análise termogravimétrica |
| TPTZ | 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina |
| TROLOX | 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 17 |
| 1.1 OBJETIVOS | 19 |
| 1.1.1 Objetivo Geral | 19 |
| 1.1.2 Objetivos Específicos | 19 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 20 |
| 2.1 MARACUJÁ..... | 20 |
| 2.1.1 Rendimento e composição química do óleo de sementes de maracujá .. | 22 |
| 2.1.2 Sistema Orgânico de Produção..... | 23 |
| 2.2 ÓLEOS VEGETAIS | 24 |
| 2.2.1 Estrutura, composição, função e importância..... | 24 |
| 2.2.1.1 Ácidos graxos essenciais | 26 |
| 2.2.1.2 Tocoferol | 29 |
| 2.2.2 Características físico-químicas de óleos vegetais | 32 |
| 2.3 ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ÓLEOS VEGETAIS..... | 33 |
| 2.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE | 36 |
| 2.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA..... | 39 |
| 2.6 MÉTODOS EMPREGADOS NA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS..... | 40 |
| 2.6.1 Extração com Solvente Orgânico | 41 |
| 2.6.2 Extração assistida por ultrassom..... | 42 |
| 2.6.3 Extração com fluido supercrítico ou subcrítico | 44 |
| 2.7 ESTUDOS SOBRE A OBTENÇÃO E ANÁLISES DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ..... | 49 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 52 |
| 3.1 OBTENÇÃO E PREPARO DAS SEMENTES | 52 |
| 3.2 ANÁLISES NAS SEMENTES SECAS..... | 53 |
| 3.2.1 Análise de umidade | 53 |
| 3.2.2 Análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 53 |
| 3.3 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS | 54 |
| 3.3.1 Extração por Soxhlet | 54 |
| 3.3.2 Extração com Propano Comprimido..... | 54 |
| 3.3.3 Extração com Ultrassom (US) | 56 |
| 3.4 ANÁLISES DOS ÓLEOS EXTRAÍDOS DAS SEMENTES | 57 |

| | |
|--|----|
| 3.4.1 Características físico-químicas..... | 57 |
| 3.4.2 Tocoferóis..... | 57 |
| 3.4.3 Ácidos graxos..... | 58 |
| 3.4.4 Atividade Antioxidante <i>in vitro</i> | 59 |
| 3.4.5 Análise Termogravimétrica dos óleos | 61 |
| 3.4.6 Atividade Antimicrobiana <i>in vitro</i> | 61 |
| 3.4.6.1 Microrganismos testados..... | 61 |
| 3.4.6.2 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)..... | 61 |
| 3.5 Análise Estatística | 62 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 63 |
| 4.1 CARACTERÍSTICAS DAS SEMENTES UTILIZADAS NOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO..... | 63 |
| 4.2 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM (US)..... | 65 |
| 4.2.1 Definição da razão semente:solvente (m/v) | 65 |
| 4.2.2 Efeito da temperatura no rendimento da extração | 66 |
| 4.3 RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES..... | 67 |
| 4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)..... | 72 |
| 4.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS ÓLEOS..... | 76 |
| 4.6 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS..... | 79 |
| 4.7 COMPOSIÇÃO DE TOCOFERÓIS..... | 84 |
| 4.8 ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ÓLEOS..... | 87 |
| 4.9 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE | 88 |
| 4.10 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA..... | 92 |
| 5 CONCLUSÕES | 96 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 98 |

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos houve um crescimento importante de pesquisas relacionadas à extração de compostos de fontes naturais, principalmente de resíduos gerados no processamento de alimentos bem como de produtos agrícolas subutilizados. Essas matérias primas têm sido alvo dessas pesquisas, uma vez que podem ser fontes promissoras de compostos com aplicação em diversos nichos industriais.

Pesquisas têm reportado a rica composição de óleos obtidos de algumas sementes de frutas e seu potencial como matéria prima de alto valor agregado. A qualidade dos óleos extraídos é dependente de diversos fatores, como o processo de extração, solvente utilizado, qualidade, origem e pré-tratamento da matéria prima e das condições de estocagem.

Estudos envolvendo tecnologias alternativas na obtenção de óleo e compostos bioativos de fontes vegetais têm aumentado, uma vez que as extrações convencionais, como a prensagem mecânica e métodos de extração com solventes orgânicos apresentam muitas desvantagens, tais como o emprego de grandes quantidades de solventes, tempo de processo e consumo energético elevados, geração de resíduos, poluição do meio ambiente e a qualidade do produto final (HERRERO; CIFUENTES; IBANEZ, 2006).

Dentre as tecnologias não convencionais mais promissoras estão a extração com fluidos pressurizados e a extração assistida por ultrassom. O uso da tecnologia de extração com fluidos em estado supercrítico ou subcrítico (comprimido) vem se destacando como método diferenciado na obtenção de produtos de fontes vegetais com alta qualidade, além de ser considerada uma tecnologia limpa. Apesar do dióxido de carbono ser o fluido mais empregado, o propano subcrítico (comprimido) vem despertando o interesse, uma vez que quando empregado na obtenção de óleos vegetais, por exemplo, apresenta elevadas taxas de extração e permite o uso de pressões mais baixas, sendo esta uma vantagem importante em relação a outros solventes. Além disso, geralmente são empregadas temperaturas abaixo da sua temperatura crítica (97 °C), o que evita a degradação térmica de compostos de interesse. Alguns estudos que utilizaram o propano comprimido na extração de óleo de sementes de frutas obtiveram bons resultados em relação ao rendimento e a qualidade do produto extraído (CORSO et al., 2010; AHANGARI;

SARGOLZAEI, 2012). No entanto, informações sobre o uso do propano comprimido na extração de óleos vegetais ainda são escassas.

A extração assistida por ultrassom tem sido reportada como uma alternativa economicamente viável para a extração de compostos de produtos naturais e de alimentos e tem demonstrado eficiência na extração de óleos de sementes de frutas. Apresenta algumas vantagens em relação aos processos convencionais, como o menor consumo de solvente e o reduzido tempo de extração (CHEMAT et al., 2017).

A demanda por óleos de alta qualidade associada com o crescente desenvolvimento de produtos “bio”, “orgânico”, “natural” ou “ecológico” no mercado e com a mudança nos hábitos dos consumidores relacionada principalmente à preocupação com a saúde, com a importância de uma dieta saudável e com a necessidade de preservação do meio ambiente, fortaleceram o interesse tanto pelo uso de métodos de extração de produtos de origem vegetal coerentes com essas necessidades como por práticas agrícolas alternativas, sendo a agricultura orgânica a mais conhecida delas. O sistema orgânico de produção adota tecnologias com a finalidade de otimizar o uso dos recursos naturais e socioeconômicos, busca a autossustentação respeitando a integridade cultural e promove qualidade de vida com proteção ao meio ambiente.

No Brasil, o cultivo de frutas sob o sistema orgânico de produção vem se consolidando, principalmente entre os pequenos produtores, a maioria no contexto da agricultura familiar. Dentre as espécies de maracujá, o azedo é o mais produzido, seguido pelo maracujá doce. Algumas indústrias utilizam o fruto para a produção de sucos e geleias, gerando resíduos como as sementes, que representam aproximadamente 12% do fruto (CHAU; HUANG, 2004). Frutas como o maracujá são ricas em compostos bioativos, que podem ser encontrados nos seus subprodutos, em muitos casos, na mesma ou em maior quantidade que na polpa (MIRABELLA; CASTELLANI; SALA, 2014). Assim sendo, pesquisas sobre o aproveitamento das sementes do maracujá orgânico para a obtenção de produtos de alto valor agregado são de grande interesse.

Não foram encontradas na literatura estudos sobre a extração do óleo de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos utilizando propano comprimido e extração assistida por ultrassom. Diante do exposto, o presente trabalho visa avaliar o potencial da extração não convencional com propano comprimido na obtenção do óleo de sementes destas variedades e comparar os rendimentos e a qualidade destes óleos com aqueles obtidos pelas técnicas de extração em Soxhlet e com a extração assistida por ultrassom.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial da extração não convencional com propano comprimido na obtenção do óleo de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo cultivados sob o sistema orgânico de produção e comparar os rendimentos e a qualidade destes óleos com aqueles obtidos pelas técnicas de extração em Soxhlet e com a extração assistida por ultrassom.

1.1.2 Objetivos Específicos

- *Definir* as condições de processo (relação semente:solvente, tempo e temperatura) que maximizam o rendimento em óleo, utilizando a extração assistida por ultrassom;
- *Determinar* os rendimentos de extração a partir do emprego dos seguintes métodos: Soxhlet (utilizando *n*-hexano e etanol como solventes), extração assistida por ultrassom (utilizando etanol como solvente) e extração subcrítica utilizando propano como solvente;
- *Avaliar* o efeito das extrações na estrutura das sementes de maracujá por microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- *Determinar*, nos óleos extraídos das sementes, as características físico-químicas (índice de refração, índice de iodo, densidade, índice de acidez e ácidos graxos livres) e o perfil de ácidos graxos com base em cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-FID);
- *Identificar* a quantidade total e os isômeros de tocoferóis presentes nos óleos;
- *Avaliar* a estabilidade térmica dos óleos a partir da análise termogravimétrica (TG);
- *Analisar* a capacidade antioxidante dos óleos utilizando os métodos *in vitro*: DPPH, FRAP e ABTS;
- *Determinar* a atividade antimicrobiana dos óleos frente a *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MARACUJÁ

O maracujazeiro (*Passiflora* spp.) pertence à classe Magnoliopsida, à ordem Malpighiales, à família Passifloraceae e ao gênero *Passiflora* (JUDD *et al.*, 1999). Existem mais de 500 espécies desse gênero, sendo 120 espécies nativas do Brasil e aproximadamente 50 delas apresentam potencial valor comercial (CERQUEIRA-SILVA *et al.*, 2014; PEREIRA; CORRÊA; OLIVEIRA, 2015).

Entre as espécies e variedades comestíveis, destacam-se a *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, conhecida como maracujá amarelo ou maracujá azedo e a *Passiflora alata* Curtis ou maracujá doce (FILHO; LEITE; RAMOS, 2010; VASCONCELLOS *et al.*, 2001).

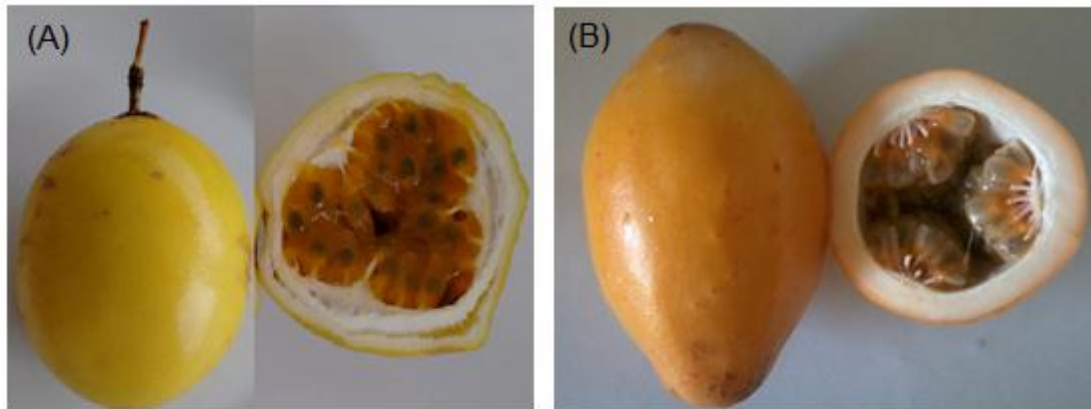
P. edulis f. *flavicarpa* (maracujá azedo) é a variedade na qual a produção comercial mundial é baseada (CARR, 2013). Os frutos são redondos, a casca amarela ou amarela esverdeada e contém múltiplas sementes (característica comum da família Passifloraceae) cercadas de uma polpa amarela gelatinosa de sabor ácido e aroma intenso (LOPEZ-VARGAS *et al.*, 2013).

P. alata Curtis (maracujá doce) é uma espécie nativa do Brasil e de ocorrência bastante generalizada, podendo ser cultivada em todos os estados do país (ALVES *et al.*, 2012). Apesar de ser a segunda espécie mais cultivada no Brasil, ainda é desconhecida da maioria da população (MELETTI *et al.*, 2003; FALEIRO; JUNQUEIRA; BRAGA, 2005). Apresenta frutos ovais ou periformes, e a casca intensamente alaranjada, lembrando um mamão papaia. A polpa é adocicada, de odor forte e agradável (MELETTI, 1996; MELETTI; MAIA, 1999).

O aspecto do maracujá azedo e do maracujá doce pode ser observado na Figura 1.

O cultivo comercial de maracujá doce tem crescido em função dos elevados preços do produto no mercado de frutas frescas e apresenta grande potencial de comercialização, tanto no mercado interno como para exportação, devido às suas características de tamanho, coloração externa, aroma e demais qualidades sensoriais. Apesar disso, o maracujá azedo é a espécie que predomina em volume de produção.

FIGURA 1 - CARACTERÍSTICAS DO FRUTO DO MARACUJÁ: (A) *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (MARACUJÁ AZEDO) E (B) *Passiflora alata* Curtis (MARACUJÁ DOCE).



FONTE: O autor (2017).

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá. No ano de 2015, a produção brasileira foi de aproximadamente 694 mil toneladas (IBGE, 2016). Estima-se que 60% da produção brasileira de maracujá seja destinada ao consumo *in natura*. O restante é destinado às indústrias de processamento, sendo o suco o principal produto (FIGUEIREDO et al., 2009). O suco concentrado representa a maior parcela da exportação, sendo comercializado mais intensamente para Holanda, Estados Unidos, Porto Rico, Japão e Alemanha, os quais importam 76% do suco concentrado produzido no Brasil (MELETTI, 2011). Estima-se que são necessárias 10 toneladas de frutas para fazer 1 tonelada de suco concentrado (LIMA, 2002).

Em relação ao maracujá doce, apesar da literatura enfatizar que seu consumo é como fruta fresca, existe um nicho de mercado no Brasil que explora o processamento deste fruto. Os produtos obtidos a partir de tal processamento são os chamados preparados à base de frutas e polpas, que são comercializados exclusivamente para indústrias, que utilizam essa matéria prima em seus produtos finais (bebidas lácteas, iogurtes e sobremesas).

A valorização econômica de alguns óleos vegetais extraídos de frutos passa pelo melhoramento tecnológico de uma cadeia produtiva que envolve: o cultivo, a extração dos óleos e a caracterização de suas propriedades que favoreçam aos interesses das indústrias que trabalham com estes produtos (REMÉDIOS et al., 2006).

Dessa forma e considerando-se que o descarte das sementes resultantes do processamento do maracujá constitui sério problema para as indústrias e que existe grande potencial de aproveitamento deste resíduo, existem demandas para pesquisas em

relação à extração do óleo de sementes de maracujá visando a geração de valor para este subproduto.

2.1.1 Rendimento e composição química do óleo de sementes de maracujá

A composição química do maracujá é amplamente influenciada por diversos fatores, como a variedade, fatores genéticos, grau de maturação, época de colheita, condições climáticas, composição do solo, região de cultivo e práticas de cultura (SIDDIQ, 2012). A composição química também é afetada de acordo com os métodos e eficiência do processamento e das proporções de cascas e sementes contidas no material (FERRARI; COLUSSI; AYUB, 2004).

O maracujá é um fruto tropical que tem sido alvo de estudos devido às suas propriedades medicinais presentes nas folhas e flores, bem como a atividade antioxidante da polpa. Nas sementes, os estudos têm sido relacionados ao teor e à qualidade do seu óleo.

Prasad (1980) identificou que as sementes do maracujá contêm cerca de 23% de óleo com características químicas e físicas semelhantes às do óleo de gergelim, soja e outros óleos vegetais.

Ferrari, Colussi e Ayub (2004) estudaram as sementes provenientes da extração do suco de maracujá (*Passiflora edulis*) obtidas de uma indústria de alimentos localizada em Minas Gerais. As amostras analisadas apresentaram 25,7% de óleo.

Liu et al. (2008) investigaram as propriedades físico-químicas do óleo das sementes de *Passiflora* visando identificar o seu valor nutricional, e os resultados encontrados mostraram que as sementes são ricas em óleo ($23,40 \pm 2,50\%$).

Malacrida e Jorge (2012) analisaram as sementes secas do maracujá azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e encontraram 30,39% de óleo.

Silva e Jorge (2017) pesquisaram sobre a composição de vários óleos obtidos de sementes de frutas, e identificaram um total de $286,20 \text{ mg.kg}^{-1}$ de tocoferol em óleo de semente de maracujá azedo, além de carotenoides ($6,70 \text{ } \mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g}_{\text{óleo}}$), compostos fenólicos e fitosteróis, considerados compostos bioativos.

As sementes do maracujá são consideradas boas fontes de ácidos graxos essenciais que podem ser utilizados nas indústrias de alimentos e cosmética. O ácido

linoleico (n-6) é um dos principais ácidos graxos do óleo da semente de maracujá (cerca de 55-66%), seguido pelo ácido oleico (18-20%) e pelo ácido palmítico (10-14%). O ácido α -linolênico (n-3) é encontrado em menor quantidade (0,8-1%) (LEONEL; LEONEL; DUARTE-FILHO, 2000). Outros trabalhos também encontraram alto teor de ácidos graxos essenciais no óleo extraído de semente de maracujá azedo (LIU et al., 2009).

Tais resultados demonstram que a semente do maracujá é uma fonte potencialmente valiosa e alternativa para a obtenção de óleo de alta qualidade (LIU et al., 2008).

Na literatura predominam as pesquisas com as sementes de maracujá azedo. Não foram encontradas informações a respeito do rendimento e da composição química do óleo de sementes de maracujá doce produzido no sistema orgânico de produção.

2.1.2 Sistema Orgânico de Produção

A crescente preocupação tanto com a preservação do meio ambiente, quanto com os danos causados à saúde e ao bem estar do homem devido à utilização de insumos químicos sintéticos na produção de alimentos fortaleceu a busca por práticas agrícolas alternativas, sendo a agricultura orgânica a mais conhecida delas (NEVES, 2004).

A agricultura orgânica é o termo que se emprega para designar o sistema de produção agrícola ecológico e sustentável, baseado na preservação, respeito à terra, ao ambiente e ao homem. A agricultura sustentável, produtiva e ambientalmente equilibrada apoia-se em práticas conservacionistas de preparo do solo, rotações de culturas e consórcios, no uso da adubação verde e de controle biológico de pragas, bem como no emprego eficiente dos recursos naturais (NEVES, 2007; SANTOS et al., 2013).

No Brasil, conforme regulamentado pela Lei Federal nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003 e pelo Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007 (BRASIL, 2003; BRASIL, 2007), considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais e a minimização da dependência de energia não renovável. Neste sistema não é permitido o uso de substâncias que coloquem em risco a saúde humana e o

meio ambiente. Não são utilizados fertilizantes sintéticos, agrotóxicos, organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização. Para comercializar seus produtos é necessário que os produtores tenham uma certificação de um Organismo de Avaliação da Conformidade Orgânica (OAC), credenciado junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Orgânico é o termo que rotula um alimento *in natura* produzido através deste sistema agrícola. A demanda por estes alimentos têm impulsionado o crescimento do mercado (BARBOSA; SOUSA, 2012). De acordo com os registros do projeto Organics Brasil, o índice foi de 25% em 2015 (ORGANICSNET, 2016).

O Brasil possui o maior mercado de produtos orgânicos da América Latina (FiBL; IFOAM, 2015). A produção orgânica nacional pode ser encontrada em 22,5% dos municípios brasileiros. Sudeste é a região com maior área de produção orgânica, seguida das regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sul (ORGANICSNET, 2017). Mais de 70% da produção orgânica nacional é exportada para os Estados Unidos, Europa e Japão (TERRAZZAN; VALARINI, 2009).

O cultivo do maracujazeiro em sistemas orgânicos ainda é incipiente, comparada à produção convencional. Apesar disso, a demanda de mercado para frutas cultivadas no sistema orgânico tem aumentado regularmente nos últimos anos, e o Brasil está entre os principais exportadores de sucos cítricos orgânicos (LIU, 2003).

É latente o potencial de expansão da produção de alimentos orgânicos no Brasil e escassos os estudos sobre óleos de sementes extraídos de frutos cultivados neste sistema. Desta forma, este estudo visa contribuir com informações referentes às características do óleo de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo cultivados no sistema orgânico de produção.

2.2 ÓLEOS VEGETAIS

2.2.1 Estrutura, composição, função e importância

Os lipídios são macromoléculas encontradas tanto nos vegetais como nos animais e exercem funções muito importantes em várias atividades biológicas, além de fazer parte

da composição da estrutura celular e atuar como reserva energética (NELSON; COX, 2014).

Os lipídios abrangem um número elevado de substâncias e podem ser agrupados de acordo com a estrutura química. As formas mais abundantes e os de principal importância em alimentos são os triacilgliceróis. Triacilgliceróis são lipídios formados pela ligação de três moléculas de ácidos graxos com uma molécula de glicerol. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos constituídos de cadeias de hidrocarbono com um grupo carboxila terminal e se diferenciam pelo comprimento da cadeia e número, posição e configuração das duplas ligações (VISENTAINER; FRANCO, 2006). São classificados conforme a presença de duplas ligações (insaturações) entre as cadeias de carbono. São denominados ácidos graxos saturados na ausência de duplas ligações, ácidos graxos monoinsaturados pela presença de uma insaturação e ácidos graxos poli-insaturados pela presença de duas ou mais insaturações (YOU DIM; MARTIN; JOSEPH, 2000).

Nas plantas, as sementes armazenam triacilgliceróis como reserva de energia para os processos germinativos e de crescimento (TZEN et al., 1993). Óleos vegetais representam um dos principais produtos derivados de plantas, dentre os quais aproximadamente 75% são extraídos de sementes (SALAS et al., 2000). Óleos vegetais consistem principalmente de triacilgliceróis (95%) (KAMAL-ELDIN, 2006).

A maioria dos óleos vegetais, em especial os de sementes de oleaginosas, é bastante insaturada, contendo principalmente ácidos graxos de 18 carbonos. Dentre os ácidos graxos mais comumente encontrados em óleos vegetais (como os óleos de soja, milho, canola, oliva) estão: ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2) e ácido linolênico (C18:3) (McCLEMENTS; DECKER, 2010).

Em geral, quanto maior o grau de insaturação, mais suscetível está o óleo vegetal a sofrer deterioração oxidativa (St. ANGELO, 1996). Dessa forma, é essencial conhecer a composição em ácidos graxos de óleos para identificar suas características e conhecer a estabilidade desses produtos (ZAMBIAZI, 1999). Além disso, o grande interesse pela composição de óleos está relacionado a sua influência na saúde humana.

Óleos vegetais constituem um importante componente da dieta humana, e são fontes de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, que desempenham um papel importante no metabolismo celular, como reserva de energia e também fornecendo energia ao organismo, quando necessário. A relação de ácidos graxos saturados e insaturados é muito importante para a nutrição humana. Enquanto altos níveis

de ácidos graxos saturados são desejáveis para aumentar a estabilidade de óleos, por outro lado, nutricionalmente, eles são indesejáveis, porque a ingestão de altos níveis de ácidos graxos saturados é frequentemente associada ao aumento da concentração de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue e o risco de doenças cardiovasculares (MICHA; MOZAFFARIAN, 2010; KUMAR; SHARMA; UPADHYAYA, 2016).

Por outro lado, existem evidências de que uma dieta contendo ácidos poli-insaturados, como os ácidos graxos essenciais e os de cadeia muito longa, como o ácido araquidônico (C20:4), ácido eicosapentaenóico (EPA; C20:5) e ácido docosahexaenóico (DHA; C22:6), está associada à redução de inúmeras doenças (MOZAFFARIAN; WU, 2011; MOZAFFARIAN; WU, 2012).

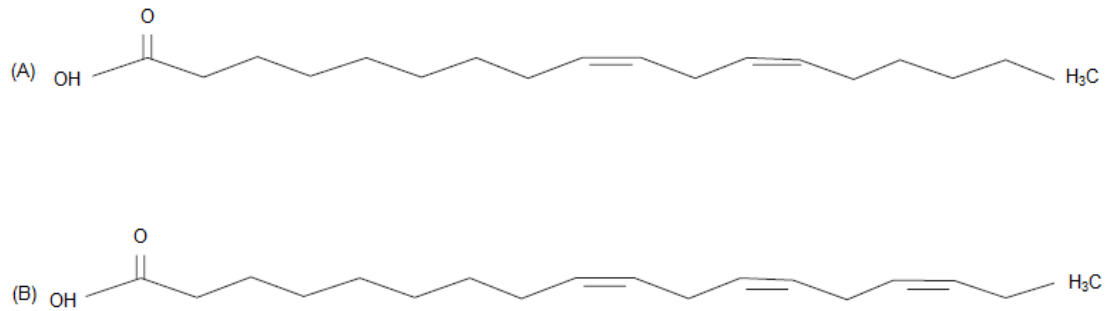
Os ácidos graxos poli-insaturados são os mais importantes lipídios bioativos, e são encontrados principalmente em óleos de sementes de plantas. São importantes substratos para a biossíntese de hormônios celulares (eicosanóides) e outros compostos sinalizadores que modulam a saúde humana (ALUKO, 2012).

2.2.1.1 Ácidos graxos essenciais

Ácidos graxos essenciais são considerados lipídios bioativos, ou seja, atuam desempenhando distintos efeitos biológicos e fisiológicos protetores à saúde humana (função bioativa), promovendo saúde e bem estar por prevenir e às vezes até auxiliar na cura de doenças (HASLER, 2000; COIMBRA; JORGE, 2013; HADIAN, 2016).

Existem dois grupos de ácidos graxos essenciais, os ácidos graxos ômega-6 (n-6) e os ômega-3 (n-3), representados pelos ácidos linoleico (C18:2) e α -linolênico (C18:3), respectivamente. As estruturas químicas dos ácidos graxos n-6 e n-3 são apresentadas na Figura 2 (MARTIN et al., 2006).

Esses ácidos graxos são essenciais para a vida e não podem ser sintetizados pelo organismo humano, devendo ser obtidos da dieta. Ácidos graxos com duplas ligações n-6 e n-3 são considerados essenciais porque no metabolismo de lipídios, durante a síntese de um ácido graxo, as enzimas biossintéticas humanas podem inserir duplas ligações na posição n-9 ou acima, mas não podem inserir duplas ligações em nenhuma posição mais próxima ao grupo metil terminal (DI PASQUALE, 2009).

FIGURA 2 - ESTRUTURAS DOS ÁCIDOS LINOLEICO (A) E α -LINOLÊNICO (B).

FONTE: MARTIN et al. (2006).

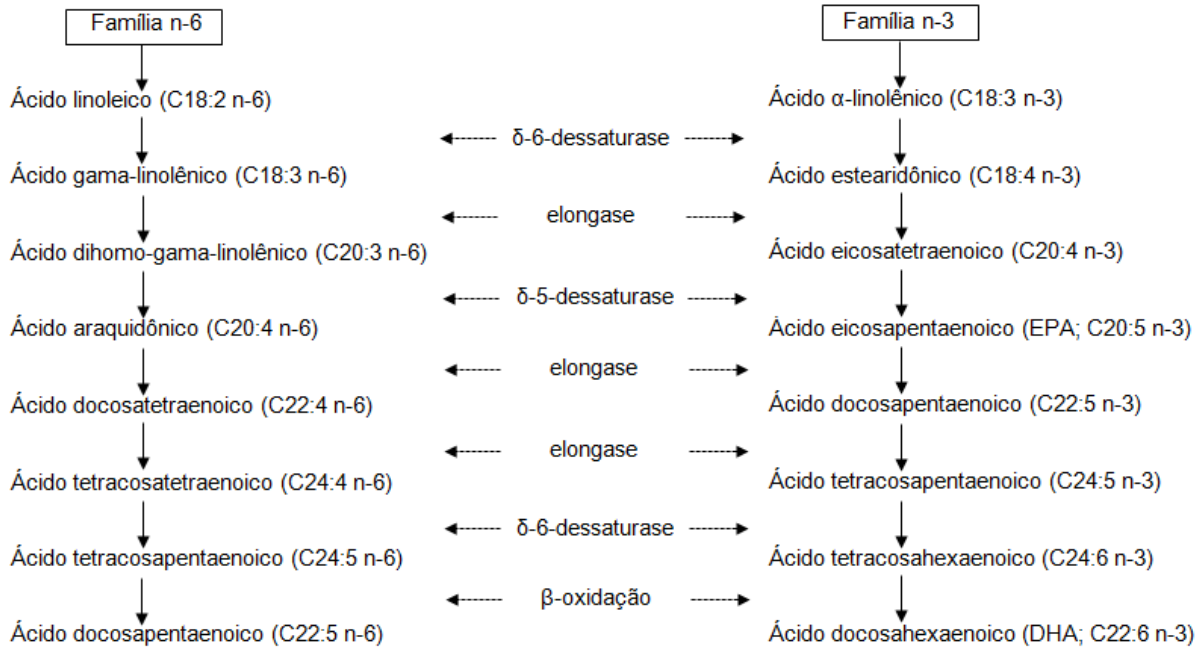
As famílias n-6 e n-3 abrangem ácidos graxos que apresentam insaturações separadas apenas por um carbono metilênico, com a primeira insaturação no sexto e terceiro carbono, respectivamente, enumerado a partir do grupo metil terminal (Figura 2) (MARTIN et al., 2006).

O ácido linoleico (C18:2 n-6) é o principal precursor do ácido araquidônico (C20:4 n-6) (MADSEN et al., 1999) e o ácido α -linolênico (C18:2 n-3) é o precursor de dois importantes ácidos graxos de cadeia longa: o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenoico (DHA) (ZAMBOM; SANTOS; MODESTO, 2004). O processo metabólico dos ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 ocorre especialmente no fígado, e se dá por ação de enzimas que envolvem aumento no tamanho e no grau de insaturação da cadeia (Figura 3) (PERINI et al., 2010).

Os ácidos graxos araquidônico, EPA e DHA são fundamentais para o funcionamento do organismo humano, atuando em vários processos fisiológicos. O ácido araquidônico e o ácido eicosapentaenoico (EPA) são ácidos que formam os fosfolípidos das membranas biológicas (MADSEN et al., 1999) e dão origem aos eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e leucotrienos), mediadores inflamatórios de origem lipídica (CALDER, 2006). A prostaglandina protege o organismo de efeitos como agregação plaquetária (devido a sua ação antitrombótica), inflamação e diminuição da resposta imune (LUU et al., 2007). O EPA também está associado, principalmente, com a proteção da saúde cardiovascular (ZAMBOM; SANTOS; MODESTO, 2004). O DHA é considerado fundamental na formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina, sendo predominante na maioria das membranas celulares desses órgãos. A diminuição dos níveis desse ácido graxo nos tecidos da retina tem sido associada, em

recém-nascidos, com anormalidades no desenvolvimento do sistema visual, e em adultos, com a diminuição da acuidade visual (SANGIOVANNI; CHEW, 2005).

FIGURA 3 - METABOLISMO DOS ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS.



FONTE: PERINI et al. (2010)

O aumento da ingestão diária destes ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 beneficiam na prevenção de doenças crônicas como lúpus, diabetes, psoríase, obesidade, doenças de Crohn e Alzheimer, artrite reumatoide, fibrose cística e esclerose múltipla. Estudos também reportam que a presença de níveis adequados de ácidos graxos ômega-3 no sangue são inversamente proporcionais ao risco de eventos cardiovasculares adversos, como o acidente vascular cerebral e a morte súbita (ALUKO, 2012).

Os ácido linoleico e α -linolênico estão presentes em alimentos de origem vegetal e animal. A Tabela 1 apresenta as concentrações dos ácidos linoleico e α -linolênico em alguns óleos vegetais.

O óleo de girassol apresenta alto teor de ácido linoleico, juntamente com o óleo da semente de uva. A maior concentração de ácido α -linolênico ocorre no óleo de linhaça, sendo que o óleo de soja e de semente de uva também apresentam concentrações significativas (Tabela 1).

TABELA 1 - CONCENTRAÇÃO DOS ÁCIDOS LINOLEICO E α -LINOLÊNICO EM ALGUNS ÓLEOS VEGETAIS.

| Óleos | Ácido linoleico (C18:2 n-6) (mg.g ⁻¹) | Ácido α -linolênico (C18:3 n-3) (mg.g ⁻¹) |
|-------------------------------|--|---|
| ⁽¹⁾ Soja | 510,0 | 68,0 |
| ⁽¹⁾ Milho | 523,0 | 11,6 |
| ⁽¹⁾ Oliva | 97,6 | 7,6 |
| ⁽¹⁾ Linhaça | 127,0 | 533,0 |
| ⁽²⁾ Coco | 14,0 | - |
| ⁽²⁾ Girassol | 685,0 | 1,0 |
| ⁽²⁾ Semente de uva | 670,0 | 90,0 |

FONTE: ⁽¹⁾MARTIN et al. (2006); ⁽²⁾YOU DIM; MARTIN e JOSEPH (2000).

Existe no Brasil uma vasta quantidade de sementes que contém óleo. Entretanto, a menos que a composição em ácidos graxos desses óleos seja de particular interesse, somente as sementes que apresentarem de 25% a 30% ou mais de óleo representam interesse para a extração comercial. Mesmo considerando esse limite como base para a seleção das sementes, existem no Brasil centenas delas que poderiam ser de grande utilidade para o setor industrial (TURATTI; GOMES; ATHIÉ, 2002), visto que podem apresentar na sua composição outras substâncias com potencial para aplicações diversificadas.

Além dos triacilgliceróis, outros componentes estão presentes nos óleos, como os fosfolípidos, ácidos graxos livres, monoacilgliceróis, diacilgliceróis, pigmentos (clorofila), e vários compostos bioativos, como os tocoferóis, compostos fenólicos, fitosteróis e carotenoides (KAMAL-ELDIN, 2006).

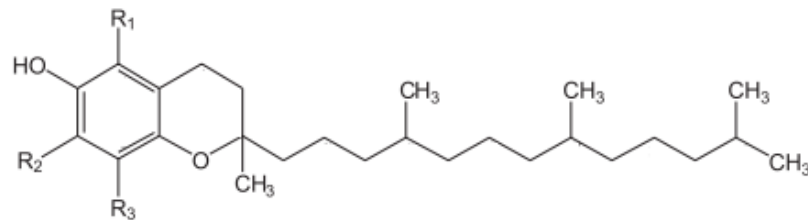
2.2.1.2 Tocoferol

Os tocoferóis são compostos monofenólicos que consistem de um núcleo básico constituído por dois anéis, um fenólico e outro heterocíclico, ligados a uma cadeia lateral saturada formada por 16 carbonos (MUNTEANU; ZINGG; AZZI, 2004). Eles ocorrem em quatro formas: α , β , γ , δ -tocoferol, que se diferenciam em função do número e posição de grupos metila ligados ao anel aromático (Figura 4) (GLISZCZYNSKA-SWIGLO et al., 2007). Este grupo de moléculas é responsável pela atividade de vitamina E.

Os óleos vegetais são a principal fonte de vitamina E da alimentação humana (SWIGLO; SKORSKA, 2004). A presença desses compostos é importante para a

estabilidade dos óleos bem como pelos benefícios nutricionais e possíveis efeitos a saúde relacionados ao consumo de óleos (ANDRÉS; OTERO; VERA, 2011).

FIGURA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA DO TOCOFEROL.



| | R ₁ | R ₂ | R ₃ |
|-------------|------------------|------------------|------------------|
| α-tocoferol | -CH ₃ | -CH ₃ | -CH ₃ |
| β-tocoferol | -CH ₃ | -H | -CH ₃ |
| γ-tocoferol | -H | -CH ₃ | -CH ₃ |
| δ-tocoferol | -H | -H | -CH ₃ |

FONTE: GLISZCZYNSKA-SWIGLO et al. (2007).

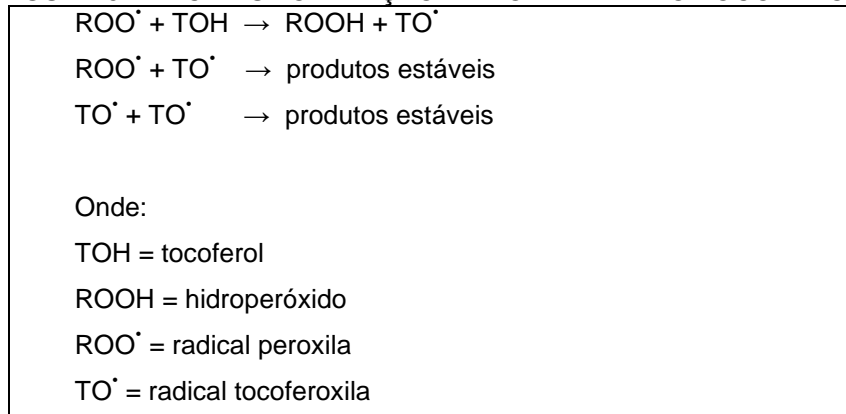
Tocoferóis estão entre os mais importantes antioxidantes lipossolúveis em alimentos bem como em tecidos humanos e exercem uma inibição efetiva na oxidação lipídica de óleos vegetais e gorduras (atividade antioxidante *in vitro*) bem como em sistemas biológicos (atividade antioxidante *in vivo*) (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

Os α, β, γ, δ-tocoferol diferem em sua atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*. O α-tocoferol é o mais estudado, devido a sua elevada atividade biológica como vitamina E, sendo o mais eficiente antioxidante *in vivo*; porém, apresenta fraca atividade antioxidante *in vitro* (CHAIYASIT et al., 2007).

A vitamina E (termo genérico que se refere aos tocóis α, β, γ, δ-tocoferol) tem sido utilizada por muitos anos na prevenção e tratamento de doença arterial coronariana (SPENCER; CARSON; CROUCH, 1999) e estudos sugerem que essa vitamina impede ou minimiza os danos provocados pelos radicais livres associados com doenças específicas, incluindo o câncer, artrite, catarata e o envelhecimento (MORRISSEY; SHEEHY; GAYNOR, 1994; HEINONEN et al., 1998; AZZI; STOCKER, 2000). Sua deficiência pode causar várias doenças, como anemia, comprometimento do sistema imunológico e problemas neuromusculares e neurológicos (SHAHIDI; CAMARGO, 2016).

A atividade antioxidante dos tocoferóis é principalmente devida à capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a propagação em cadeia (RAMALHO; JORGE, 2006). Ao doar hidrogênios fenólicos aos radicais peroxila (ROO^\bullet) originados pela oxidação lipídica, formam um hidroperóxido (ROOH) e um radical tocoferoxila (TO^\bullet), que tem menor capacidade de propagar a peroxidação lipídica quando comparado com o radical peroxila. O radical tocoferoxila reage com outro radical tocoferoxila (ou com outro radical peroxila), formando produtos mais estáveis (Figura 5).

FIGURA 5 - MECANISMO DE AÇÃO ANTIOXIDANTE DO TOCOFEROL.



FONTE: LAMPI et al. (1999).

Os tocoferóis também podem inibir a oxidação induzida pelo oxigênio singlete; este mecanismo antioxidativo envolve a doação de um elétron pelo tocoferol para o oxigênio singlete (mais reativo), originando uma molécula de oxigênio triplete (menos reativa) (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

Em relação ao potencial antioxidante relativo do tocoferol em óleos e gorduras (*in vitro*), estudos indicam que a atividade antioxidante dos quatro tocoferóis apresenta a seguinte ordem: $\delta > \gamma \approx \beta > \alpha$. Contudo, essa ordem pode ser alterada por diversos fatores, tais como a temperatura, disponibilidade de oxigênio, exposição a luz, entre outros (CHAIYASIT et al., 2007; KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996). Existem evidências de que a capacidade antioxidante dos óleos vegetais pode ser influenciada pelo conteúdo total de tocoferol bem como pela concentração de alguns tocoferóis individuais (VALAVANIDIS et al., 2004; SHINTANI; DELLAPENNA, 1998).

A composição de tocoferol de alguns óleos vegetais é apresentada na Tabela 2.

TABELA 2 - CONTEÚDO DE TOCOFEROL EM ALGUNS ÓLEOS VEGETAIS.

| Óleo vegetal | Tocoferol (mg.100 g ⁻¹) | | | |
|-------------------------|-------------------------------------|-----|------|------|
| | α | β | γ | δ |
| ⁽¹⁾ Soja | 11,6 | 1,7 | 57,8 | 26,3 |
| ⁽¹⁾ Girassol | 67,1 | 2,3 | 0,4 | - |
| ⁽¹⁾ Algodão | 40,3 | 0,2 | 38,3 | 0,4 |
| ⁽¹⁾ Oliva | 9,6 | 0,6 | 1,2 | - |
| ⁽¹⁾ Palma | 37,7 | 0,1 | 0,4 | - |
| ⁽²⁾ Milho | 25,7 | 0,9 | 75,2 | 3,2 |
| ⁽²⁾ Coco | 1,8 | 0,2 | tr | 0,4 |

FONTE: ⁽¹⁾ KAMAL-ELDIN; ANDERSSON (1997). ⁽²⁾ SYVÄOJA et al. (1986). tr = traço.

O α- e o γ-tocoferol são os mais encontrados na maioria dos óleos vegetais (SALDEEN; SALDEEN, 2005).

Malacrida e Jorge (2012) determinaram a composição de tocoferóis do óleo extraído de semente de maracujá azedo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) produzido no sistema convencional e encontraram um total de 50 mg.100g⁻¹ de tocoferol, onde a concentração de β-, γ- e δ-tocoferol foram de 5,4; 16,7 e 27,9 mg.100g⁻¹, respectivamente.

O conteúdo de tocoferol em óleos vegetais depende de vários fatores, como o genótipo da planta, condições climáticas de crescimento e de colheita, conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados, condições de processamento e armazenamento (TASAN; DEMIRCI, 2005).

2.2.2 Características físico-químicas de óleos vegetais

As características físicas e químicas dos óleos são grandemente influenciadas pelo tipo e proporção de ácidos graxos (SENANAYAKE; SHAHIDI, 2002). Os óleos vegetais diferem no grau de insaturação, na constituição em ácidos graxos bem como na quantidade e qualidade dos compostos presentes na matéria insaponificável. Essas diferenças refletem diretamente na estabilidade oxidativa, na qualidade sensorial e tecnológica dos diferentes óleos (KAMAL-ELDIN, 2006).

As determinações feitas na análise de óleos são geralmente as dos chamados índices, que são expressões de suas propriedades físicas ou químicas e servem para identificação e avaliação da maioria dos óleos (MORETTO et al., 2002):

- O índice de acidez revela o estado de conservação do óleo. A rancidez é quase sempre acompanhada pela formação de ácido graxo livre. A acidez livre de um óleo decorre da hidrólise parcial dos triglicerídeos, por isso é uma variável intimamente relacionada com a natureza e a qualidade da matéria-prima, com a qualidade e o grau de pureza do óleo, com o processamento e condições de conservação do óleo;
- O índice de iodo relaciona-se com a quantidade de duplas ligações presentes na amostra, e a redução observada neste índice se deve à quebra de duplas ligações resultantes, por exemplo, de reações de oxidação. O índice de iodo, portanto, proporciona uma medida do grau de insaturação de óleos; quanto maior a insaturação de um ácido graxo, maior será o índice de iodo.

As propriedades ópticas dos lipídios influenciam na aparência geral do óleo e dos alimentos onde estes são utilizados. Uma das propriedades ópticas mais importantes dos lipídios é o seu índice de refração. Os óleos possuem poder de refringência diferente e, de acordo com sua natureza, desviam com maior ou menor intensidade os raios luminosos que os atravessam. O índice de refração de um óleo em particular é determinado pela estrutura molecular dos ácidos graxos que ele contém. Este índice tende a aumentar com o crescimento da extensão da cadeia e com o aumento do número de duplas ligações (MORETTO et al., 2002; McCLEMENTS; DECKER, 2010).

A densidade de um lipídio é definida como a massa de material requerida para ocupação de um determinado volume. Essa informação costuma ser importante para o delineamento de operações de processamento de alimentos, já que ela determina a quantidade de material que pode ser armazenado em um tanque ou fluir ao longo de uma tubulação de volume determinado. A densidade diminui com o aumento da temperatura (McCLEMENTS; DECKER, 2010).

2.3 ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ÓLEOS VEGETAIS

A estabilidade oxidativa de óleos vegetais é um parâmetro de qualidade importante, pois está diretamente relacionada com as características sensoriais e nutricionais dos óleos, além de determinar seu uso e aplicação.

Nos últimos anos, tem se intensificado os estudos com o objetivo de desenvolver métodos de análises alternativos mais rápidos e eficientes para a determinação da estabilidade de óleos. Neste contexto, os métodos termoanalíticos têm recebido considerável atenção, despertando o interesse das indústrias de alimentos. Esses métodos são mais vantajosos que os métodos convencionais, pois são mais precisos, sensíveis, requerem pequena quantidade de amostra e os resultados são obtidos mais rapidamente (SOUZA et al., 2004). O conhecimento sobre as propriedades térmicas auxilia a quantificar as reações induzidas pelo calor em óleos durante o processamento e armazenamento (VOLLI; PURKAIT, 2014).

A análise térmica compreende um conjunto de técnicas por meio das quais uma propriedade física ou química de um material é medida em função do tempo ou da temperatura, enquanto o material é submetido a uma programação controlada de temperatura sob uma atmosfera específica (IONASHIRO; GIOLITO, 1980).

Dentre as técnicas de análises térmicas mais utilizadas está a análise termogravimétrica (TG), que mede a variação de massa de uma amostra em função da temperatura, enquanto essa é submetida a uma programação controlada. A perda de massa pode ser relacionada com muitos fenômenos, como desidratação, decomposição, oxidação, sublimação, entre outros, que podem servir para diferentes aplicações, como o estudo da decomposição térmica de alimentos (IONASHIRO, 2005).

A análise termogravimétrica (TG) tem sido utilizada para estimar a estabilidade de óleos vegetais. Santos et al. (2002) avaliaram a estabilidade térmica de vários óleos vegetais comerciais em temperatura de 20 a 800 °C, com taxa de aquecimento de 2,0, 5,0, 10 e 20 °C.min⁻¹, em atmosfera de ar sintético. De acordo com as curvas termogravimétricas a estabilidade observada foi: óleo de milho > girassol > soja > arroz > mistura de soja e oliva > mistura de girassol e oliva > canola > oliva. Estes autores concluíram que os resultados obtidos são dependentes da composição em ácidos graxos, e influenciados pela presença de antioxidantes naturais e artificiais nos óleos.

Santos et al. (2012) estudaram o comportamento térmico do óleo da castanha do Brasil obtido por diferentes métodos de extração e solventes, submetido a temperatura de até 750 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, em atmosfera de ar sintético. As curvas termogravimétricas mostraram estabilidade até 250 °C e o processo de decomposição ocorreu em um estágio único. A perda de massa foi de aproximadamente 98% na faixa de temperatura de 250 a 550 °C. Os resultados da análise termogravimétrica

mostraram que os métodos de extração não influenciaram no comportamento térmico, pois a perda de massa seguiu um padrão para todas as amostras de óleo analisadas.

Volli e Purkait (2014) estudaram a degradação térmica de óleos de soja, mostarda, oliva e karanja em temperatura de 25 a 600 °C, com taxa de aquecimento de 10, 20, 30, 50 e 100 °C.min⁻¹, em atmosfera de nitrogênio. Os resultados mostraram um estágio único de decomposição para todos os óleos analisados. De acordo com os autores, os resultados obtidos a partir de diferentes taxas de aquecimento podem ser considerados precisos e consistentes.

Andrade et al. (2015) compararam a degradação térmica do óleo de semente de maracujá azedo obtido por prensagem mecânica a frio, refinado e clarificado (com carbono ativado e bentonita) com o óleo padrão (não clarificado) em diferentes tempos de estocagem (zero, 45 e 90 dias), em temperatura de 25 a 900 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, em atmosfera de nitrogênio. Todos os óleos analisados apresentaram um estágio único de decomposição. No dia zero, o óleo tratado com bentonita iniciou a decomposição térmica em 220 °C e os demais em 330 °C. Após 45 e 90 dias de estocagem, as curvas indicaram comportamento similar e um estágio único de decomposição. Os óleos refinados iniciaram a decomposição em 330 °C, com completa degradação em 480 °C. O óleo padrão iniciou a decomposição térmica em 260 °C (45 dias) e 300 °C (90 dias), com degradação completa em 485 °C. Os autores concluíram que óleos apresentaram alta estabilidade térmica, sendo os óleos refinados mais estáveis que o óleo padrão.

Timilsena et al. (2017) pesquisaram sobre a degradação térmica em óleo de semente de chia em temperatura de 25 a 600 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, em atmosfera de nitrogênio. A curva termogravimétrica mostrou uma pequena perda de massa (< 1%) quando o óleo foi aquecido até 215 °C. A perda de massa aumentou rapidamente (60%) quando a temperatura atingiu 425 °C, sendo a degradação do óleo mais pronunciada acima desta temperatura. Aproximadamente 85% do óleo foi degradado quando aquecido a 455 °C. A degradação continuou com o aquecimento, e a perda de massa foi completa quando a temperatura alcançou 600 °C. Os autores concluíram que o óleo de semente de chia se manteve estável até 300 °C e devido a suas características físico-químicas e térmicas, este óleo pode ser utilizado em saladas e para fritura.

Não foram encontradas na literatura informações a respeito de análises termogravimétricas em óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo

orgânicos obtidos pela extração com propano comprimido e pela extração assistida por ultrassom.

2.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O conhecimento sobre o teor antioxidante de alimentos é importante devido aos benefícios que promovem ao alimento (como o aumento do tempo de estocagem e a redução de perdas nutricionais) e à saúde humana, já que uma dieta rica em antioxidantes reduz o risco de desenvolvimento de doenças.

O crescente interesse pelos antioxidantes naturais de extratos de plantas é devido à sua baixa toxicidade em relação aos antioxidantes sintéticos. Subprodutos industriais gerados do processamento de frutas e vegetais são ricos em antioxidantes, em ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides e em compostos fenólicos e têm demonstrado eficaz atividade antioxidante em sistemas modelos (WOLFE; WU; LIU, 2003; MANACH et al., 2004).

A oxidação lipídica é um fenômeno complexo que pode ser influenciado por uma série de fatores, podendo ocorrer nos tecidos animais e vegetais e nos produtos obtidos dos mesmos. Em óleos, pode iniciar-se espontaneamente e pode ser acelerada por fatores como temperatura, luz, concentração de oxigênio, presença de compostos pró-oxidantes (CHAIYASIT et al., 2007).

A deterioração oxidativa, principal forma de degradação dos óleos vegetais, envolve complexas reações radicalares autopropagantes, resultantes das interações químicas entre os ácidos graxos insaturados e espécies reativas de oxigênio (CHOE; MIN, 2006). É um processo em cadeia que envolve uma sequência de reações, desde a formação do radical livre (fase de iniciação), formação de peróxidos e hidroperóxidos (fase de propagação) e formação de produtos estáveis de oxidação (fase de terminação) (WASOWICZ et al., 2004). Como resultado tem-se o desenvolvimento de odores e sabores indesejáveis (ranço), com a consequente perda de ácidos graxos essenciais (linoleico e α -linolênico), diminuição da qualidade nutricional e segurança do alimento, causada pela formação de compostos potencialmente tóxicos (MOURE et al., 2001).

Os antioxidantes protegem os óleos vegetais contra a ação de radicais livres, que são moléculas ou átomos que possuem elétrons de valência desemparelhados e são,

portanto, altamente reativos e que iniciam e propagam o processo de oxidação (LOBO et al., 2010). Denominam-se antioxidantes as substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato (HALLIWELL, 1990). Segundo Moraes e Colla (2006), o potencial antioxidante de um composto é determinado pela reatividade do mesmo como doador de elétrons ou hidrogênio, sua capacidade de deslocar ou estabilizar elétrons desemparelhados e sua reatividade com outro antioxidante e com o oxigênio molecular.

A prevenção de processos oxidativos é importante não somente para a manutenção ou aumento da vida de prateleira do óleo, mas também para a proteção da saúde humana (TSAI et al., 2005). Os antioxidantes apresentam potencial efeito na prevenção de doenças, pois são capazes de proteger sistemas biológicos contra a ação dos radicais livres, responsáveis por danos oxidativos aos lipídios, proteínas e ácidos nucléicos (ARUOMA, 1998).

Diversos radicais livres são constantemente formados pelo organismo humano por meio de suas atividades metabólicas normais. O consumo de oxigênio inerente à multiplicação celular leva a formação de uma série desses radicais, que podem interagir em excesso com moléculas de natureza lipídica, produzindo novos radicais hidroperóxidos e diferentes peróxidos. A produção de radicais livres é controlada por diversos compostos antioxidantes de origem endógena ou obtidos através da dieta. A concentração de radicais livres pode superar a capacidade do organismo de eliminá-las, devido a maior produção intracelular e/ou à ineficiência dos mecanismos de proteção antioxidante. O desequilíbrio em favor da formação dos radicais, denominado estresse oxidativo, pode promover danos oxidativos que culminam com o desenvolvimento de doenças, que incluem o câncer, artrite reumatoide, catarata, declínio do sistema imune, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (HALLIWELL, 1996; SOUSA et al., 2007).

Durante o processamento, antioxidantes naturais presentes nas sementes oleaginosas são separados em frações lipossolúveis e hidrofílicas, e as concentrações variam de acordo com o processo e solvente utilizados (SCHMIDT; POKORNÝ, 2005). A capacidade antioxidante é fortemente influenciada pelos solventes utilizados na obtenção dos extratos de fontes vegetais secas (SULAIMAN et al., 2011).

Existe uma série de métodos para a avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de extratos vegetais. Dentre os métodos, destacam-se o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), ABTS [(2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico] e o FRAP (potencial antioxidante de redução do ferro), que são muito empregados na determinação da

atividade antioxidante de alimentos (LU; FOO, 2000). O ensaio do DPPH é o mais amplamente utilizado para a determinação da capacidade antioxidante em diferentes óleos vegetais (TUBEROSO et al., 2007). Os métodos mais comumente explorados devido à facilidade, rapidez e sensibilidade são o DPPH e o ABTS (ALI et al., 2008).

A maioria dos métodos utilizados para avaliar a atividade antioxidante apresenta o mesmo princípio, onde um radical colorido sintético é empregado e/ou um composto redox-ativo é gerado e a capacidade da amostra de eliminar o radical ou reduzir o composto redox-ativo é monitorado através de um espectrofotômetro (OLIVEIRA, 2015). Os métodos de análise podem ser classificados de acordo com os seguintes mecanismos: transferência de elétrons, transferência do átomo de hidrogênio e/ou a mistura dos dois (APAK et al., 2016).

Os mecanismos de transferência do átomo de hidrogênio e da transferência de elétrons quase sempre ocorrem simultaneamente (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005). Os métodos DPPH e ABTS são dois radicais livres estáveis e coloridos que podem apresentar esse mecanismo, onde a solução reativa misturada ao óleo vegetal pode doar um átomo de hidrogênio ou transferir um elétron, gerando a forma reduzida do radical pela perda de cor. O poder antioxidante da amostra estudada é medido pela diminuição na absorvância do radical estável a 515 nm e a 734 nm para os métodos DPPH e ABTS, respectivamente (MILIAUSKAS; VENSKUTONIS; VAN BEEK, 2004). No método DPPH a atividade antioxidante pode ser expressa como porcentagem de atividade antioxidante (%AA), que corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante (VINSON et al., 1995). Para a quantificação da atividade antioxidante dos métodos DPPH e ABTS também pode ser utilizado um padrão, no caso o trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) e o resultado expresso como equivalentes molares desse padrão.

O ensaio do FRAP é baseado no mecanismo de transferência de elétrons e estima a capacidade dos antioxidantes em reduzir o complexo de ferro férrico tripiridiltriazina (Fe^{3+} -TPTZ) ao complexo de ferro ferroso tripiridiltriazina (Fe^{2+} -TPTZ), de coloração azul e a absorvância da solução é medida em 595 nm (BENZIE; STRAIN, 1996). O método FRAP apresenta algumas desvantagens, como o fato de requerer um meio ácido (pH 3,6), que é distante do pH fisiológico e apresenta reação incompleta com polifenóis (APAK et al., 2007).

Na maioria das vezes os mecanismos ocorrem simultaneamente nos alimentos e seu equilíbrio é determinado principalmente pelas propriedades físico-químicas dos antioxidantes e pelas características físico-químicas do alimento. Portanto, para que a

determinação da capacidade antioxidante seja mais completa e representativa, recomenda-se o uso de mais de um ensaio, de modo a contemplar ambos os mecanismos de reação (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2009).

Recomenda-se fazer comparações diretas da atividade antioxidante de óleos vegetais entre diferentes estudos quando se utilizam os mesmos ensaios e solventes; caso contrário os resultados podem variar muito entre os estudos, tornando-os incomparáveis (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

Malacrida e Jorge (2012) estudaram a atividade antioxidante de óleos obtidos de sementes de maracujá azedo convencional por Soxhlet utilizando éter de petróleo como solvente. Pelo método DPPH, encontraram atividade antioxidante de 48% e CE_{50} igual a $10,62 \text{ g}_{\text{óleo}}/\text{g}[\text{DPPH}]$.

Barrales, Rezende e Martínez (2015) avaliaram a atividade antioxidante do resíduo da indústria do maracujá (mistura de semente e polpa) obtido por extração supercrítica utilizando CO_2 como solvente e assistida por ultrassom bem como por Soxhlet utilizando hexano como solvente. O resultados do método DPPH variaram de 1,7 a 2,6 $\text{mg TE} \cdot \text{g}_{\text{óleo}}^{-1}$ para a extração supercrítica e foi de 0,9 $\text{mg TE} \cdot \text{g}_{\text{óleo}}^{-1}$ para a extração em Soxhlet.

Apesar da literatura apresentar alguns estudos que avaliaram a atividade antioxidante do óleo de sementes de maracujá (e por vezes de uma mistura de sementes, polpa e casca), óleos obtidos via tecnologia subcrítica utilizando propano como solvente e extração assistida por ultrassom não têm sido amplamente investigados, não havendo estudos sobre o óleo de sementes de maracujá doce orgânico obtido com esses métodos.

2.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O estudo da atividade farmacológica de novos agentes é de extrema importância, principalmente em um país como o Brasil que oferece uma imensa biodiversidade. A pesquisa de novos agentes antimicrobianos se faz necessária devido ao surgimento de microrganismos resistentes e de infecções oportunistas fatais (PENNA et al., 2001). Tais pesquisas podem contribuir significativamente no desenvolvimento do campo da saúde em nível mundial, encontrando substâncias mais eficazes e menos tóxicas na corrida contra a resistência e o surgimento de microrganismos patogênicos (LIMA et al., 2006).

Atualmente, existem vários métodos para avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes matrizes. Os métodos de diluição são os mais apropriados para a determinação do valor da Concentração Mínima Inibitória (CMI). O valor da CMI é definido como a menor concentração do agente antimicrobiano estudado que inibe o crescimento do microrganismo testado (PFALLER; SHEEDAN; REX, 2004).

O método de diluição em caldo considera a relação entre a proporção de crescimento do microrganismo desafiado no meio líquido e a concentração da substância ensaiada. A avaliação é comparada frente a um padrão biológico de referência. O método fornece resultados quantitativos e duas metodologias podem ser empregadas: macro e microdiluição. O método da microdiluição utiliza microplacas com 96 poços, é considerado um método barato, e tem como vantagens a reprodutibilidade, requer pequena quantidade de amostra, economia de reagentes e de espaço (BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016).

Apesar da grande biodiversidade existente no Brasil e do grande potencial a ser explorado, existem poucos dados sobre a atividade antimicrobiana de extratos obtidos de resíduos agroindustriais, como as sementes das variedades de maracujá orgânico, foco deste estudo.

2.6 MÉTODOS EMPREGADOS NA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS

A extração é uma operação unitária que tem por objetivo a separação de determinadas substâncias a partir de diversas matrizes, sólidas ou líquidas, através de processos químicos, físicos ou mecânicos (EGGERS; JAEGER, 2003), onde se retém uma das fases (o extrato) e despreza outra (o resíduo) (ANDREO; JORGE, 2006). Existem diversos métodos para a extração de óleos a partir de matrizes vegetais.

Óleos vegetais comestíveis são convencionalmente extraídos usando processos de prensa mecânica ou solventes (OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013). Contudo estes apresentam alguns inconvenientes e limitações. A extração com prensa mecânica pode degradar compostos bioativos e reduzir a vida de prateleira do óleo devido à exposição ao oxigênio e a luz, além da taxa de extração ser baixa. A extração por solvente é uma operação de transferência de massa amplamente utilizada na indústria de alimentos para retirar o óleo de sementes oleaginosas e podem utilizar uma ampla variedade de solventes (PERRY, 2008). Essas técnicas, porém, utilizam altas temperaturas que podem promover a

perda de substâncias termicamente sensíveis, o processo é demorado, envolve alto custo energético, alto consumo de solvente e existe a necessidade de recuperação do solvente após a extração devido a problemas econômicos, de segurança ambiental e a possibilidade de haver resíduo de solvente no produto final (HERRERO; CIFUENTES; IBANEZ, 2006). Apesar disso, a taxa de extração é mais elevada utilizando-se solventes (LIU et al., 2009). Além dos problemas relatados, deve-se considerar também que existe uma restrição ao uso de solventes tóxicos, já que os óleos são, geralmente, utilizados em alimentos, em produtos farmacêuticos e em cosméticos.

Nos últimos anos, métodos de extração capazes de superar as desvantagens supracitadas têm sido estudados e propostos na literatura. Dentre os processos alternativos, a extração assistida por ultrassom, a extração com fluido supercrítico e a extração com fluido comprimido estão entre as técnicas mais promissoras.

2.6.1 Extração com Solvente Orgânico

A extração com solventes orgânicos é umas das técnicas mais antigas, onde o processo consiste em colocar um solvente orgânico em contato com a matriz vegetal, e após certo tempo, suficiente para que ocorra a transferência dos constituintes solúveis presentes na matriz, efetua-se a separação das fases sólida e líquida a partir da evaporação do solvente (STEFFANI, 2003).

Uma das técnicas mais tradicionais de extração com solventes orgânicos é a de Soxhlet, que foi desenvolvida por Franz von Soxhlet em 1879 e vem sendo considerada padrão há mais de um século. Este método foi originalmente desenvolvido para a extração de lipídios de um material sólido (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Neste equipamento, o solvente é inicialmente aquecido, entra na fase vapor, posteriormente é condensado e cai no cilindro onde está a amostra, envolta por papel filtro. O solvente entra em contato com a amostra em um processo intermitente. A solubilização das substâncias a serem extraídas da amostra ocorre até que o cilindro esteja totalmente preenchido. Logo, a mistura solvente + extrato é sifonada para o balão onde o solvente encontrava-se inicialmente. O processo se reinicia até que todo o extrato tenha sido arrastado pelo solvente e/ou tenha atingido o tempo determinado para a extração e então o solvente deve ser evaporado para se obter o extrato desejado (CAMPOMANES, 2012).

Os líquidos extratores mais utilizados são os hidrocarbonetos alifáticos (éter de petróleo e o *n*-hexano), álcoois (etanol e metanol), cetonas (acetona e metiletilcetona), ácido acético, acetato de etila, éter etílico e água (SIMÕES et al., 1999).

A extração convencional em Soxhlet apresenta diversas vantagens: a amostra entra em contato com o solvente repetidas vezes, o que facilita o processo de transferência; o sistema de extração é mantido em uma temperatura relativamente alta e constante, o que pode contribuir para a extração dos compostos que se encontram nos poros da matriz sólida; não há necessidade de filtração para separação da matéria-prima do solvente ao término do procedimento, pois ela está isolada no papel filtro. Outro fator positivo é o baixo custo do equipamento (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Contudo, existem sérias desvantagens da extração em Soxhlet, que são: longo tempo de processo, o qual pode variar de 1 h a 72 h; possíveis degradações dos compostos alvo devido ao aquecimento; a utilização de elevada quantidade de solvente, necessitando de uma etapa posterior para a eliminação do solvente após a extração, o que exige grande dispêndio de energia, torna-se um problema ambiental pelo descarte inadequado dos resíduos, além de que o extrato pode sofrer transformações oxidativas durante essa etapa, que ocorrem na temperatura de ebulição do solvente (DÍAZ-REINOSO et al., 2006; CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010; WANG et al., 2010).

2.6.2 Extração assistida por ultrassom

O ultrassom é um dos métodos mais utilizados industrialmente para melhorar as taxas de transferência de massa em vários tipos de processos (CORRALES et al., 2008). O uso do ultrassom no processamento de alimentos foi revisado por Mason, Paniwnyk e Lorimer (1996).

O ultrassom (US) é um processo que consiste na aplicação de energia na forma de ondas sonoras que são transmitidas em frequência superior aos limites audíveis pelo ouvido humano, aproximadamente 20 kHz. Estas ondas provocam ciclos de expansão e compressão no meio (vibração mecânica), ou seja, as moléculas do meio se afastam e se aproximam inúmeras vezes causando uma variação na pressão no líquido, gerando cavitação (LUQUE-GARCÍA; CASTRO, 2003).

O ultrassom melhora a eficiência da extração através da cavitação acústica e efeitos mecânicos. A cavitação acústica provoca cisalhamento criado pelo colapso de

bolhas que causam explosões e perturbam as paredes celulares do extrato, produzindo sua ruptura, facilitando a penetração do solvente na célula e conseqüentemente aumentando a liberação do produto intracelular (TOMA et al., 2001; LI; PORDESIMO; WEISS, 2004; PAN et al., 2011). Outro efeito mecânico é causado pela agitação do solvente, o que permite o aumento da superfície de contato entre o solvente e as partículas sólidas, ocorrendo uma maior penetração do solvente na amostra.

O uso do ultrassom tem como vantagens a redução do tempo de extração quando comparado com os métodos convencionais, a proporção reduzida de solvente:amostra (WU; LIN; CHAU, 2001) e o uso de baixas temperaturas, o que pode evitar o dano térmico nos extratos e minimizar as perdas de compostos bioativos (HROMÁDKOVÁ; KOVÁČIKOVÁ; EBRINGEROVÁ, 1999). Além disso, utiliza um equipamento simples para produzir as ondas sonoras e permite o uso de diferentes solventes. Entretanto, apresenta algumas desvantagens, como o solvente não poder ser renovado durante o processo, o que limita sua eficiência, a necessidade de filtração da amostra e evaporação do solvente após a extração, o que pode causar perdas e/ou contaminação do extrato pela manipulação (CASTRO; GARCIA-AYUSO, 1998; LUQUE-GARCÍA; CASTRO, 2003).

Vários estudos sugerem que a tecnologia ultrassônica é uma ferramenta efetiva para a extração de óleo de sementes de fontes vegetais. Samaram et al. (2014) avaliaram a viabilidade da extração assistida por ultrassom na recuperação de óleo de semente de mamão papaya e identificaram que o óleo obtido por essa tecnologia é mais estável e mais claro, comparado com o óleo obtido por Soxhlet. Da Porto, Porretto e Decorti (2013) conduziram experimentos com a extração assistida por ultrassom a 20 kHz, 150 W por 30 minutos e concluíram que nessas condições essa tecnologia foi muito eficiente na extração de óleo de sementes de uva, pois o rendimento de 14% foi similar ao obtido com a extração em Soxhlet por 6 horas. Goula (2013) obtiveram um rendimento de 60% ao utilizar a extração assistida por ultrassom na obtenção de óleo de semente de romã.

Não foram encontrados estudos comparando a eficiência da extração assistida por ultrassom com outros métodos na recuperação do óleo de sementes do maracujá doce e do maracujá azedo orgânico.

2.6.3 Extração com fluido supercrítico ou subcrítico

É crescente o interesse no desenvolvimento de alternativas tecnológicas que minimizem o impacto ambiental, como a redução do consumo de energia, geração de resíduos menos tóxicos, o melhor uso de subprodutos e melhor qualidade e segurança do produto final. O uso de processos de extração a alta pressão vem ganhando espaço tanto na área acadêmica em pesquisas em escala piloto bem como em processos consolidados em escala industrial. Algumas indústrias utilizam essa tecnologia para a extração de diversos compostos, tais como cafeína do café e de chás, aromas (CAPUZZO; MAFFEI; OCCHIPINTI, 2013), óleos essenciais (BRUNNER, 2010), óleos de sementes, frutas, folhas e flores, que são utilizados pelas indústrias de alimentos, farmacêutica e cosmética (KNEZ et al., 2014).

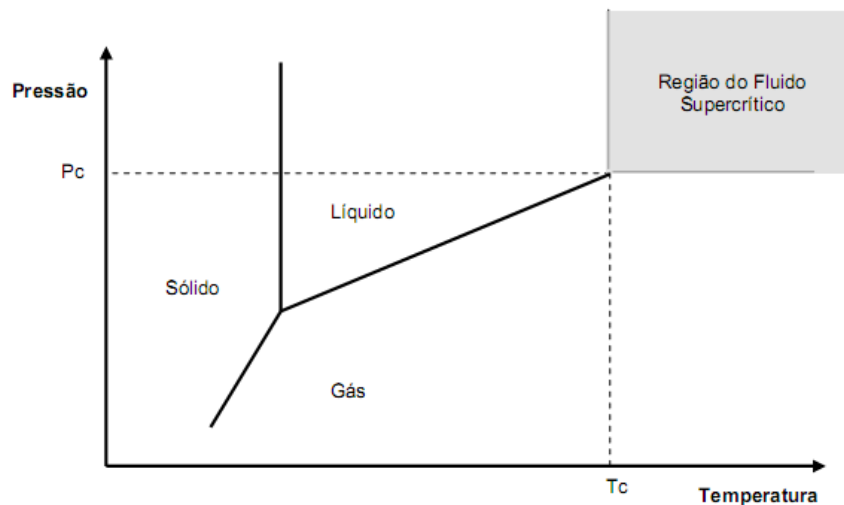
A tecnologia que utiliza fluidos pressurizados (em condição supercrítica ou subcrítica) para a obtenção de extratos a partir de fontes vegetais tem sido reconhecida e considerada promissora pela possibilidade de obtenção de novos produtos com características especiais e por apresentar várias vantagens frente às técnicas tradicionais de extração: é um processo flexível devido à possibilidade de ajuste contínuo do poder de solvatação e seletividade do solvente; permite a eliminação de poluentes, tais como os solventes orgânicos; a degradação térmica e decomposição de compostos lábeis são evitadas, devido à operação ser a temperatura reduzida, menores tempos de extração e o processo se dá na ausência de luz e de oxigênio, o que impede que as reações de oxidação ocorram (DEL VALLE; AGUILERA, 1999; KNEZ; HABULIN, 2002; DÍAZ-REINOSO et al., 2006; REVERCHON; DE MARCO, 2006; SAHENA et al., 2009). Além disso, essa tecnologia é considerada limpa, pois ao final do processo de extração o solvente é completamente removido e separado do extrato/óleo por um sistema de despressurização (SAPKALE et al., 2010), obtendo dessa forma extratos livres de solventes e com alta pureza (BRUNNER, 1994). Outro aspecto importante é que, além de ser um processo sustentável e ecologicamente correto, o gás pode ser recuperado, reciclado e reutilizado sem a necessidade de etapas de purificação (KNEZ et al., 2014). A principal desvantagem dessa tecnologia é o elevado custo para a estruturação do sistema, que exige equipamentos de qualidade e seguros para suportar o processo em alta pressão.

O fluido supercrítico é definido como qualquer substância que esteja acima de sua pressão e temperatura críticas (BRUNNER, 2005). Entretanto, se a temperatura ou a

pressão não estiver acima do seu valor crítico, a substância estará no estado subcrítico ou comprimido (LANÇAS, 2002). A temperatura crítica (T_c) é a temperatura mais alta, na qual o gás pode ser convertido em líquido pelo aumento da pressão. A pressão crítica (P_c) é a pressão mais elevada, na qual o líquido pode ser convertido em gás pelo aumento da temperatura (STEFFANI, 2003).

O diagrama de fases (Figura 6) mostra a área onde uma substância pura existe como um fluido supercrítico. Conforme a temperatura e a pressão são aumentadas ao longo da curva de vaporização, na qual gás e líquido estão em equilíbrio, o líquido torna-se menos denso devido à expansão térmica, e o gás torna-se mais denso devido ao aumento da pressão. Eventualmente, as densidades das duas fases convergem e tornam-se idênticas, a distinção entre o gás e o líquido desaparece, e a curva de vaporização chega ao final no ponto crítico. A partir do ponto crítico inicia a região supercrítica, região de uma única fase que possui as propriedades de líquido (solvatação) e de gás (difusividade) (CARVALHO JUNIOR, 2004).

FIGURA 6 - DIAGRAMA GENÉRICO DE FASES DE UMA SUBSTÂNCIA PURA.



FONTE: BRUNNER (1994).

Fluidos em estado supercrítico apresentam propriedades intermediárias entre as do estado líquido e gasoso. Propriedades como a densidade e a solvatação são semelhantes a do estado líquido e propriedades como viscosidade baixa e difusividade alta se assemelham as dos gases (MAUL, 1999; BRUNNER, 2005). Essa combinação faz dos fluidos supercríticos excelentes solventes para várias aplicações.

As propriedades físicas dos solventes supercríticos ou subcríticos (densidade, difusividade, viscosidade, constante dielétrica) podem ser modificadas com a variação da

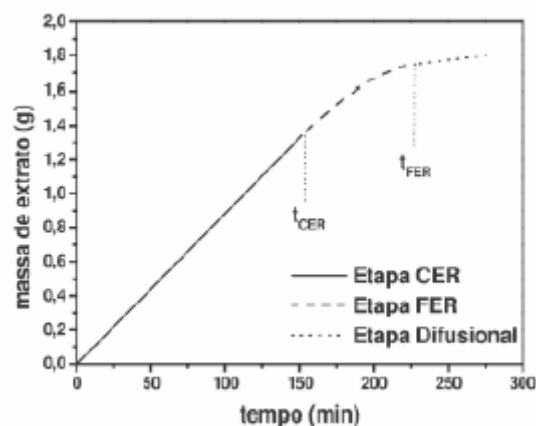
pressão e da temperatura do processo, o que faz com que o poder de solvatação e a seletividade do solvente sejam alterados (LANÇAS, 2000; PRONYK; MAZZA, 2009).

O processo de extração de componentes de matrizes sólidas utilizando fluidos pressurizados consiste de duas etapas: a extração e a separação do extrato do solvente. Na primeira etapa o solvente é distribuído uniformemente no interior do leito fixo de partículas sólidas, que o absorvem, fazendo com que a estrutura das células e os canais intercelulares dilatam, diminuindo a resistência à transferência de massa. Os compostos que podem ser extraídos pelo solvente são dissolvidos e transferidos por difusão de dentro da matriz sólida e transportados pelo fluido. A transferência de massa ocorre até que o equilíbrio seja alcançado (BRUNNER, 1994). Na segunda etapa ocorre a separação do extrato do solvente, por um sistema de despressurização na saída do extrator.

O rendimento de um processo de extração com fluido pressurizado pode ser expresso pela razão entre a massa de óleo obtida e a massa de matéria-prima utilizada, ou seja, é a máxima quantidade de material que pode ser extraído a uma determinada temperatura, pressão e vazão. O rendimento não depende apenas das características da matéria-prima, mas também da forma como os compostos nela presentes interagem com o solvente, ou seja, as propriedades do solvente também influenciam no valor do rendimento. (MARTINÉZ, 2005).

O comportamento cinético de uma extração supercrítica ou subcrítica é representado através da construção da curva global de extração (OEC – *Overall Extraction Curve*), conforme Figura 7. Para a obtenção da curva plota-se a massa acumulada de óleo *versus* o tempo de extração.

FIGURA 7 - CURVA TÍPICA DE EXTRAÇÃO CONTENDO AS TRÊS PRINCIPAIS ETAPAS DO PROCESSO.



FONTE: MARTINÉZ (2005).

As curvas típicas de extração podem ser divididas em três etapas (Figura 7) (BRUNNER, 1994).

1. Etapa com taxa de extração constante (CER – *Constant Extraction Rate*), na qual a superfície externa das partículas está completamente coberta por uma fina camada de extrato, formada pela ruptura das células durante o processo de moagem. Nessa etapa a convecção é o mecanismo dominante e, portanto, a resistência à transferência de massa está na fase fluida. Esta etapa representa cerca de 50% do rendimento total obtido no processo.

2. Etapa com taxa decrescente de extração (FER – *Falling Extraction Rate*): nessa etapa a camada de extrato que recobre a superfície externa das partículas é menor, fazendo com que a área efetiva de transferência de massa diminua e, conseqüentemente, faz com que a taxa de transferência de massa não seja mais constante como antes. Dessa forma, uma vez que o óleo não cobre totalmente as partículas sólidas, inicia-se a difusão do solvente através dessas. Assim, durante esse período a difusão, bem como a convecção, caracterizam a taxa de transferência de massa. Até o final desta etapa o rendimento atinge 70% de seu total.

3. Etapa difusional (DC – *Diffusional Controlled*): esse período é controlado pela difusão, pois as partículas já não se encontram recobertas com o extrato, o qual está no interior das células não quebradas ou no interior do sólido poroso. Assim, a difusão passa a ser a única fonte de transferência de massa disponível.

O resultado pode ser afetado pelos parâmetros do processo e pelos fenômenos que ocorrem no leito fixo durante a extração, tais como a vazão de solvente e o tamanho da partícula. Assim, seu uso para comparação entre curvas obtidas de matérias-primas diferentes e de equipamentos distintos é limitado. Contudo, as informações que ela pode fornecer, são úteis para comparar uma série de experimentos com o mesmo substrato e o mesmo equipamento (BRUNNER, 1994).

A escolha do fluido é um fator chave para a eficácia e rentabilidade econômica do processo de extração via tecnologia supercrítica. Fatores como disponibilidade comercial, custo, segurança e facilidade de manipulação devem ser considerados (DANH et al., 2009).

A Tabela 3 apresenta alguns exemplos de substâncias que podem ser utilizadas como fluidos supercríticos e suas respectivas T_c e P_c .

O solvente mais utilizado é o dióxido de carbono (CO₂) devido ao seu caráter atóxico, não ser inflamável nem explosivo, apresentar boa relação custo-benefício, estar disponível no mercado, não é carcinogênico nem prejudicial à saúde humana quando inalado a baixas concentrações (KUMAR; MADRAS; MODAK, 2004; BOUTIN; BADENS, 2009; DANH et al., 2009).

TABELA 3 – PROPRIEDADES CRÍTICAS DE ALGUNS SOLVENTES QUE PODEM SER EMPREGADOS NA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA.

| Solvente | T _c (°C) | P _c (MPa) |
|-----------------|---------------------|----------------------|
| Propano | 97 | 4,19 |
| CO ₂ | 31 | 7,29 |
| Água | 374 | 21,72 |
| Etano | 32 | 4,82 |
| Etanol | 241 | 6,06 |
| Etileno | 9 | 4,97 |
| Metanol | 240 | 7,99 |
| Amônia | 374,20 | 220,48 |

FONTÊ: DIEHL (2008).

Apesar de não apresentar todas as vantagens do dióxido de carbono, o propano também tem sido utilizado na extração de produtos de origem vegetal. Dentre as vantagens, o propano não deixa resíduos tóxicos, tem alto poder de solvatação, se dissipa após a descompressão, além de permitir o uso de baixas pressões no processo de extração, o que é uma importante vantagem em relação a outros solventes, como o CO₂ (SPARKS et al., 2006; PEDERSSETTI et al., 2011; SANTOS et al., 2015).

Na utilização do propano como solvente geralmente são empregadas temperaturas abaixo da sua temperatura crítica (97 °C). Nessa condição, o fluido é definido como subcrítico ou comprimido.

Alguns estudos sugerem que o propano comprimido pode ser usado de forma efetiva na extração de óleo de sementes. Em estudos com a extração de óleo da semente de romã, o propano apresentou altas taxas de extração (AHANGARI; SARGOLZAEI, 2012) devido à alta solubilidade de compostos apolares (triglicerídeos) da matriz neste solvente (NDIAYE et al., 2006; CORSO et al., 2010). Coelho et al. (2015) obtiveram altas taxas de extração e rendimento (31,7%) na extração de óleo de semente de kiwi (*Actinidia deliciosa*) com propano comprimido. Pederssetti et al. (2011) investigaram a extração do óleo de semente de canola (*Brassica napus*) utilizando propano comprimido e dióxido de carbono e

os resultados mostraram que a extração com propano comprimido permitiu o uso de baixas pressões e menor tempo de extração comparado ao dióxido de carbono. Silva et al. (2016) estudaram o rendimento e composição química de sementes de *Araucaria angustifolia* utilizando propano comprimido e Soxhlet. Os rendimentos obtidos com o uso do propano comprimido como solvente a 40 °C e 8 MPa foram próximos aos obtidos com a extração em Soxhlet, mas a qualidade do óleo foi superior, com maior conteúdo de ácidos graxos n-6 e n-3, tocoferol, fitosterol e maior estabilidade oxidativa.

Não foram encontrados na literatura estudos com relação à obtenção de óleo de semente de maracujá doce e azedo orgânico utilizando propano comprimido como solvente.

2.7 ESTUDOS SOBRE A OBTENÇÃO E ANÁLISES DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ

Corrêa et al. (1994) realizaram experimentos utilizando CO₂ supercrítico a temperaturas de 44, 55 e 70 °C e pressões de 200, 250 e 300 bar na extração de óleo de sementes de maracujá azedo. O maior rendimento (27,74%) foi obtido utilizando pressão de 300 bar e temperatura de 55 °C. O menor rendimento (10,98%) foi obtido utilizando pressão de 200 bar e temperatura de 70 °C.

Liu et al. (2009) utilizaram a metodologia de superfície de resposta para otimizar os parâmetros do processo de extração do óleo de sementes de maracujá azedo utilizando CO₂ supercrítico. Os resultados mostraram que as variáveis temperatura, pressão e tempo de extração influenciaram no rendimento do óleo. As condições ótimas de extração identificadas foram temperatura de 56 °C, pressão de 26 MPa e 4 horas de extração. Nessas condições obtiveram 25,83% de óleo, com características físico-químicas similares a outros óleos vegetais e alto teor de ácidos graxos insaturados, sendo 72% de ácido linoléico.

Zahedi e Azarpour (2011) investigaram a extração do óleo de sementes de maracujá azedo utilizando extração supercrítica com CO₂ com associação de redes neurais e metodologia de superfície de resposta para predizer o rendimento em óleo nas condições ótimas de operação obtidas a partir destas ferramentas. O rendimento em óleo foi de 26,55% utilizando temperatura de 56,5 °C, pressão de 23,3 MPa e tempo de

extração de 3,72 horas (estimado pela rede neural artificial) e 25,76% utilizando temperatura de 55,9 °C, pressão de 25,8 MPa e tempo de extração de 3,95 horas (estimado pela metodologia de superfície de resposta).

Oliveira et al. (2013) estudaram a extração do óleo de sementes de maracujá azedo com CO₂ supercrítico. As condições testadas foram 15, 20 e 25 MPa, temperaturas de 40 e 50 °C e vazão do solvente de 1,5 e 3,0 mL.min⁻¹. Os resultados mostraram que o rendimento aumentou quando a temperatura, a vazão de solvente e a pressão foram aumentadas. O maior rendimento (18,5%) foi obtido a 50 °C, 25 MPa e vazão de 3,0 mL.min⁻¹.

Oliveira et al. (2014) avaliaram os efeitos das variáveis de processo razão massa de semente por volume de solvente, tempo de extração e tipo de solvente sobre a extração do óleo de sementes de maracujá azedo por três técnicas: ultrassom, *shaker* e Soxhlet. As variáveis significativas para a extração do óleo de sementes de maracujá foram a razão massa de semente por volume de solvente e tipo de solvente para as extrações conduzidas com ultrassom e tempo de extração para as extrações conduzidas em Soxhlet. A extração em Soxhlet proporcionou o maior rendimento. Na caracterização físico-química das sementes, o teor de óleo foi de 24,8%. O perfil de ácidos graxos do óleo apresentou 57,8% de ácidos graxos poli-insaturados, sendo o ácido linoleico predominante (50,8%).

Oliveira et al. (2016) comparou diferentes métodos de extração (supercrítica com CO₂ a temperaturas de 40 °C e 50 °C e pressões variando de 150 a 300 bar; maceração a frio e extração assistida por ultrassom utilizando diferentes solventes) em relação ao rendimento global, conteúdo total de fenólicos e atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo de sementes de maracujá azedo. O melhor rendimento (27%) foi obtido com a extração supercrítica utilizando CO₂ a 250 bar e 40 °C. O conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante aumentaram com o aumento da temperatura e da pressão na extração supercrítica. O óleo obtido via tecnologia supercrítica não inibiu o crescimento de *E. coli*, mas inibiu o crescimento de *L. innocua*, com um CMI de 8 mg.mL⁻¹.

Gaydou e Ramanoelina (1983) analisaram o rendimento e a composição em ácido graxo do óleo de sementes de maracujá azedo extraído por Soxhlet utilizando hexano. O rendimento foi de 24,2% e o perfil de ácidos graxos era composto principalmente por ácido linoleico (64,4%), seguido do ácido oleico (19,8%), além da presença do ácido graxo essencial α -linolênico (1%).

Santana et al. (2015) estudaram a composição química do óleo de sementes do maracujá doce e do maracujá azedo obtidos por Soxhlet utilizando éter dietílico como

solvente e processo de 8 horas de extração. Os óleos apresentaram rica composição em ácidos graxos poli-insaturados, tocoferóis, carotenoides, fitosteróis, compostos fenólicos e alta atividade antioxidante.

Malacrida e Jorge (2012) extraíram óleo de sementes de maracujá azedo utilizando Soxhlet, éter de petróleo como solvente, e tempo de extração de 6 horas. O rendimento foi de 30,39%, e o óleo apresentou alto grau de insaturação (87,59%), sendo o ácido linoléico (73,14%) predominante, seguido do ácido oléico (13,83%). O teor total de tocoferol no óleo foi de 499,30 mg.kg⁻¹ e de compostos fenólicos 1.314,13 mg_{ácido gálico}.kg⁻¹. A composição físico-química do óleo foi similar a de outros óleos vegetais comestíveis, além de apresentar significativa atividade antioxidante. As autoras deste trabalho concluíram que o óleo de semente de maracujá azedo tem potencial para ser utilizado como matéria prima na indústria de alimentos, química e farmacêutica.

Silva e Jorge (2017) extraíram o óleo de sementes do maracujá azedo de acordo com o método Bligh e Dyer utilizando como solventes o clorofórmio, o metanol e água na proporção 2:1:0,8 (v/v/v). O teor de óleo foi de aproximadamente 24%. O óleo obtido apresentou alto grau de insaturação, com predominância do ácido linoleico (66,3%), seguido do ácido oleico (18,7%). O teor de tocoferol foi de 286,20 mg.kg⁻¹, de carotenoides foi de 6,70 µg_{β-caroteno}.g⁻¹ e de fitosteróis foi de 2.746,7 mg.kg⁻¹, sendo o β-sitosterol predominante. Dentre os compostos fenólicos, foram identificados o ácido caféico, o ácido *p*-cumárico e o ácido salicílico. Este estudo mostrou que o óleo contém compostos biativos de interesse para a indústria e para a saúde humana.

O presente trabalho pretende contribuir com informações a respeito dos efeitos que diferentes métodos de extração, solventes e condições de processo podem exercer sobre a qualidade do óleo de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo cultivados no sistema orgânico de produção, principalmente em relação aos métodos não convencionais: extração assistida por ultrassom e subcrítica utilizando propano como solvente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO E PREPARO DAS SEMENTES

As amostras de maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis) e de maracujá azedo orgânico (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) foram adquiridas de um produtor certificado (Rede Ecovida de Agroecologia, certificado número SC08030/2016) da cidade de Gravatal, região litorânea do estado de Santa Catarina, Brasil. O maracujá doce foi colhido em julho de 2015 e o azedo em fevereiro de 2016. Foram utilizados frutos maduros, bem desenvolvidos, com casca apresentando coloração amarelo-intensa (maracujá azedo) e alaranjado-intensa (maracujá doce) e polpa de cor amarelo-alaranjada.

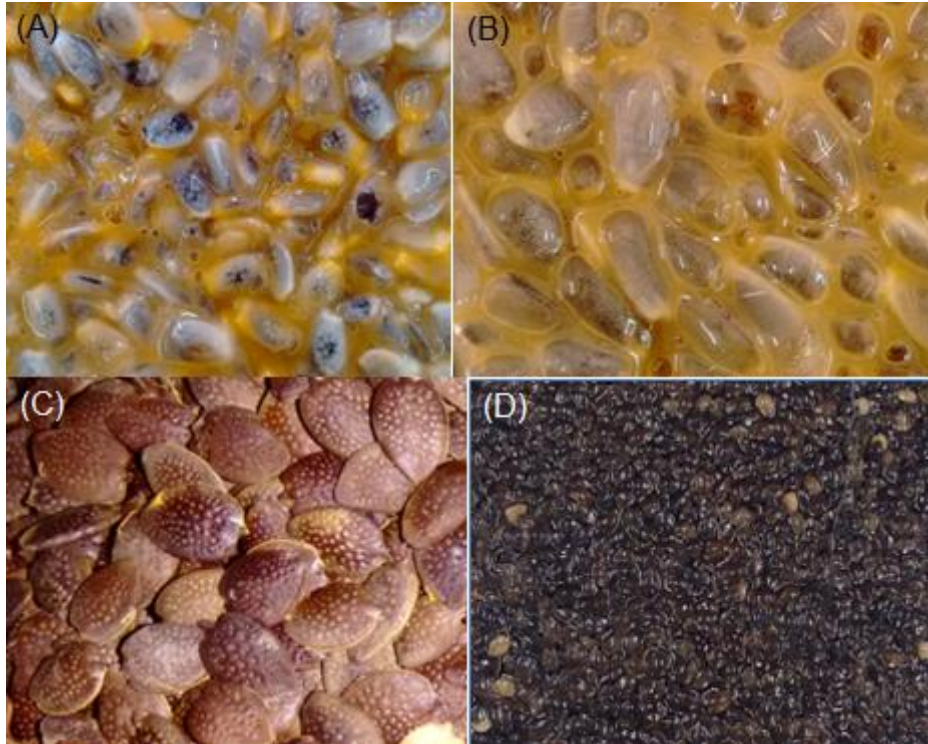
Os frutos foram lavados, cortados em metades e a polpa contendo as sementes foi removida. Para extrair óleo das sementes se faz necessário remover os arilos, que formam aglomerados com as sementes e promovem sua fermentação e a absorção de umidade. Visando facilitar a separação das sementes da polpa e a remoção do arilo, um extrato enzimático com pectinase e hemicelulase (Rapidase[®] TF, DSM *Food Specialties*) de *Aspergillus* sp. e *Trichoderma longibrachiatum* foi utilizado. A polpa adicionada do extrato enzimático (750:1 m/m, respectivamente) foi aquecida e mantida a 50 °C por 30 min. Em seguida, as sementes foram lavadas com água corrente até completa remoção da polpa e secas em estufa com circulação de ar (Nova Ética) a 50 °C até peso constante. Após secagem, as sementes foram embaladas à vácuo em sacos de polietileno e armazenadas protegidas da luz a temperatura de 4 °C , até o momento da extração. A Figura 8 apresenta o aspecto das sementes em cada etapa do processo.

Antes da extração, as amostras secas foram moídas com auxílio de um multiprocessador comercial de alimentos e separadas com peneiras da série de Tyler (Bertel, Brasil) em um agitador mecânico (Bertel, Brasil).

Para caracterização da amostra, o diâmetro médio das partículas foi estimado de acordo com o método de Gomide (1983), considerando a fração mássica do material moído nas seguintes séries: 8 mesh (31%), 12 mesh (27%), 20 mesh (16%), 32 mesh (16%) e 48 mesh (9%).

Para o cálculo foi utilizada a equação: $D_m = \sum X_i \cdot D_i$; onde D_m é o diâmetro médio das partículas (mm), X_i é a fração de massa retida na peneira e D_i é o diâmetro de abertura da peneira (mm).

FIGURA 8 - PREPARO DAS SEMENTES DE MARACUJÁ: (A) SEMENTES MISTURADAS A POLPA; (B) PROCESSO DE REMOÇÃO DO ARILO; (C) ASPECTO DAS SEMENTES SECAS E (D) SEMENTES SECAS EMBALADAS À VÁCUO.



FONTE: O autor (2017).

3.2 ANÁLISES NAS SEMENTES SECAS

3.2.1 Análise de umidade

O teor de umidade das sementes secas foi determinado conforme método Ai 2-75 da AOCS (1993). 5 g de sementes trituradas foram colocadas em estufa a 105 °C. A perda de umidade foi monitorada a cada 2 horas até o material apresentar peso constante. As análises foram realizadas em triplicata.

3.2.2 Análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A fim de compreender melhor o efeito que o processo de extração exerce na estrutura da semente, as características das sementes de maracujá foram analisadas por

microscopia eletrônica de varredura. As imagens de MEV foram obtidas a partir de amostras de sementes secas antes e após o processo de extração em um microscópio eletrônico de varredura (SEM - *Scanning Electron Microscopy*; Tescan VEGA3 LMU, República Tcheca). Visando melhorar a condutividade do material, antes da análise as sementes foram revestidas com ouro em um revestidor SCD 030 (Oerlikon-Balzers, Balzers, Principado de Liechtenstein). A análise das amostras foi conduzida sob vácuo, utilizando uma tensão de aceleração de 15,0 kV.

3.3 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS

3.3.1 Extração por Soxhlet

Para cada extração, 10 g de sementes secas previamente trituradas foram utilizadas. Os óleos foram extraídos das sementes com *n*-hexano e etanol (200 mL de solvente por extração) por 4 horas, em um extrator Soxhlet (Nova Etica, Curitiba, Brazil). Após a extração, o excesso de solvente foi removido em um rotaevaporador (IKA[®], HB 10, Alemanha) a 60 °C e 450 mmHg e o material restante foi mantido em estufa com circulação de ar a 65 °C até peso constante. As amostras de óleo foram armazenadas protegidas da luz a -5 °C ± 2 °C. As extrações foram realizadas em triplicata.

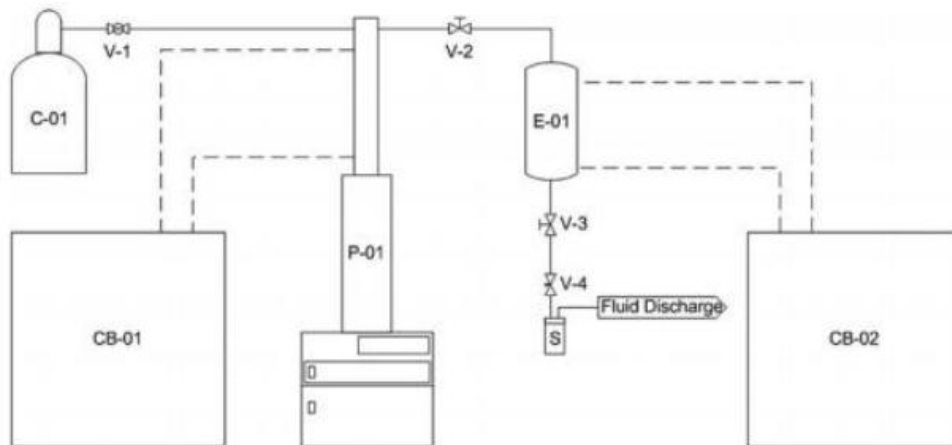
3.3.2 Extração com Propano Comprimido

Os experimentos de extração foram realizados na unidade de extração supercrítica do Laboratório de Cinética e Termodinâmica Aplicada (LACTA), da Universidade Federal do Paraná.

A obtenção do óleo de sementes do maracujá-doce e do maracujá azedo foi realizada em um extrator batelada (0,08 m³ de volume interno, $L = 0,16$ m, $\varnothing = 2,52 \times 10^{-2}$ m), com controle de temperatura e pressão. O sistema é composto por um extrator encamisado para controle de temperatura, um banho ultratermostatizado, uma válvula agulha para controle de fluxo na saída do extrator, uma bomba tipo seringa de alta pressão (ISCO, modelo 500D, Lincoln, NE 68504, USA), uma bomba de deslocamento positivo e

sensores e transdutores de pressão e temperatura. O diagrama esquemático da unidade de extração experimental baseado no procedimento de extração realizado por Mesomo (2013) e Correa (2016) é apresentado na Figura 9.

FIGURA 9 - DIAGRAMA DO APARATO EXPERIMENTAL MONTADO EM ESCALA DE LABORATÓRIO PARA A OBTENÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS UTILIZANDO FLUIDOS PRESSURIZADOS E SUPERCRÍTICOS COMO SOLVENTE.



FONTE: MESOMO (2013); CORREA (2016).

C-01: cilindro contendo propano; CB-01 e CB-02: banhos termostáticos de resfriamento e aquecimento, respectivamente; P-01: bomba tipo seringa; V-1: válvula tipo esfera; V-2 e V-3: válvulas tipo agulha; V-4: válvula tipo agulha micrométrica; E-01: extrator; S: armadilha para coleta do extrato; linhas pontilhadas: fluido de troca térmica; linhas contínuas: fluido comprimido de extração + extrato.

Para a determinação da cinética de extração subcrítica, foi usado o solvente propano (White Martins S.A., 99,5 % de pureza na fase líquida). As extrações foram conduzidas em fluxo constante de $2,0 \pm 0,2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ para o fluido testado.

Para cada corrida, o extrator foi carregado com aproximadamente 25 g de semente seca, previamente triturada e acondicionada em cartucho de papel filtro (0,15 x 0,025 m), formando um leito fixo. Os experimentos foram realizados nas temperaturas de 30 e 60 °C e pressão de 2,0 e 8,0 MPa. A matriz ficou em contato com o solvente nas condições de temperatura e pressão requeridas para cada ensaio por um tempo de confinamento de 90 minutos. Após o confinamento, a vazão do solvente foi ajustada para $2,0 \pm 0,2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ e as amostras de óleo foram coletadas a temperatura ambiente em frascos âmbar, em intervalos de 10 minutos, e pesados em balança analítica para a construção das curvas de extração (rendimento x tempo). O tempo total de processo foi de 180 minutos, determinado

de acordo com a capacidade de volume de solvente presente na bomba seringa. As amostras de óleo foram armazenadas protegidas da luz a $-5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.3.3 Extração com Ultrassom (US)

3.3.3.1 Definição da razão ótima de semente:solvente

A razão ótima de semente:solvente (m/v) foi definida a partir de testes preliminares, fixando-se o volume de etanol (Neon, 99,8 %) em 25 mL e variando a massa de sementes nas razões 2%, 5%, 10%, 15% e 20%. As amostras de sementes previamente trituradas em processador foram adicionadas em *vials* de 50 mL e misturadas ao solvente, nas razões pré-estabelecidas. A extração assistida por ultrassom foi realizada inserindo os *vials* contendo amostra e solvente em um banho ultrassônico (Eco-sonics, Q 5.9/37A) com potência de 165 W e frequência de 37 kHz, mantido a 30 °C por 30 minutos. Após o período de extração as amostras foram filtradas (papel filtro Whatman N° 1), o excesso de solvente foi evaporado em rotaevaporador (IKA[®], HB 10, Alemanha) a 70 °C e 450 mmHg e mantida em estufa com circulação de ar a 65 °C até peso constante. O rendimento foi calculado como a razão entre a massa extraída de óleo e a massa de semente utilizada.

3.3.3.2 Avaliação da influência da temperatura no rendimento da extração

Definida a razão ótima de massa de semente:volume de solvente, foram realizados dois experimentos a fim de identificar a influência da temperatura no rendimento da extração do óleo. O processo de extração foi conduzido conforme descrito no item 3.3.3.1, utilizando-se a razão ótima de semente:solvente e alterando-se as condições de processo para 30 °C e 60 °C e as amostras foram retiradas nos tempos 0,5, 1, 5, 15, 30, 45 e 60 minutos para a avaliação da extração de óleo ao longo do tempo. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.3.3.3 Parâmetros utilizados na extração do óleo por US para comparação com as outras técnicas de extração

Após a avaliação dos resultados obtidos nos testes realizados no item 3.3.3.2, foram definidos os parâmetros de processo (60 °C e 60 min) utilizados para a comparação com as outras técnicas de extração estudadas neste trabalho. O procedimento descrito no

item 3.3.3.1 foi repetido nessas condições visando a obtenção de óleo para as análises. As amostras foram armazenadas conforme procedimento descrito no item 3.3.1.

3.4 ANÁLISES DOS ÓLEOS EXTRAÍDOS DAS SEMENTES

3.4.1 Características físico-químicas

A densidade dos óleos foi medida utilizando um densímetro DMA 5000 M (Anton Paar, Áustria) em temperaturas variando de 20 °C a 40 °C com intervalos de 5 °C. O índice de refração foi medido a 20 °C e 40 °C em um refratômetro de Abbé (Biobrix, modelo 2WAJ). Os índices de acidez, de iodo e ácido graxo livre foram determinados de acordo com o método da *Association Official Analytical Chemists* - AOCS (1990). O índice de acidez foi determinado por titulação com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ e fenolftaleína como indicador. O índice de iodo (IV) foi quantificado a partir da composição de ácidos graxos insaturados obtidos pela análise por cromatografia gasosa detecção por ionização de chama. A equação utilizada foi:

Índice de iodo (g I₂.100 g⁻¹) = (% ácido palmitoléico x 0,950) + (% ácido oléico x 0,860) + (% ácido linoléico x 1,732) + (% ácido linolênico x 2,616)

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.4.2 Tocoferóis

Os tocoferóis foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Tasioula-Margari e Okogeri (2001), com algumas modificações. Esta metodologia já havia sido utilizada em outro trabalho do grupo de pesquisa (COELHO, 2015; COELHO et al., 2015).

500 mg de óleo foram adicionados a 10 mL de metanol (Panreac, 99,9% de pureza) e o *vial* contendo a mistura foi inserido em um banho ultrassônico (Eco-sonics, Q 5.9/37A) com potência de 165 W e frequência de 37 kHz por 5 minutos. A fase sobrenadante foi coletada e a extração foi repetida mais duas vezes. As fases sobrenadantes coletadas foram reunidas e o solvente foi removido em rotaevaporador

(IKA[®], HB 10, Alemanha) a 40 °C e 450 mmHg. O material extraído foi dissolvido em 1 mL de uma mistura de metanol:isopropanol (80:20, v/v) e sua composição em tocoferol foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência.

Foi utilizado um cromatógrafo marca Agilent modelo 1200 Series (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) equipado com desgaseificador a vácuo, bomba quaternária, sistema automático de injeção líquida e detector de arranjo de diodos (DAD). A análise dos dados foi realizada com um software Agilent HPLC EZChrom Elite.

Vinte microlitros da amostra foram injetados em uma coluna Kinetex-C18 (Phenomenex, CA, USA) de 4,6 mm x 150 mm, com partículas de 5 µm. A separação cromatográfica foi realizada por eluição isocrática de fase móvel constituída de metanol e isopropanol (90:10, v/v) com fluxo de 1 mL.min⁻¹. O comprimento de onda utilizado foi de 292 nm. O tempo total de corrida foi de 7 minutos.

Os tocoferóis foram identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões puros, analisados nas mesmas condições das amostras. A quantificação de cada isômero foi realizada por padronização externa com base nas áreas dos picos, utilizando padrões de α-, γ-, e δ-tocoferol (Sigma-Aldrich) com grau de pureza superior a 99 %, em soluções padrão de 0,5 - 50 mg.L⁻¹. As análises foram realizadas em triplicata e os teores de cada tocoferol foram expressos como mg por 100 g de óleo (mg.100g⁻¹).

3.4.3 Ácidos graxos

A composição em ácidos graxos dos óleos extraídos das sementes foi determinada a partir da esterificação prévia das amostras, de acordo com o método da AOAC 996.06 (AOAC, 1997).

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos presentes nos óleos foram identificados de acordo com o método oficial Ce 2-66 (AOCS, 1998) por cromatografia em fase gasosa, utilizando um cromatógrafo a gás marca Varian (Santa Clara, CA 95051, USA), modelo CP 3900, equipado com detector de ionização de chama e amostrador automático. Os compostos foram separados em coluna capilar de sílica fundida (CP-SIL 88 CB) de 100 m de comprimento, com diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,2 µm.

A programação de temperatura da coluna foi iniciada em 140 °C por 40 minutos, aquecida a 2 °C.min⁻¹ até 240 °C e mantida nesta temperatura para a análise. As temperaturas utilizadas no injetor e no detector foram 260 °C e 300 °C, respectivamente.

As amostras foram injetadas adotando-se a razão de divisão de 1:100. O gás de arraste foi o nitrogênio (White Martins S.A., P.A., grau cromatográfico) com velocidade linear de 2.0 mL.min⁻¹.

Os ácidos graxos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção de padrões puros de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco, MIX FAME 37, St. Louis, MO 63103, USA) com os componentes separados das amostras e a quantificação foi feita por normalização de área (%).

As análises para a determinação dos ácidos graxos foram realizadas em duplicata e os resultados foram apresentados como a média (\pm desvio padrão).

3.4.4 Atividade Antioxidante *in vitro*

3.4.4.1 Capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

A atividade de sequestro do radical DPPH dos óleos foi medida de acordo com o procedimento descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com mínimas modificações.

Uma alíquota de 100 mg de óleo diluída em isopropanol (100 mg.mL⁻¹) foi misturada a 230 μ L da solução metanólica de DPPH 60 μ mol.L⁻¹ e mantida protegida da luz por 30 minutos. A absorvância (Abs) foi medida a 515 nm em um leitor de microplacas (Synergy HT-BioTek, Winooski, VT, USA). Metanol foi utilizado como controle negativo (branco). Os valores de absorvância obtidos foram convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (AA), sendo então a capacidade de sequestro do radical DPPH calculada de acordo com a equação:

$$AA (\%) = [1 - (Abs_{amostra}/A_{controle})] \times 100$$

onde Abs_{controle} é a absorvância do controle e Abs_{amostra} é a absorvância da mistura amostra + DPPH.

Uma curva padrão foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox (2-200 μ mol.L⁻¹) e os resultados foram expressos em μ mol de equivalente de Trolox por g de óleo (μ mol TE.g⁻¹). As determinações foram realizadas em triplicata.

3.4.4.2 Método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

A habilidade dos antioxidantes presentes no óleo em capturar o radical 2,2'-azino-bis(3-etilbenzenotiazolina- 6-sulfônico) (ABTS) foi medida de acordo com a metodologia descrita por Re et al. (1999), com pequenas modificações.

O radical ABTS foi formado pela reação da solução ABTS 7mM com a solução de persulfato de potássio 2,45 mM. A mistura foi mantida a temperatura ambiente e na ausência de luz por 16 horas e no momento do uso, diluído com etanol até a obtenção do valor de absorbância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. Uma alíquota de 100 mg de óleo diluída em isopropanol (100 mg.mL^{-1}) foi misturada a 230 μL da solução ABTS. A absorbância foi medida a 734 nm em um leitor de microplacas (Synergy HT-BioTek, Winooski, VT, USA) no tempo de 6 minutos após a adição da amostra. Uma curva padrão foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox ($2\text{-}200 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1}$) e os resultados foram expressos em μmol de equivalente de Trolox por g de óleo ($\mu\text{mol TE.g}^{-1}$). As determinações foram realizadas em triplicata.

3.4.4.3 Poder Antioxidante de redução do ferro (FRAP)

O potencial antioxidante total das amostras de óleos foi determinado utilizando o poder de redução do ferro (FRAP) de acordo com o método proposto por Benzie e Strain (1996), com pequenas modificações.

A medida é baseada no poder de redução dos antioxidantes presentes nos óleos, no qual um potencial antioxidante reduz o íon férrico (Fe^{3+}) para o íon ferroso (Fe^{2+}), formando um complexo azul ($\text{Fe}^{2+}/\text{TPTZ}$), no qual aumenta a absorção a 593 nm. Resumidamente, 100 mg de óleo foi diluída em isopropanol (100 mg.mL^{-1}) e 20 μL dessa solução foi misturada a 230 μL do reagente de FRAP (mistura do tampão acetato (300 mM, pH 3,6), com uma solução de 10 mM de tripiridil-s-triazina (TPTZ) em 40 mM HCl e 20 mM $\text{FeCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$ na proporção de 10:1:1 (v/v/v)). A absorbância foi medida a 593 nm após 30 min em um leitor de microplacas (Synergy HT-BioTek, Winooski, VT, USA). Uma mistura de 230 μL do reagente de FRAP e 20 μL de água destilada foi utilizada como branco. Uma curva padrão foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox ($2\text{-}200 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1}$) e os resultados foram expressos em μmol de equivalente de Trolox por grama de óleo ($\mu\text{mol TE.g}^{-1}$). As determinações foram realizadas em triplicata.

3.4.5 Análise Termogravimétrica dos óleos

A estabilidade térmica dos óleos foi determinada em um analisador termogravimétrico TGA 4000, Perkin-Elmer – Pyris (Shelton, USA). Amostras de $5,0 \pm 0,5$ mg de óleo foram colocadas em uma panela de platina, que foi inserida no compartimento de amostras do equipamento. Esse sistema foi submetido a uma faixa de temperatura de 30 a 650 °C a uma taxa de aquecimento constante de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, usando ar sintético como gás de purga (White Martins S.A., 99,9 % pureza e composição de $20 \pm 0,5 \%$ O_2 e $80 \pm 0,5 \%$ N_2) e fluxo de $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

3.4.6 Atividade Antimicrobiana *in vitro*

3.4.6.1 Microrganismos testados

A atividade antimicrobiana dos óleos de semente de maracujá doce e de maracujá azedo orgânico foi testada contra quatro bactérias: duas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Bacillus cereus* ATCC 11778) e duas Gram-negativas (*Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella enteritidis* ATCC 13076). Os microrganismos foram fornecidos pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Curitiba (*E. coli* e *S. aureus*), pelo Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná (*B. cereus*) e pelo Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz (*S. enteritidis*). Esses microrganismos patogênicos foram escolhidos devido a sua ocorrência comum em vários alimentos. As bactérias foram incubadas em caldo tríptico de soja (TSB) por 24 h a 37 °C e após mantidas em ágar tríptico de soja (TSA) a 4 °C.

3.4.6.2 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)

A atividade antimicrobiana foi avaliada através da determinação da concentração mínima inibitória (CMI), pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com o protocolo descrito por Wiegand, Hilpert e Hancock (2008). As culturas de *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. aureus* e *B. cereus* foram incubadas por 24 h a 37 °C em placa contendo ágar. A

suspensão bacteriana (inóculo) foi diluída em solução salina estéril 0,9% (concentração inicial de 10^8 Unidades Formadoras de Colônia - UFC/mL) e subsequentemente em caldo Mueller-Hinton (MH) até densidade final de 10^6 UFC/mL, ajustada por comparação com a escala 0,5 McFarland. As análises foram realizadas utilizando microplacas esterilizadas de 96 poços. A maior concentração testada foi óleo puro (1000 mg/mL – 100%). Uma solução inicial de óleo foi preparada com 50 μ L de caldo MH e 50 μ L da amostra a ser testada (500 mg/mL – 50%) e a partir desta foram feitas diluições (1:1) em série até atingir concentração final de 1,95 mg/mL (0,195%). A última etapa consistiu na adição de 50 μ L da suspensão bacteriana (previamente diluída em caldo MH; suspensão contendo $1,0 \times 10^5$ UFC/mL). A fim de avaliar se houve contaminação do caldo, a última coluna da microplaca recebeu apenas 100 μ L de caldo MH e foi considerada como controle de esterilidade. Para confirmar o crescimento da bactéria, a penúltima coluna da microplaca recebeu somente 50 μ L de caldo MH e 50 μ L da suspensão bacteriana e foi considerada como controle de crescimento. As microplacas foram incubadas a 37 °C de 18 a 20 horas.

O cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) foi utilizado para avaliar a mudança de coloração do meio. Esse corante é incolor na forma oxidada e vermelho quando reduzido por microrganismos, devido a formação de formazano. Os antibióticos utilizados como referência foram a amoxicilina e a cefalexina (concentração inicial de 64 mg/L). As análises foram realizadas em duplicata. A CMI foi definida como a menor concentração dos óleos que inibiu o crescimento bacteriano, e os resultados foram expressos em (%).

3.5 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey (HSD), utilizado para identificar diferenças entre médias e considerando valor de p menor que 0,05 ($p < 0,05$) como estatisticamente significativo. As correlações entre as determinações analíticas foram realizadas a 5% de significância. Foi utilizado o *software* Statística (StatSoft TM. Inc.) versão 10.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERÍSTICAS DAS SEMENTES UTILIZADAS NOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

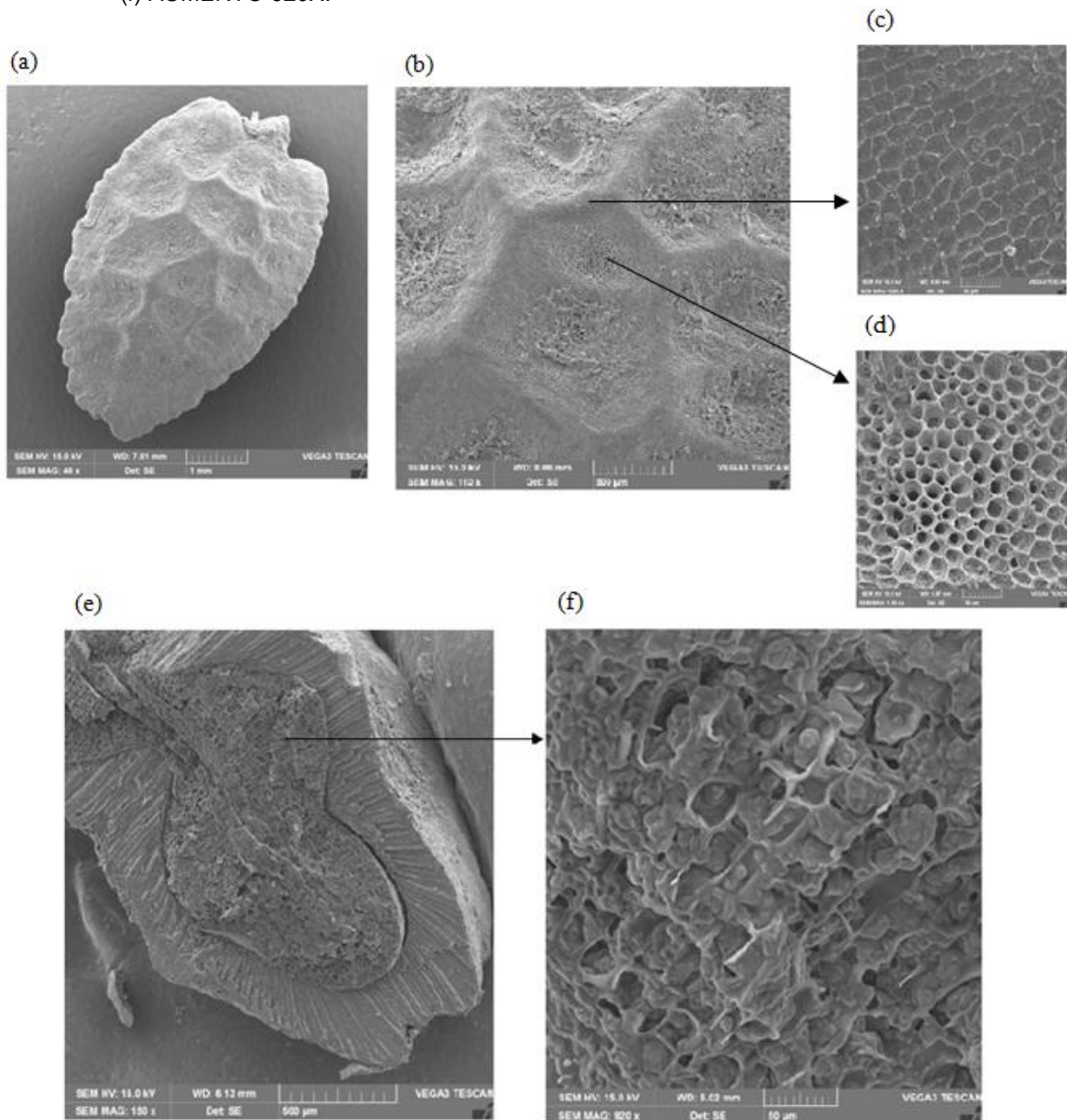
As sementes secas de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos apresentaram teor de umidade de 8,00%. O teor de umidade reportado neste estudo é menor que o valor encontrado por Oliveira et al. (2016) de 8,50% e maior que os valores encontrados por Jorge et al. (2009) de 6,89% e por Silva et al. (2015) de 7,45% para sementes secas de maracujá azedo. No entanto, este valor está dentro do limite recomendado pela legislação para farinhas vegetais, que é de 15% (BRASIL, 2005a), o que garante maior qualidade, pois quanto mais seca a matriz maior é a sua estabilidade microbiológica. Além disso, uma das primeiras etapas do processo de extração utilizando fluidos pressurizados é a redução da umidade da matriz biológica. A água, muito embora seja usada como cosolvente em alguns processos, influi negativamente na extração de várias substâncias tais como as substâncias lipídicas. Em geral, a umidade da matriz biológica não deve ser superior a 18% para flores, folhas e sementes (MEIRELES, 2006). O processo de secagem da semente é importante pois o alto conteúdo de umidade da semente favorece a ação das lipases, que são enzimas que hidrolisam triglicerídeos, reduzindo dessa forma a qualidade do óleo.

O diâmetro médio das partículas utilizadas nos processos de extração foi de $13,61 \times 10^{-4}$ m.

A Figura 10 apresenta as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das sementes secas de maracujá doce orgânico antes dos processos de extração.

A partir das imagens é possível observar o panorama geral da superfície externa e da parte interna da semente. A superfície da semente não é homogênea (Figura 10 (a-d)), o que pode contribuir como uma barreira, dificultando a penetração do solvente. A Figura 10 (e) apresenta a parte interna da semente, onde as células oleosas são evidenciadas (Figura 10 (f)).

FIGURA 10 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS SEMENTES SECAS DE MARACUJÁ DOCE ORGÂNICO ANTES DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO. SUPERFÍCIE DA SEMENTE INTEIRA (a) AUMENTO 46X, (b) AUMENTO 110X, (c) AUMENTO 1000X, (d) AUMENTO 1,00kX E ESTRUTURA INTERNA DA SEMENTE (e) AUMENTO 150X, (f) AUMENTO 920X.



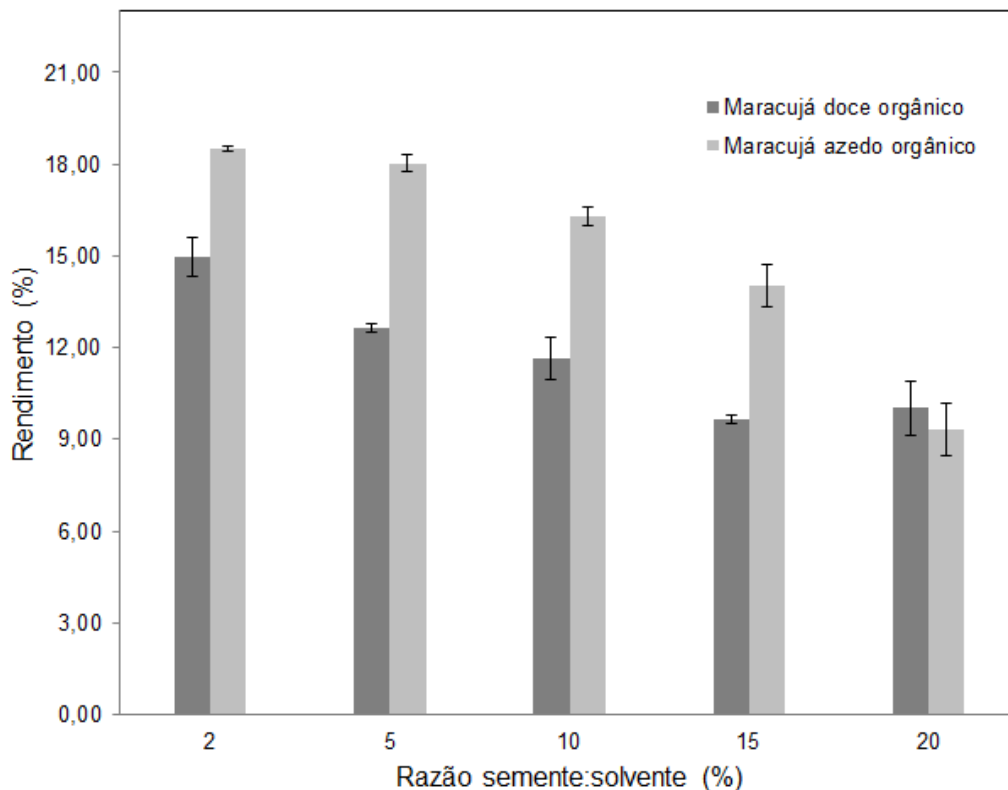
FONTE: O autor (2017).

4.2 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM (US)

4.2.1 Definição da razão semente:solvente (m/v)

A Figura 11 apresenta os resultados dos testes preliminares para identificar a melhor razão massa de semente:volume de solvente (etanol) utilizando a extração assistida por ultrassom. O rendimento médio variou de $9,66 \pm 0,14\%$ a $14,98 \pm 0,64\%$ para o óleo extraído de sementes de maracujá doce orgânico e de $9,33 \pm 0,85\%$ a $18,52 \pm 0,08\%$ para o óleo extraído de sementes de maracujá azedo orgânico, sendo que o maior rendimento para ambas as variedades foi obtido para a razão massa de semente:volume de solvente 1:50 (2%) nos 30 minutos de extração a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

FIGURA 11 - EFEITO DA RAZÃO MASSA DE SEMENTE:VOLUME DE SOLVENTE (M/V) NO RENDIMENTO DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS UTILIZANDO A EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM.



FONTE: O autor (2017).

A extração conduzida com maior volume de solvente resultou em maior rendimento. De acordo com Zhang et al. (2008), uma maior proporção de líquido (solvente)

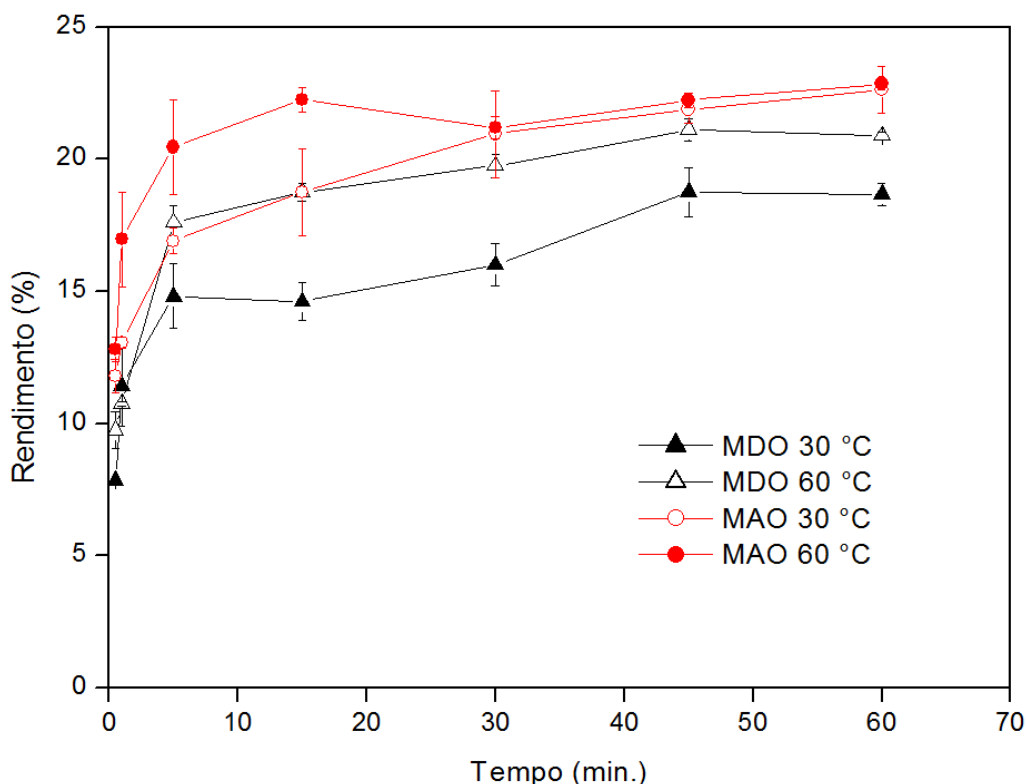
em relação ao sólido promove uma maior diferença de concentração, que minimiza a resistência à transferência de massa.

Dessa forma, a razão massa de semente:volume de solvente de 2% foi utilizada para avaliar o efeito da temperatura no rendimento da extração.

4.2.2 Efeito da temperatura no rendimento da extração

Os rendimentos médios obtidos para a extração do óleo de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos utilizando a extração assistida por ultrassom nas condições de processo de 30 °C e 60 °C, ambas em 60 minutos de extração e razão amostra:solvente (etanol) 1:50 (2%) estão apresentados na Figura 12.

FIGURA 12 - EFEITO DA TEMPERATURA NO RENDIMENTO MÉDIO (%) DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE (MDO) E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS (MAO) UTILIZANDO A EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM.



FONTE: O autor (2017).

Os maiores rendimentos foram obtidos na temperatura de 60 °C em 45 minutos para o óleo de sementes de maracujá doce ($21,10 \pm 0,42\%$) e em 60 minutos para o óleo de sementes de maracujá azedo ($22,84 \pm 0,21\%$). Não houve diferença significativa ($p > 0,05$)

entre o rendimento obtido em 45 minutos ($21,10 \pm 0,42\%$) e 60 minutos ($20,90 \pm 0,15\%$) de extração do óleo de sementes de maracujá doce orgânico. O rendimento aumentou com o tempo, especialmente nos primeiros 5 minutos de extração onde a taxa de extração foi maior, se tornando mais lenta entre 45 e 60 minutos de processo. Isso pode ser atribuído ao fato de que a extração ocorre em dois estágios; o primeiro que é caracterizado por uma rápida taxa, envolve a penetração do solvente na estrutura celular seguida da dissolução dos constituintes solúveis no solvente, enquanto que a segunda etapa envolve a difusão dos constituintes solúveis através da estrutura porosa da fração sólida e sua transferência para a solução (GOULA, 2013).

O rendimento do óleo de sementes de maracujá doce orgânico variou de 7,85% para 18,67% durante os 60 minutos de extração a 30 °C. A 60 °C, o rendimento aumentou de 9,75% para 20,89%. Para o óleo de sementes de maracujá azedo orgânico foi de 11,78% para 22,62% a 30 °C e 12,80% para 22,84% na extração com temperatura de 60 °C. Portanto, para as duas variedades a extração em temperatura de 60 °C proporcionou os maiores rendimentos. O aumento da temperatura favorece um maior rendimento em óleo, pois aumenta a solubilidade e difusividade mássica entre a amostra e o solvente (ZHANG et al., 2008).

A partir destes resultados, adotou-se a temperatura de 60 °C e o tempo de 60 minutos para a obtenção de óleos de ambas as variedades de maracujá utilizando a extração assistida por ultrassom. O rendimento e as características dos óleos obtidos nessa condição de processo foram comparados com os demais métodos de extração estudados neste trabalho.

4.3 RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES

A Tabela 4 apresenta as condições experimentais aplicadas na obtenção dos óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos e o rendimento obtido em cada processo.

O rendimento foi calculado como a massa de óleo obtida pela massa de material seco utilizada no início da extração. Na extração com propano comprimido, o rendimento da extração foi calculado no final do tempo de extração (180 min) para permitir a comparação direta entre os resultados nas diferentes condições experimentais.

TABELA 4 - CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E RENDIMENTOS DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS EXTRAÍDOS COM PROPANO COMPRIMIDO, SOXHLET UTILIZANDO HEXANO E ETANOL COMO SOLVENTES E EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM COM ETANOL COMO SOLVENTE.

| Método | Solvente | Parâmetros do processo | Tempo (min) | Rendimento ¹ (%) | | Recuperação ² (%) | |
|----------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------|-----------------------------|--------------|------------------------------|--------|
| | | | | MDO | MAO | MDO | MAO |
| ³ Soxhlet | <i>n</i> -Hexano ⁴ | Ponto ebulição ⁷ | 240 | 28,33 ± 1,60 | 26,12 ± 0,74 | 100,00 | 100,00 |
| | Etanol ⁴ | Ponto ebulição ⁸ | 240 | 22,19 ± 1,65 | 20,46 ± 1,36 | 78,33 | 78,33 |
| ³ US | Etanol ⁵ | 60 °C | 60 | 20,96 ± 0,37 | 21,28 ± 0,33 | 73,99 | 81,47 |
| PC | Propano ⁶ | 30 °C; 2 MPa | 180 | 23,32 | 24,63 | 82,32 | 94,30 |
| | | 30 °C; 8 MPa | 180 | 23,39 | 24,68 | 82,56 | 94,49 |
| | | 60 °C; 2 MPa | 180 | 23,68 | 24,35 | 83,59 | 93,22 |

NOTA:

¹ (Massa de extrato dividida pela massa de material seco) × 100.

² (Massa de extrato obtida na extração com propano no final do tempo total de extração dividida pela massa de extrato obtido com *n*-hexano) × 100.

³ Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 3).

Razão semente:solvente: ⁴ 5%, ⁵ 2% e ⁶ 7% (estimada a partir do volume de propano utilizado nas extrações). Ponto de ebulição: ⁷ 68 °C e ⁸ 78,37 °C.

MDO = Maracujá Doce Orgânico; MAO = Maracujá Azedo Orgânico; US = Ultrassom; PC = Propano Comprimido.

Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes entre si (p < 0,05).

Letras iguais na mesma linha representam resultados estatisticamente iguais entre si (p > 0,05).

A extração com *n*-hexano realizada na temperatura de ebulição do solvente por 4 h possibilitou os maiores rendimentos (28,33 ± 1,60% para o maracujá doce e 26,12 ± 0,74% para o maracujá azedo). A extração em Soxhlet utilizando etanol como solvente e conduzido nas mesmas condições de tempo e temperatura resultou no menor rendimento (20,46 ± 1,36%), quando comparado com as demais extrações. Os rendimentos obtidos utilizando a extração assistida por ultrassom e etanol como solvente foi de 20,96 ± 0,37% e 21,28 ± 0,33% para os óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos, respectivamente.

O índice de polaridade do *n*-hexano é 0,0 e do etanol 5,2 (BYERS, 2003). Os maiores rendimentos foram obtidos com solvente de índice de polaridade baixa (*n*-hexano), e as extrações com o solvente de maior polaridade (etanol) apresentaram os menores rendimentos, sugerindo que as matrizes estudadas apresentam menor concentração de compostos polares ou que a extração destes compostos não foi eficiente nas condições de processo e solvente utilizados.

Comparando as técnicas de Soxhlet e ultrassom com o mesmo solvente, a primeira apresentou maiores rendimentos. Na extração em Soxhlet a amostra permanece boa parte

do tempo imersa no solvente, ocorrendo sifonagens intermitentes que renovam o líquido constantemente, mantendo cada vez maior o gradiente de concentração de óleo entre solvente e amostra, que possibilita a solubilização do óleo (BRUM; ARRUDA; REGITANO-d'ARCE, 2009). Além disso, na extração em Soxhlet, realizada na temperatura de ebulição do solvente, a tensão superficial e a viscosidade do solvente são reduzidas quando comparadas as extrações realizadas em temperatura inferior (MARKOM et al., 2007), como é o caso da extração com ultrassom. Isso contribui para que o solvente solubilize maior quantidade de solutos, o que justifica o maior rendimento obtido. Por outro lado, é importante ressaltar que a extração assistida por ultrassom ocorreu em tempo inferior (60 min), comparado a extração em Soxhlet (240 min). Na extração com ultrassom a agitação intensa do solvente aumenta o contato e a interação entre solvente e soluto, aumentando a transferência de massa e a solubilidade, melhorando o rendimento de extração.

O maior rendimento em óleo utilizando propano como solvente (24,68%) e terceiro maior rendimento geral, foi obtido na pressão de 8 MPa e temperatura de 30 °C, que corresponde ao maior valor de pressão e menor valor de temperatura testados. A densidade do propano a 8 MPa e 30 °C é $504,11 \text{ kg.m}^{-3}$ (LINSTROM; MALLARD, 2016), maior que a densidade crítica do propano (220 kg.m^{-3}). Dessa forma, o rendimento de extração foi maior provavelmente devido ao fato de que, nessas condições, a densidade do propano é maior que as demais combinações de pressão e temperatura aplicadas neste estudo, resultando em maior solubilidade do extrato e em altas taxas de transferência de massa, além de demonstrar um discreto efeito positivo da pressão no processo de extração.

É possível observar que em condição isotérmica (Tabela 4) o rendimento aumenta sutilmente com o aumento da pressão. De acordo com Brunner (1994), a massa específica do solvente é o fator predominante no rendimento da extração, ou seja, o rendimento aumenta devido ao aumento no poder de solvatação do fluido com a pressão. Em condição isobárica (Tabela 4) observou-se um efeito antagônico do aumento da temperatura no rendimento dos óleos dos diferentes maracujás: o rendimento aumentou com o aumento da temperatura na extração do óleo de sementes de maracujá doce e diminuiu para o maracujá azedo. De acordo com Queiroz (1993), a influência da temperatura na solubilidade é determinada pela combinação de dois efeitos: a densidade do solvente e a pressão de vapor do soluto. Um aumento na temperatura provoca uma elevação na pressão de vapor do soluto, o que aumenta sua solubilidade no solvente. Por outro lado, provoca também a redução da densidade do solvente, e conseqüentemente a diminuição

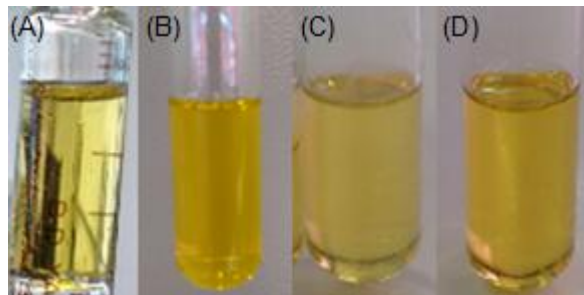
da solubilidade. O efeito dominante dependerá da predominância de um efeito sobre o outro. Como estes efeitos sobre a solubilidade do soluto no fluido são antagônicos, a influência da temperatura é considerada complexa (JAHN, 2004).

O experimento conduzido a 2 MPa e 30 °C (densidade 487,53 kg.m⁻³) também possibilitou alto rendimento na extração do óleo de sementes de maracujá azedo orgânico (24,63%). O mesmo não foi observado na extração do óleo de sementes de maracujá doce, onde nesta condição obteve-se o menor rendimento (23,32%) dentre as extrações com propano comprimido.

Assumindo que a extração em Soxhlet com *n*-hexano recuperou todo o óleo das sementes, a melhor condição do processo de extração com propano comprimido em termos de rendimento global (23,68% - 60 °C; 2 MPa para o maracujá doce e 24,68% - 30 °C; 8 MPa para o maracujá azedo) atingiram uma recuperação de 83,59% e 94,49%, respectivamente (Tabela 4).

O aspecto dos óleos obtidos na extração com propano comprimido é apresentado na Figura 13.

FIGURA 13 - ASPECTO DO ÓLEO OBTIDO NA EXTRAÇÃO COM PROPANO COMPRIMIDO: (A) MDO 2MPa-30 °C; (B) MAO 2MPa-30 °C; (C) MAO 8MPa-30 °C e (D) MAO 2MPa-60 °C.



FONTE: O autor (2017).

As curvas da cinética de extração do óleo de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo utilizando as condições descritas na Tabela 4 com propano como solvente são apresentadas nas Figuras 14 e 15, respectivamente.

A partir das curvas (Figura 14) pode-se notar que na condição de 60 °C e 2 MPa a taxa de extração inicial foi maior quando comparada as demais condições testadas, assim permanecendo até o final do processo.

FIGURA 14 - CURVAS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE ORGÂNICO UTILIZANDO PROPANO COMO SOLVENTE.

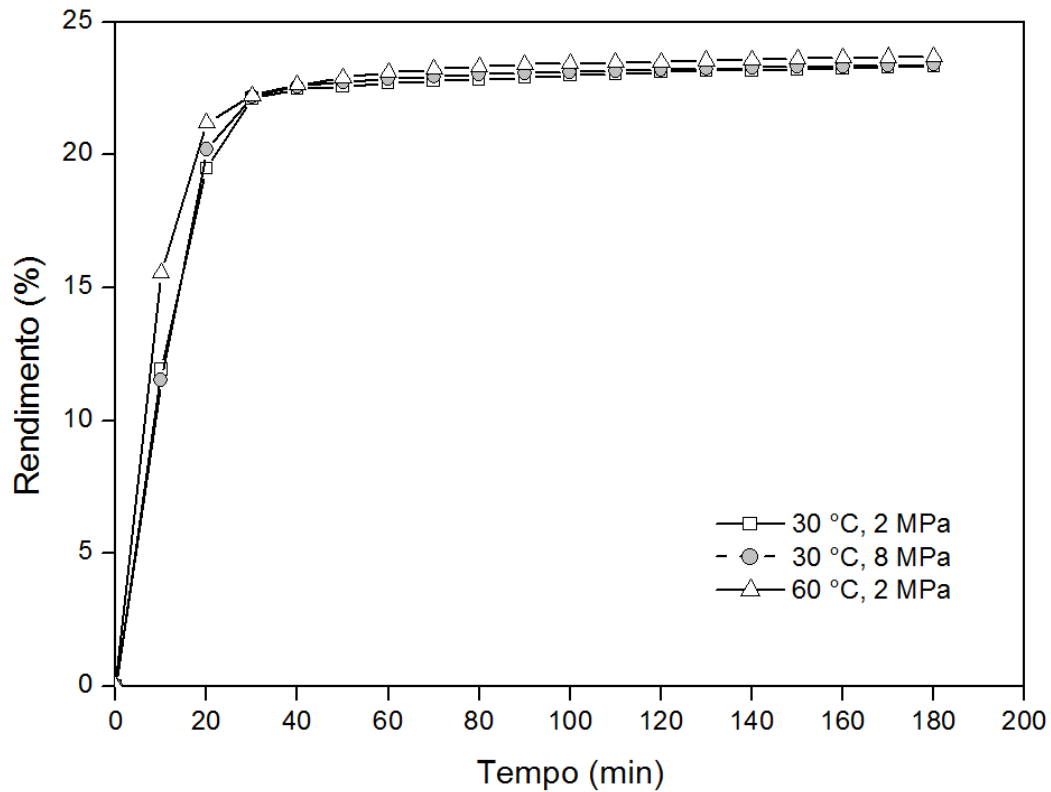
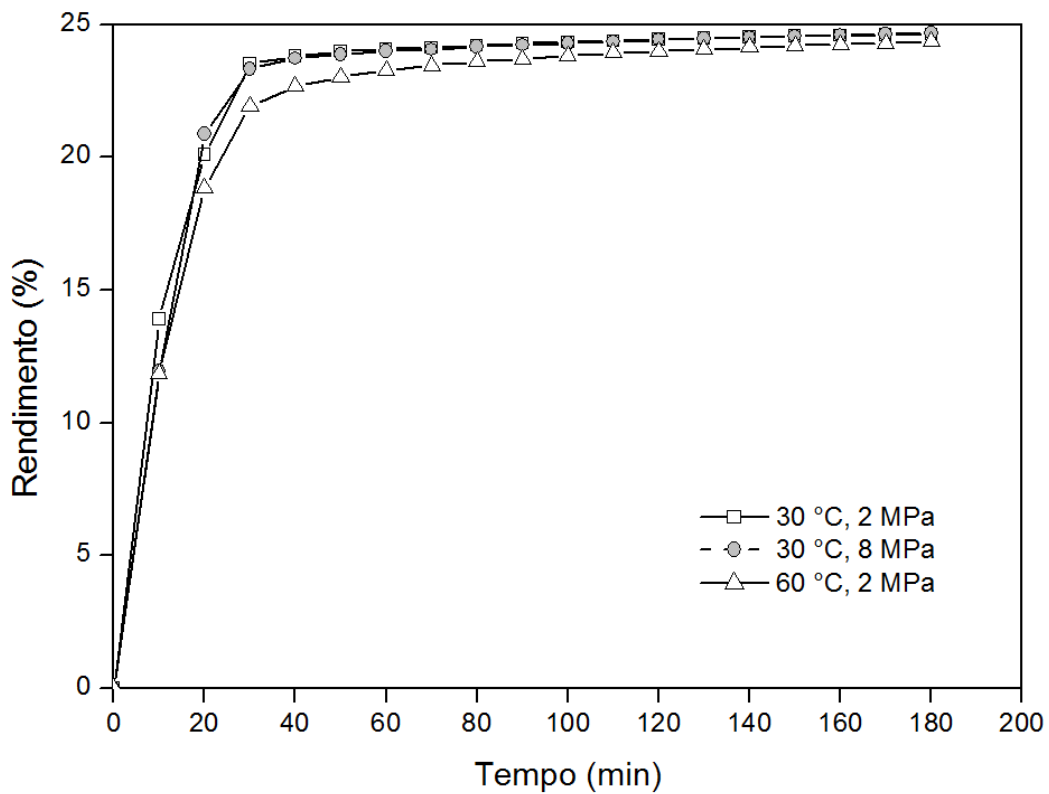


FIGURA 15 - CURVAS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICO UTILIZANDO PROPANO COMO SOLVENTE.



FONTE: O autor (2017).

O contrário foi observado na extração do óleo de sementes de maracujá azedo orgânico, nesta mesma condição (60 °C e 2 MPa) (Figura 15). Ainda na figura 15, as curvas utilizando propano a 30 °C e pressões de 2 MPa e 8 MPa apresentaram comportamento similar, com dados sobrepostos a partir de 40 minutos de extração e rendimentos superiores em relação ao experimento em 60 °C e 2 MPa.

De uma forma geral, a temperatura e a pressão não afetaram de forma expressiva o rendimento de extração. A extração do óleo de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos foi praticamente concluída durante os primeiros 30 minutos do processo, devido à transferência de massa ser facilitada pelo extrato presente na superfície das partículas (SPARKS et al., 2006). Entre 30 e 70 minutos não houve aumento significativo no rendimento de extração, e após esse período a quantidade de óleo extraída aumentou lentamente e assim se manteve até o final do processo. As curvas obtidas mostram o comportamento típico das curvas de extração que utilizam um fluido supercrítico; entretanto, para todos os experimentos o período de taxa decrescente de extração (FER) foi mais curto, pois a maior parte do óleo foi extraído durante o período de taxa de extração constante (CER) (primeiros 30 minutos), e o tempo de extração restante foi basicamente controlado pelo processo de difusão.

A análise das curvas reforça o potencial da extração não convencional utilizando propano comprimido na obtenção de alto rendimento em óleo, uma vez que em 70 minutos o rendimento estava em torno de 23% (Figura 14) e 24% (Figura 15), valores estes maiores que os obtidos na extração assistida por ultrassom em 60 minutos, de aproximadamente 21% (Tabela 4).

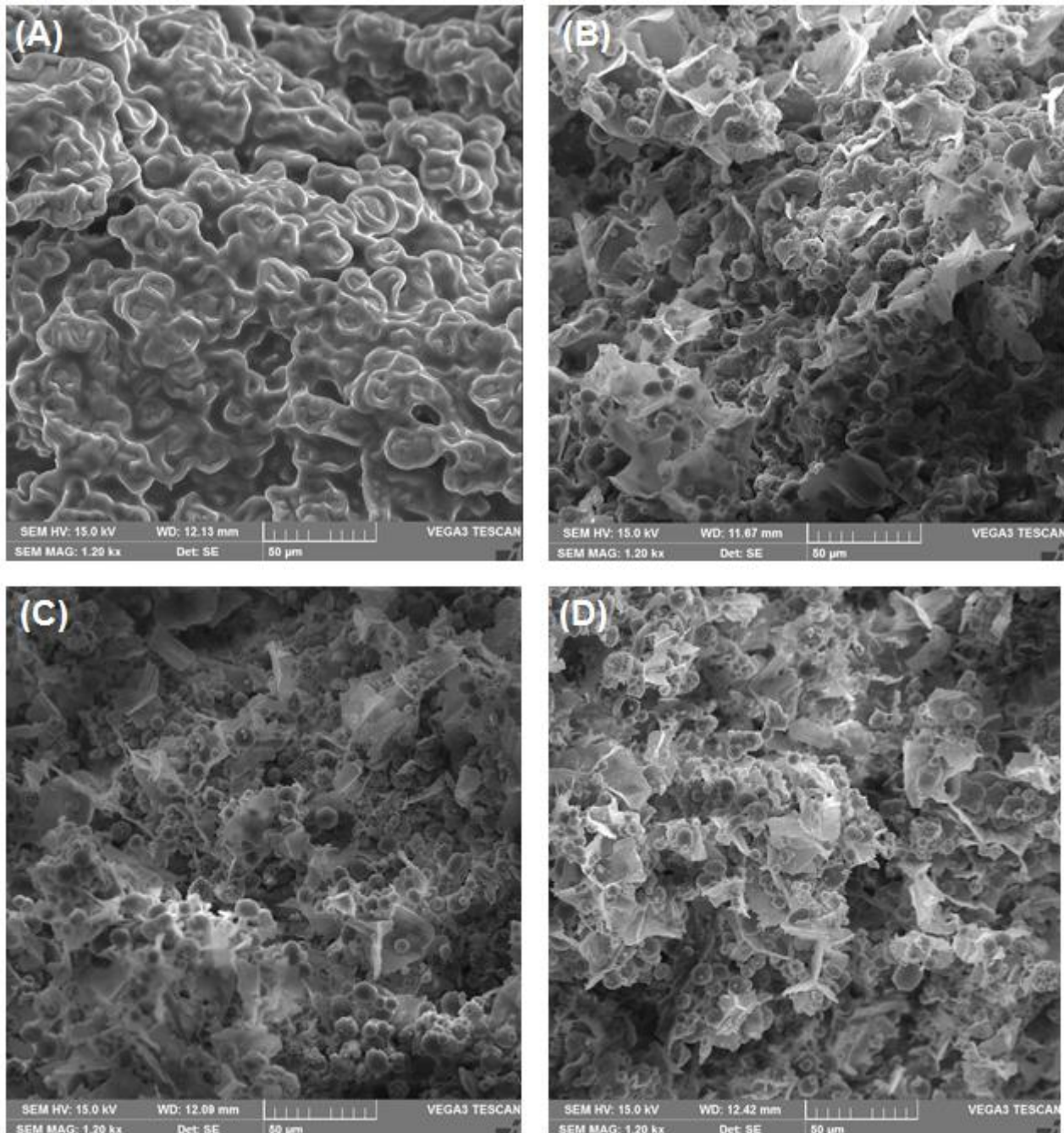
4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As Figuras 16 e 17 apresentam as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das sementes de maracujá azedo orgânico antes e após os processos de extração.

As células oleosas que caracterizam a parte interna da semente são evidenciadas (Figuras 16 e 17 (A)). Essa imagem apresenta um contraste carregado em relação às demais imagens devido à maior quantidade de óleo presente na semente antes da extração. A presença de compostos oleosos na amostra dificulta a condução dos elétrons primários provenientes da fonte de elétrons do microscópio, bem como dos elétrons secundários que atingem o detector e formam as imagens. A má condução dos elétrons

resulta em algumas regiões muito claras e outras mais escuras sobre a amostra, além de diminuir a definição da superfície (BARRALES, 2015).

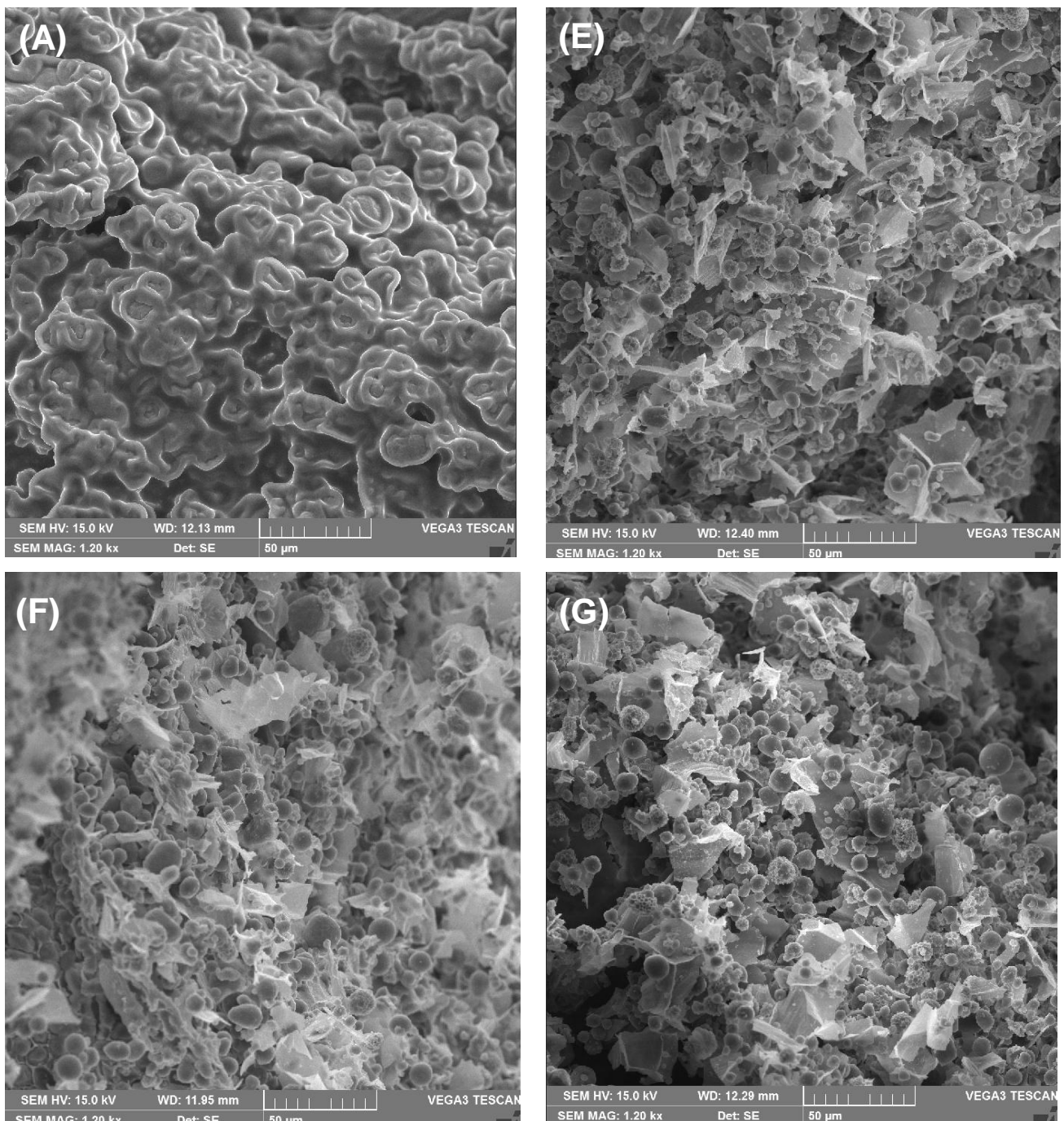
FIGURA 16 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICO: (A) ANTES DA EXTRAÇÃO, (B) APÓS A EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM E APÓS A EXTRAÇÃO EM SOXHLET (C) COM *N*-HEXANO E (D) COM ETANOL. AUMENTO DE 1200X.



FONTE: O autor (2017).

Após os processos de extração as amostras possuem aspecto distinto da semente antes da extração, pois as células oleosas não estão mais tão evidentes e sim a presença de material particulado.

FIGURA 17 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICO: (A) ANTES DA EXTRAÇÃO E APÓS A EXTRAÇÃO COM PROPANO COMPRIMIDO A (E) 8 MPa E 30 °C, (F) 2 MPa E 30 °C E (G) 2 MPa E 60 °C. AUMENTO DE 1200X.



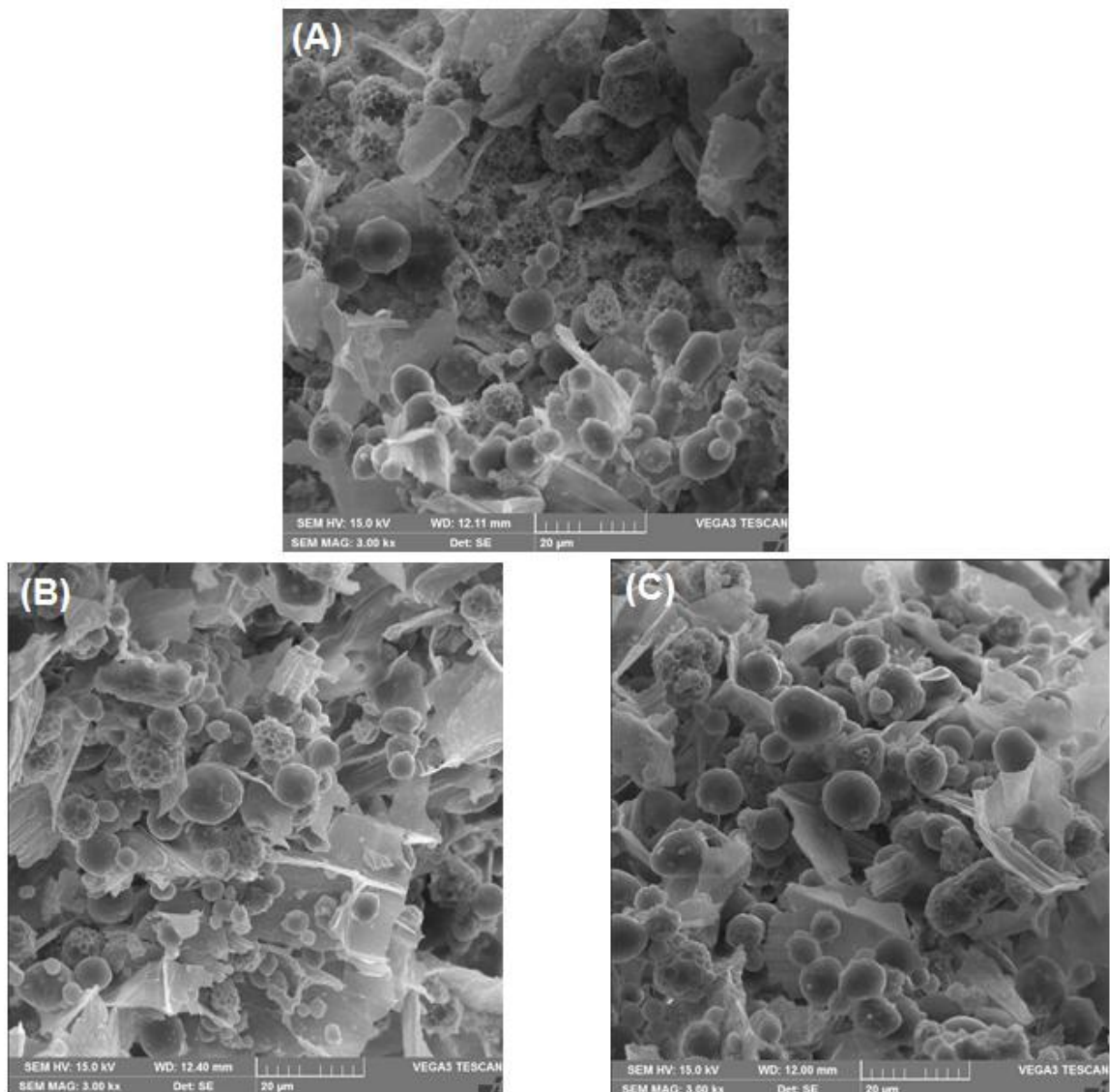
FONTE: O autor (2017).

É possível observar nas imagens das sementes após o processo de extração (Figuras 16 e 17 (B-G)) a presença de um material particulado de diferentes tamanhos, com aspecto característico de material moído/quebrado. Tal fato pode ser explicado pelo processo de trituração das amostras que gera fragmentos bem como pelos processos de

extração que retiram parte do material que constitui a semente (tecido superficial que recobre as sementes trituradas), e se desprendem de sua posição original.

Quando imagens de maior tamanho (barra de escala 20 μm) foram obtidas (Figura 18), observou-se que a redução na quantidade e no tamanho das células oleosas foi mais proeminente nos processos de extração em Soxhlet com *n*-hexano e na extração com propano comprimido a 8 MPa e 30 °C (Figura 18 (A-B)), os processos que geraram maiores rendimentos de extração do óleo (Tabela 4), sendo o contrário observado na amostra após o processo de extração com ultrassom (Figura 18 (C)), que proporcionou o menor rendimento em óleo (Tabela 4).

FIGURA 18 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO APÓS A EXTRAÇÃO: (A) COM *N*-HEXANO, (B) COM PROPANO COMPRIMIDO A 8 MPa E 30 °C E (C) ASSISTIDA POR ULTRASSOM. AUMENTO DE 3000X.



FONTE: O autor (2017).

As imagens demonstraram o intenso efeito que a extração não convencional com propano comprimido exerceu sobre as células oleosas, permitindo maior liberação de óleo dessas estruturas, o que resultou em alto rendimento de extração.

4.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS ÓLEOS

As características físico-químicas dos óleos extraídos de sementes dos maracujás doce e azedo orgânicos são apresentadas na Tabela 5.

O índice de refração de óleos está relacionado com o grau de saturação dos ácidos graxos e é uma variável que pode ser influenciada por processos oxidativos e pelo tratamento térmico (IAL, 1985). Nos óleos analisados o índice de refração a 20 °C variou de 1,4698 a 1,4750 e a 40 °C variou de 1,4637 a 1,4680. Estes valores estão de acordo com os estabelecidos na legislação (40 °C) para óleos convencionais como soja (1,466-1,470), milho (1,465-1,468), algodão (1,458-1,466) e girassol (1,461-1,468) (BRASIL, 2006; CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2008).

O índice de iodo é um método utilizado para quantificar a insaturação presente nos óleos. Neste trabalho o índice de iodo variou de 130,97 g I₂.100g⁻¹ a 137,91 g I₂.100g⁻¹, indicando que os óleos contêm um alto grau de insaturação. Estes resultados estão de acordo com os valores estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* (2008) para o óleo de soja (124 a 139 g I₂.100g⁻¹). Os óleos obtidos de sementes de maracujá doce orgânico apresentaram os maiores índices de iodo, quando comparados aos resultados obtidos para os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico.

A densidade dos óleos estudados em 20 °C variou de 0,90406 g.cm⁻³ a 0,92128 g.cm⁻³. O maior valor (0,92128 g.cm⁻³) e o menor valor (0,90406 g.cm⁻³) de densidade foram obtidos na extração em Soxhlet utilizando *n*-hexano etanol e como solventes, respectivamente. Os valores médios de densidade a 40 °C variaram de 0,89453 (extração com *n*-hexano) a 0,90676 g.cm⁻³ (para o óleo obtido por Soxhlet e etanol como solvente). A densidade diminuiu com o aumento da temperatura.

O índice de acidez e a porcentagem de ácidos graxos livres são importantes parâmetros de controle de qualidade de óleos, pois indicam a degradação causada por reações hidrolíticas. A extração com propano comprimido (30 °C e 8 MPa) apresentou o menor índice de acidez (1,44 ± 0,05 mg KOH/g). O maior índice de acidez (2,93 ± 0,17 mg

KOH/g) foi obtido com a extração em Soxhlet utilizando etanol como solvente. Esse método foi mais agressivo ao óleo, pois além da elevada temperatura o tempo do processo de extração foi maior, o que favoreceu as reações de hidrólise e, como consequência, o aumento do índice de acidez do óleo. O *Codex Alimentarius Commission* (2008) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2005b) determinam como parâmetro de qualidade para óleos brutos uma acidez máxima de 4,0 mg KOH.g⁻¹. Todos os óleos analisados neste estudo apresentaram índice de acidez inferior ao estabelecido na legislação, indicando a boa qualidade dos óleos.

Os resultados da porcentagem de ácidos graxos livres são apresentados na Tabela 5. As porcentagens de ácidos graxos livres variaram de 0,72 ± 0,03% (extração com propano comprimido a 30 °C e 8 MPa) a 1,47 ± 0,09% (extração em Soxhlet com etanol), o que pode ser explicado pelo uso de baixas temperaturas e pelo menor tempo de processo com propano comprimido, o que preservou o óleo, pois baixas porcentagens de ácidos graxos livres indicam baixo desenvolvimento de hidrólise no óleo.

Malacrida e Jorge (2012) estudaram a composição do óleo de sementes de maracujá azedo obtida por Soxhlet e éter de petróleo como solvente, e encontraram valores de índice de acidez de 2,35 mg KOH.g⁻¹ e de ácidos graxos livres de 1,18%, valores estes maiores do que os obtidos neste trabalho para os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico. Al-Khalifa (1996) avaliou as propriedades de óleos de sementes de melancia de diferentes variedades extraídas com clorofórmio:metanol (2:1), e encontrou alto índice de acidez (14,9 mg KOH.g⁻¹) e ácidos graxos livres (7,50%) na variedade *Citrullus lanatus*, o que indica alto grau de lipólise devido a atividade enzimática.

Os resultados físico-químicos obtidos neste estudo confirmam a qualidade dos óleos extraídos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos por diferentes processos e solventes.

TABELA 5 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS.

| Propriedade | | Métodos de Extração e Solvente | | | | | | |
|-----------------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | Soxhlet | | US | | PC | | |
| | | <i>n</i> -Hexano | Etanol | Etanol | 30 °C / 2 MPa | 30 °C / 8 MPa | 60 °C / 2 MPa | |
| Índice de Refração ¹ | (n_D^{20}) | 20 °C (MDO) | 1,4698 ^d | 1,4743 ^b | 1,4743 ^b | 1,4742 ^b | 1,4742 ^b | 1,4730 ^c |
| | | 20 °C (MAO) | 1,4725 ^c | 1,4745 ^{ab} | 1,4750 ^a | 1,4745 ^{ab} | 1,4740 ^b | 1,4745 ^{ab} |
| | (n_D^{40}) | 40 °C (MDO) | 1,4637 ^d | 1,4675 ^{ab} | 1,4678 ^{ab} | 1,4673 ^{ab} | 1,4670 ^b | 1,4677 ^{ab} |
| | | 40 °C (MAO) | 1,4660 ^c | 1,4680 ^a | 1,4680 ^a | 1,4680 ^a | 1,4677 ^{ab} | 1,4675 ^{ab} |
| Índice de iodo ² | $(g I_2 \cdot 100g^{-1})$ | MDO | 136,90 ± 0,17 ^c | 136,85 ± 0,11 ^c | 137,49 ± 0,01 ^{ab} | 137,13 ± 0,38 ^{bc} | 137,90 ± 0,06 ^a | 137,83 ± 0,05 ^a |
| | | MAO | 130,98 ± 0,03 ^f | 135,28 ± 0,03 ^d | 135,15 ± 0,02 ^{de} | 135,31 ± 0,02 ^d | 135,28 ± 0,01 ^d | 134,79 ± 0,36 ^e |
| Densidade ¹ | $(g \cdot cm^{-3})$ | 20 °C (MDO) | 0,90406 ^l | 0,92128 ^a | 0,92105 ^{ab} | 0,91847 ^{de} | 0,91808 ^e | 0,91727 ^f |
| | | 20 °C (MAO) | 0,90836 ^h | 0,92040 ^{bc} | 0,91997 ^c | 0,91634 ^g | 0,91885 ^d | 0,91829 ^{de} |
| | | 25 °C (MDO) | 0,90071 ^h | 0,91805 ^a | 0,91764 ^a | 0,91507 ^{cd} | 0,91467 ^d | 0,91383 ^e |
| | | 25 °C (MAO) | 0,90489 ^g | 0,91699 ^b | 0,91656 ^b | 0,91283 ^f | 0,91544 ^c | 0,91483 ^{cd} |
| | | 30 °C (MDO) | 0,89732 ^h | 0,91480 ^a | 0,91424 ^b | 0,91170 ^d | 0,91132 ^d | 0,91045 ^e |
| | | 30 °C (MAO) | 0,90144 ^g | 0,91358 ^c | 0,91317 ^c | 0,90945 ^f | 0,91181 ^d | 0,91142 ^d |
| | | 35 °C (MDO) | 0,89390 ⁱ | 0,91151 ^a | 0,91084 ^b | 0,90840 ^{de} | 0,90801 ^e | 0,90706 ^f |
| | | 35 °C (MAO) | 0,89800 ^h | 0,91018 ^c | 0,90978 ^c | 0,90628 ^g | 0,90867 ^d | 0,90805 ^e |
| | | 40 °C (MDO) | 0,89048 ^g | 0,90822 ^a | 0,90745 ^b | 0,90511 ^d | 0,90471 ^d | 0,90388 ^e |
| 40 °C (MAO) | 0,89453 ^f | 0,90676 ^c | 0,90641 ^c | 0,90328 ^e | 0,90530 ^d | 0,90474 ^d | | |
| Índice de Acidez ² | $(mg KOH/g \text{ óleo})$ | MDO | 1,99 ± 0,18 ^{bc} | 2,93 ± 0,17 ^a | 2,62 ± 0,05 ^a | 1,51 ± 0,22 ^{cd} | 1,70 ± 0,14 ^{bcd} | 1,93 ± 0,18 ^{bcd} |
| | | MAO | 1,50 ± 0,09 ^{cd} | 2,06 ± 0,16 ^b | 1,52 ± 0,05 ^{cd} | 1,48 ± 0,22 ^d | 1,44 ± 0,05 ^d | 1,51 ± 0,29 ^{cd} |
| Ácidos graxos livres ² | $(\%)$ | MDO | 1,00 ± 0,09 ^{bc} | 1,48 ± 0,09 ^a | 1,32 ± 0,02 ^a | 0,76 ± 0,11 ^{cd} | 0,86 ± 0,07 ^{bcd} | 0,97 ± 0,09 ^{bcd} |
| | | MAO | 0,75 ± 0,04 ^{cd} | 1,03 ± 0,08 ^b | 0,77 ± 0,02 ^{cd} | 0,74 ± 0,11 ^d | 0,73 ± 0,02 ^d | 0,76 ± 0,15 ^{cd} |

NOTA: MDO = Maracujá Doce Orgânico; MAO = Maracujá Azedo Orgânico; US = Extração assistida por Ultrassom; PC = Propano Comprimido

¹ Resultados expressos como média (n = 3). ² Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 3).

Letras diferentes na mesma coluna e na mesma linha para uma mesma análise representam resultados estatisticamente diferentes entre si (p < 0,05).

4.6 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

O perfil de ácidos graxos dos óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos obtidos por diferentes métodos e condições é apresentado na Tabela 6.

A análise do perfil de ácidos graxos revelou uma composição rica em ácidos graxos insaturados para todos os óleos analisados, com médias de 86,04%; 86,01%; 86,16%; 86,31%; 86,35% e 86,36% para os óleos de sementes de maracujá doce orgânico e médias de 84,07%; 86,63%; 86,58%; 86,65%; 86,65% e 86,19% para os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico, obtidos por Soxhlet com *n*-hexano e etanol, ultrassom e propano comprimido a 30 °C-2MPa, 30 °C-8MPa e 60 °C-2MPa, respectivamente (Tabela 6).

A composição média geral de ácidos graxos saturados foi de 13,88%, sendo a maior contribuição (10,86%) do ácido palmítico (C16:0), seguida do ácido esteárico (C18:0) (2,71%). Ácido palmítico é o ácido graxo saturado mais abundante em óleos vegetais (JENSEN, 1996).

Foram identificados 9 ácidos graxos, dentre os quais o ácido linoleico (C18:2 n-6), ácido oleico (C18:1 n-9), ácido palmítico (C16:0) e ácido esteárico (C18:0), detectados em todos os óleos analisados e com participação relevante na composição do perfil de cada óleo (Tabela 6).

Em relação ao ácido linoleico, componente majoritário em todos os óleos, as concentrações obtidas para os óleos de sementes de maracujá doce orgânico foram significativamente maiores ($p < 0,05$) do que as obtidas para os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico, e variaram de 72,00% a 72,89%, sendo o maior percentual obtido na extração com propano comprimido a 30 °C e 8 MPa. Ferreira et al. (2011) encontraram resultados similares na composição de ácido linoleico (72,6%) em óleo de sementes de maracujá azedo extraído com Soxhlet e éter de petróleo por 4 horas. O percentual de ácido linoleico nos óleos obtidos de sementes de maracujá azedo orgânico variou de 66,64% (Soxhlet utilizando *n*-hexano) a 68,99% (propano comprimido a 30 °C e 2 MPa). O resultado obtido com a extração em Soxhlet utilizando *n*-hexano como solvente diferiu significativamente ($p < 0,05$) das demais extrações para este maracujá.

Os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico apresentaram concentrações significativamente maiores ($p < 0,05$) de ácido oléico em relação aos óleos de sementes de maracujá doce orgânico, com valores médios variando de 17,00% (propano comprimido a

60 °C e 2 MPa) a 17,33%, sendo o maior percentual obtido nas extrações com ultrassom e propano comprimido a 30 °C e 8 MPa. Estes resultados foram maiores do que os encontrados no supracitado estudo de Ferreira et al. (2011), de 10,7% de ácido oleico em óleo de sementes de maracujá azedo extraído com Soxhlet e éter de petróleo por 4 horas.

Barrales et al. (2015) estudaram o resíduo industrial contendo uma mistura de sementes e fibra de polpa de maracujá azedo, e encontraram menor quantidade de ácido linoleico (67% e 66,34%) e composição similar em ácido oleico (16,5% e 17,04%), obtidos com a extração em Soxhlet utilizando *n*-hexano como solvente e CO₂ supercrítico com e sem ultrassom, respectivamente.

O ácido graxo linolênico (C18:3 n-3) foi identificado somente nos óleos de sementes de maracujá azedo orgânico. Os óleos extraídos em Soxhlet com etanol (0,36%), ultrassom (0,35%) e com propano comprimido (0,35-0,36%) apresentaram maiores porcentagens. A extração em Soxhlet com *n*-hexano resultou em óleo com menor conteúdo de ácido graxo linolênico (0,32%), resultado este significativamente diferente ($p < 0,05$) dos demais. Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com a porcentagem desse ácido estabelecida pelo *Codex Alimentarius Commission* (2008) para o óleo de girassol, que é de 0,3%. O ácido linolênico é um ácido graxo poli-insaturado ω -3 que desempenha um papel importante na regulação de funções biológicas, prevenção e tratamento de um grande número de doenças em humanos, como doenças no coração e inflamatórias (SHAPIRO, 2003). Outro aspecto importante é que ácidos graxos poli-insaturados são mais susceptíveis à oxidação quando aquecidos. Dessa forma, é fator positivo para óleos submetidos a altas temperaturas conterem pequena quantidade de ácido linolênico.

O ácido behênico (C22:0) foi encontrado somente no óleo de sementes de maracujá azedo orgânico (0,91%) obtido com propano comprimido a 60 °C e 2 MPa. O ácido behênico é pobremente absorvido e aumenta o colesterol total e LDL em seres humanos (CATER; DENKE, 2001). Os ácidos capróico (C6:0) e caprílico (C8:0) foram encontrados em pequenas quantidades e somente no óleo de sementes de maracujá azedo orgânico obtido por Soxhlet e *n*-hexano como solvente. Nos óleos de sementes de maracujá doce orgânico, o destaque é para a presença do ácido palmitoleico (C16:1) que não foi identificado nos óleos de sementes de maracujá azedo orgânico.

A relação entre os ácidos graxos oleico e linoleico dos óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos obtidos por diferentes processos de extração é apresentada na Tabela 7.

Quanto maior a quantidade de ácido linoleico em relação ao oleico, melhor é a qualidade do óleo no sentido de evitar a formação do colesterol ruim (EL-ADAWY; TAHA, 2001). Os maiores valores de ácido linoleico comparados ao oleico foram obtidos nos óleos de sementes de maracujá doce orgânico. A relação ácido oleico/linoleico foi maior (1/5,81) no óleo obtido da extração com propano comprimido a 30 °C e 8 MPa. Malacrida e Jorge (2012) obtiveram relação ácido oleico/linoleico de 1/5,29 para óleo de sementes de maracujá azedo obtido por extração em Soxhlet e éter de petróleo como solvente.

A relação entre o total de ácidos graxos saturados e poli-insaturados é expressa como índice P/S e é um importante parâmetro para a determinação do valor nutricional de certos óleos. Óleos com índice P/S maior que 1 são considerados como tendo valor nutricional (KOSTIK; MEMETI; BAUER, 2013). Além disso, estudos indicam que quanto maior o índice P/S, menor a deposição de gordura no corpo (LAWTON et al., 2000). Os índices P/S dos óleos avaliados neste estudo são apresentados na Tabela 4. Os índices P/S variaram de 5,14 a 5,34 para os óleos de sementes de maracujá doce orgânico e de 4,20 a 5,20 para os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico. Os maiores índices P/S foram obtidos nas extrações com propano comprimido a 30 °C e 8 MPa e 30 °C e 2 MPa, respectivamente. Esses resultados foram similares aos obtidos por Zambiasi et al. (2007) para óleo de girassol.

A qualidade de óleos vegetais é determinada pela composição e quantidade de ácidos graxos insaturados, especialmente pelo conteúdo de ácidos graxos essenciais. Os óleos estudados neste trabalho apresentaram na sua composição os ácidos graxos essenciais: linoleico e α -linolênico, com predominância do primeiro. Os resultados de índice P/S reforçam o potencial de uso dos óleos estudados. Estes óleos podem ser considerados “premium” devido a composição em ácidos graxos insaturados e podem ser utilizados como matéria prima para a produção de margarinas, uma vez que o conteúdo de ácido graxo linoleico é maior que 60%.

De uma forma geral, a composição em ácidos graxos não foi expressivamente afetada pelo método de extração e houve diferenças significativas no perfil de ácidos graxos entre as variedades de maracujá estudadas.

TABELA 6 - PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS (%)² DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS, OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.

| Ácido Graxo | | Métodos de Extração | | | | | | |
|--------------|--|------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Nome Comum | Nome Sistemático | C _{xy} ¹ | Soxhlet | | US | PC | | |
| | | | n-Hexano | Etanol | Etanol | 30 °C / 2MPa | 30 °C / 8 MPa | 60 °C / 2 MPa |
| Capróico | Hexanóico | C6:0 (MAO) | 1,38 ± 0,00 | - | - | - | - | - |
| Caprílico | Octanóico | C8:0 (MAO) | 1,45 ± 0,01 | - | - | - | - | - |
| Palmítico | Hexadecanóico | C16:0 (MDO) | 11,46 ± 0,03 ^a | 11,50 ± 0,00 ^a | 11,29 ± 0,00 ^b | 11,17 ± 0,04 ^c | 11,17 ± 0,01 ^c | 11,18 ± 0,02 ^c |
| | | C16:0 (MAO) | 10,22 ± 0,00 ^f | 10,49 ± 0,00 ^d | 10,49 ± 0,00 ^d | 10,41 ± 0,01 ^e | 10,43 ± 0,01 ^e | 10,46 ± 0,04 ^{de} |
| Palmitoleico | <i>cis</i> -9-Hexadecanóico | C16:1 (MDO) | 1,07 ± 0,02 ^a | 1,10 ± 0,00 ^a | 0,96 ± 0,01 ^{cd} | 1,02 ± 0,01 ^b | 0,93 ± 0,00 ^d | 0,99 ± 0,00 ^{bc} |
| Esteárico | Octadecanóico | C18:0 (MDO) | 2,51 ± 0,02 ^{bc} | 2,50 ± 0,01 ^c | 2,57 ± 0,01 ^b | 2,54 ± 0,05 ^{bc} | 2,48 ± 0,03 ^c | 2,47 ± 0,01 ^c |
| | | C18:0 (MAO) | 2,88 ± 0,00 ^a | 2,87 ± 0,00 ^a | 2,93 ± 0,00 ^a | 2,93 ± 0,00 ^a | 2,92 ± 0,00 ^a | 2,89 ± 0,04 ^a |
| Oleico | <i>cis</i> -9-Octadecenóico | C18:1 (MDO) | 12,93 ± 0,07 ^{bc} | 12,91 ± 0,11 ^{bc} | 12,59 ± 0,01 ^c | 13,25 ± 0,39 ^b | 12,54 ± 0,00 ^c | 12,58 ± 0,00 ^c |
| | | C18:1 (MAO) | 17,11 ± 0,02 ^a | 17,30 ± 0,05 ^a | 17,33 ± 0,02 ^a | 17,31 ± 0,00 ^a | 17,33 ± 0,01 ^a | 17,00 ± 0,33 ^a |
| Linoleico | <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12-Octadecadienóico | C18:2 (MDO) | 72,04 ± 0,15 ^b | 72,00 ± 0,12 ^b | 72,61 ± 0,00 ^a | 72,04 ± 0,42 ^b | 72,89 ± 0,03 ^a | 72,79 ± 0,03 ^a |
| | | C18:2 (MAO) | 66,64 ± 0,04 ^d | 68,97 ± 0,05 ^c | 68,90 ± 0,02 ^c | 68,99 ± 0,01 ^c | 68,97 ± 0,00 ^c | 68,83 ± 0,03 ^c |
| α-Linolênico | <i>Octadecatrienóico</i> | C18:3 (MAO) | 0,32 ± 0,00 ^c | 0,36 ± 0,01 ^{ab} | 0,35 ± 0,00 ^b | 0,35 ± 0,00 ^{ab} | 0,35 ± 0,00 ^{ab} | 0,36 ± 0,00 ^a |
| Behênico | Docosanóico | C22:0 (MAO) | - | - | - | - | - | 0,91 ± 0,00 |

NOTA:

¹ Cx:y, x = número de carbonos e y = número de duplas ligações.

- = não detectado

MDO = Maracujá Doce Orgânico; MAO = Maracujá Azedo Orgânico; US = Ultrassom; PC = Propano Comprimido.

C6:0, C8:0, C18:3 e C22:0 não foram detectados nos óleos de sementes de maracujá doce orgânico. C16:1 não foi detectado nos óleos de sementes de maracujá azedo orgânico.

² Resultados expressos como média ± desvio padrão.

Letras diferentes na mesma linha e coluna para um mesmo ácido graxo representam resultados estatisticamente diferentes entre si (p < 0,05).

TABELA 7 - QUANTIDADE TOTAL (%) DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS, INSATURADOS, MONOINSATURADOS E POLI-INSATURADOS, ÍNDICE P/S¹ E PROPORÇÃO DO TOTAL DE ÁCIDO OLÉICO/LINOLÉICO DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS, OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.

| Ácidos Graxos (Total) | | Métodos de extração | | | | | |
|-------------------------------|-------|---------------------|--------|-----------|--------------------|---------------|---------------|
| | | Soxhlet | | Ultrassom | Propano Comprimido | | |
| | | <i>n</i> -Hexano | Etanol | Etanol | 30 °C / 2MPa | 30 °C / 8 MPa | 60 °C / 2 MPa |
| Saturados | (MDO) | 13,97 | 14,00 | 13,86 | 13,71 | 13,65 | 13,65 |
| Saturados | (MAO) | 15,93 | 13,36 | 13,42 | 13,34 | 13,35 | 14,26 |
| Monoinsaturados | (MDO) | 14,00 | 14,01 | 13,55 | 14,27 | 13,47 | 13,57 |
| Monoinsaturados | (MAO) | 17,11 | 17,3 | 17,33 | 17,31 | 17,33 | 17,00 |
| Poli-insaturados | (MDO) | 72,04 | 72,00 | 72,61 | 72,04 | 72,88 | 72,79 |
| Poli-insaturados | (MAO) | 66,96 | 69,33 | 69,25 | 69,34 | 69,32 | 69,19 |
| Índice P/S ¹ | (MDO) | 5,16 | 5,14 | 5,24 | 5,25 | 5,34 | 5,33 |
| | (MAO) | 4,20 | 5,19 | 5,16 | 5,20 | 5,19 | 4,85 |
| Oléico/Linoléico ² | (MDO) | 1/5,57 | 1/5,58 | 1/5,77 | 1/5,44 | 1/5,81 | 1/5,79 |
| | (MAO) | 1/3,89 | 1/3,99 | 1/3,98 | 1/3,99 | 1/3,98 | 1/4,05 |

NOTA:

MDO = Maracujá Doce Orgânico; MAO = Maracujá Azedo Orgânico.

¹ Índice Poli-insaturados/Saturados.

² Proporção entre o total de ácidos oléico e linoléico.

4.7 COMPOSIÇÃO DE TOCOFERÓIS

O mais importante grupo de antioxidantes naturais presentes em óleos vegetais comestíveis são os tocoferóis (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996). Na Tabela 8 são apresentadas as composições de tocoferóis dos óleos extraídos das sementes dos maracujás doce e azedo orgânico por diferentes métodos de extração.

Todos os óleos apresentaram os isômeros α -, γ - e δ -tocoferol na sua composição. Os isômeros em maior concentração nos óleos das duas variedades de maracujá foram o δ - e o γ -tocoferol, respectivamente. O α -tocoferol apresenta maior atividade biológica como vitamina E, afeta a nutrição humana e aspectos relacionados a saúde, enquanto o δ - e o γ -tocoferol mostram forte atividade antioxidante na semente protegendo componentes como os ácidos graxos (SCHMIDT, POKORNÝ, 2005; TUBEROSO, 2007).

Todos os óleos extraídos de sementes de maracujá azedo orgânico apresentaram concentrações totais de tocoferol significativamente ($p < 0,05$) inferiores aquelas obtidas para os óleos de sementes de maracujá doce orgânico.

As concentrações de tocoferóis totais variaram de 2,98 a 11,14 mg.100g⁻¹. Os óleos de sementes de maracujá doce orgânico obtidos por extração em Soxhlet utilizando *n*-hexano como solvente e por propano comprimido a 60 °C e 2 MPa apresentaram as maiores concentrações de tocoferóis (11,14 mg.100g⁻¹), representando em torno de 73,7% do total de tocoferóis nestes óleos. O δ -tocoferol foi o principal tocoferol encontrado nos óleos de sementes de maracujá doce orgânico, com concentrações de 8,27 e 8,16 mg.100g⁻¹ para a extração em Soxhlet com *n*-hexano e propano comprimido a 60 °C e 2 MPa, concentrações estas significativamente ($p < 0,05$) maiores que as demais.

Os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico obtidos por extração em Soxhlet com *n*-hexano e por propano comprimido a 60 °C e 2 MPa apresentaram as maiores concentrações de tocoferol (8,22 e 5,98 mg.100g⁻¹, respectivamente), sendo que o δ -tocoferol foi o principal tocoferol encontrado nestes óleos obtidos, representando 59,97% e 58,70% do total de tocoferóis. Piombo et al. (2006) obtiveram 52,4% de δ -tocoferol para o óleo extraído de sementes de maracujá azedo (*Passiflora edulis*) convencional pela técnica de extração acelerada por solvente (ASE) utilizando éter de petróleo.

A literatura estabelece que pequena quantidade de δ -tocoferol é encontrada em óleos vegetais (0 a 6% do total). Neste estudo, δ -tocoferol representou até 76,25% do conteúdo total, para o óleo de sementes de maracujá azedo orgânico obtido utilizando

propano comprimido a 30 °C e 8 MPa. Tocoferóis têm a habilidade de inibir a oxidação lipídica em alimentos e em sistemas biológicos. O δ -tocoferol em particular retarda atividades inflamatórias e são potencialmente úteis contra muitas doenças, como o câncer, artrite, psoríase e doenças cardiovasculares (WELLS et al., 2010).

O coeficiente de correlação de Pearson é usado para expressar a força entre duas variáveis contínuas que são relacionadas uma com a outra (ZIELINSKI et al., 2014).

Segundo Tuberoso et al. (2007), altas quantidades de tocoferóis totais estão associadas com o teor de ácidos graxos poli-insaturados. Neste estudo obteve-se uma forte e significativa correlação positiva ($r=0,87$; $p<0,01$) entre as quantidades de ácido linoléico e tocoferóis totais, o que indica que conforme aumenta a composição de poli-insaturados aumenta a quantidade de tocoferóis totais.

Frutas exóticas como o maracujá são ricas em compostos bioativos, como os tocoferóis, que podem ser encontrados nos subprodutos (sementes, cascas), na maioria das vezes, na mesma quantidade ou em quantidade maior que na polpa (MIRABELLA, CASTELLANI, SALA, 2014). Pertuzatti et al. (2015) estudaram a polpa do maracujá azedo orgânico e convencional e encontraram valores de tocoferóis totais de 0,061 e 0,052 $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente. O menor resultado para os tocoferóis totais encontrado neste trabalho (2,98 $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$), nos óleos obtidos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos é aproximadamente 57 vezes maior do que o encontrado por Pertuzatti et al. (2015) na polpa.

O conteúdo de tocoferol nas sementes de maracujá pode ter sido afetado pela variedade. A composição química do óleo vegetal é influenciada pelo genótipo, fatores climáticos, ambientais, local da produção, condições de crescimento e variedade, fatores ambientais durante a colheita e a estocagem pós-colheita, além dos métodos agrônômicos utilizados (JING et al., 2012; LIU et al., 2008). Velasco et al. (2002) estudaram a variação no conteúdo de tocoferol de 33 híbridos comerciais de semente de girassol, e concluíram que o conteúdo total de tocoferol foi significativamente afetado pelas condições do meio ambiente e do genótipo. Além disso, as diferenças nos resultados podem ser devido ao método de extração e de análise utilizados (HUSSAIN et al., 2012).

A partir dos resultados obtidos, pode-se afirmar que existem diferenças significativas ($p < 0,05$) na concentração de tocoferóis entre os óleos obtidos das sementes das variedades de maracujá estudadas. E que os métodos de extração e os solventes utilizados afetaram a concentração de tocoferóis dos óleos.

TABELA 8 - CONTEÚDO DE TOCOFEROL (α , γ E δ) DO ÓLEO DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS, OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.

| Métodos de Extração | | | | | Concentração de Tocoferol (mg.100 g _{óleo} ⁻¹) | | | |
|---------------------|-----------------------------------|-------------------|-------|----------------------------|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Método | Solvente e parâmetros do processo | | | | α -Tocoferol | γ -Tocoferol | δ -Tocoferol | Total |
| Soxhlet | <i>n</i> -Hexano | Ponto de ebulição | - | (MDO) | 0,56 ± 0,03 ^{eg} | 2,31 ± 0,02 ^{ab} | 8,27 ± 0,02 ^a | 11,14 ± 0,02 ^a |
| | | | | (MAO) | 1,68 ± 0,003 ^a | 1,62 ± 0,002 ^e | 4,93 ± 0,01 ^f | 8,22 ± 0,01 ^e |
| | Etanol | Ponto de ebulição | - | (MDO) | 1,39 ± 0,01 ^b | 1,82 ± 0,02 ^d | 5,37 ± 0,13 ^e | 8,58 ± 0,16 ^d |
| | | | | (MAO) | 0,50 ± 0,01 ^{fg} | 1,23 ± 0,002 ^g | 1,24 ± 0,02 ^j | 2,98 ± 0,03 ⁱ |
| US | Etanol | 60 °C | - | (MDO) | 0,74 ± 0,01 ^d | 2,24 ± 0,02 ^c | 7,11 ± 0,03 ^c | 10,10 ± 0,06 ^c |
| | | | | (MAO) | 0,43 ± 0,004 ^g | 1,25 ± 0,003 ^g | 1,59 ± 0,00 ⁱ | 3,27 ± 0,00 ^h |
| PC | Propano | 30 °C | 2 MPa | (MDO) | 0,74 ± 0,19 ^{de} | 2,28 ± 0,02 ^{bc} | 6,85 ± 0,02 ^d | 9,87 ± 0,22 ^c |
| | | | | (MAO) | 0,40 ± 0,003 ^g | 1,23 ± 0,003 ^g | 1,47 ± 0,07 ⁱ | 3,10 ± 0,07 ^{hi} |
| | 30 °C | 8 MPa | (MDO) | 0,68 ± 0,03 ^{de} | 2,35 ± 0,01 ^a | 7,76 ± 0,02 ^b | 10,80 ± 0,04 ^b | |
| | | | (MAO) | 0,22 ± 0,005 ^h | 0,68 ± 0,003 ^h | 2,89 ± 0,003 ^h | 3,79 ± 0,01 ^g | |
| | 60 °C | 2 MPa | (MDO) | 0,65 ± 0,02 ^{def} | 2,33 ± 0,03 ^a | 8,16 ± 0,08 ^a | 11,14 ± 0,05 ^a | |
| | | | (MAO) | 1,04 ± 0,01 ^c | 1,43 ± 0,003 ^f | 3,51 ± 0,03 ^g | 5,98 ± 0,02 ^f | |

NOTA:

MDO = Maracujá Doce Orgânico; MAO = Maracujá Azedo Orgânico; US = Extração assistida por Ultrassom; PC = Propano Comprimido

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 3).

Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes entre si (p < 0,05).

4.8 ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ÓLEOS

As curvas termogravimétricas (TG) dos óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos obtidos por diferentes processos e submetidos à análise térmica sob atmosfera de ar sintético estão apresentadas nas Figuras 19 e 20. As curvas termogravimétricas indicam que o perfil de decomposição dos óleos é similar e estes apresentaram alta estabilidade térmica até 300 °C (Figuras 19 e 20).

FIGURA 19 - CURVAS TERMOGRAVIMÉTRICAS DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE ORGÂNICO.

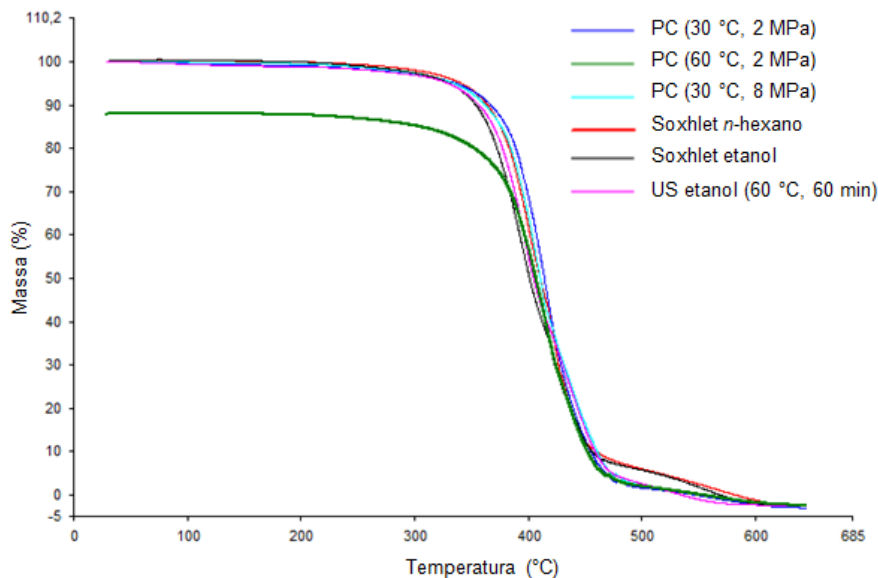
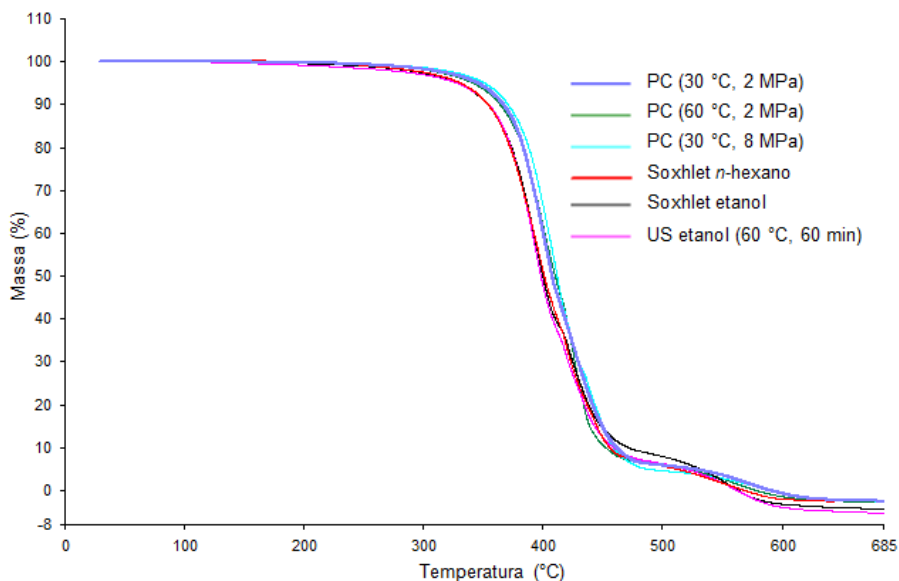


FIGURA 20 - CURVAS TERMOGRAVIMÉTRICAS DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICO.



FONTE: O autor (2017).

O processo de decomposição térmica ocorreu principalmente na faixa de temperatura de 300 a 475 °C e durante esse estágio a perda de massa foi de aproximadamente 80% para o óleo obtido com propano comprimido a 60 °C/2 MPa e aproximadamente 92% para os demais óleos (Figura 19). Em relação aos óleos de sementes de maracujá azedo orgânico, a perda de massa foi de aproximadamente 95% para todos os óleos (Figura 20).

De acordo com Diniz et al. (2008), esse estágio de decomposição térmica é o mais importante, uma vez que ele representa a fase inicial da degradação de triglicerídeos e onde ocorre a decomposição dos ácidos graxos insaturados presentes no óleo (SANTOS et al., 2002). Os produtos resultantes do processo de oxidação, como os peróxidos e hidroperóxidos, são formados devido à reação das duplas ligações com o oxigênio e tais compostos instáveis resultam em aldeídos, cetonas, ácidos e álcoois (POLITI; MATOS; SALES, 2013).

Ácidos graxos monoinsaturados são mais resistentes à oxidação e deterioração comparados com os ácidos graxos insaturados (MOSER, 2012). Apesar de ser altamente insaturado (Tabela 6), a alta estabilidade dos óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos pode ser atribuída a presença de antioxidantes naturais, como os tocoferóis. Os tocoferóis são os mais importantes antioxidantes lipossolúveis encontrados em óleos e devido a sua atividade antioxidante, eles desempenham um importante papel na proteção dos ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados, contribuindo para aumentar a proteção do óleo contra processos de oxidação (SHAHIDI; CAMARGO, 2016).

4.9 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os resultados referentes a atividade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP dos óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos obtidos por diferentes métodos de extração são apresentados na Tabela 9.

O método DPPH é um dos mais utilizados na determinação da atividade antioxidante de vários compostos, como extratos de plantas, alimentos (OLIVEIRA, 2015) e óleos vegetais (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011; VALANTINA; NEELAMEGAM, 2015). Todos os óleos demonstraram atividade sequestradora do radical DPPH[•]. No

entanto, os óleos obtidos pela extração em Soxhlet utilizando *n*-hexano como solvente foram os que apresentaram menor porcentagem de redução do radical.

Ainda assim, todos os óleos apresentaram atividade antioxidante superior a 50%, atingindo os valores máximos de 83,90% e 83,60% para os óleos de sementes de maracujá doce orgânico e 82,81% e 80,68% para os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico que utilizaram etanol como solvente (Soxhlet e ultrassom, respectivamente). A presença predominante de δ -tocoferol nestes óleos pode ter contribuído para este resultado, uma vez que estudos indicam que a atividade antioxidante dos tocoferóis em óleos e gorduras (*in vitro*) apresenta a seguinte ordem: $\delta > \gamma \approx \beta > \alpha$. Contudo, essa ordem pode ser alterada por diversos fatores, tais como a temperatura, disponibilidade de oxigênio, exposição à luz, entre outros (CHAIYASIT et al., 2007). Outros estudos indicam que o γ -tocoferol pode ser mais ativo como antioxidante (SEPPANEN; SONG; CSALLANY, 2010).

Em relação as extrações utilizando propano comprimido, o óleo de sementes de maracujá doce orgânico obtido a 30 °C e 2 MPa apresentou a maior atividade antioxidante (78,78%), resultado significativamente diferente ($p < 0,05$) dos demais que utilizaram o mesmo método de extração.

Para os óleos obtidos de sementes de ambas as variedades de maracujá, o aumento da pressão e da temperatura nas extrações com propano comprimido proporcionou efeito negativo na atividade antioxidante total.

Os resultados obtidos neste trabalho foram maiores que os apresentados por Malacrida e Jorge (2012), que utilizaram o método DPPH para avaliar a atividade antioxidante do óleo de sementes de maracujá azedo produzido no sistema convencional. O óleo extraído por Soxhlet utilizando éter de petróleo como solvente apresentou 48% de atividade antioxidante.

A qualidade dos extratos naturais e sua *performance* antioxidante dependem não somente da qualidade da planta de origem, das condições geográficas, climáticas, da colheita e estocagem, mas também dos fatores ambientais e tecnológicos, que afetam a atividade antioxidante de fontes residuais (CUVELIER, RICHARD, BERSSET, 1996).

TABELA 9 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* PELOS MÉTODOS DPPH, FRAP E ABTS DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.

| Método | Solvente e Parâmetros do Processo | | | Atividade Antioxidante | | | |
|---------|-----------------------------------|-------------------|---------------------------|------------------------------|---|---|---------------------------|
| | | | | DPPH (%) | ABTS ($\mu\text{mol TE.g}_{\text{óleo}}^{-1}$) | FRAP ($\mu\text{mol TE.g}_{\text{óleo}}^{-1}$) | |
| Soxhlet | <i>n</i> -Hexano | Ponto de ebulição | (MDO) | 55,90 ± 0,10 ^f | 898,14 ± 24,67 ^f | 1256,34 ± 25,56 ^f | 59 ± 16,67 ^f |
| | | | (MAO) | 53,57 ± 0,30 ^f | 787,66 ± 14,26 ^f | 1272,11 ± 10,92 ^f | 57 ± 14,30 ^f |
| | Etanol | Ponto de ebulição | (MDO) | 83,90 ± 0,01 ^a | 2228,55 ± 13,78 ^a | 1705,12 ± 14,55 ^b | 330 ± 16,67 ^a |
| | | | (MAO) | 82,81 ± 0,49 ^{ab} | 2177,20 ± 23,34 ^{ab} | 1701,48 ± 25,47 ^b | 274 ± 26,21 ^b |
| US | Etanol | 60 °C; 60 min | (MDO) | 83,60 ± 0,10 ^{ab} | 2214,55 ± 14,32 ^{ab} | 1581,40 ± 36,39 ^{cd} | 288 ± 11,90 ^{ab} |
| | | | (MAO) | 80,68 ± 0,57 ^{bc} | 2076,06 ± 26,95 ^{bc} | 1559,57 ± 21,83 ^{cde} | 195 ± 19,06 ^c |
| PC | Propano | 30 °C; 2 MPa | (MDO) | 78,78 ± 0,00 ^c | 1985,81 ± 17,25 ^c | 1692,99 ± 18,31 ^b | 157 ± 19,05 ^{cd} |
| | | | (MAO) | 75,12 ± 0,23 ^d | 1811,53 ± 10,78 ^d | 1632,34 ± 21,83 ^{bc} | 119 ± 9,55 ^{de} |
| | 30 °C; 8 MPa | (MDO) | 68,66 ± 3,63 ^e | 1504,99 ± 72,38 ^e | 1486,79 ± 65,50 ^e | 104 ± 19,05 ^{ef} | |
| | | (MAO) | 75,05 ± 0,20 ^d | 1808,42 ± 9,34 ^d | 1312,13 ± 36,39 ^f | 100 ± 4,77 ^{ef} | |
| | 60 °C; 2 MPa | (MDO) | 70,04 ± 0,10 ^e | 1570,35 ± 10,23 ^e | 1525,60 ± 11,12 ^{de} | 92 ± 7,14 ^{ef} | |
| | | (MAO) | 68,37 ± 0,20 ^e | 1490,99 ± 9,34 ^e | 1825,19 ± 18,19 ^a | 95 ± 9,53 ^{ef} | |

NOTA:

MDO = Maracujá Doce Orgânico; MAO = Maracujá Azedo Orgânico; US = Extração assistida por Ultrassom; PC = Propano Comprimido. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ao nível de 5% de confiança ($p < 0,05$).

Os resultados obtidos para a atividade antioxidante determinada pelo método DPPH variaram de 787,66 a 2228,55 $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$. Os óleos obtidos pelas extrações que utilizaram etanol como solvente (Soxhlet e ultrassom) apresentaram as maiores atividades antioxidantes (Tabela 9). Os óleos obtidos pela extração em Soxhlet com *n*-hexano apresentaram menor atividade antioxidante (787,66 $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$ para o óleo de sementes de maracujá azedo orgânico e 898,14 $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$ para o óleo de sementes de maracujá doce orgânico).

Os resultados obtidos para a atividade antioxidante determinada pelo método ABTS variaram de 1256,34 a 1825,19 $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$. O óleo de sementes de maracujá azedo orgânico obtido pela extração com propano comprimido a 60 °C e 2 MPa foi o que apresentou a maior atividade antioxidante (Tabela 9), diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos demais. Na sequência, os óleos obtidos pela extração em Soxhlet com etanol apresentaram valores de 1705,12 e 1701,48 $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$. Os óleos obtidos por Soxhlet com *n*-hexano também apresentaram expressiva atividade antioxidante por este método. De acordo com Re et al. (1999), o método ABTS é aplicável para sistemas contendo antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos. Dessa forma, é possível que os óleos obtidos pelo método Soxhlet utilizando *n*-hexano como solvente contenham substâncias antioxidantes apolares.

A variação nos resultados da atividade antioxidante pelo método FRAP foi de 57 a 330 $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$ de óleo. Os óleos obtidos utilizando etanol como solvente apresentaram as maiores atividades antioxidantes, 330 e 288 $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$ de óleo, diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos demais. Os maiores resultados podem ser associados a capacidade dos antioxidantes presentes no óleo em reduzir o íon férrico a ferroso. O resultado obtido para o óleo de sementes de maracujá doce orgânico utilizando propano comprimido a 30 °C e 2 MPa não diferiu significativamente ($p > 0,05$) do resultado obtido para o óleo de sementes de maracujá azedo orgânico obtido pela extração assistida por ultrassom. Assim como para os demais métodos testados, os óleos obtidos pela extração em Soxhlet com *n*-hexano apresentaram as menores atividades antioxidantes (Tabela 9).

A variação dos resultados obtidos pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP pode estar relacionada ao fato de que os compostos com atividade antioxidante extraídos em cada método e condição experimental testada não necessariamente são os mesmos. A atividade antioxidante é fortemente influenciada pelo método de determinação e pela composição qualitativa e quantitativa dos sistemas em teste. Além disso, a variação entre

os resultados encontrados para a atividade antioxidante *in vitro* também é devido aos diferentes mecanismos que estão envolvidos na determinação.

Dessa forma, a comparação de resultados obtidos neste estudo com os reportados na literatura é imprecisa, pois as condições experimentais são diferentes. Diferentes solventes e parâmetros de processo podem causar diferenças no padrão antioxidante, uma vez que foi demonstrado que o solvente pode afetar a capacidade de doação de hidrogênio pelo antioxidante (RAMADAN; MOERSEL, 2006). No entanto, os resultados obtidos neste estudo sugerem que os óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos mostraram-se eficientes na remoção de radicais DPPH, ABTS e no ensaio do poder antioxidante de redução do ferro.

Antioxidantes são moléculas capazes de inativar os radicais livres e sua ação (DEVASAGAYAM et al., 2004), atuando de forma importante no sistema de defesa do corpo contra as espécies reativas ao oxigênio (NOIPA et al., 2011). Dessa forma, os resíduos estudados neste trabalho podem ter uma contribuição relevante como fonte de antioxidante natural para a dieta humana.

4.10 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os resultados da investigação sobre a atividade antimicrobiana são apresentados na Tabela 10. A atividade antimicrobiana dos óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos foi testada contra quatro bactérias: duas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) e duas Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*). A Concentração Mínima Inibitória (CMI) foi definida como a menor concentração dos óleos que inibiu o crescimento bacteriano.

Todos os óleos inibiram o crescimento de todos os microrganismos testados. Os óleos obtidos na extração com Soxhlet utilizando *n*-hexano como solvente apresentaram a maior atividade antimicrobiana, principalmente contra *E. coli* e *S. enteritidis*. De acordo com Palma et al. (1999), a fração lipídica facilmente extraída pelo *n*-hexano é mais efetiva contra alguns microrganismos devido a presença de esteróis.

Os óleos obtidos a partir das extrações com propano comprimido apresentaram os maiores valores de concentração mínima inibitória, sendo mais efetivos na condição pura (100% de óleo). Dentre os óleos obtidos com essa tecnologia, observa-se que os óleos de

sementes de maracujá azedo orgânico apresentaram maior atividade frente a *E. coli*. Nenhuma tendência foi observada para a atividade antimicrobiana em relação a pressão ou a temperatura. Entretanto, a temperatura apresentou efeito positivo na atividade antimicrobiana dos óleos contra *E. coli*.

De uma forma geral, a alta atividade antimicrobiana dos óleos de sementes de maracujá doce orgânico extraídos por Soxhlet e pela extração assistida por ultrassom pode estar associada a sua rica composição em ácidos graxos poli-insaturados (Tabelas 6 e 7). De acordo com Silveira et al. (2005), a composição em ácidos graxos também pode apresentar atividade antimicrobiana, adicionando funcionalidades ainda maiores às matrizes que contém esses compostos. Segundo Zheng et al. (2005), a *performance* antimicrobiana atribuída a produtos naturais pode estar associada a presença de várias substâncias, como os ácidos graxos linoleico e oleico.

Ferreira et al. (2011) avaliaram a atividade antimicrobiana de três tipos de óleos de sementes de maracujá azedo (refinado, extraídos por pressão a frio e em Soxhlet) contra *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *E. coli*, utilizando a técnica de difusão em meio sólido, e não observou atividade antimicrobiana.

Saravanan e Parimelazhagan (2013) avaliaram a atividade antimicrobiana de óleos obtidos de sementes de *Passiflora subpeltata* obtidos por Soxhlet e utilizando diferentes solventes (éter de petróleo, clorofórmio, acetona e metanol). Os óleos apresentaram efetiva propriedade antibacteriana e antifúngica. Segundo esses autores, a forte atividade antimicrobiana está relacionada com a presença de compostos fenólicos nos óleos.

A maior atividade antimicrobiana dos óleos avaliados neste estudo foi em relação às bactérias Gram-negativas. Essas bactérias são mais resistentes, sendo sua alta resistência relacionada ao sofisticado sistema de barreira a permeabilidade, comparado com a membrana celular mais simples das bactérias Gram-positivas (SMITH-PALMER; STEWART; FYFE, 1998). A membrana celular das bactérias Gram-negativas apresenta uma barreira lipopolissacarídica externa adicional que restringe a penetração de muitas moléculas, enquanto são permeáveis aos nutrientes (DENYER; MAILLARD, 2002). Essa eficiente barreira a permeabilidade tem sido largamente responsável pela inabilidade da indústria farmacêutica em produzir novas classes de compostos de amplo espectro que sejam igualmente ativos contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (LEWIS; AUSUBEL, 2006).

Considerando o pequeno número de estudos em relação ao uso do óleo de sementes de maracujá como agente antimicrobiano, esse estudo pretendeu reduzir a

lacuna de informações na literatura, a partir da investigação de diferentes tipos de matéria prima (variedades), preparo das amostras, métodos aplicados na extração do óleo para determinar a atividade antioxidante. Outros estudos são necessários, a fim de investigar os componentes que exerceram alta atividade contra as bactérias Gram-negativas, bem como avaliar se existe atividade antimicrobiana em relação a outros microrganismos.

TABELA 10 - CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI) (%) DOS ÓLEOS DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE E DE MARACUJÁ AZEDO ORGÂNICOS DETERMINADA PELO MÉTODO DA MICRODILUIÇÃO.

| Método de processo | Solvente e condições de Extração | | | CMI (%) | | | | | | | |
|--------------------|----------------------------------|-------------------|-------|-------------------------|--------|-------------------------------|-------|------------------------------|------|------------------------|------|
| | | | | <i>Escherichia coli</i> | | <i>Salmonella enteritidis</i> | | <i>Staphylococcus aureus</i> | | <i>Bacillus cereus</i> | |
| | | | | MDO | MAO | MDO | MAO | MDO | MAO | MDO | MAO |
| Soxhlet | Hexano | Ponto de ebulição | - | 1,5625 | 1,5625 | 1,5625 | 3,125 | 3,125 | 6,25 | 12,5 | 6,25 |
| | Etanol | Ponto de ebulição | - | 6,25 | 6,25 | 3,125 | 6,25 | 12,5 | 25 | 12,5 | 25 |
| US | Etanol | 60 °C | - | 25 | 50 | 6,25 | 100 | 25 | 50 | 25 | 100 |
| PC | Propano | 30 °C | 2 MPa | 100 | 50 | 100 | 100 | 50 | 100 | 50 | 100 |
| | | 30 °C | 8 MPa | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | | 60 °C | 2 MPa | 100 | 50 | 50 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

NOTA: MDO = Maracujá Doce Orgânico; MAO = Maracujá Azedo Orgânico; US = Ultrassom; PC = Propano Comprimido.

5 CONCLUSÕES

Os resultados desse estudo mostraram que alto rendimento pode ser obtido utilizando a extração em Soxhlet com *n*-hexano e com propano comprimido como solvente. Os maiores rendimentos (28,33% e 26,12% para os óleos de sementes de maracujá doce e de maracujá azedo orgânicos, respectivamente) foram obtidos pela extração em Soxhlet com *n*-hexano, seguido de 24,68% (óleo de sementes de maracujá azedo orgânico) e 23,68% (óleo de sementes de maracujá doce orgânico) obtidos com propano comprimido a 30 °C e 8 MPa e a 60 °C e 2 MPa, respectivamente. As imagens de MEV demonstraram o intenso efeito das extrações utilizando Soxhlet com *n*-hexano e com propano comprimido sobre as células oleosas das sementes, o que permitiu maior liberação de óleo dessas estruturas, resultando em alto rendimento de extração.

Os óleos obtidos utilizando etanol como solvente (por Soxhlet e extração assistida por ultrassom) e propano comprimido apresentaram resultados similares em relação as propriedades físico-químicas, exceto para o índice de acidez e ácidos graxos livres, que foram maiores para a extração em Soxhlet (2,93 mg KOH/g de óleo e 1,47%, respectivamente) e menores para as extrações com propano comprimido a 30 °C e 8 MPa (1,44 mg KOH/g de óleo e 0,72%), o que reforça a alta qualidade do óleo obtido utilizando propano comprimido. Todos os óleos apresentaram características físico-químicas compatíveis com as de outros óleos vegetais e os resultados estão de acordo com a legislação internacional.

Os óleos obtidos utilizando propano comprimido apresentaram maior composição em ácidos graxos insaturados: 86,35% (a 30 °C e 8 MPa) e 86,36% (a 60 °C e 2 MPa) para os óleos de sementes de maracujá doce orgânico e 86,65% para os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico obtidos a 30 °C e 8 MPa e 30 °C e 2 MPa. Os óleos extraídos com propano comprimido também apresentaram maior conteúdo do ácido graxo essencial linoleico, sendo 72,89% de ácido linoleico no óleo de sementes de maracujá doce orgânico obtido a 30 °C e 8 MPa e 68,99% no óleo de sementes de maracujá azedo orgânico obtido a 30 °C e 2 MPa.

Os óleos obtidos são ricos em ácidos graxos essenciais, sendo o ácido linoleico (n-6) o ácido graxo essencial predominante. O ácido α -linolênico (n-3) foi identificado nos óleos de sementes de maracujá azedo orgânico. O índice P/S de todos os óleos foi alto, o que reforça sua qualidade e os aspectos benéficos da sua composição.

Todos os óleos apresentaram α -, γ - e δ -tocoferol na sua composição, com predominância do último. Os óleos de sementes de maracujá doce orgânico apresentaram concentrações maiores do que os óleos de sementes de maracujá azedo orgânico, sendo que o óleo obtido utilizando propano comprimido apresentou a mesma concentração em tocoferol (11,14 mg.100 g_{óleo}⁻¹) do que a extração em Soxhlet com *n*-hexano.

Outro aspecto benéfico em relação as características dos óleos foi a alta estabilidade térmica, se mantendo estáveis em 300 °C. A forte atividade antioxidante e o efeito antimicrobiano contra bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *B. cereus*) e Gram-negativas (*E. coli* e *S. enteritidis*) indicam que os óleos estudados podem ter, no futuro, aplicações interessantes na área da saúde.

Os resultados demonstram que a extração não convencional principalmente com propano comprimido é uma tecnologia promissora na obtenção de óleos de sementes de frutas com alta qualidade, agregando valor a este resíduo.

O conhecimento sobre a composição química de diferentes cultivares é indispensável para sua correta aplicação e para a identificação de peculiaridades para seu uso como matéria prima em alimentos ou outras indústrias. A caracterização do óleo de sementes de maracujá doce orgânico obtido por extração assistida por ultrassom e utilizando propano comprimido não havia sido reportada. O conhecimento adquirido a partir deste estudo ajudará a determinar os benefícios destes óleos para a saúde e suas aplicações em alimentos e em outras áreas. O maracujá doce e o maracujá azedo cultivados sob o sistema orgânico de produção apresentam potencial de impactar positivamente os pequenos produtores que se dedicam ao cultivo destes frutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHANGARI, B.; SARGOLZAEI, J. Extraction of pomegranate seed oil using subcritical propane and supercritical carbon dioxide. **Theoretical Foundations of Chemical Engineering**, v. 46, p. 258-265, 2012.

ALI, S. S.; KASOJU, N.; LUTHRA, A.; SINGH, A.; SHARANABASAVA, H.; SAHU, A.; bora, u. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, v. 41, p. 1-15, 2008.

AL-KHALIFA, A. S. Physicochemical characteristics, fatty acid composition, and lipoxygenase activity of crude pumpkin and melon seed oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 964-966, 1996.

ALUKO, R. E. **Functional foods and nutraceuticals**. New York: Springer, 2012, 155p.

ALVES, R. R.; SALOMÃO, L. C. C.; SIQUEIRA, D. L. de; CECON, P. R. SILVA, D. F. P. da. Desenvolvimento do maracujá doce em Viçosa, Minas Gerais. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, p.127-133, 2012.

ANDRADE, J. K. S.; BARRETTO, L. C. O.; SILVA, G. F.; SANTOS, J. A. B. Yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) oil refining extracted by mechanical pressing. **International Journal of Engineering Research & Science**, v. 1, p. 39-47, 2015.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de alimentos**, v. 24, p. 319-336, 2006.

ANDRÉS, M. P. S.; OTERO, J.; VERA, S. High performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of α -, γ - and δ -tocopherol in vegetable oils in presence of hexadecyltrimethylammonium bromide/n-propanol in mobile phase. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1470-1474, 2011.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official Method 996.06. Official Methods of Analysis**, 17th ed., Gaithersburg, MD, United States, 1997.

AOCS (American Oil Chemists' Society). **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign: AOCS, 1990.

AOCS (American Oil Chemists' Society). **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign: AOCS, 1993.

AOCS (American Oil Chemists' Society). **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 5th ed., Champaign: AOCS, 1998.

APAK, R.; GUÇLU, K.; DEMIRATA, B.; OZYÜREK, M.; ÇELİK, S. E.; BEKTASOĞLU, B.; BERKER, K. I.; OZYURT, D. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. **Molecules**, v. 12, p. 1496-1547, 2007.

APAK, R.; OZYÜREK, M.; GÜÇLÜ, K.; ÇAPANOĞLU, E. Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms and electron transfer (ET)-based assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 997-1027, 2016.

ARUOMA, O. I. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 75, p. 199-212, 1998.

AZZI, A.; STOCKER, A. Vitamin E: non-antioxidant roles. **Progress in Lipid Research**, v. 39, p. 231-255, 2000.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: a review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, p. 71-79, 2016.

BARBOSA, W. F.; SOUSA, E. P. Agricultura orgânica no Brasil. **Revista Economia & Tecnologia**, v. 8, p. 67-74, 2012.

BARRALES, F. M. **Extração de óleo de semente de maracujá (*Passiflora edulis* sp.) usando CO₂ supercrítico assistido por ultrassom**. 2015. 122 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BARRALES, F. M.; REZENDE, C. A.; MARTÍNEZ, J. Supercritical CO₂ extraction of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) seed oil assisted by ultrasound. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 183-192, 2015.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BOUTIN, O.; BADENS, E. Extraction from oleaginous seeds using supercritical CO₂: Experimental design and products quality. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 396-402, 2009.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, publicado em 24 de dezembro de 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 263 de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, publicado em 23 de setembro de 2005a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 270 de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, publicado em 23 de setembro de 2005b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 49, de 22 de dezembro de 2006. Anexo I – Regulamento técnico de identidade e qualidade de óleos vegetais refinados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, publicado em 26 de dezembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.323 de 27 de dezembro de 2007. Regulamenta a Lei nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, publicado em 27 de dezembro de 2007.

BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F.; REGITANO-d'ARCE, M. A. B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, p. 849-854, 2009.

BRUNNER, G. **Gas extraction**: an Introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes. 1 ed. Darmstadt, Alemanha: Steinkopff, 387p, 1994.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **Journal of Food Engineering**, v.67, p. 21–33, 2005.

BRUNNER, G. Applications of supercritical fluids. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 1, p. 321-342, 2010.

BYERS, J. A. **Solvent Polarity and Miscibility Data**. 2003. Disponível em: <www.chemical-ecology.net/java/solvents.htm>. Acesso em: 10 jun. 2016.

CALDER, P. C. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, p. 1505S-1519S, 2006.

CAMPOMANES, A. M. F. **Recuperação de compostos bioativos via extração supercrítica convencional dos resíduos de uva provenientes do**

processamento do pisco. 2012. 224 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CAPUZZO, A.; MAFFEI, M. E.; OCCHIPINTI, A. Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. **Molecules**, v. 18, p. 7194-7238, 2013.

CARR, M. K. V. The water relations and irrigation requirements of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims): a review. **Experimental Agriculture**, v. 49, p. 585-596, 2013.

CARVALHO JUNIOR, R.N. de. **Obtenção de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) por extração supercrítica: determinação do rendimento global, de parâmetros cinéticos e de equilíbrio e outras variáveis do processo.** 2004. 151 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Potential application of antioxidant capacity assays to assess the quality of edible vegetable oils. **Lipid Technology**, v. 21, p. 152-155, 2009.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, v. 24, p. 173-187, 2011.

CASTRO, M. D. L.; GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, p. 1-10, 1998.

CASTRO, M. D. L. de; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2383-2389, 2010.

CATER, N. B.; DENKE, M. A. Behenic acid is a cholesterol-raising saturated fatty acid in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 41-44, 2001.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; SOUZA, A. P.; CORRÊA, R. X. A history of passion fruit woodiness disease with emphasis on the current situation in Brazil and prospects for Brazilian passion fruit cultivation. **European Journal of Plant Pathology**, v. 139, p. 261-270, 2014.

CHAIYASIT, W.; ELIAS, R. J.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 299-317, 2007.

CHAU, C. F., HUANG, Y. L. Characterization of passion fruit seed fibres - a potential fibre source. **Food Chemistry**, v. 85, p. 189-194, 2004.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.-G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A.-S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of

food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, p. 169-186, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex-Stan 210**: codex standard for named vegetable oils. Rome, 2008.

COELHO, R. A. **Obtenção de óleo de sementes de quiuí (*Actinidia Deliciosa*) utilizando extração com solvente pressurizado e extração assistida com ultrassom**. 2015. 76 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

COELHO, R. A.; KANDA, L. R. S.; HAMERSKI, F.; MASSON, M. L.; CORAZZA, M. L. Extraction of kiwifruit seed (*Actinidia Deliciosa*) oil using compressed propane. **Journal of Food Process Engineering**, v. 39, p. 335-344, 2015.

COIMBRA, M. C.; JORGE, N. Phenolic compounds, carotenoids, tocopherols and fatty acids present in oils extracted from palm fruits. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de alimentos**, v. 31, p. 309-320, 2013.

CORRALES, M.; TOEPFL, S.; BUTZ, P.; KNORR, D.; TAUSCHER, B. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison. **Innovative Food Science & Emerging Technology**, v. 9, p. 85-91, 2008.

CORRÊA, N. C. F.; MEIRELES, M. A. de A.; FRANÇA, L. F. de; ARAÚJO, M. E. Extração de óleo da semente de maracujá (*Passiflora edulis*) com CO₂ supercrítico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 14 (suplemento), p. 29-37, 1994.

CORREA, M. de S. **Extração de inflorescência da bananeira (*Musa paradisíaca* L.) utilizando CO₂ supercrítico e propano comprimido**. 2016. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CORSO, M. P.; FAGUNDES-KLEIN, M. R.; SILVA, E. A.; CARDOZO-FILHO, L.; SANTOS, J. N.; FREITAS, L. S.; DARIVA, C. Extraction of sesame seed (*Sesamum indicum* L.) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 52, p. 56-61, 2010.

CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, p. 645-652, 1996.

DANH, L. T.; MAMMUCARI, R.; TRUONG, R.; FOSTER, N. Response surface method applied to supercritical carbon dioxide extraction of *Vetiveria zizanioides* essential oil. **Chemical Engineering Journal**, v.155, p.617-626, 2009.

DA PORTO, C.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 1076-1080, 2013.

DEL-VALLE, J. M.; AGUILERA, J. M. Revision: Extracción com CO₂ a alta presión. Fundamentos y aplicaciones em la indústria de alimentos. **Food Science and Technology International**, v. 5, n. 1, p. 1-24, 1999.

DENYER, S. P; MAILLARD, J.-Y. Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, p. 35S–45S, 2002.

DEVASAGAYAM, T. P.; TILAK, J. C.; BOLOOR, K. K.; SANE, K. S.; GHASKADBI, S. S.; LELE, R. D. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. **Journal of the Association of Physicians of India**, v. 52, p. 794-804, 2004.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMINGUÉZ, H.; PARAJÓ, J. C. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2441-2469, 2006.

DIEHL, L. C. P. **Extração e fracionamento de compostos com princípios ativos de própolis usando o dióxido de carbono supercrítico**. 2008. 248 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

DINIZ, Z. N.; BORA, P. S; NETO, V. Q.; Cavalheiro, J. M. O. *Sterculia striata* seed kernel oil: characterization and thermal stability. **Grasas y Aceites**, v. 59, p. 160-165, 2008.

DI PASQUALE, M. G. The essentials of essential fatty acids. **Journal of Dietary Supplements**, v. 6, p. 143-161, 2009.

EGGERS, R.; JAEGER, P. Extraction Systems. In: TZIA, C.; LIADALIS, G. (Ed.) **Extraction Optimization in Food Engineering**. CRC Press, 2003. 438p.

EL-ADAWY, T. A.; TAHA, K. M. Characteristics and composition of different seed oils and flours. **Food Chemistry**, v. 74, p. 47-54, 2001.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005, 677 p.

FERRARI, R. A.; COLUSSI, F.; AYUB, R. A. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá-aproveitamento das sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 101-102, 2004.

FERREIRA, B. S., ALMEIDA, C. G., FAZA, L. P., ALMEIDA, A., DINIZ, C. G., SILVA; V. L., GRAZUL, R. M., HYARIC, M. Comparative properties of amazonian oils obtained by different extraction methods. **Molecules**, v. 16, p. 5874-5885, 2011.

FiBL - Research Institute of Organic Agriculture; IFOAM – International Federation of Organic Agriculture Movements. **The World of Organic Agriculture - Statistics & Emerging Trends 2015**. Frick and Bonn, 2015, 306 p.

FIGUEIREDO, L. P.; VALENTE, W. A.; DIAS, M. V.; BORGES, S. V.; PEREIRA, P. A. P.; PEREIRA, A. G. T.; CLEMENTE, P. R. Efeito da adição de suco de maracujá e tempo de cozimento sobre a qualidade de doces do albedo de maracujá em calda. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 840-846, 2009.

FILHO, G. de A. F.; LEITE, J. B. V.; RAMOS, J. V. **Maracujá**. [updated 2010 Fev 27]. Disponível em :<<http://www.ceplac.gov.br/radar/maracuja.htm>>. Acesso em 02 de dezembro de 2013.

GAYDOU, E. M.; RAMANOELINA, A. R. P. Valorisation des sous-produits de l'industrie du jus des fruits de grenadille: composition en acides gras et em stérols de l'huile des graines. **Fruits**, v. 38, p. 699-703, 1983.

GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A.; SIKORSKA, E.; KHMELINSKII, I.; SIKORSKI, M. Tocopherol content in edible plant oils. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 57, p. 157-161, 2007.

GOMIDE, R. Operações com sistemas sólidos granulares. In: R. Gomide (Ed.), **Operações Unitárias**, vol. 1, Edição do autor, São Paulo, 1983.

GOULA, A. M. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil - kinetic modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 492-498, 2013.

HADIAN, Z. A review of nanoliposomal delivery system for stabilization of bioactive omega-3 fatty acids. **Electronic Physician**, v. 8, p. 1776-1785, 2016.

HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. **Free Radical research Communications**, v. 9, p. 1-32, 1990.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v. 16, p. 33-50, 1996.

HASLER, C. M. The changing face of functional foods. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, p. 499S-506S, 2000.

HEINONEN, O. P.; ALBANES, D.; VIRTAMO, J.; TAYLOR, P. R.; HUTTUNEN, J. K.; HARTMAN, A. M.; HAAPAKOSKI, J.; MALILA, N.; RAUTALAHTI, M.; RIPATTI, S.; MAENPAA, H.; TEERENHOVI, L.; KOSS, L.; VIROLAINEN, M.; EDWARDS, B. K. Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene: incidence and mortality in controlled trial. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 90, p.440-446, 1998.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBANEZ, E. Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review. **Food Chemistry**, v. 98, p. 136-148, 2006.

HROMÁDKOVÁ, Z.; KOVÁČIKOVÁ, J.; EBRINGEROVÁ, A. Study of the classical and ultrasound-assisted extraction of the corn cob xylan. **Industrial Crops and Products**, v. 9, p. 101-109, 1999.

HUSSAIN, A.; LARSSON, H.; OLSSON, M. E.; KUKTAITE, R., GRAUSGRUBER, H.; JOHANSSON, E. Is organically produced wheat a source of tocopherols and tocotrienols for health food? **Food Chemistry**, v. 132, 1789-1795, 2012.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Óleo e gorduras. **Métodos Químicos para Análise de Alimentos**. 3 ed. São Paulo, 1985.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e de Estatística. **Indicadores**: produção agrícola. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 26 set. 2016.

IONASHIRO, M.A.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmica**. 1980, 26, 17-24.

IONASHIRO, M. **Giolito**: Fundamentos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial. Giz Editorial: São Paulo, 2005. 98p.

JAHN, G. B. **Extração supercrítica do óleo de farelo de arroz e obtenção de frações enriquecidas em γ - Orizanol**. 2004. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

JENSEN, R. G. The lipids in human milk. **Progress in Lipid Research**, v. 35, p. 53-92, 1996.

JING, P.; YE, T.; SHI, H.; SHENG, Y.; SLAVIN, M.; GAO, B.; LIU, L.; YU, L. Antioxidant properties and phytochemical composition of China-grown pomegranate seeds. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1457-64, 2012.

JORGE, N., MALACRIDA, C. R., ANGELO, P. M., ANDREO, D. Composição centesimal e atividade antioxidante do extrato de sementes de maracujá (*Passiflora edulis*) em óleo de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, p. 380-385, 2009.

JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P. F. A **Phylogenetic Approach**. Sinauer Associates, Sunderland. Plant Systematics, 1999, 464 p.

KAMAL-ELDIN A., APPELQVIST L.-A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v. 19, p. 671–701, 1996.

KAMAL-ELDIN, A.; ANDERSSON, R. A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, p. 375-380, 1997.

KAMAL-ELDIN, A. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 58, p. 1051-1061, 2006.

KNEZ, Z.; HABULIN, M. Compressed gases as alternative enzymatic-reaction solvents: a short review. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 23, p. 29-42, 2002.

KNEZ, Z.; MARKOCIC, E.; LEITGEB, M.; PRIMOZIC, M.; HRNCIC, K. M.; SKERGET, M. Industrial applications of supercritical fluids: a review. **Energy**, v. 77, p. 235-243, 2014.

KOSTIK, V.; MEMETI, S.; BAUER, B. Fatty acid composition of edible oils and fats. **Journal of Hygienic Engineering and Design**, v. 4, p. 112-116, 2013.

KUMAR, R.; MADRAS, G.; MODAK, J. Enzymatic synthesis of ethyl palmitate in supercritical carbon dioxide. **Industrial Engineering Chemistry Research**, v. 43, p. 1568-1573, 2004.

KUMAR, A.; SHARMA, A.; UPADHYAYA, K. C. Vegetable oil: nutritional and industrial perspective. **Current Genomics**, v. 17, p. 230-240, 2016.

LAMPI, A. M.; KATAJA, L.; KAMAL-ELDIN, A.; VIENO, P. Antioxidant activities of α - and γ -tocopherols in the oxidation of rapessed oil triacylglycerols. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 76, p. 749-755, 1999.

LANÇAS, F. M. 2000. **Fluidos Supercríticos**. Disponível em: http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio16/16_fluidos.pdf. Acesso em: 05/03/2014.

LANÇAS, F. M. Extração com fluido supercrítico: quo vadis? **Revista Analytica**, n. 2, p. 30-37, 2002.

LAWTON, C. L.; DELARGRY, H. J.; BROCKMAN, J.; SIMITH, R .C.; BLUNDELL, J. E. The degree of saturation of fatty acids influences in post ingestive satiety. **British Journal of Nutrition**, v. 83, p. 473-482, 2000.

LEONEL, S.; LEONEL, M.; DUARTE-FILHO, J. Principais produtos e subprodutos obtidos do maracujazeiro. **Informe Agropecuário**, v. 21, p. 86-88, 2000.

LEWIS, K.; AUSUBEL, F. M. Prospects for plant-derived antibacterials. **Nature Biotechnology**, v. 24, p. 1504-1507, 2006.

LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, v. 37, p. 731-738, 2004.

LIMA, A. de A. **Maracujá produção: aspectos técnicos**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 104 p. (Frutas do Brasil; 15).

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 197-201, 2006.

LINSTROM, P. J.; MALLARD, W. G. **National Institute of Standards and Technology**, Online at Book of the NIST Chemistry Web (2016) <<http://webbook.nist.gov/chemistry/fluid/>>.

LIU, P. **World markets for organic citrus and citrus juices: current market situation and medium-term prospects**. FAO Commodity and Trade Policy Research Working Paper. Italy: FAO, 2003. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em: 08 mar. 2014.

LIU, S.; YANG, F.; LI, J.; ZHANG, C.; JI, H.; HONG, P. Physical and chemical analysis of *Passiflora* seeds and seed oil from China. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 59, p. 709-715, 2008.

LIU, S.; YANG, F.; ZHANG, C.; JI, H.; HONG, P.; DENG, D. Optimization of process parameters for supercritical carbon dioxide extraction of *Passiflora* seed oil by response surface methodology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 48, n. 1, p. 9-14, 2009.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, p. 118-126, 2010.

LOPEZ-VARGAS, J. H.; FERNANDEZ-LOPES, J.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products. **Food Research International**, v. 51, p. 756-763, 2013.

LU, Y.; FOO, L. Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. **Food Chemistry**, v. 68, p. 81-85, 2000.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. L. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, p. 41-47, 2003.

LUU, N. T.; MADDEN, J.; CALDER, P. C.; GRIMBLE, R. F.; SHEARMAN, C. P.; CHAN, T.; DASTUR, N.; HOWELL, W. M.; RAINGER, G. E.; NASH, G. B. Dietary supplementation with fish oil modifies the ability of human monocytes to induce an inflammatory response. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2769-2774, 2007.

MADSEN, L.; RUSTAN, A. C.; VAAGENES, H.; BERGE, K.; DYROY, E.; BERGE, R. K. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. **Lipids**, v. 34, p. 951-963, 1999.

MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): physical and chemical characteristics. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, p. 127-134, 2012.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMESY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MARKOM, M.; HASAN, M.; DAUD, W. R. W.; SINGH, H.; JAHIM, J. Md. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, p. 487-496, 2007.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZI, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista Nutrição**, v. 19, p. 761-770, 2006.

MARTÍNÉZ, J. **Extração de óleos voláteis e outros compostos com CO₂ supercrítico: desenvolvimento de uma metodologia de aumento de escala a partir da modelagem matemática do processo e avaliação dos extratos obtidos**. 2005. 172 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MASON, T. J.; PANIWNKY, L.; LORIMER, J. P. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 3, p. S253-S260, 1996.

MAUL, A. A. Fluidos Supercríticos: Situação atual e futura e futuro da extração supercrítica. **Biociência**, n. 11, p. 42-43, 1999.

McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipídeos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010, 900p.

MEIRELES, M. A. A. Extração supercrítica: aspectos técnicos e econômicos. **Revista Fitos**, v. 2, p. 65-72, 2006.

MELETTI, L. M. M. **Maracujá**: produção e comercialização em São Paulo. Campinas: IAC, 1996.

MELETTI, L. M. M.; MAIA, M. L. **Maracujá**: produção e comercialização. São Paulo, Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1999.

MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; AZEVEDO FILHO, J. A.; MARTINS, A. L. M. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agrônômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 275-278, 2003.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. especial, p. 83-91, 2011.

MESOMO, M. C. **Obtenção de extrato de gengibre (*Zingiber officinale roscoe*) usando CO₂ supercrítico e propano comprimido**: cinética de extração e atividade biológica. 2013. 79 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MICHA, R.; MOZAFFARIAN, D. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. **Lipids**, v. 45, p. 893-905, 2010.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, v. 85, p. 231-237, 2004.

MIRABELLA, N.; CASTELLANI, V.; SALA, S. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 65, p. 28-41, 2014.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições; legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, p. 109-122, 2006.

MORETTO, E; FETT, R.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M. **Introdução à ciência de alimentos**. Florianópolis: Ed. Da UFSC, 2002, 255p.

MORRISSEY, P. A.; SHEEHY, P. J. A.; GAYNOR, P. Vitamin E. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, p. 260-264, 1994.

MOSER, B. R. Preparation of fatty acid methyl esters from hazelnut, high-oleic peanut and walnut oils and evaluation as biodiesel. **Fuel**, v. 92, p. 231-238, 2012.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.

MOZAFFARIAN, D.; WU, J. H. Y. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 58, p. 2047-2067, 2011.

MOZAFFARIAN, D.; WU, J. H. Y. (n-3) Fatty acids and cardiovascular health: are effects of EPA and DHA shared or complementary? **The Journal of Nutrition**, Supplement: Heart healthy omega-3s for food-stearidonic acid (SDA) as a sustainable choice, p. 614S-625S, 2012.

MUNTEANU, A.; ZINGG, J. -M.; AZZI, A. Anti-atherosclerotic effects of vitamin E – myth or reality? **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 8, p. 59-76, 2004.

NDIAYE, P. M.; LANZA, M.; TAVARES, F. W.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J. V. Phase behavior of olive and soybean oils in compressed propane and *n*-butane. **Brazilian Journal Chemical Engineering**, v. 23, p. 405-415, 2006.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014, 1298p.

NEVES, M. C. P. Cadeia de produtos orgânicos: aspectos relacionados com a qualidade e o mercado. **Embrapa Agrobiologia**, 2004, 16p.

NEVES, M. C. P. Certificação na produção agrícola – Comunicação das novas dimensões da qualidade dos produtos. **Embrapa Agrobiologia**, 2007, 15p.

NOIPA, T.; SRIJARANAI, S.; TUNTULANI, T.; NGEONTAE, W. New approach for evaluation of the antioxidant capacity based on scavenging DPPH free radical in micelle systems. **Food Research International**, v. 44, p. 798-806, 2011.

OLIVEIRA, R. C.; BARROS, S. T. D.; GIMENES, M. L. The extraction of passion fruit oil with green solvents. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 458-463, 2013.

OLIVEIRA, R. C.; ROSSI, R. M.; GIMENES, M. L.; JAGADEVAN, S.; GIUFRIDA, W. M.; BARROS, S. T. D. Extraction of passion fruit seed oil using supercritical CO₂: a study of mass transfer and rheological property by Bayesian inference. **Grasas Y Aceites**, v. 64, p. 400-406, 2013.

OLIVEIRA, R. C.; GUEDES, T. A.; GIMENES, M. L.; BARROS, S. T. D. Effect of process variables on the oil extraction from passion fruit seeds by conventional and non-conventional techniques. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 36, p. 87-91, 2014.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH: estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 17, p. 36-44, 2015.

OLIVEIRA, D. A.; ANGONESE, M.; GOMES, C.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: sustainable recovery and biological activities. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 111, p. 55-62, 2016.

ORGANICSNET (2016). **Mercado de orgânicos cresce o dobro no Brasil**. Disponível em: <<http://www.organicsnet.com.br/2016/01/mercado-de-organicos-cresce-o-dobro-no-brasil/>> Acesso em: 28 ago. 2017.

ORGANICSNET (2017). **Produção orgânica mais que dobra em três anos no Brasil**. Disponível em: <<http://www.organicsnet.com.br/2017/01/producao-organica-mais-que-dobra-em-tres-anos-no-brasil/>> Acesso em: 28 ago. 2017.

PALMA, M.; TAYLOR, L. T.; VARELA, R. M.; CUTLER, S. J.; CUTLER, H. G. Fractional extraction of compounds from Grape seeds by supercritical fluid extraction and analysis for antimicrobial and agrochemical activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 47, p. 5044-5048, 1999.

PAN, Z.; QU, W.; MA, H.; ATUNGULU, G. G.; McHUGH, T. H. Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 18, p. 1249-1257, 2011.

PEDERSSETTI, M. M.; PALÚ, F.; SILVA, E. A.; ROHLING, J. H.; CARDOZO-FILHO, L.; DARIVA, C. Extraction of canola seed (*Brassica napus*) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*, v. 102, p. 189-196, 2011.

PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES, M. C.; MUÑOZ, J. D.; CRUAÑES, J.; FERRARO, G.; GUTKIND, G.; MARTINO, V. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 77, p. 37-40, 2001.

PEREIRA, A. D.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of 'somnus' passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC): implications for conservation and pre-breeding. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 59, p. 12-21, 2015.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, v. 39, p. 791-800, 2006.

PERINI, J. A. L.; STEVANATO, F. B.; SARGI, S. C.; VISENTAINER, J. E. L.; DALALIO, M. M. O.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. *Revista de Nutrição*, v. 23, p. 1075-1086, 2010.

PERRY, R. H., BENSKOW, L. R., BEIMESCH, W. E. et al. **Perry's Chemical Engineers' Handbook**. 8ed. Nova Iorque: McGraw-Hill, 2008.

PERTUZATTI, P. B.; SGANZERLA, M.; JACQUES, A. C.; BARCIA, M. T.; ZAMBIAZI, R. C. Carotenoids, tocopherols and ascorbic acid content in yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) grown under different cultivation systems. **Food Science and Technology**, v. 64, p. 259-263, 2015.

PFALLER, M. A.; SHEEHAN, D. J.; REX, J. H. Determination of fungicidal activities against yeasts and molds: lessons learned from bactericidal testing and the need for standardization. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, p. 268-280, 2004.

PIOMBO, G.; BAROUH, N.; BAREA, B.; BOULANGER, R.; BRAT, P.; PINA, M.; VILLENEUVE, P. Characterization of the seeds oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*). **Oilseeds and fats, Crops and Lipids**, v. 13, p. 195-199, 2006.

POLITI, J. R. S.; MATOS, P. R. R.; SALES, M. J. A. Comparative study of the oxidative and thermal stability of vegetable oils to be used as lubricant bases. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, p. 1437-1442, 2013.

PRASAD, J. Pectin and oil from passion fruit waste. **Fiji Agricultural Journal**, Suva, New Zealand, v. 42, p. 45-48, 1980.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4290-4302, 2005.

PRONYK, C.; MAZZA, G. Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 215-226, 2009.

QUEIROZ, F. **Estudo da cinética de extração do óleo essencial de capim-limão com dióxido de carbono líquido**. 1993. 156 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

RAMADAN, M. F.; MOERSEL, J. T. Screening of the antiradical action of vegetable oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 838-842, 2006.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, p. 755-760, 2006.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REMÉDIOS, C. M. R.; NUNES, E. C. B.; CABRAL, A. J. F.; DEL NERO, J.; ALCANTARA, P.; MOREIRA, S. G. C. **Estudo espectroscópico de óleos derivados de frutos de palma**. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais, 17., 2006, Anais..., Foz do Iguaçu, Paraná. 2006. p. 3158-3165.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.38, p.146–166, 2006.

SAHENA, F. ZAIDUL, I. S. M.; JINAP, S.; KARIM, A. A.; ABBAS, K. A.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p.240–253, 2009.

SALAS, J. J.; SÁNCHEZ, J.; RAMLI, U. S.; MANAF, A. M.; WILLIAMS, M.; HARWOOD, J. L. Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. **Progress in Lipid Research**, v. 39, p. 151-180, 2000.

SALDEEN, K.; SALDEEN, T. Importance of tocopherols beyond α -tocopherol: evidence from animal and human studies. **Nutrition Research**, v. 25, p. 877-889, 2005.

SAMARAM, S.; MIRHOSSEINI, H.; TAN, C. P.; GHAZALI, H. M. Ultrasound-assisted extraction and solvent extraction of papaya seed oil: crystallization and thermal behavior, saturation degree, color and oxidative stability. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 702-708, 2014.

SANGIOVANNI, J. P.; CHEW, E. Y. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 24, p. 87-138, 2005.

SANTANA, F. C.; SHINAGAWA, F. B.; ARAÚJO, E. S.; COSTA, A. M.; MANCINI-FILHO, J. Chemical composition and antioxidant capacity of Brazilian Passiflora seed oils. **Journal of Food Science**, v. 80, p. 2647-2654, 2015.

SANTOS, J. C. O.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G.; PRASAD, S.; SANTOS, A. V. Thermal stability and kinetic study on thermal decomposition of commercial edible oils by thermogravimetry. **Food Engineering and Physical Properties**, v. 67, p. 1393-1398, 2002.

SANTOS, O. V.; CORRÊA, N. C. F.; SOARES, F. A. S. M.; GIOIELLI, L. A.; LANNES, S. C. S. Chemical evaluation and thermal behavior of Brazil nut oil obtained by different extraction process. **Food Research International**, v. 47, p. 253-258, 2012.

SANTOS, J. O.; SANTOS, R. M. S.; FERNANDES, A. A.; SOUTO, J. S.; BORGES, M. G. B.; FERREIRA, R. T. F. V.; SALGADO, A. B. Os sistemas alternativos de produção de base agroecológica. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 9, p. 01-08, 2013.

SANTOS, K. A.; BARICCATTI, R. A.; CARDOZO-FILHO, L.; SCHNEIDER, R.; PALÚ, F.; SILVA, C.; SILVA, E. A. Extraction of crambe seed oil using subcritical propane: kinetics, characterization and modeling. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 54-61, 2015.

SAPKALE, G. N.; PATIL, S. M.; SURWASE, U. S.; BHATBHAGE, P. K. Supercritical fluid extraction. **International Journal of Chemical Sciences**, v. 8, p. 729-743, 2010.

SARAVANAN, S.; PARIMELAZHAGAN, T. Total phenolic content, free radical scavenging and antimicrobial activities of *Passiflora subpeltata* seeds. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, p. 67-72, 2013.

SCHMIDT, S.; POKORNÝ, J. Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids - a review. **Czech Journal of Food Science**, v. 23, p. 93-102, 2005.

SENANAYAKE, S. P. J. N.; SHAHIDI, F. Structured lipids: acidolysis of gamma-linolenic acid-rich oils with n-3 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Food Lipids**, v. 9, p. 309-323, 2002.

SEPPANEN, C. M.; SONG, Q.; CSALLANY, A. S. The antioxidant functions of tocoferol and tocotrienol homologues in oils, fats and food systems. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, p. 469-481, 2010.

SHAHIDI, F.; CAMARGO, A. C. Tocopherols and tocotrienols in common and emerging dietary sources: occurrence, applications, and health benefits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. 1-29, 2016.

SHAPIRO, H. Could n-3 polyunsaturated fatty acids reduce pathological pain by direct actions on the nervous system? **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 68, p. 219- 224, 2003.

SHINTANI, D.; DELLAPENNA, D. Elevating the vitamin-E content of plants through metabolic engineering. **Science**, v. 282, p. 2098-2100, 1998.

SIDDIQ, M. **Tropical and Subtropical Fruits: Postharvest, Processing and Packaging**. John Wiley & Sons, 2012.

SILVA, R. M.; PLACIDO, G. R.; SILVA, M. A. P.; CASTRO, C. F. S.; LIMA, M. S.; CALIARI, M. Chemical characterization of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) seeds. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, p. 1230-1233, 2015.

SILVA, C. M.; ZANQUI, A. B.; SOUZA, A. H. P.; GOHARA, A. K.; GOMES, S. T. M.; SILVA, E. A.; CARDOZO-FILHO, L.; MATSUSHITA, M. Extraction of oil and bioactive compounds from *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze using subcritical *n*-propane and organic solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 14-21, 2016.

SILVA, A. C.; JORGE, N. Bioactive compounds of oils extracted from fruits seeds obtained from agroindustrial waste. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 119, p. 1-5, 2017.

SILVEIRA, C. S.; PESSANHA, C. M.; LOURENÇO, M. C. S., NEVES JUNIOR, I.; MENEZES, F. S.; KAPLAN, M. C. Atividade antimicrobiana dos frutos de *Syagrus oleracea* e *Mauritia vinífera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 143-148, 2005.

SIMÕES, C. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre e Florianópolis: UFRGS e UFSC, 1999. 821p.

SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p. 118-122, 1998.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

SOUZA, A. G.; SANTOS, J. C. O.; CONCEIÇÃO, M. M.; SILVA, M. C. D.; PRASAD, S. A thermoanalytic and kinetic study of sunflower oil. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 21, p. 265-273, 2004.

SPARKS, D.; HERNANDEZ, R.; ZAPPI, M.; BLACKWELL, D.; FLEMING, T. Extraction of rice bran oil using supercritical carbon dioxide and propane. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, p. 885-891, 2006.

SPENCER, A. P.; CARSON, D. S.; CROUCH, M. A. Vitamin E and coronary artery disease. **Archives of Internal Medicine**, v. 159, p. 1313-1320, 1999.

St. ANGELO, A. J. Lipid oxidation in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 36, p. 175-224, 1996.

STEFFANI, E. **Modelagem matemática do processo de extração supercrítica de óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *linaloolifera* Fujita) utilizando CO₂**. 2003. 92 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SULAIMAN, S. F.; SAJAK, A. A. B.; OOI, K. L.; SUPRIATNO; SEOW, E. M. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 506-515, 2011.

SWIGLO, A. G.; SKORSKA, E. Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1048, p. 195-198, 2004.

SYVÄOJA, E.-L.; PILRONEN, V.; VARO, P.; KOIVISTOINEN, P.; SALMINEN, K. Tocopherols and tocotrienols in finnish foods: Oils and fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, p. 328-329, 1986.

TASAN, M.; DEMIRCI, M. Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining. **European Journal of Food Research Technology**, v. 220, p. 251-254, 2005.

TASIOULA-MARGARI, M.; OKOGERI, O. Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. **Food Chemistry**, v. 74, p. 377-383, 2001.

TERRAZZAN, P.; VALARINI, P. J. Situação do mercado de produtos orgânicos e as formas de comercialização no Brasil. **Informações Econômicas**, v. 39, p. 27-41, 2009.

TIMILSENA, Y. P.; VONGSVIVUT, J.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. **Food Chemistry**, v. 228, p. 394-402, 2017.

TOMA, M.; VINATORU, M.; PANIWNYK, L.; MASON, T. J. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. **Ultrasonic Sonochemistry**, v. 8, p. 137-142, 2001.

TSAI, T. H.; TSAI, P. J.; SU, S. C. Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used spices. **Journal of Food Science**, v.70, n.1, p.93-97, 2005.

TUBEROSO, C. I. G.; KOWALCZYK, A.; SARRITZU, E.; CABRAS, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1494-1501, 2007.

TURATTI, J. M.; GOMES, R. A. R.; ATHIÉ, I. **Lipídeos**: aspectos funcionais e novas tendências. Campinas: ITAL, 2002.

TZEN, J. T. C.; CAO, Y-Z.; LAURENT, P.; RATNAYAKE, C.; HUANG, A. H. Lipids, proteins, and structure of seed oil bodies from diverse species. **Plant Physiology**, v. 101, p. 267-276, 1993.

VALANTINA, S. R.; NEELAMEGAM, P. Selective ABTS and DPPH - radical scavenging activity of peroxide from vegetable oils. **International Food Research Journal**, v. 22, p. 289-294, 2015.

VALAVANIDIS, A.; NISIOTOU, C.; PAPAGEORGIU, Y.; KREMLI, I.; SATRAVELAS, N.; ZINIERIS, N.; ZYGALAKI, H. Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable

oils under normal conditions and after thermal treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 2358-2365, 2005.

VASCONCELLOS, M. A. S.; SAVAZAKI, E. T.; FILHO, H. G.; BUSQUET, R. N. B.; MOSCA, J. L. Caracterização física e quantidade de nutrientes em frutos do maracujá doce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, p. 690-694, 2001.

VELASCO, L.; FERNANDEZ-MARTINEZ, J. M.; GARCIA-RUIZ, R.; DOMINGUEZ, J. Genetic and environmental variation for tocopherol content and composition in sunflower commercial hybrids. **Journal of Agricultural Science**, v. 139, p. 425-429, 2002.

VINSON, J. A., DABBAGH, Y. A., SERRY, M. M., JANG, J. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using *in vitro* oxidation model for heart disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 2800-2802, 1995.

VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. **Ácidos graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação**. São Paulo: Varela, 2006, 120p.

VOLLI, V.; PURKAIT, M. K. Physicochemical properties and thermal degradation studies of commercial oils in nitrogen atmosphere. **Fuel**, v. 117, p. 1010-1019, 2014.

WANG, P.; ZHANG, Q.; WANG, Y.; WANG, T.; LI, X.; DING, L.; JIANG, G. Evaluation of Soxhlet extraction, accelerated solvent extraction and microwave-assisted extraction for the determination of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in soil and fish samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 663, p. 43-48, 2010.

WASOWICZ, E.; GRAMZA, A.; HES, M.; JELEN, H. H.; KORCZAK, J.; MALECKA, M.; MILDNER-SZKUDLARZ, S.; RUDZINSKA, M.; SAMOTYJA, U.; ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R. Oxidation of lipids in food. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 13, p. 87-100, 2004.

WELLS, S. R.; JENNINGS, M. H.; ROME, C.; HADJIVASSILIOU, V.; PAPAS, K. A.; ALEXANDER, J. S. α -, γ - and δ -tocopherols reduce inflammatory angiogenesis in human microvascular endothelial cells. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 21, p. 589-597, 2010.

WIEGAND, I.; HILPERT, K.; HANCOCK, R. E. W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. **Nature Protocols**, v. 3, p. 163-175, 2008.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 609-614, 2003.

WU, J.; LIN, L.; CHAU, F. T. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. **Ultrasonic Sonochemistry**, v. 8, p. 347-352, 2001.

YOUDIM, K. A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 18, p. 383-399, 2000.

ZAHEDI, G.; AZARPOUR, A. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of *Passiflora* seed oil. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 58, p. 40-48, 2011.

ZAMBIAZI, R. Z. Oxidation reactions of vegetable oils and fats. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, p. 1-7, 1999.

ZAMBIAZI, R. C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M. W.; MENDONÇA, C. B. Fatty acid composition of vegetable oils and fats. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (CEPPA)**, v. 25, p. 111-120, 2007.

ZAMBOM, M. A.; SANTOS, G. T.; MODESTO, E. C. Importância das gorduras poli-insaturadas da saúde humana. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 7, p. 547-553, 2004.

ZHANG, Z. S.; WANG, L. J.; LI, D.; JIAO, S. S.; CHEN, X. D.; MAO, Z. H. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. **Separation and Purification Technology**, v. 62, p. 192-198, 2008.

ZHENG, C. J.; YOO, J.-S.; LEE, T. -G.; CHO, H. -Y.; KIM, Y. -H.; KIM, W.-G. Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. **FEBS Letters**, v. 579, p. 5157-5162, 2005.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M.; GRANATO, D. A comparative study of the phenolic compounds and the *in vitro* antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v. 60, p. 246-254, 2014.