



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA – CCSST
DEPARTAMENTO DO CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

RAFAEL VILARINS SILVA

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA DO ÓLEO DE MURICI
(*Byrsonima crassifolia* L. Kunt) OBTIDO A PARTIR DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA
ASSISTIDA POR ULTRASSOM

IMPERATRIZ – MARANHÃO
2016

RAFAEL VILARINS SILVA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA DO ÓLEO DE MURICI
(*Byrsonima crassifolia* L. Kunt) OBTIDO A PARTIR DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA
ASSISTIDA POR ULTRASSOM**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Crispim de Freitas.

IMPERATRIZ – MARANHÃO
2016

Silva, Rafael Vilarins

Avaliação da estabilidade termo-oxidativa do óleo de murici (*Byrsonima crassifolia L. Kunt*) obtido a partir de hidrólise enzimática assistida por ultrassom. / Rafael Vilarins Silva. - Imperatriz, 2016.
86f.: il.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Adriana Crispim de Freitas.

Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Curso de Bacharel em Engenharia de Alimentos, Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia de Imperatriz (CCSST), Campus Avançado do Bom Jesus / Universidade Federal do Maranhão (UFMA), 2016.

1. Óleos vegetais - Extração 2. Tecnologias limpas 3. Termogravimetria. I. Título.

CDU 665.3

S586a

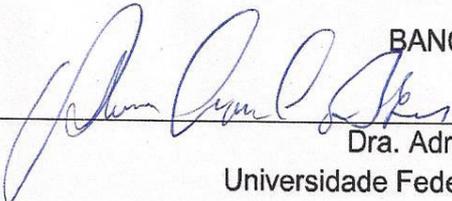
RAFAEL VILARINS SILVA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA DO ÓLEO DE MURICI
(*Byrsonima crassifolia* L. Kunt) OBTIDO A PARTIR DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA
ASSISTIDA POR ULTRASSOM**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

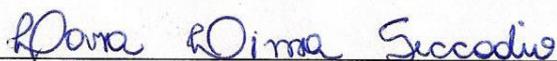
Aprovada em: 15 de março de 2016

BANCA EXAMINADORA



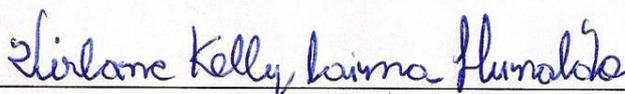
Dra. Adriana Crispim de Freitas

Universidade Federal do Maranhão – COEA/UFMA



MsC. Lara Lima Seccadio

Universidade Federal do Maranhão – COEA/UFMA



Dra. Virlane Kelly Lima Hunaldo

Universidade Federal do Maranhão – COEA/UFMA

A Deus,
Porque dEle, por Ele e para Ele são todas as coisas

À minha família,
Minha maior motivação

Aos meus professores, em especial à minha orientadora,
“Um professor afeta a eternidade, é impossível dizer até onde vai a sua influência”
(H. B. A.)

Aos amigos e colegas,
Belos incentivos em dias de cansaço e falta de estímulo
“Tesouros do coração”

DEDICO

RESUMO

A busca pela integralização de métodos alternativos e que se apresentem como forte influência nas condições de rentabilidade e sustentabilidade dos mais variados processos industriais tem tornado iminente a preocupação com o uso de tecnologias limpas e que se utilizam de matérias-primas tão pouco exploradas. Nessa perspectiva, a biotecnologia aplicada em processos avança para a otimização de resultados e tem seu emprego nos diferentes setores de produção, inclusive o de alimentos. E nisso, tem se mostrado tendenciosamente significativa na utilização de enzimas em processos de extração de óleos vegetais, melhorando as condições de rendimento de processo e apresentando influências diretas na qualidade e nas condições de estabilidade do produto acabado. Considerando que as condições de processos clássicos impostas no tratamento de matérias-primas para extração de óleos vegetais se configuram tendenciosas na redução de sua qualidade, o presente trabalho propôs-se em avaliar a estabilidade termo-oxidativa do óleo vegetal de murici (*Byrsonima crassifolia*) obtido a partir de hidrólise enzimática assistida por ultrassom. Os frutos de murici foram obtidos entre os meses de janeiro e fevereiro de 2015, sendo submetidos a processo de despulpamento. Foi realizada a caracterização físico-química da polpa, com determinação dos teores de lipídios, proteínas, cinzas, carboidratos, Acidez Total Titulável (ATT), pH e carotenoides totais. As extrações do óleo foram seguidas por planejamento fatorial 2^3 , com variabilidade dos fatores diluição da polpa em água, concentração de enzima e tempo de exposição ao ultrassom, na avaliação do rendimento da extração. A temperatura de extração foi mantida constante, sendo de $40 \pm 2^\circ\text{C}$, e o tempo total de processo de duas horas. O óleo extraído foi avaliado quanto à composição físico-química de acordo com os métodos oficiais de análise e quanto à sua estabilidade, sendo submetido a testes de análises térmicas e oxidativa, por termogravimetria (TG/DTG/DTA) e DSC, e por meio da determinação do Período de Indução (PI) oxidativa. A polpa de murici apresentou teor de lipídios de 7,58%, com teor de umidade de 74,8%, β -caroteno de 23 $\mu\text{g/g}$ e Acidez em ácido cítrico de 1,36%. A composição físico-química do óleo de murici apresentou Índice de Acidez (IA) de 2,27 mgKOH/g e Índice de Refração (IR) de 1,463 (a 20°C). A temperatura de decomposição do óleo de murici, determinada por análise termogravimétrica foi próxima de 350°C e o Período de Indução (PI) à oxidação do óleo determinado em Rancimat não foi detectado nas 6 horas de submissão da amostra às condições de análise. Os ensaios de extração não apresentaram significância estatística quanto à interação entre fatores para o rendimento de extração, no entanto as variáveis empregadas se mostraram significativas no aumento da estabilidade do óleo obtido, demonstrando que o método se qualifica como alternativa viável na obtenção de óleos vegetais, e em se tratando do óleo de murici, podendo ser indicado para uso como óleo comestível, e possível fonte para produção de cosméticos e biocombustíveis.

Palavras-chave: Tecnologias limpas; extração de óleos vegetais; termogravimetria.

ABSTRACT

The search for integration of alternative methods and who present themselves as strong influence on profitability conditions and sustainability of the most varied industrial processes has been become imminent concern for the use of clean Technologies and that use raw materials as little explored. In this perspective, applied biotechnology process advances to the results of optimization and have employ in different sectors of production, including the food. And this, it has been shown significant tendency on the use of enzymes in vegetable oil extraction process, improving process yield conditions and presenting direct influence on the quality and stability of the finished product conditions. Whereas the conditions of classical processes imposed in the treatment of raw materials for vegetable oil extraction are configured biased in reducing of your quality, the present work proposes to evaluate the thermo-oxidative stability of vegetable oil murici (*Crassifolia Byrsonima*) obtained from enzymatic hydrolysis assisted by ultrasound. The fruits of nance were obtained between the months of January and February 2015, being subjected to pulping process. It has been held the physicochemical characterization of the pulp, to determine the lipid content was Performed, protein, ash, carbohydrates, the total titratable acidity (TTA), pH and the total carotenoids. The oil extractions were followed by 2^3 factorial planning, with variability of dilution factors of water in pulp, enzyme concentration and ultrasound exposure time, the evaluation of the extraction yield. The extraction temperature was kept constant, being 40 ± 2 ° C and the total time of process was two hours. The extracted oil was evaluated for physical and chemical composition according to the official methods of analysis and as your stability and underwent tests of thermal analysis and oxidative by thermogravimetry (TG/DTG/DTA) and DSC, and by determining Induction Period oxidative (IP). The pulp of nance presented 7.58% fat content, moisture content of 74.8%, β -carotene 23 mg / g and acidity in citric acid of 1.36%. The physical-chemical composition of nance oil presented Acidity Index (AI) of 2.27 mg KOH / g and Refractive Index (RI) of 1.463 (20 ° C). The decomposition temperature of the oil nance determined by thermogravimetric analysis was close of 350 ° C and the induction period (IP) to the determined oil Rancimat oxidation was not detected in sample 6 hours of submission to analysis conditions. The extraction tests don't presented statistical significance regarding the interaction between factors for the extraction yield, however the variables used show statistically significant in increasing the stability of the oil obtained, showing that the method qualifies as a viable alternative in obtaining vegetable oils, and in the case of nance oil and may be suitable for use as edible oil, and possible source for the production of cosmetics and biofuels.

Keywords: Clean technologies; vegetable oil extraction; thermogravimetry.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Configuração morfológica da *Byrsonima crassifolia*: A - ramo com frutos; B - folha; C - flor; D - gineceu; E - estame; F – fruto. Fonte: ALEXANDRINO, 2011. ...16
- Figura 2 - Fotos do muricizeiro (*Byrsonima crassifolia*): Visão da conformação do arbusto (A), inflorescência tipo racemo terminal (B), frutos verdes (C), fruto maduro inteiro e com corte longitudinal (D). Fontes: Flickrriver (photograph by rainy city e Victor de la Rocha Mondragon); CARDIM, 2012; Theferns (by Reinaldo Aguilar). ...17
- Figura 3 - Distribuição geográfica de cultivo de murici no Brasil. Fonte: EMBRAPA, 2006.18
- Figura 4 - Reação de formação dos Triglicerídeos a partir de uma molécula de glicerol com um éster de ácido graxo. Fonte: (LEHNINGER, 1995).....21
- Figura 5 - Triacilglicerol insaturado com radicais carboxílicos diferentes: Porção à esquerda - Glicerol. Porção à direita (de cima para baixo) – ácido esteárico, ácido oleico e ácido linoleico. Fonte: (LEHNINGER, 1995).23
- Figura 6 - Ação antioxidante da vitamina E (tocoferol) na peroxidação lipídica e sua regeneração pela vitamina C. Fonte: (BRIGELIUS-FLOÉ, 2009).....27
- Figura 7 - Hidrólise dos polissacarídeos do corpo lipídico. Fonte: ROSENTHAL et al., (1996).....31
- Figura 8 - Efeito de Cavitação acústica adaptado de EPIGENTEK, 2014.....34
- Figura 9 - Principais tipos de curvas termogravimétricas (TG). Fonte: TENÓRIO E CAPONERO (2000).38
- Figura 10 - Comparação entre as curvas TG e DTG. Fonte: TENÓRIO E CAPONERO (2000)39
- Figura 11 - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica. Fonte: FOX et al, 2006.42
- Figura 12 - Representação gráfica da evolução do processo oxidativo. A - Período de indução (iniciação); B – Propagação. Fonte: Adaptado de Silva et al.,1999.43
- Figura 13 - Esquema de composição e funcionamento do aparelho Rancimat. Fonte: METHORM, 2010.....44
- Figura 14 - Curva condutivimétrica típica para óleos vegetais, com determinação do período de indução. Fonte: WILHELM e STOCCO, 2007.45
- Figura 15 - Fluxograma das etapas de pré-processamento da matéria-prima, despulpamento e acondicionamento anteriores à sua utilização. Fonte: O autor (2016).....48
- Figura 16 - Foto da Unidade Experimental para extração de óleo de murici.....56

Figura 17 - Foto dos óleos de murici extraídos por: 1 - hidrólise enzimática assistida por ultrassom; 2 - método clássico com solvente.....	64
Figura 18 - Curva TG/DTG para o óleo de murici obtido por hidrólise enzimática, assistida por ultrassom, com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$	66
Figura 19 - Curva TG/DTA do óleo de murici extraído por hidrólise enzimática assistida por ultrassom, com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e caracterização de eventos térmicos.	68
Figura 20 - Curva TG/DTA do óleo de murici extraído por método clássico com solvente, em Soxhlet, com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$	69
Figura 21 - Curva DSC para o óleo de murici obtido por hidrólise enzimática combinada com ultrassom.....	70
Figura 22 - Período de indução (PI) para o óleo de murici obtido por hidrólise enzimática.	71
Figura 23 - Período de indução (PI) para o óleo de murici obtido por método clássico com solvente, em Soxhlet.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química e valor energético do murici, obtidos de 100 g de polpa.	20
Tabela 2 - Identificação de ácidos graxos encontrados naturalmente em vegetais. .	22
Tabela 3 - Composição percentual de ácidos graxos constituintes do óleo de murici.	28
Tabela 4 - Principais fatores que podem afetar as medidas de TG/DTG.	39
Tabela 5 - Variáveis independentes e dependentes utilizadas no planejamento experimental.....	52
Tabela 6 - Níveis de variáveis independentes no planejamento experimental.....	53
Tabela 7 - Delineamento experimental com três variáveis, contendo três pontos centrais e seis axiais.	54
Tabela 8 - Composição centesimal e valores para pH, atividade de água (Aw), acidez titulável (AT) e β -Caroteno para a polpa de murici.....	59
Tabela 9 - Delineamento composto central rotacional para as variáveis razão de diluição da polpa em água (RDA), concentração da enzima (CE) e tempo de exposição o ultrassom (TE) com resultados para o rendimento.....	62
Tabela 10 - Estimativas dos efeitos para a resposta rendimento, a partir de planejamento fatorial 23 com ponto central.....	63
Tabela 11 - Caracterização Físico-química do óleo de murici extraído por hidrólise enzimática.	64
Tabela 12 - Eventos observados por análise de DSC para o óleo de murici obtido por hidrólise enzimática combinada com ultrassom.	70

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Murici	16
3.1.1 Classificação Científica e morfológica	16
3.1.2 Distribuição geográfica	17
3.1.3 Características gerais de <i>Byrsonima crassifolia L.</i>	18
3.1.4 Composição química da polpa do Murici	20
3.2 COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS	21
3.2.1 Ácidos graxos	21
3.2.2 Acilgliceróis	23
3.2.3 Carotenóides	24
3.2.4 Tocoferóis	25
3.3 Óleo de Murici	28
3.4 MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS	29
3.4.1 Extração por processo enzimático em fase aquosa	30
3.4.2 Extração enzimática assistida por ultrassom	32
3.5 ASPECTOS RELACIONADOS À ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA DOS ÓLEOS VEGETAIS	36
3.5.1 Determinação da estabilidade térmica	36
3.5.2 Determinação da estabilidade oxidativa	41
4 METODOLOGIA	47
4.1 Delineamento da pesquisa e identificação das unidades experimentais	47
4.2 Matéria-prima e amostragem	47
4.3 Pré-tratamento da amostra	47
4.4 Composição Centesimal da polpa	49
4.4.1 Umidade Total	49
4.4.2 Proteínas	49
4.4.3 Lipídios	50

4.4.4 Cinzas.....	50
4.4.5 β -caroteno.....	51
4.4.6 Carboidratos	51
4.5 Obtenção da enzima	51
4.6 Planejamento experimental.....	52
4.7 Procedimentos de extração do óleo bruto.....	54
4.7.1 Extração a partir de hidrólise enzimática assistida por ultrassom.....	54
4.7.2 Extração clássica por soxhlet	56
4.8 Análises físico-químicas do óleo bruto.....	56
4.8.1 Índice de acidez	56
4.8.2 Índice de refração	57
4.8.3 Índice de saponificação	57
4.9 Avaliação da estabilidade térmica do óleo por termogravimetria (TG/DTG e DSC)	58
4.10 Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo por Rancimat	58
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
5.1 Composição centesimal da polpa de murici.....	59
5.2 Extração a partir de hidrólise enzimática assistida por ultrassom	61
5.3 Caracterização Físico-Química do óleo bruto	64
5.4 Avaliação da estabilidade térmica do óleo de murici por análises termogravimétricas e calorimétrica	66
5.5 Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de murici por método Acelerado em Rancimat.....	70
6 CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento tecnológico mundial se mostra cada vez mais progressista na direção dos processos biotecnológicos, voltado principalmente para os interesses de substituição de processos químicos convencionais por processos enzimáticos, devido à irreversível tendência de prevalência das políticas ambientais (COELHO *et al.*, 2001).

Diante dessa nova perspectiva, o emprego de processos biotecnológicos nos mais diversos setores da indústria de alimentos têm se destacado cada vez mais no aprimoramento de seus métodos de produção. Consoante a isso, a utilização de enzimas nos processos industriais é de amplo interesse, especialmente pela facilidade dos mecanismos empregados na sua obtenção e quanto às vantagens apresentadas em relação aos catalisadores de natureza química, quando essas se configuram mais vantajosas em termos de especificidade, consumo energético e nas condições de velocidade das reações (MUSSATTO *et al.*, 2007).

Nesse sentido, a aplicação de enzimas nos processos de extração de óleos vegetais tem surgido como uma nova alternativa na solução de problemas com o uso de solventes, no emprego em métodos convencionais, que se apresentam potencialmente ofensivos ao meio ambiente. Além de conferirem condições de periculosidade ao processo, quando se trabalha com temperaturas elevadas. E os solventes são, em sua grande maioria, inflamáveis, e se configuram potenciais sequestradores de substâncias antioxidantes naturalmente presentes nas espécies vegetais. Fato que associado às altas temperaturas de processamento, influencia de forma negativa nas condições de estabilidade e qualidade dos produtos acabados (TURATTI, 1999).

Os óleos de origem vegetal estão frequentemente sujeitos a tratamentos térmicos e não isoladamente também estão expostos ao oxigênio, fatores amplamente comprometedores da condição de sua estabilidade. Assim, o uso de óleos vegetais para diversos fins tem levado à necessidade de avaliar melhor a sua qualidade e o seu grau de resistência, principalmente sua estabilidade ao armazenamento e aos processos térmicos que podem provocar a perda de qualidade nutricional e funcional (REDA e CARNEIRO, 2007).

O óleo contido nos frutos do muricizeiro (*Byrsonima crassifolia*) representa aproximadamente 23% da matéria seca total da polpa, equivalendo aos teores

presentes nas sementes de linho e de milho e superiores ao de óleo de soja (CASTRO, 2007). Dispõe ainda de perfil lipídico rico em ácidos graxos mono e poli-insaturados, consistindo em mais de 80% de sua composição, podendo estar equiparado aos valores encontrados para o azeite de oliva (REZENDE e BRAGA, 2003). Também, em virtude de sua potencial constituição por compostos de natureza antioxidante, entre os quais o óleo de murici se configura um produto de alto valor agregado em termos de manutenção da sua estabilidade.

Vários métodos vêm sendo empregados no intuito de avaliar a extensibilidade da deterioração térmica e oxidativa de óleos vegetais, e que se baseiam em ensaios termo analíticos e de indução à oxidação acelerada. São métodos que, por sua vez, submetem a amostra a condições que aceleram o processo de oxidação normal e são mais vantajosos do que os métodos convencionais, porque são mais precisos, sensíveis, requerem menor quantidade de amostra e os resultados são obtidos mais rapidamente (HASSEL, 1976; SANTOS *et al.*, 2002). Também são largamente usados no controle de qualidade de óleos vegetais, pois fornecem, com rapidez, dados sobre a estabilidade do óleo perante seu comportamento térmico (WESOLOWSKI, 1998).

A análise térmica possibilita uma ampla faixa de aplicação para medidas de propriedades físicas, estudo de reações químicas, avaliação da estabilidade térmica, determinação da composição de materiais e desenvolvimento de metodologia analítica. As técnicas termogravimétricas dinâmicas, por sua vez, podem ser usadas para estimular o patamar de estabilidade destes óleos e gorduras (FARIA *et al.*, 2002).

Os ensaios de estabilidade oxidativa expressam a capacidade de manutenção da estabilidade à oxidação de ácidos graxos em termos de um período de indução (PI) na formação de ácidos orgânicos voláteis resultantes de condições de oxidação aceleradas, e sua determinação está baseada no aumento da condutividade elétrica (KNOTHE *et al.*, 2005).

Com o intuito de prestar contribuições sobre os métodos alternativos para extração de óleos vegetais, e principalmente na avaliação das suas condições de estabilidade perante as situações de processamento e de estocagem, o presente trabalho consiste em avaliar a estabilidade termo-oxidativa do óleo de murici extraído por hidrólise enzimática assistida por ultrassom.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a estabilidade termo-oxidativa do óleo da polpa de murici (*Byrsonima crassifolia*) obtido a partir de hidrólise enzimática assistida por ultrassom.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterização da composição centesimal da polpa do murici;
- Extração do óleo da polpa do murici através dos métodos enzimático combinado com ultrassom e por solvente;
- Otimização das condições de extração enzimática do óleo através de planejamento experimental;
- Caracterização físico-química do óleo extraído através dos índices de qualidade dos ácidos graxos constituintes;
- Avaliar a estabilidade termo-oxidativa dos óleos extraídos por método enzimático e por solvente, por meio das técnicas termogravimétricas e Rancimat;
- Determinar os eventos exotérmicos e endotérmicos característico do óleo extraído por hidrólise enzimática.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Murici

3.1.1 Classificação Científica e morfológica

O muricizeiro, planta típica do cerrado brasileiro, tem sua classificação botânica feita do seguinte modo: árvore pertencente ao Reino Plantae; Divisão Magnoliophyta; Classe Magnoliopsida; Ordem Malpighiales; Família Malpighiaceae; Gênero *Byrsonima*; Espécie *B. crassifolia*.

Em termos de composição morfológica, *Byrsonima crassifolia* é um arbusto que pode atingir até 5 metros de altura podendo, entretanto, se apresentar como simples arbusto de 1 m de altura nos campos cerrados da região Amazônica. Apresenta tronco tortuoso de 15-25 cm de diâmetro, revestido por casca grossa e áspera. Suas folhas são simples, concentradas em direção à extremidade dos ramos, curto-pecioladas, de superfície tomentoso-vilosa em ambas as faces, de 14-20 cm de comprimento por 6-12 cm de largura. A inflorescência do murici é do tipo racemo simples concentrados nas axilas da extremidade dos ramos, de 15-25 cm de comprimento, sobre pedúnculo de 1-6 cm, com muitas flores de cor amarela e vermelha muito vistosas. O fruto é uma drupa globosa, com aproximadamente 1,3 a 1,5 cm de diâmetro, glabra (sem pêlos), de polpa succulenta e adocicada; amarelo; fino; nuculânio 1 a 3 lóculos com cerca de 6 mm de diâmetro, sementes 1 a 3, adnatas ao endocarpo; cálice ligeiramente acrescente no fruto (ALMEIDA *et al.*, 1998; LORENZI, 1998).

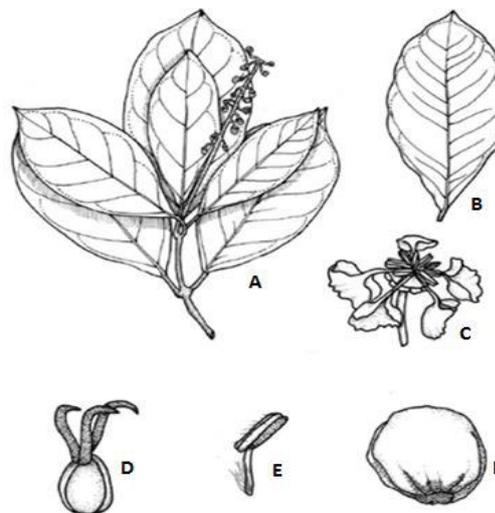


Figura 1 - Configuração morfológica da *Byrsonima crassifolia*: A - ramo com frutos; B - folha; C - flor; D - gineceu; E - estame; F - fruto. Fonte: ALEXANDRINO, 2011.



Figura 2 - Fotos do muricizeiro (*Byrsonima crassifolia*): Visão da conformação do arbusto (A), inflorescência tipo racemo terminal (B), frutos verdes (C), fruto maduro inteiro e com corte longitudinal (D). Fontes: Flickrriver (photograph by rainy city e Victor de la Rocha Mondragon); CARDIM, 2012; Theferns (by Reinaldo Aguilar).

3.1.2 Distribuição geográfica

Os muricis do Brasil são muitos e variados, sendo, em sua maioria, plantas da família Malpighiaceae. Em suas diferentes espécies, os muricis distinguem-se por suas cores e locais de ocorrência. Conhecidos o murici-amarelo, o muricibranco, o murici-vermelho, o murici-de-flor-branca, o murici-de-flor-vermelha, o murici-da-chapada, o murici-da-mata, o murici-da-serra, o murici-das-capoeiras, o murici-do-campo, o murici-do-brejo, o murici-da-praia, entre outros (EMATER, 2006).

As espécies de muricizeiro mais comuns e de ocorrência no Brasil são: *B. crassifolia* (CORRÊA, 1974) que ocorre das Guianas até a Bahia; *B. verbascifolia*, sua ocorrência é no Brasil Central e região Amazônica, em cerrados, cerradões e campos cerrados (LORENZI, 1998); e *B. intermédia*, nativo dos cerrados do Brasil (LORENZI e MATOS, 2002).

Para Giacometti (1993), a planta ocorre nos seguintes centros de diversidade (área biogeográfica onde se concentram as espécies de organismos endêmicos ou não, quer seja em comunidades ou populações e mostrando elevado nível de variabilidade inter e intraespecífica essenciais a sua evolução e sobrevivência e também oportunidade à domesticação): zonas de cerrado da Amazônia, principalmente Pará e Amapá, áreas de tabuleiros costeiros, cerrados e baixadas

litorâneas do Nordeste, e cerrados do Brasil Central até o Pantanal. A figura 3 apresenta os centros de distribuição geográfica de cultivo de murici no Brasil.

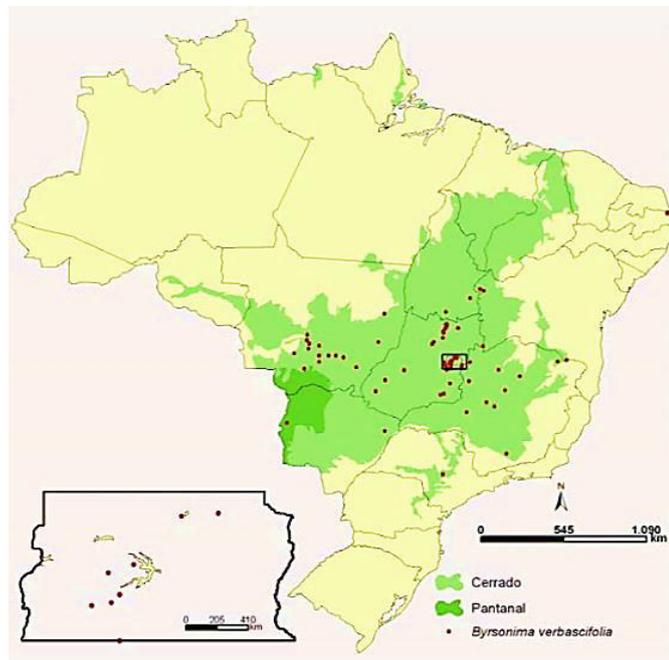


Figura 3 - Distribuição geográfica de cultivo de murici no Brasil. Fonte: EMBRAPA, 2006.

3.1.3 Características gerais de *Byrsonima crassifolia* L.

O murici (*Byrsonima crassifolia*, Malpighiaceae) é um fruto do Cerrado consumido principalmente *in natura*, sendo encontrado de dezembro a março, nas regiões serranas do Sudeste, nos cerrados de Mato Grosso e Goiás e no litoral do Norte e Nordeste do Brasil. Quando maduro, apresenta-se amarelado, com diâmetro de 1,5 a 2 cm e um forte odor semelhante a queijo rançoso (REZENDE e BRAGA, 2003; ALVES e FRANCO, 2003). Sua comercialização se restringe às feiras livres e mercados locais. A polpa é carnosa e macia, podendo ser consumida *in natura* ou sob a forma de sucos, geleias, sorvetes e licores (ALVES e FRANCO, 2003).

O plantio do murici é feito por sementes e, raramente, por mudas, com brotamento ocorrendo da 4^a à 8^a semana seguinte. Desenvolve-se bem em solos areno-argilosos, mas já foram encontrados exemplares vegetando normalmente em solos arenosos e muito argilosos e, até mesmo, em piçarras. No entanto, sabe-se que a planta não tolera solos encharcados, preferindo aqueles que possuem uma boa drenagem (GOMES, 1983).

O início da floração ocorre no final de agosto e a frutificação começa no final de setembro e termina em meados de janeiro, podendo se estender até março em algumas regiões, dependendo da incidência de chuvas. A colheita ainda é efetuada de maneira rudimentar, devido à grande incidência de queda dos frutos maduros. Cada planta produz em média 15 kg de frutos por ano (EMATER, 2006).

Entre as diversas espécies do Cerrado, o murici destaca-se pelo elevado valor nutricional e medicinal. Tem sabor forte, agridoce e ligeiramente oleoso (FILHO, 2008).

O fruto tem sido utilizado pela população como alimento ou como agente terapêutico, por sua ação cicatrizante e anti-inflamatória. Há estudos que mostram que o murici possui componentes antioxidantes, como os compostos fenólicos, carotenoides e ácido ascórbico (GUIMARÃES E SILVA, 2008; BARRETO *et al.*, 2009; ALMEIDA *et al.*, 2011; DE SOUZA *et al.*, 2012).

O consumo de polpa de murici (100 g) contribui para suprir as necessidades diárias de vitamina C em crianças adultos e gestantes (156%; 43%; 46%, respectivamente), conforme referência do *Institute of Medicine* (IOM-US, 2001).

Em estudos da composição nutricional e propriedades funcionais do murici, Siguemoto (2013) determinou quantidade de carotenoides totais de frutos coletados em três municípios, apresentando valores médios entre 14,9 mg e 29,4 mg por 100 g de base fresca, com predominância de luteína. Os carotenoides precursores da síntese de vitamina A (β -criptoxantina e β -caroteno), representaram quantidades inferiores em relação à luteína.

O consumo da polpa de murici (100 g) contribui para suprir as necessidades diárias de vitamina A da criança, adulto, grávida (55%; 24%; 28%, respectivamente), de acordo com a referência do *Institute of Medicine* (IOM-US, 2001).

A luteína e a zeaxantina são os únicos carotenoides presentes na região macular da retina, assim sugere-se que estes compostos têm um papel na saúde dos olhos. MA e LIN (2010) e STRINGHAM *et al.* (2010), relatam que a presença de luteína e zeaxantina na mácula lútea reduzem o desconforto e o tempo de recuperação após a exposição a um ambiente muito claro, aumenta o alcance visual, melhora os contrastes de cores, reduz o risco de degeneração macular e catarata.

Além disso, o extrato metanólico dos frutos do murici apresentam 2,9 mg de polifenóis/ g de matéria seca e 0,2 mg/ g de flavonoides. Este extrato aumentou a

resistência da LDL à oxidação, embora tenha apresentado baixa atividade *scavenger* do radical peroxil (SOUZA *et al.*, 2008).

Em modelo animal de diabetes, o extrato hexânico do murici reduziu as concentrações de glicose (efeito hipoglicêmico), incrementou a atividade da SOD e catalase hepáticas, restaurou as concentrações de glutathione e reduziu as concentrações de TBARS, colesterol e triacilgliceróis (PEREZ-GUTIERREZ *et al.*, 2010).

3.1.4 Composição química da polpa do Murici

De acordo com Gusmão *et al.*, (2006), a polpa de murici contribui em média com 73,63% da massa de matéria fresca total do fruto, se configurando como demonstrativo do bom rendimento de polpa.

O murici é boa fonte de energia com alto teor de gordura (BRASIL, 2002). O fruto destaca-se como fonte de ferro, fibra, carboidrato e vitamina C. A composição centesimal da polpa de murici encontra-se descrita na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química e valor energético do murici, obtidos de 100 g de polpa.

Composição química	Murici (<i>Byrsonima crassifolia</i>)
Valor energético (Kcal)	66
Umidade (g)	82,80
Proteínas (g)	0,90
Lipídeos (g)	1,30
Glicídios (g)	14,40
Fibra (g)	2,20
Cinzas (g)	0,60
Cálcio (mg)	33,00
Fósforo (mg)	17,00
Ferro (mg)	2,00
Vitamina A (mcg)	7,00
Vitamina B1 (mg)	0,02
Vitamina B2 (mg)	0,04
Vitamina C (mg)	84,00
Niacina (mg)	0,40

Fonte: IBGE (1996).

3.2 COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS

Os óleos vegetais são formados principalmente por triglicerídeos, ésteres de ácidos graxos com glicerol (NELSON e COX, 2011). Os triglicerídeos, devido às diferentes funcionalidades presentes em sua estrutura química, éster e insaturações, apresentam uma grande versatilidade reacional (SUAREZ e MENEGHETTI, 2007).

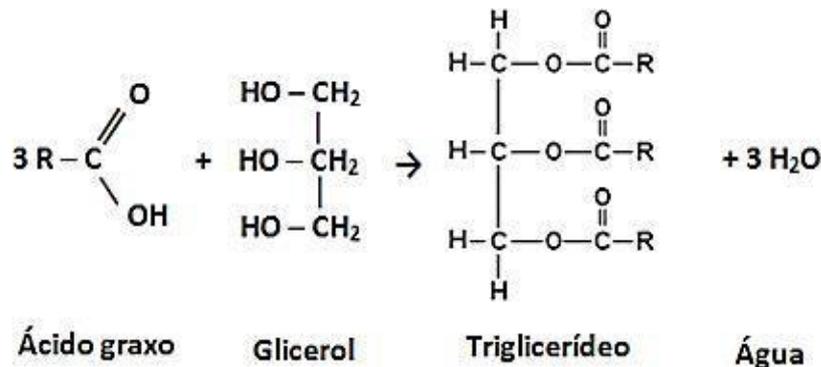


Figura 4 - Reação de formação dos Triglicerídeos a partir de uma molécula de glicerol com um éster de ácido graxo. Fonte: (LEHNINGER, 1995).

Os triglicerídeos constituem o grupo de composto majoritário, chegando a representar normalmente 95-97% do total em óleos brutos (MORETTO e FETT, 1998). Os mono e diglicerídeos ainda que se encontrem na forma natural em pequena quantidade nos óleos, podem ser resultado da hidrólise dos triglicerídeos. Dentro de cada espécie de triglicerídeo também se pode estabelecer outra classificação em função do tipo de ácido graxo e a posição do mesmo dentro da molécula (MARTÍNEZ, 2007).

Além de ácidos graxos, os óleos vegetais apresentam componentes de importância nutricional como os tocoferóis, os fitoesteróis e os carotenoides. Esses constituintes, uma vez presentes na sua composição seria a causa provável da caracterização de óleos vegetais como alimentos que apresentem propriedades funcionais.

3.2.1 Ácidos graxos

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeia carbônica longa. Além disso, a grande maioria dos ácidos graxos naturais não apresentam ramificações e contêm um número par de carbonos (12 a 24 carbonos) devido à rota bioquímica de

síntese. Os ácidos graxos diferem entre si pelo número de carbonos da cadeia e também pelo número de insaturações. Nota-se que usualmente as ligações duplas apresentam-se como isômero cis e quando o ácido é poli-insaturado, ou seja, tem mais de uma ligação dupla na cadeia, existe um carbono com hibridação sp³ entre as ligações duplas. A Tabela 2 apresenta os ácidos graxos naturalmente encontrados em óleos de composição vegetal, com a identificação do número de carbonos na cadeia principal e número de duplas ligações respectivos a cada tipo.

Tabela 2 - Identificação de ácidos graxos encontrados naturalmente em vegetais.

Nº de carbonos : nº de duplas ligações	Nome Comum
C12 : 0	Láurico
C16 : 0	Palmítico
C18 : 0	Esteárico
C20 : 0	Araquídico
C18 : 1 Δ cis (ômega 9)	Oleico
C18:2 Δ 9,12 cis cis (ômega 6)	Linoleico
C18:3 Δ 9,12,15cis cis cis (ômega 3)	Alfa – linolênico
C18:3 Δ 6, 9, 12 cis cis cis (ômega 6)	Gama – linolênico

Fonte: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2006.

Os ácidos graxos têm uma participação muito importante na constituição das moléculas de triglicérides, chegando a representar até 96% do peso total dessas moléculas (MORETTO e FETT, 1998).

A determinação dos ácidos graxos é fundamental para o conhecimento da qualidade dos óleos, verificação do efeito do processamento, adequação nutricional do lipídeo ou do alimento que o contém (MACHADO *et al.*, 2006). Para Costa Neto *et al.* (2000), a análise da composição de ácidos graxos constitui o primeiro passo para uma avaliação preliminar da qualidade do óleo bruto e/ou de seus produtos de transformação.

3.2.2 Acilgliceróis

Quimicamente, os óleos vegetais são formados por moléculas de acilgliceróis, mostrado na Figura 5, que são originárias da condensação entre ácidos graxos e glicerol (tri-álcool), formando ésteres de ácidos graxos. Assim, estes compostos são classificados em mono, di ou triacilgliceróis, dependendo se uma, duas ou três moléculas de ácido graxo se associa(m) covalentemente ao glicerol, respectivamente, formando ésteres de ácido graxo. É importante salientar que os triacilgliceróis podem ser formados por ácidos graxos iguais ou diferentes entre si, e, dependendo da origem da matéria prima, podem ser saturados ou insaturados (UHREN, 2007).

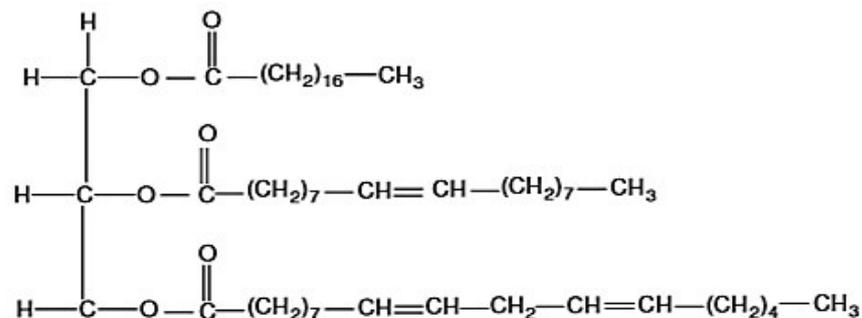


Figura 5 - Triacilglicerol insaturado com radicais carboxílicos diferentes: Porção à esquerda - Glicerol. Porção à direita (de cima para baixo) – ácido esteárico, ácido oleico e ácido linoleico. Fonte: (LEHNINGER, 1995).

As unidades acila presentes no triacilglicerol podem conter de 4 a 30 átomos de carbono, dependendo do ácido graxo que lhe deu origem. Estas unidades acila podem ser saturadas ou insaturadas. O número de insaturações pode variar entre 1 e 6, sendo que três insaturações são comuns. Normalmente, são encontrados ácidos graxos saturados, que contém de 8 a 22 átomos de carbono; com uma insaturação, que contém de 10 a 22 átomos de carbono; e com duas e três insaturações, cuja maioria contém 18 átomos de carbono, conhecidos como ácidos linoleico e linolênico, respectivamente (OOMMEN, 2002).

Uma vez que existem três posições disponíveis na molécula de glicerol para a esterificação dos ácidos graxos, os óleos e gorduras são compostos de misturas complexas de triacilgliceróis. A cadeia alquílica indica as características físicas dos lipídios, pois quanto maior a cadeia maior o ponto de fusão, portanto poderá ser sólido à temperatura ambiente (gorduras), quanto menor a cadeia e quanto mais

insaturada; menor ponto de fusão, portanto líquido à temperatura ambiente (óleos). Na natureza a maioria dos insaturados tem configuração “cis”, o que provoca ainda mais a diminuição do ponto de fusão (menor empacotamento) (BLOCK, 1992; ARAÚJO, 1999).

Além dos triacilgliceróis, os óleos e gorduras contêm componentes menores, como mono e diacilgliceróis, que possuem o glicerol esterificado com um ou dois ácidos graxos apenas, fosfolipídios, esteróis, tocoferóis e pigmentos, que influenciam sobre as propriedades físicas e químicas dos óleos e gorduras (BLOCK, 1992).

3.2.3 Carotenóides

Os carotenoides são compostos tetraterpenóides que formam um dos grupos de pigmentos mais difundidos na natureza, sendo responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha de um grande número de vegetais (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; BOBBIO e BOBBIO, 2001). A estrutura dos carotenoides confere inúmeras propriedades, que caracterizam suas diversas funções e ações nos organismos vivos. São essenciais para a fotossíntese e para a vida em uma atmosfera que necessita de oxigênio (BELITZ e GROSH, 1992).

Já foram identificados cerca de 600 tipos de carotenoides, mas somente 30 a 40 estão presentes na alimentação, e 13 compostos e 8 metabólitos são encontrados em tecidos humanos, variando conforme as dietas individuais (HORST e LAJOLO, 2007).

Devido ao seu sistema conjugado de duplas ligações, os carotenoides são altamente instáveis, sensíveis ao calor, luz, ácidos, oxigênio e enzimas como lipoxigenase, podendo levar a alterações ou parcial destruição dos pigmentos e perda da atividade pró-vitamina A. Isto é resultado da isomerização da forma trans, mais estável, à cis, que pode ocorrer durante o processamento e armazenamento do produto que contém estes carotenoides (BELITZ, GROSH, 1992).

A importância dos carotenoides não é somente atribuída à coloração que conferem a determinadas frutas e hortaliças, mas também aos benefícios à saúde, tanto pela atividade pró-vitamina A que alguns destes compostos apresentam, como pela ação antioxidante e imunoduladora (DAVISON *et al.*, 1993).

Em geral, a capacidade antioxidante destes compostos está relacionada à desativação de radicais livres e ao sequestro do oxigênio singlete. Os carotenoides removem os radicais peróxidos, modulam o metabolismo carcinogênico, inibem a proliferação celular, estimulam a comunicação entre células e elevam a resposta imune (SHAMI e MOREIRA 2004; UENOJO *et al.*, 2007). Para Moraes e Colla (2006), devido à sua estrutura, atuam protegendo as estruturas lipídicas da oxidação ou por sequestro dos radicais livres gerados no processo foto-oxidativo.

É importante salientar que sob elevada pressão de oxigênio e em altas concentrações, os carotenoides podem atuar como pró-oxidantes. Além disso, na presença de íons ferro, o efeito pró-oxidante pode ser incrementado com concomitante redução da oxidação do carotenoide e redução de sua atividade “*scavenging*” (atividade sequestradora de radicais livres) (POLYAKOV *et al.*, 2001).

3.2.4 Tocoferóis

Os tocoferóis são importantes constituintes minoritários da maioria dos óleos vegetais. São antioxidantes, auxiliando na prevenção de rancidez oxidativa, e são também fontes de vitamina E. São parcialmente removidos pelo calor durante o processamento e podem ser adicionados depois, para melhorar a estabilidade oxidativa dos óleos (VACLAVIK e CHRISTIAN, 2003).

Os tocoferóis estão presentes naturalmente em muitos óleos vegetais e despertam grande interesse em função da sua atividade como vitamina E e seu efeito antioxidante. De acordo com a localização e grau de substituição de grupos metila no anel, são denominados α , β , γ e δ -tocoferol conforme sua forma de isomerização (SÁNCHEZ-PÉREZ *et al.*, 2000). Do ponto de vista da estabilidade oxidativa, o teor de tocoferóis nos óleos vegetais está próximo do ótimo, mas durante o refino, principalmente na etapa de desodorização, é observada uma perda de cerca de 40% destes compostos. O Destilado de Desodorização do Óleo de Soja (DDOS), um subproduto da desodorização, é rico em tocoferóis e é utilizado como fonte para a produção de antioxidantes naturais para alimentos (POKORNÝ e PARKÁNYIOVÁ, 2005).

A atividade antioxidante dos tocoferóis ocorre devido, principalmente, à sua capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a etapa de propagação da reação em cadeia, e depende, além da

estrutura química, de fatores como temperatura, composição, estado físico da gordura (líquida, emulsão), concentração de tocoferóis e da presença de espécies químicas que podem atuar como pró-oxidantes (NOGALA-KALUCKA *et al.*, 2005; LAMBELET *et al.*, 2001; WHITE, 2000).

Yoshida *et al.* (1991), afirmaram que a potência biológica dos tocoferóis como vitamina E decresce conforme a sequência α , β , γ , δ e segundo Jorge e Gonçalves (1998), sua atividade como antioxidante aumenta nessa mesma sequência.

O α -tocoferol pode atuar como antioxidante ou pró-oxidante dependendo do sistema testado, da concentração, do tempo de oxidação e do método usado para acompanhar a oxidação; a concentração de tocoferol para otimizar a estabilidade oxidativa de óleo de soja é entre 400 e 600 mg/kg (FRANKEL, 1996).

Tendo como base a formação de hidroperóxidos, em óleo de milho, α -tocoferol exibiu ótima atividade antioxidante em concentrações menores (100 mg/kg) que na correspondente emulsão óleo/ água (250–500 mg/kg). Entretanto, baseando-se na decomposição de hidroperóxidos, medida pela formação de hexanal, a atividade do α -tocoferol aumentou com a concentração, tanto no óleo quanto na emulsão (HUANG *et al.*, 1994).

Por outro lado, Jung e Min (1990) definiram concentrações ótimas de 100 mg/kg para α , 250 mg/kg para γ e 500 mg/kg para δ tocoferóis para aumentar a estabilidade oxidativa de óleos de soja purificados e armazenados no escuro, à temperatura de 55°C. Os tocoferóis apresentaram significantes efeitos pró-oxidantes em concentrações acima destes níveis. Os tocoferóis são lábeis na presença de oxigênio, luz e calor. A velocidade relativa de decomposição de tocoferol em aquecimento de óleo de soja e girassol simulando fritura (180°C por 12 h) foi $\alpha > \beta > \gamma > \delta$.

Em estudo da ação antioxidante dos tocoferóis em gorduras vegetais parcialmente hidrogenadas de soja e algodão com variação no índice de iodo, Stell (2002) notou uma destruição mais rápida de α e γ tocoferóis que de β e δ tocoferóis durante a termoxidação a 180°C por 10 h. A destruição dos tocoferóis originais, naturalmente presentes nos óleos e gorduras, foi maior nas gorduras mais saturadas, enquanto que a dos tocoferóis adicionados, em geral, foi maior nas gorduras mais insaturadas, demonstrando haver uma relação da resistência dos tocoferóis não só com o substrato, mas também, com o fato de serem naturais ou adicionados.

O tocoferol é ainda considerado o maior antioxidante lipossolúvel, o qual atua como *scavenger* de radicais livres, doando hidrogênio para o radical peroxil e inibindo a peroxidação lipídica. Após este processo, o tocoferol é inativado e o radical tocoferoxil é gerado (BRIGELIUS-FLOÉ, 2009). Buscando evitar a desativação desta molécula, as células dispõem de um mecanismo sinérgico de regeneração da vitamina E com o ascorbato nas membranas celulares e com a ubiquinona na membrana mitocondrial (BARREIROS *et al.*, 2006). A Figura 6 apresenta o esquema de mecanismo sinérgico de regeneração da vitamina E pela vitamina C.

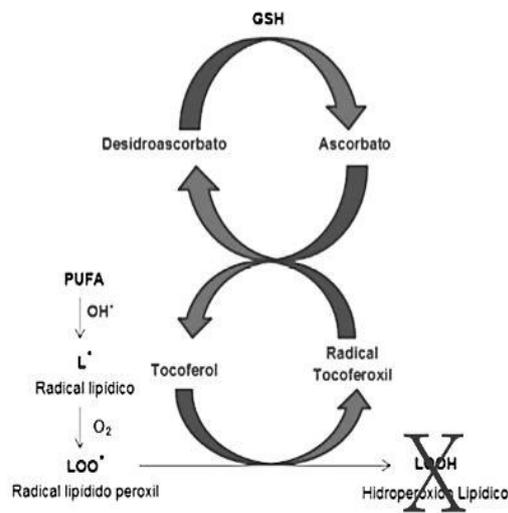


Figura 6 - Ação antioxidante da vitamina E (tocoferol) na peroxidação lipídica e sua regeneração pela vitamina C. Fonte: (BRIGELIUS-FLOÉ, 2009).

A formação do radical inicial, quando há abstração de hidrogênio dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) pode ser desencadeada por luz, calor, metais e radicais livres. A subsequente reação do radical lipídico com o oxigênio forma o radical peroxil, que se não for eliminado pela vitamina E, propaga a reação em cadeia de lipoperoxidação. O tocoferol até poderia reagir com o radical lipídico, mas essa reação é fisiologicamente difícil em virtude da elevada velocidade de reação entre ele e o oxigênio e devido às altas concentrações de oxigênio molecular (BRIGELIUS-FLOÉ, 2009).

Os hidroperóxidos lipídicos, quando formados, podem gerar aglomerados que criam poros nas membranas através dos quais qualquer substância é capaz de difundir-se para dentro da célula. No final, a membrana lipídica pode perder sua funcionalidade (VAN ACKER *et al.*, 1993).

3.3 Óleo de Murici

O óleo obtido da extração da polpa do fruto de murici é de grande interesse industrial no setor de elaboração de cosméticos e de fármacos como também de produtos alimentícios, devido à sua propriedade antioxidante e por apresentarem elevados teores de ácidos graxos insaturados (cerca de 60%) e betacaroteno em sua composição.

Vendruscolo *et. al.*, (2013) em estudos para a determinação do teor de óleo presente no murici (*Byrsonima crassifolia*), visando a produção de biodiesel quantificou a concentração lipídica por extração de diferentes partes da fruta. Para os ensaios extrativos da polpa de murici, a composição em óleo apresentou percentuais de 22,75 para a polpa seca e de 5,17 para polpa úmida.

A partir da determinação de propriedades antioxidantes e da caracterização dos ácidos graxos a partir do extrato hexânico do murici (*Byrsonima crassifolia L.*), Castro *et al.*, (2007) mostrou que a composição em ácidos graxos do óleo de murici a partir da sua transmetilação caracterizou-se por frações percentuais de 21,01 em ácido oleico, 16,34 em ácido palmítico e 15,35 de oleato de etila, em concentrações majoritárias. A composição total em ácidos graxos presentes no óleo de murici encontra-se descrita na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição percentual de ácidos graxos constituintes do óleo de murici.

Constituintes	% em óleo de murici
Ácido láurico	9,29
Ácido Mirístico	9,75
Ácido Palmítico	16,34
Palmitato de Etila	2,12
Ácido Linoleico	12,07
Ácido Oleico	21,02
Ácido Esteárico	1,92

Fonte: CASTRO *et al.*, 2007.

O óleo total da polpa do murici também apresentou cerca de 0,717 mg/Kg de beta-caroteno nos estudos conduzidos por Castro *et al.*, (2007). Esse alto valor

assume equivalência aos óleos de sementes de linho e de milho e superior aos óleos de girassol e de sementes de uva, conforme mostra Tuberoso *et al.* (2006).

3.4 MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS

Em se tratando de procedimentos extrativos de óleos vegetais, a adoção de seus métodos configura-se importante condição na determinação da tecnologia de matérias lipídicas de composição essencialmente graxas. A extração consiste na obtenção de um óleo puro e sem alterações, e cujo processo garanta o máximo rendimento possível atrelado às condições de economia para realizá-lo, além de que seja necessário para garantir a qualidade do produto final.

Realiza-se a extração com o fim de isolar o óleo da matriz que, no caso da maioria dos óleos vegetais, é a semente (BRUNETON, 1991). No entanto, existem espécies vegetais que também apresentam consideráveis concentrações de óleo em sua polpa, como é o caso do murici (*Byrsonima crassifolia*).

Classicamente, a extração de um óleo vegetal é realizada numa sequência de etapas que compreendem o pré-tratamento térmico, prensagem e extração da torta final com hexano. O óleo bruto assim extraído é turvo, instável quimicamente e contém diversos compostos indesejáveis resultantes da oxidação dos lipídeos durante o processamento (PARMENTIER *et al.*, 2004).

A prensagem a frio é um método mais antigo e mais simples, utilizado especialmente para extração de óleos de sementes, principalmente quando se deseja que o óleo esteja livre de contaminação por misturas de solventes. Já na extração de óleo de polpas de frutas o método artesanal mais comumente aplicado é o cozimento, que tem como fatores limitantes o baixo rendimento e a rápida alteração na sua composição química em função das reações de oxidação (MARIANO, 2008).

Os processos industriais de extração de óleo que utilizam enzimas, em geral, causam baixo impacto ambiental, reduzem o consumo de energia e aumentam a qualidade do produto final. O uso de enzimas na extração de óleos vegetais foi pesquisado intensamente nas últimas décadas e foi aplicado para todas as oleaginosas de interesse comercial. O tratamento enzimático tem se mostrado eficiente na degradação das paredes dos tecidos vegetais, propiciando maior rendimento na extração de óleos, melhoria na qualidade nutricional da torta e

aumento na estabilidade do produto final (FREITAS *et al.*, 1996; SANTOS e FERRARI, 2005).

Outra técnica que tem sido eficientemente aplicada é a utilização de um banho de ultrassom (sonicador) que melhora o processo de extração significativamente, uma vez que a ação do ultrassom nos líquidos pode provocar efeitos de cavitação, ou seja, colapso de bolhas perto da fronteira de duas fases imiscíveis, diminuindo as limitações à transferência de massa dos reagentes. A cavitação consiste na criação e implosão de microbolhas de gás na fase líquida. A variação de pressão cria em um ponto do líquido, momentos de compressão e descompressão (rarefação) alternados. A cavitação pode ser afetada por diversos parâmetros, tais como: frequência, intensidade de irradiação, tipo de solventes empregados e temperaturas aplicadas (BARBOZA e SERRA, 1992).

O ultrassom é um método promissor para as extrações de óleo, por ser de baixo custo, com alta eficiência, redução no tempo de extração e aumento nos rendimentos (CRAVOTTO *et al.*, 2008). A exemplo disso, Wei *et al.* (2008) demonstraram a partir de experimentos realizados com microalgas de uma espécie específica, a eficácia da aplicação do ultrassom no rompimento das paredes celulares, aumentando consideravelmente o rendimento da extração de óleo, quando comparado ao método clássico, com uso de solvente hexano, por Soxhlet. Os rendimentos demonstraram percentuais respectivos de 25,9% e 4,8% de extração pelos métodos por ultrassom e por solvente.

Ainda, pode ser empregada a utilização de métodos de extração associados, que em seu uso conjunto aumentam efetivamente as taxas de extração e influenciam diretamente no rendimento do óleo extraído. Também, quando empregados de maneira controlada, esses métodos auxiliam no processo, tendo influência nas condições de qualidade do produto, sejam elas atreladas às propriedades sensoriais, nutricionais e condições de estabilidade pós-processamento.

3.4.1 Extração por processo enzimático em fase aquosa

O uso de enzimas na extração de óleo de sementes ou frutos consiste em um processo que envolve o tratamento do material contendo o óleo com enzimas que degradam a parede celular, com o objetivo de extrair o óleo e outros componentes.

A técnica possibilita melhores condições de processamento, pois a temperatura de extração é relativamente baixa, requer pouco investimento financeiro e de energia e não há utilização de solventes orgânicos (ROSENTHAL *et al.*, 1996; HANMAOUNGIAI *et al.*, 2001).

A aplicação da tecnologia enzimática na indústria de óleos pode ser feita por extração aquosa ou extração combinada. Em se tratando da extração aquosa, a matéria prima é submetida a um pré-processamento que, em geral, consiste na diluição e trituração à quente para inativação das enzimas naturais e preparo de uma emulsão homogênea. A seguir, a mistura é transferida para um reator onde a enzima é adicionada ao substrato mantido sob incubação (COURI e FREITAS, 1997). A diluição, o tempo e a concentração do preparado enzimático são parâmetros relevantes e devem ser otimizados durante o desenvolvimento do processo. A temperatura deve ser fixada em função da atividade máxima da enzima, de preferência no pH natural da emulsão (FREITAS, *et al.*, 1996). O óleo é separado da água por centrifugação, resultando em um produto praticamente isento de fosfatídeos e, conseqüentemente, com baixa turbidez (FREITAS *et al.*, 1998; COURI e FREITAS, 2001; NASCIMENTO, 2004).

O mecanismo desta extração é representado pela hidrólise, com o auxílio das enzimas, das estruturas dos polissacarídeos ou das proteínas que formam a membrana celular e do corpo de lipídios (Figura 7). As diversas enzimas são responsáveis por liberar o óleo acondicionado entre as paredes celulares dos vegetais, sendo utilizada para cada matéria uma enzima específica capaz de destruir as estruturas onde está preso o óleo (ROSENTHAL *et al.*, 1996).

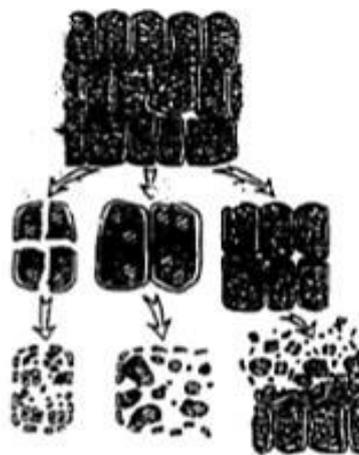


Figura 7 - Hidrólise dos polissacarídeos do corpo lipídico. Fonte: ROSENTHAL *et al.*, (1996).

As enzimas atuam principalmente na parede celular vegetal que é composta por celulose, hemicelulose, lignina, proteínas e substâncias pécnicas, sendo que a celulose é o principal componente estrutural, composta de um polissacarídeo formado por unidades de D-glicose (D-glicopirranose) unidas por ligações glicosídicas do tipo $\beta - (1 \rightarrow 4)$ (MARTINS, 2005).

A seleção dos extratos enzimáticos é o primeiro passo no desenvolvimento da técnica e depende da composição da parede celular da oleaginosa em questão, tendo em vista que a sua composição é feita por diferentes polissacarídeos ligados a uma proteína estrutural. Quando se aumenta a concentração de enzima aumenta-se a recuperação do óleo, porém compromete-se a viabilidade econômica do processo, uma vez que o custo da enzima ainda é um fator limitante desta tecnologia. O pré-tratamento da amostra antes da incubação enzimática pode definir a viabilidade desta técnica. Esta etapa é diferenciada e depende da matéria-prima usada no processamento (COURI e FREITAS, 2001).

O extrato enzimático deve conter enzimas com diferentes atividades (celulases, hemicelulases, pectinases, amilases e proteases) (FREITAS *et al.*, 1996; GOMES *et al.*, 2002). Enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas são as mais indicadas para degradar a parede celular. As pectinases também são efetivas, já que as substâncias pécnicas são componentes estruturais de células vegetais. Misturas de enzimas e complexos com atividade múltipla são mais eficientes que as enzimas isoladas (SANTOS *et al.*, 2005).

Segundo HARTMAN *et al* (1996) a extração aquosa apresenta como vantagens a obtenção de um óleo mais fácil de refinar e mais apropriado para consumo humano e a obtenção de proteína vegetal hidrolisada na forma de peptídeos de baixo peso molecular. No entanto, apresentam algumas desvantagens como o custo das enzimas é alto e só é viável para óleos de maior valor agregado, requer uma grande quantidade de água para substratos proteicos e em algumas matérias primas pode ocorrer oxidação dos lipídeos durante a etapa de incubação em meio aquoso.

3.4.2 Extração enzimática assistida por ultrassom

A utilização do ultrassom tem se tornado cada vez mais comum em laboratórios químicos de pesquisa e de produção para limpeza de materiais,

homogeneização de emulsões e suspensões e reações químicas entre outras. Quando esses materiais ou substâncias são submetidos ao banho de ultrassom, possíveis reações químicas podem ser iniciadas acarretando em transformações do sistema. Em reações enzimáticas, o ultrassom é uma boa ferramenta a ser utilizada, podendo perturbar ligações fracas e induzir a mudanças conformacionais na estrutura das proteínas (BABICZ, 2009).

O processo enzimático utilizando a irradiação com ultrassom é um método alternativo para reduzir as limitações de transferência de massa em reações enzimáticas (VULFSON *et al.*, 1991; YACHMENEV *et al.*, 2004).

Devido aos efeitos da cavitação, o ultrassom pode melhorar reações heterogêneas (catalisador sólido com substrato líquido) e também formas transitórias de espécies reativas, podendo tornar-se uma útil ferramenta em reações enzimáticas (YACHMENEV *et al.*, 2004, YOSHIMOTO *et al.*, 2005).

A cavitação, fenômeno de formação e subsequente colapso de microbolhas de gás em um líquido, é a principal responsável pelos efeitos sonoquímicos (MIZUKOSHI *et al.*, 1999; RASO *et al.*, 1999). Quando atinge um tamanho crítico, a cavidade implode liberando calor e pressão muito elevados em intervalos curtos de tempo e em locais específicos do líquido (KORN *et al.*, 2003).

Na cavitação, dois tipos de bolhas são formados: as estáveis e as transitórias. As primeiras oscilam no meio e seu volume cresce com a penetração de gás dissolvido no líquido, na fase de decompressão. Elas precisam de vários ciclos de expansão e compressão para atingir o volume crítico e podem tornar-se transitórias, que são as bolhas com tempo de vida curto, de poucos ciclos, que implodem na fase de compressão, sendo, então, responsáveis pela cavitação (SINISTERRA, 1992). Existem muitos fatores que afetam a cavitação: presença de gás dissolvido, frequência de irradiação, temperatura, viscosidade, tensão superficial, pressão externa e presença de partículas em solução (RASO *et al.*, 1999).

Estudos em sistemas homogêneos indicam que existem duas regiões de reatividade. A primeira corresponde à fase gasosa dentro da bolha, denominada “ponto quente”, onde se inicia a implosão cuja eficiência depende da volatilidade do solvente. Já a segunda, trata-se de uma fina camada líquida em volta da bolha. Em sistemas heterogêneos, a destruição da bolha ocorre assimetricamente originando um jato de líquido em direção à superfície sólida, podendo causar erosão localizada. Mas existem também micro fluxos de líquidos que acabam por favorecer o transporte

de massa entre a fase líquida e a superfície sólida, acelerando algumas reações químicas. Quando em sistemas com líquidos imiscíveis, este colapso das microbolhas pode promover uma eficiente agitação. Com o aumento na velocidade de formação de gotículas microscópicas, com aumento da superfície de contato e das forças coesivas podem ser formadas ainda micro emulsões. Espécies reativas e a indução de mudanças conformacionais na estrutura de proteínas também podem ocorrer (LIU *et al.*, 2008).

O efeito físico do ultrassom em processos biotecnológicos consiste principalmente na alteração da temperatura e pressão do microambiente em função do efeito cavitacional. O fator limitante mais comum para o uso de ultrassom nas reações bioquímicas é o aumento na temperatura promovido pela irradiação, uma vez que enzimas podem ser inativadas termicamente. Contudo, este não é de todo um fator negativo já que a inativação térmica de enzimas é de muita importância em alguns processos biotecnológicos, sendo a pasteurização ultrassônica um deles (BABICZ, 2009).

O ultrassom pode ser de baixa intensidade (alta frequência) ou alta intensidade (baixa frequência). O ultrassom de baixa intensidade em geral é utilizado para análises não destrutivas, como a observação de órgãos por ultrassonografia ou a localização de falhas em metais. O ultrassom de alta intensidade é usado para promoção de mistura, dispersão e emulsão. Quando um líquido está sob a influência de ultrassom de alta intensidade, as ondas sonoras se propagam no meio, alternadamente, resultando em intervalos de alta pressão e baixa pressão. Durante um intervalo de baixa pressão, pequenas bolhas de vácuo são criadas no líquido. Quando estas bolhas atingem um volume que não podem mais absorver energia, elas colapsam violentamente, promovendo o fenômeno de cavitação (HIELSCHER, 2005).

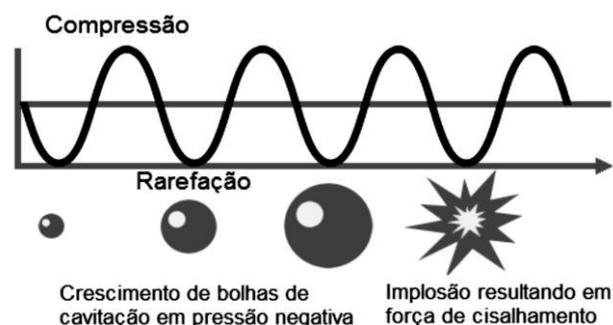


Figura 8 - Efeito de Cavitação acústica adaptado de EPIGENTEK, 2014.

Existem basicamente dois tipos de sonificadores, de banho (banhos de ultrassom) e de sonda. Ambos usados para processos em batelada, mas podem ser adaptados para processos contínuos pela adição de bombas (LEE *et al.*, 2012).

Os banhos sonificadores usam transdutores alocados no fundo do reator para gerar ondas ultrassônicas, com o número e arranjo dos transdutores variando de acordo com tamanho e forma do reator. Normalmente possuem capacidades de até 3 L, tendo o limite de capacidade dado pela rápida dissipação da energética com a distância, podendo ser adaptado para processos industriais contínuos (LEE *et al.*, 2012).

Babicz *et al.* (2010) avaliaram a glicerólise enzimática em ultrassom utilizando diferentes lipases. Os autores relataram que, com frequência de 47 kHz e potência de 125 W, utilizando 1% de enzima, a produção de diacilgliceróis foi de 40% com Lipozyme TL IM, 41% com Lipozyme RM IM e de 32% utilizando Novozym 435. Os experimentos foram conduzidos em pressão atmosférica, temperatura de 55 °C e taxa de agitação de 700 rpm, por 1 hora e 30 minutos.

No entanto, até o presente momento não se conhece o verdadeiro potencial do ultrassom, devido à falta de conhecimento sobre os exatos efeitos moleculares do ultrassom em enzimas e células vivas. Nas aplicações em enzimas, o ultrassom tem mostrado um aumento na estabilidade e atividade catalítica da enzima, bem como a longevidade de biocatalisadores enzimáticos. No entanto, uma melhor compreensão do efeito do ultrassom nas propriedades das enzimas torna-se necessária para desenvolver biocatalisadores mais eficientes com aumento da atividade e estabilidade (ROKHINA *et al.*, 2009).

Em estudo realizado por Yachmenev *et al.* (2009) utilizando a ação combinada de bioprocessamento com enzima e a utilização de ultrassom, concluiu-se que: (a) os efeitos da cavitação agem melhorando o transporte de macromoléculas de enzima até a superfície do substrato, (b) impactos mecânicos, produzidos pelo colapso de bolhas de cavitação, proporcionam um benefício importante da "abertura" da superfície de substratos sólidos para a ação de enzimas, (c) o efeito de cavitação é muito maior em sistemas heterogêneos do que nos homogêneos, e (d) em água, os efeitos máximos da cavitação ocorrem em cerca de 50 °C, que é a temperatura ótima para muitas enzimas.

3.5 ASPECTOS RELACIONADOS À ESTABILIDADE TERMO-OXIDATIVA DOS ÓLEOS VEGETAIS.

A estabilidade de um óleo é a resistência do mesmo a mudanças de ordem química, tais como hidrólise, oxidação ou à desintegração física como mudanças na cor e viscosidade. A avaliação do estado de oxidação de óleos e gorduras é uma determinação importante a nível industrial para garantir a qualidade e conseqüentemente a aceitação por parte do consumidor (SMOUSE, 1995).

3.5.1 Determinação da estabilidade térmica

A estabilidade térmica de um óleo ou produto qualquer é definida como a capacidade da substância em manter suas propriedades, durante o processamento térmico, o mais próximo possível de suas características iniciais. A estabilidade térmica necessita de ser considerada em termos do ambiente imposto ao material e das funções que ele deve executar (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002). Muitos medicamentos e alimentos contêm ácidos graxos, e eles estão frequentemente sujeitos a um tratamento térmico durante o processamento, estocagem e preparação. A estabilidade térmica dos óleos depende de sua estrutura química, sendo que os óleos com ácidos graxos saturados são mais estáveis do que os insaturados (EYCHENNE *et al.*, 1998).

Nas últimas décadas, as técnicas termo analíticas adquiriram importância crescente em todas as áreas de conhecimento na química básica e aplicada. Esse incremento na utilização dessa metodologia, realmente dotada de grande potencialidade, foi favorecido pela disponibilidade de instrumentos controlados por microprocessadores, capazes de fornecer informações quanto ao comportamento térmico dos materiais de forma precisa e num tempo relativamente curto. Estes métodos são largamente usados no controle de qualidade de óleos vegetais, pois fornecem, com rapidez, dados sobre a estabilidade do óleo, perante seu comportamento térmico (OCHOCKA *et al.*, 1990; WESOLOWSKI, 1998).

Entre os métodos de avaliação da estabilidade térmica tem-se a Termogravimetria e Termogravimetria derivada (TG/DTG), que se baseia no estudo da variação de massa de uma amostra, resultante de uma transformação física

(sublimação, evaporação, condensação) ou química (degradação, decomposição, oxidação) em função do tempo ou da temperatura (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

FARIA *et al.*, (2002), avaliaram a estabilidade térmica de óleos e gorduras de vegetais do cerrado como um controle de qualidade e suas viabilidades industriais, usando TG, DTG e DTA. As técnicas utilizadas nesse trabalho foram consideradas rápidas, eficientes e capazes de avaliar com segurança a estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais.

3.5.1.1 Método de Análise por Termogravimetria (TG/DTG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise termogravimétrica ou termogravimetria pode ser definida como um processo contínuo que mede a variação de massa (perda ou ganho) de uma substância ou material como uma função da temperatura e/ou tempo (MOTHÉ, AZEVEDO, 2002). Já a termogravimetria derivada (DTG), nada mais é que um arranjo matemático no qual a derivada da variação de massa em relação ao tempo (dm/dt) é registrada em função da temperatura ou tempo. Em outros termos, a DTG é a derivada primeira da TG (DENARI e CAVALHEIRO, 2012).

O equipamento de análise termogravimétrica é composto basicamente pela termobalança, que permite a pesagem contínua de uma amostra em função da temperatura, à medida que ela é aquecida ou resfriada. Os principais componentes de uma termobalança são: balança registradora, forno, suporte de amostra e sensor de temperatura, programador de temperatura do forno, sistema registrador e controle da atmosfera do forno (DENARI e CAVALHEIRO, 2012). A figura 15 representa o diagrama de um equipamento de termogravimetria genérico.

Geralmente a razão de aquecimento pode atingir de $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 100°C , dependendo do fabricante. A temperatura final vai depender do forno, podendo chegar a até 2000°C . A sensibilidade é da ordem de $0,1\ \mu\text{g}$, geralmente com capacidade de até $1\ \text{g}$ (DENARI e CAVALHEIRO, 2012).

As diversas curvas obtidas podem ser classificadas em vários tipos conforme ilustrado na Figura 9 e descritas abaixo, de acordo com o tipo de alteração sofrida pelos materiais submetidos aos diferentes tipos de análises.

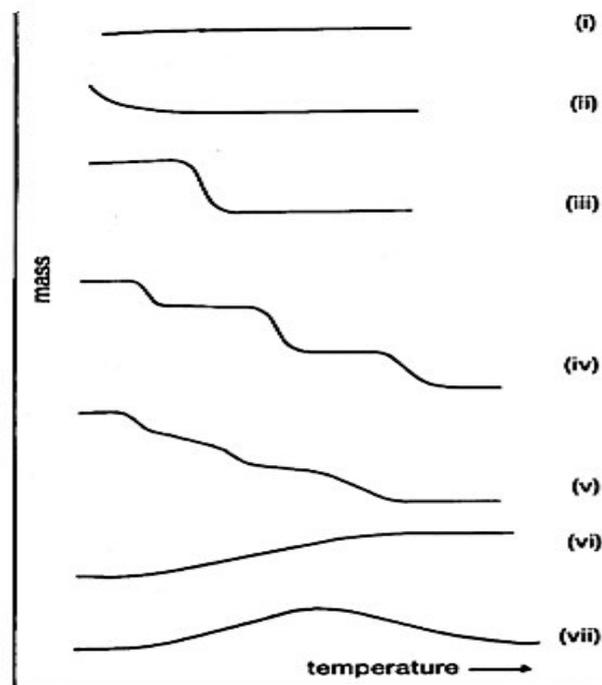


Figura 9 - Principais tipos de curvas termogravimétricas (TG). Fonte: CAPONERO e TENÓRIO (2000).

Curvas tipo (i): Este tipo de curva é característico de uma amostra que não apresenta variações de massa no ciclo térmico aplicado.

Curvas tipo (ii): A rápida perda inicial de massa é em muitos casos associada à perda de umidade da amostra ou à dessoração de gases.

Curvas tipo (iii): Esta curva representa a decomposição de uma amostra em um único estágio.

Curvas tipo (iv) e (v): Estas curvas apresentam estágios múltiplos de decomposição. Entretanto nas curvas do tipo (iv) pode-se determinar as temperaturas limite de estabilidade dos reagentes. Curvas do tipo (v) tendem a apresentar um comportamento mais próximo do tipo (iv) quando a amostra é submetida a menores velocidades de aquecimento ou resfriamento.

Curvas tipo (vi): Curva típica de ganho de massa. Como por exemplo: Oxidação de metais.

Curvas tipo (vii): Este tipo de curva é muito difícil de ser observado. Um exemplo é a oxidação da prata e posterior decomposição, a altas temperaturas, do óxido formado.

A fim de que a curva termogravimétrica possa ser interpretada de forma mais eficiente é comum se utilizar simultaneamente a derivada em função do tempo desta

curva, que é chamada de DTG. A Figura 10 faz essa comparação entre as curvas referenciadas.

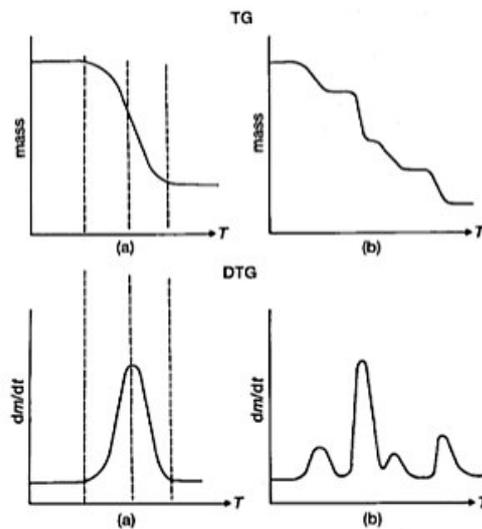


Figura 10 - Comparação entre as curvas TG e DTG. Fonte: CAPONERO e TENÓRIO (2000)

Os fatores mais comuns que podem afetar as medidas de TG/DTG estão representados na Tabela 4.

Tabela 4 - Principais fatores que podem afetar as medidas de TG/DTG.

Fatores Instrumentais	Fatores de Amostra
Razão de aquecimento do forno	Quantidade da amostra
Velocidade de registro (papel)	Solubilidade dos gases envolvidos
Atmosfera do forno	Tamanho das partículas e calor de reação
Geometria do suporte de amostra	Empacotamento da amostra
Sensibilidade da balança	Natureza da amostra
Composição do suporte de amostra	Condutividade térmica

Fonte: MOTHÉ e AZEVEDO, 2002.

Entretanto há diversos outros fatores que podem provocar tais alterações, razão pela qual se deve reportar o maior número possível de detalhes quanto ao experimento realizado, incluindo informações sobre o histórico da amostra, sempre que possível (DENARI e CAVALHEIRO, 2012).

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) pode ser definida como uma técnica que mede as temperaturas e o fluxo de calor associado com as transições dos materiais em função da temperatura e do tempo. Tais medidas fornecem informações qualitativas e quantitativas sobre mudanças físicas e químicas que envolvem processos endotérmicos (absorção de calor), exotérmicos (evolução de calor) ou mudanças na capacidade calorífica (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

A DSC é uma técnica derivada da Análise Térmica Diferencial (DTA), sendo consideradas complementares, já que permitem avaliar as variações entálpicas que ocorrem em uma dada substância durante um processo de aquecimento ou resfriamento (MATOS *et al.*, 2009).

As curvas de DSC podem proporcionar informações sobre caracterização e medidas específicas tais como: transição vítrea, temperatura e tempo de cristalização, ponto de fusão, calor específico, oxidação, pureza, estabilidade térmica, ponto de ebulição, grau de velocidade de cura, cinética de reação e outros (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

De acordo com o método de medição utilizado, há duas modalidades: calorimetria exploratória diferencial com compensação de potência e calorimetria exploratória diferencial com fluxo de calor (IONASHIRO, 2004).

Na DSC tipo compensação de potência, a amostra e a referência são aquecidas individualmente. O controle de temperatura é feito através de dois sistemas. O primeiro controla a temperatura média entre a amostra e a referência, de forma que o aquecimento ou resfriamento possa ser feito a velocidade controlada. O segundo garante que se há diferença de temperatura entre a amostra e a referência, devido absorção ou perda de calor, a potência nos aquecedores individuais é ajustada de forma a restaurar o equilíbrio (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

Na DSC de fluxo de calor, a amostra e a referência são colocadas em cápsulas idênticas, que se alojam em um disco termoelétrico e são aquecidas por uma mesma fonte de calor. A transferência de calor que ocorre do disco para as cápsulas é controlada por meio de termopares conectados ao disco. A variação de temperatura, em um dado momento, é proporcional à variação de entalpia, à capacidade calorífica e à resistência térmica total ao fluxo calórico (JUNIOR, 2004).

Dessa forma, mantêm-se a mesma temperatura para a amostra e para a referência por meio de ajustes contínuos e automáticos da potência. Monitora-se, então, a diferença de potência, proporcional à diferença de calor transmitida para a

amostra referência. Assim, o calor envolvido em processos endotérmicos e exotérmicos é medido diretamente (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

3.5.2 Determinação da estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa é definida como a resistência da amostra (óleos vegetais, biodiesel, e etc.) à oxidação. Ela é expressa pelo período de indução (PI), medido em equipamento apropriado, dada como o tempo decorrido entre o início da medição e o momento em que ocorre um aumento brusco na formação de produtos da oxidação. Em geral o PI é dado em horas (GARCIA-MESA, 1993).

A oxidação lipídica constitui a principal causa de deterioração dos óleos vegetais. É um fenômeno espontâneo e inevitável, capaz de reduzir o tempo de vida útil do óleo, com uma implicação direta na qualidade, devido ao desenvolvimento de compostos responsáveis pela alteração do aroma e do sabor, e na segurança do óleo, através da formação de eventuais polímeros potencialmente tóxicos. A degradação de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais afeta, também, a qualidade nutricional dos óleos (ANTONIASSSI, 2001; IQBAL *et al.*, 2005; POLVILHO *et al.*, 2004; SMITH *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2009).

Os óleos são suscetíveis à oxidação devido a determinadas características químicas dos ácidos graxos que compõem o TAG. A presença de insaturações na cadeia hidrocarbônica diminui a energia necessária para a cisão homolítica das ligações C-H na posição alílica, viabilizando a oxidação. Nos ácidos graxos saturados, este processo ocorre em menor extensão, pois a formação de radicais energeticamente desfavorável. A reatividade do oxigênio com TAG é proporcional ao aumento do número de insaturações na cadeia, portanto depende da origem do óleo (GUNSTONE, 2009).

A oxidação de óleos é chamada de auto-oxidação ou rancificação oxidativa, podendo ocorrer por meio de processos hidrolíticos ou oxidativos. Os fatores mais importantes que afetam ou catalisam esses processos são a presença de insaturação nos ácidos graxos, luz, temperatura, enzimas, metaloproteínas, microrganismos e condições de armazenamento (MORETTO, 1998; GUNSTONE, 2008; GUNSTONE, 2011).

Os óleos vegetais compostos por ácidos graxos que apresentam polinsaturações são mais propensos a processos oxidativos, principalmente aqueles

com proporções variáveis dos ácidos oléico (C18:1), linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3) (KNOTHE, 2006). A velocidade das reações de oxidação para estas moléculas depende do número e da posição das duplas ligações (FREEDMAN e BAGBY, 1989).

A auto-oxidação é o principal mecanismo de oxidação dos óleos vegetais. É um processo dinâmico e evolutivo ao longo do tempo. Este fenômeno químico complexo envolve uma sequência de reações classicamente definida em três etapas: iniciação, propagação e terminação, conforme esquematizado na figura 11.

Na primeira etapa, ocorre a formação do radical alquilo ($R\cdot$) devido à saída de um átomo de hidrogênio do carbono alílico da molécula do ácido graxo. Estas reações apresentam elevada energia de ativação ($145 - 270 \text{ kJ mol}^{-1}$) e não se desencadeiam espontaneamente, sendo potencializadas pela luz, pelo calor, pela presença de metais ou metaloproteínas (com grupo heme). Na segunda etapa, os radicais alquilo ($R\cdot$) formados vão reagir com o oxigênio ocorrendo a formação de radicais peróxido ($ROO\cdot$). Estes radicais vão reagir com outras moléculas de ácidos graxos surgindo os compostos primários da oxidação (peróxidos e hidroperóxidos), cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes ($ROOH$). Os radicais livres formados nesta fase ($R\cdot$) atuam como propagadores da reação. Na terceira etapa os radicais livres formados associam-se formando compostos estáveis, de baixa massa molar, responsáveis pelo odor de ranço, como aldeídos, álcoois, cetonas, furanonas, lactonas, ésteres, hidrocarbonetos, entre outros compostos secundários da oxidação ($ROOR$, $ROOR + O_2$, RR) (ALLEN *et al*, 1994; CHOE *et al*, 2006; FOX *et al*, 2006; GUNSTONE, 2004; KANNER *et al*, 1992; PARDAUIL *et al*, 2011; SMITH *et al*, 2006).

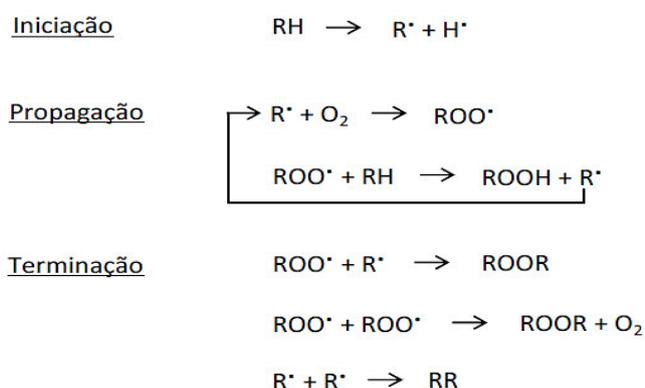


Figura 11 - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica. Fonte: FOX *et al*, 2006.

Segundo JAIN e SHARMA (2010), durante o período inicial de oxidação, a concentração de hidroperóxidos é baixa até um intervalo de tempo conhecido como período de indução. Depois que o período de indução é alcançado o nível de hidroperóxidos aumenta rapidamente indicando o início do processo de oxidação global.

Uma das dificuldades detectadas reside na seleção do momento mais adequado para efetuar a determinação do nível de oxidação. De um modo geral, pretende-se avaliar, em determinadas condições padronizadas, o índice de estabilidade oxidativa ou período de indução da reação, ou seja, o tempo decorrido até que se atinja um ponto crítico de oxidação (alteração do aroma e do sabor, detecção do ranço, aceleração brusca da velocidade de oxidação). A determinação deve ser efetuada ao longo do tempo para que seja representativa do tempo de vida útil do óleo (ANTONIASSI, 2001; CHOE *et al.*, 2009; POLVILHO *et al.*, 2004). A Figura 12 representa graficamente a evolução do processo oxidativo, com a identificação do Período de Indução e a posterior propagação do processo oxidativo referente.

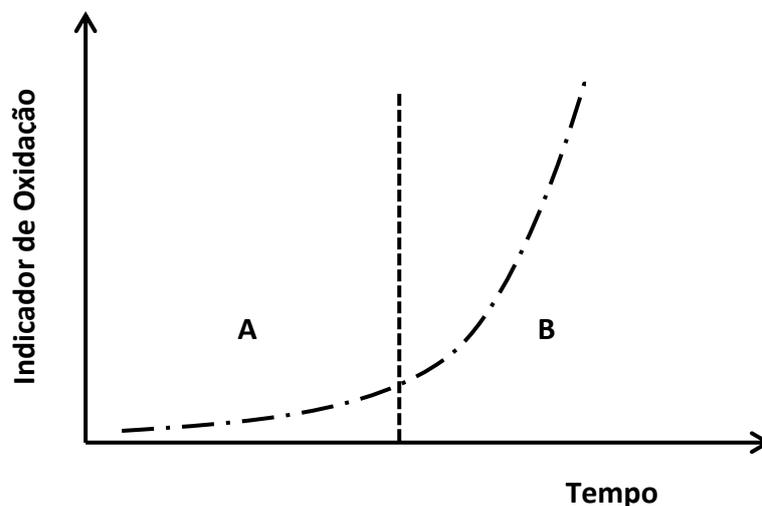


Figura 12 - Representação gráfica da evolução do processo oxidativo. A - Período de indução (iniciação); B – Propagação. Fonte: Adaptado de Silva *et al.*, 1999.

3.5.2.1 Método analítico por Rancimat

Para avaliar a estabilidade oxidativa ou a sua suscetibilidade à oxidação, o óleo ou gordura é submetido a teste de oxidação acelerada, sob condições padronizadas e um ponto final é escolhido, no qual se observam sinais de deterioração oxidativa. Para se acelerar a oxidação, os testes incluem elevação de

temperatura, adição de metais, aumento da pressão de oxigênio, estocagem sob luz e agitação. Porém, o aquecimento é o meio mais utilizado e eficiente (ANTONIASI, 2001).

A determinação da estabilidade oxidativa baseada no aumento da condutividade elétrica foi originalmente desenvolvida por Hadorn e Zurcher (1974), utilizando o equipamento denominado Rancimat 617.

O método Rancimat (EN 14112) foi desenvolvido como um método acelerado para avaliação da estabilidade oxidativa cujas condições de trabalho são semelhantes às do método do oxigênio ativo (AOM), embora neste caso se avaliem os produtos secundários de oxidação em vez de se determinarem os produtos primários (PRESA-OWENS *et al.*, 1995).

O método baseia-se no monitoramento da condutividade de uma amostra de óleo aquecida em um banho termostatizado, com borbulhamento de oxigênio (Figura 13). À medida que a amostra é degradada são formados ácidos voláteis de baixa massa molar que são carregados para o frasco contendo água destilada e um eletrodo de condutividade. Assim, a condutividade aumenta continuamente até que, em um determinado tempo (período de indução) ocorre um aumento brusco neste parâmetro. Este aumento brusco pode ser facilmente identificado pelo gráfico de condutividade versus tempo e, corresponde ao tempo que a amostra resiste à degradação acelerada, nas condições experimentais utilizadas.

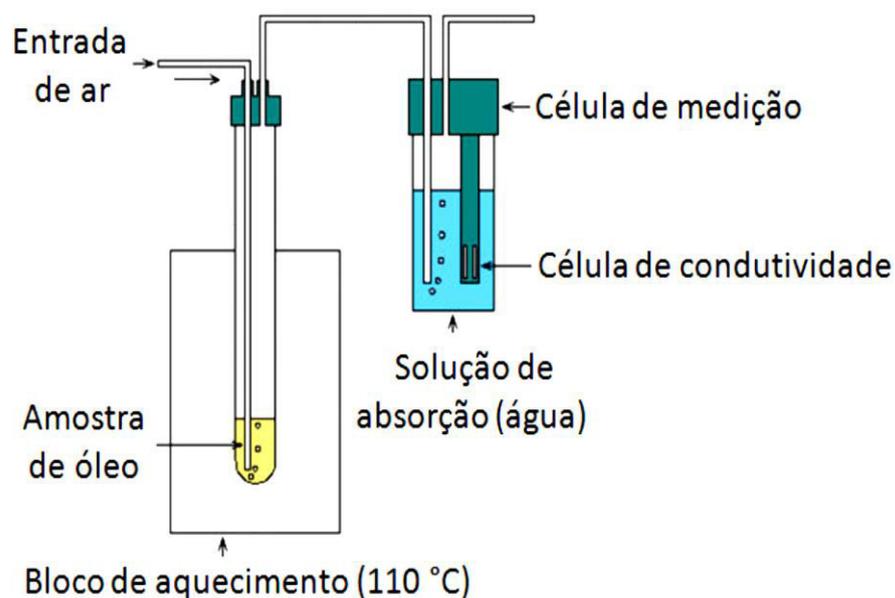


Figura 13 - Esquema de composição e funcionamento do aparelho Rancimat. Fonte: METHORM, 2010.

A partir da curva de condutividade elétrica (μS) vs tempo constroem-se duas paralelas que se interceptam num ponto que corresponde na escala de tempo ao período de indução ou índice de estabilidade oxidativa (Figura 14). Abaixo deste ponto, praticamente, não existe formação de compostos secundários de oxidação, enquanto que acima do mesmo ocorre rápido aumento da taxa de oxidação, do índice de peróxido, da absorção de oxigênio e de formação de voláteis. O Rancimat apresenta o resultado já calculado do período de indução. Entretanto, tem sido observado que as curvas podem apresentar formato que se distancia do apresentado na Figura 14, o que dificulta a medida do período de indução (ANTONIASSI, 2001).

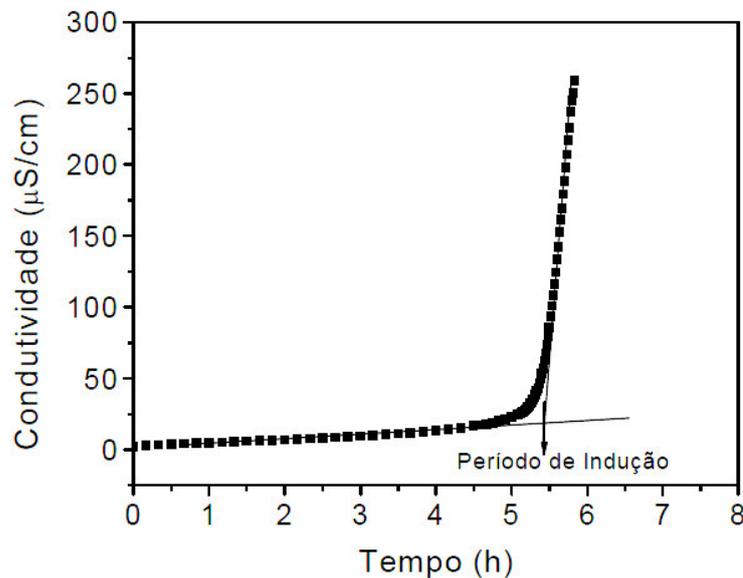


Figura 14 - Curva condutivimétrica típica para óleos vegetais, com determinação do período de indução. Fonte: WILHELM e STOCCO, 2007.

Nos ensaios de estabilidade oxidativa mais comuns, a oxidação é acelerada pela temperatura e pela oxigenação. As elevadas temperaturas potencializam a ocorrência de reações paralelas (ex.: polimerização), normalmente irrelevantes à temperatura normal de armazenamento. Como consequência, verifica-se a formação de novos antioxidantes ou pró-oxidantes que podem falsear as determinações. Por outro lado, a velocidade de oxidação depende, também, da concentração em oxigênio, cuja solubilidade diminui com o aumento da temperatura (COMANDINI *et al*, 2009; RUIZ *et al*, 2008).

Os testes de oxidação acelerada não fornecem garantias quanto à validade da sua extrapolação para as condições normais de conservação e uso dos produtos, neste caso, dos óleos vegetais, uma vez que, à medida que se submete a amostra a

temperaturas elevadas, à luz, ao oxigênio ou outro fator, o mecanismo de oxidação altera-se. Assim, os resultados obtidos sofrem desvios dos valores reais, já que o comportamento do óleo nestas condições é diferente das condições normais de armazenamento. As condições de ensaio devem aproximar-se, tanto quanto possível, das condições normais de armazenamento. Os resultados de maior validade são obtidos a temperaturas compreendidas entre os 40 – 60 °C. Para a sua interpretação é fundamental considerar a eventual presença de substâncias endógenas, como antioxidantes e/ou pró-oxidantes (ANTONIASI, 2001; COMANDINI *et al*, 2009; FOX *et al*, 2006).

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento da pesquisa e identificação das unidades experimentais

Os estudos foram realizados visando à caracterização da composição físico-química da polpa do murici (*Byrsonima crassifolia*), extração e modelagem por planejamento experimental das condições de extração e avaliação físico-química e das condições termo-oxidativa do óleo da polpa de murici.

A seleção e pré-tratamento dos frutos, despulpamento, embalagem e armazenamento foram realizadas no Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Vegetal da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Imperatriz, MA. A caracterização físico-química da polpa e do óleo extraído foram conduzidas no Laboratório de Análise e Química de Alimentos (UFMA). A condução do processo de extração do óleo ocorreu nos laboratórios de Tecnologia de Cereais e de Microbiologia (UFMA). A determinação das condições termo-oxidativas do óleo extraído foi realizada no Laboratório de Análises Térmicas (LAT) da Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais e Biocombustíveis do programa de pós-graduação da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Imperatriz, MA.

4.2 Matéria-prima e amostragem

Os frutos do murici foram coletados na zona rural do município de Amarante do Maranhão, entre os meses de janeiro e fevereiro de 2015. A coleta ocorreu ao acaso, do chão, no mesmo dia da queda, estando os frutos em estágio ideal de maturação (polpa amarelada) e propícios para o consumo *in natura* (polpa succulenta, firme e de textura macia). Os frutos coletados foram lavados em água corrente e acondicionados em sacos plásticos limpos e secos, e armazenados em freezer com temperatura controlada de $- 22^{\circ}$ C, até o momento de uso para extração da polpa.

4.3 Pré-tratamento da amostra

Os frutos inteiros (com casca) foram descongelados em condições de refrigeração e posteriormente, selecionados quanto à aparência (formato e cor ideal

dos frutos maduros), ausência de injúrias, cortes e podridões, escurecimento e pontos pretos excessivos na casca, sendo lavados logo em seguida com água corrente.

Na sequência, procedeu-se com as etapas de sanitização, enxágue e pesagem dos frutos, para finalmente realizar a extração da polpa e posterior congelamento.

As principais etapas de pré-processamento aplicadas aos frutos e que antecederam os procedimentos de caracterização físico-química da polpa e extração do óleo encontram-se esquematizadas no fluxograma apresentado na Figura 15.

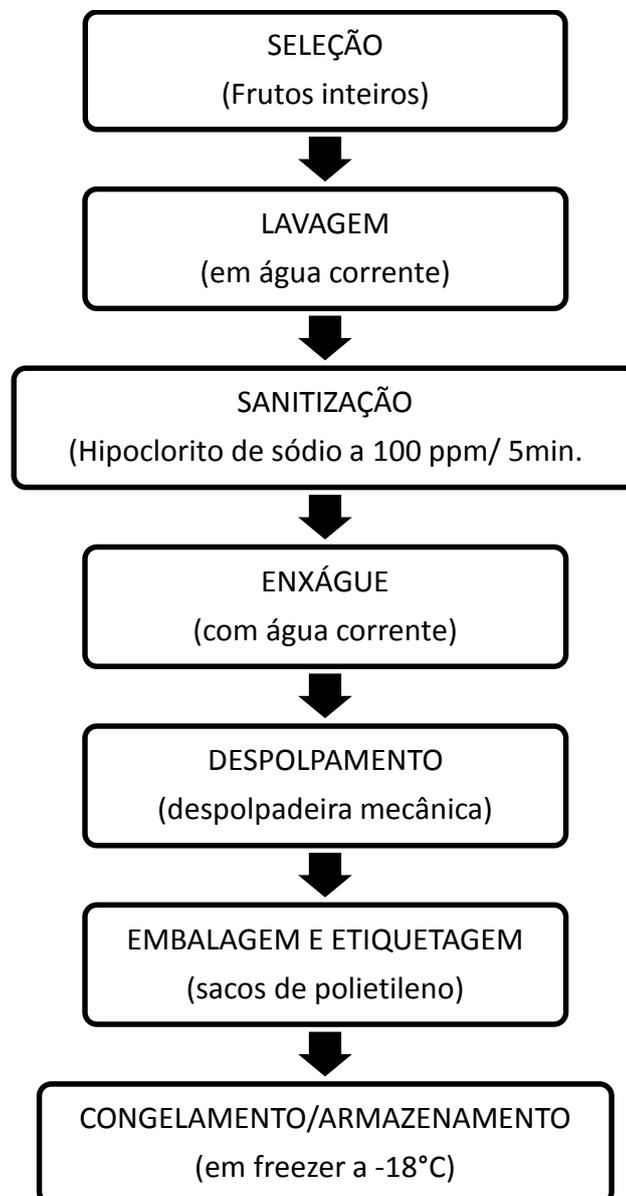


Figura 15 - Fluxograma das etapas de pré-processamento da matéria-prima, despulpamento e acondicionamento anteriores à sua utilização. Fonte: O autor (2016).

4.4 Composição Centesimal da polpa

4.4.1 Umidade Total

Para a determinação da umidade da polpa de murici, foram utilizadas porções de 5g de amostra, em triplicata, de acordo com as Normas de Análises propostas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). A saber, as amostras foram desidratadas em estufa, à temperatura de 105°C, por seis horas.

Para o cálculo percentual da umidade, procedeu-se com o uso da equação seguinte:

$$U(\%) = \frac{100 \times N}{P}$$

Em que:

N = nº de gramas de umidade (perda de massa em gramas);

P = massa em gramas da amostra.

4.4.2 Proteínas

A quantificação de proteínas realizou-se por metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), com aplicação do método de Kjeldahl, através do processo de digestão da amostra da polpa de murici seca, seguida por destilação e titulação do destilado e, por fim, a quantificação da composição proteica. A determinação foi realizada em triplicata.

O cálculo percentual para protídeos presentes na polpa do murici foi realizado por meio da equação:

$$P(\%) = \frac{V \times 0,14 \times f}{P}$$

Onde:

V = Volume de HCl gasto na titulação;

f = fator de correção = 5,75 (fator de correção para proteína vegetal, segundo BRASIL, 2003);

P = massa em gramas da amostra.

4.4.3 Lipídios

Para a determinação de lipídios na polpa de murici empregou-se a técnica de extração contínua da gordura no aparelho de Soxhlet, a partir da polpa úmida, utilizando hexano como solvente. O processo teve duração média de 8 horas, com realização posterior da evaporação do excesso de solvente em capela de exaustão, seguida pela secagem em dessecador com sílica gel por 2 horas. O óleo extraído foi quantificado pela diferença entre as pesagens do conjunto balão mais óleo e o balão vazio (IAL, 2008).

Foram utilizadas amostras de aproximadamente 3,0 g, e a determinação feita em triplicata. O cálculo foi realizado pela fórmula:

$$L(\%) = \frac{100 \times N}{P}$$

Em que:

N = nº de gramas de lipídios;

P = massa em gramas da amostra.

4.4.4 Cinzas

O teor de cinzas presentes na polpa de murici foi determinado por incineração, em mufla, de três amostras de polpa seca, dispostas em cadinhos previamente tarados. As amostras empregadas foram provenientes da secagem em estufa para determinação de umidade. O processo teve duração de 5 horas, com uso de temperatura inicial de 250° C, com elevação gradativa até 550°C (IAL, 2008).

O teor de cinzas foi obtido através da fórmula:

$$C(\%) = \frac{100 \times N}{P}$$

Em que:

N = nº de gramas de cinzas (perda de massa em gramas);

P = massa em gramas da amostra.

4.4.5 β -caroteno

O teor de β -caroteno foi avaliado na polpa fresca. O pigmento, por sua vez, foi extraído com éter de petróleo mediante agitação, durante uma hora, utilizando a polpa fragmentada.

A quantificação foi realizada por espectrofotometria UV-VIS em comprimento de onda de 450 nm, com uso paralelo de curva padrão, conforme metodologia proposta pelo IAL (2008).

Cálculo:

$$\beta(\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V \times 10^4}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times P}$$

Onde:

A = absorbância

V = volume da diluição

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorvidade em éter de petróleo

P = quantidade da amostra diluída em 100 mL de éter de petróleo.

4.4.6 Carboidratos

O teor de Carboidratos foi determinado por diferença, subtraindo de 100% o somatório dos valores encontrados para proteínas, lipídios, cinzas e umidade, segundo norma estabelecida pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.5 Obtenção da enzima

A obtenção do complexo enzimático foi feita conforme metodologia desenvolvida por Freitas (2009) utilizando, portanto, de processo de fermentação em estado sólido e a torta de canola como substrato. O agente de fermentação utilizado foi o fungo filamento *Aspergillus oryzae* NRRL 1911, com tempo de incubação de 96 horas em estufa a 30°C. Após este período o extrato enzimático foi extraído com adição de água destilada e filtração a vácuo.

A concentração do complexo enzimático foi realizada através de precipitação com sulfato de amônia. Em seguida o material precipitado passou pelo processo de diálise e liofilização, para obtenção do extrato seco.

A caracterização e as condições ideais para a utilização do complexo enzimático foram estudadas e descritas por Freitas (2009).

4.6 Planejamento experimental

Quando se pretende estudar os efeitos que um determinado fator é capaz de causar sobre uma resposta, tem-se a partir de então, a necessidade de fazê-lo variável, observando como essa variação pode influenciar nos resultados. Consoante a isto, a aplicação de planejamentos experimentais surge como ferramenta bastante útil em pesquisas.

Dessa forma, para estabelecer os parâmetros de extração do óleo de murici a partir de hidrólise enzimática assistida por ultrassom, um planejamento experimental composto central rotacional 2^3 com triplicata no ponto central foi utilizado para avaliar o efeito das variáveis independentes sobre a variável dependente, conforme apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Variáveis independentes e dependentes utilizadas no planejamento experimental.

Variáveis Independentes	Variáveis Dependentes
Razão massa de polpa diluída em água (mg/mL)	
Concentração de enzima (%)	Rendimento de óleo extraído (%)
Tempo de exposição ao ultrassom (min.)	

Para tanto, utilizou-se de 17 tratamentos ocorrendo, dentre estes, 8 fatoriais a partir das combinações entre os níveis -1 e +1; 6 axiais, empregando uma variável no nível $\pm 1,68$ e duas outras variáveis no nível 0; e 3 centrais, com todas as variáveis no nível 0.

A determinação dos pontos centrais foi feita a partir de experimentos já descritos em literatura, cujas condições de tratamentos apresentaram-se análogas às empregadas aos ensaios aqui reproduzidos. As variáveis independentes do processo foram avaliadas em três níveis codificados (-1, 0 e +1), calculados a partir da equação descrita abaixo.

$$X_i = \frac{x_i - Z}{\Delta X_i}$$

Em que:

X_i = Valor codificado da variável i;

x_i = Valor real da variável i;

ΔX_i = Valor do intervalo de variação da variável i;

Z = Valor real da variável i no ponto central.

O delineamento central composto rotacional 2^3 apresentou ainda dois níveis axiais codificados em $+\alpha$ e $-\alpha$. Esse valor é dependente do número fatorial (F) de delineamento e da quantidade de variáveis independentes (K) e é calculado através da equação seguinte,

$$\alpha = F^{\frac{1}{4}}$$

Tem-se então, $F = 2^K$ e $K = 3$. Assim:

$$\alpha = (2^3)^{\frac{1}{4}} = 1,682$$

A tabela 6 apresenta os níveis das variáveis independentes utilizados no planejamento experimental e a tabela 7 os respectivos tratamentos realizados, conforme o emprego das variáveis do planejamento.

Tabela 6 - Níveis de variáveis independentes no planejamento experimental.

Variáveis	Código	-1,68	-1	0	+1	+1,68
Razão massa de polpa diluída em água (mg/mL)	X1	166	200	250	300	334
Concentração de enzima (%)	X2	0,05	0,09	0,15	0,21	0,25
Tempo de exposição ao ultrassom (min)	X3	20	30	45	60	70

Tabela 7 - Delineamento experimental com três variáveis, contendo três pontos centrais e seis axiais.

Ensaio	Variáveis Codificadas			Variáveis reais		
	X1	X2	X3	Razão diluição da polpa em água (mg/mL)	Concentração de enzima (%)	Tempo exposição (min)
1	-1	-1	-1	200	0,09	30
2	+1	-1	-1	300	0,09	30
3	-1	+1	-1	200	0,21	30
4	+1	+1	-1	300	0,21	30
5	-1	-1	+1	200	0,09	60
6	+1	-1	+1	300	0,09	60
7	-1	+1	+1	200	0,21	60
8	+1	+1	+1	300	0,21	60
9	-1,68	0	0	166	0,15	45
10	+1,68	0	0	334	0,15	45
11	0	-1,68	0	250	0,05	45
12	0	+1,68	0	250	0,25	45
13	0	0	-1,68	250	0,15	20
14	0	0	+1,68	250	0,15	70
15	0	0	0	250	0,15	45
16	0	0	0	250	0,15	45
17	0	0	0	250	0,15	45

A análise dos resultados experimentais através da metodologia da superfície de resposta foi realizada por uso do software Statistica® 10.0.

4.7 Procedimentos de extração do óleo bruto

4.7.1 Extração a partir de hidrólise enzimática assistida por ultrassom

Para a extração por via enzimática em meio aquoso, assistida por ultrassom do óleo de murici, procedeu-se conforme o pré-disposto em metodologia proposta por Freitas *et al.* (1993), com adaptações no sentido de ter-se inserido a assistência do banho ultrassônico aos procedimentos de extração, fazendo uso para tal, das

condições propostas em metodologia descrita nos trabalhos de VOLL (2011) e WATANABE *et al.* (2005). Ainda foram realizados ajustes nos parâmetros de variabilidade do tempo de exposição ao ultrassom consoante à potência nominal do banho utilizado, como também nas variáveis concentrações dos extratos enzimáticos e razão de diluição da polpa em meio aquoso, todos definidos previamente em planejamento experimental.

As reações assistidas por ultrassom foram conduzidas em béquer com capacidade para 600 ml. Em cada experimento, a quantidade de polpa de murici empregada foi de 50 g, posteriormente diluída em água destilada nas proporções pré-definidas em planejamento experimental (relação massa de polpa/massa de água). Um pré-tratamento térmico para inativação das enzimas de composição natural do fruto foi aplicado às amostras de polpa diluída em água destilada, em banho-maria à temperatura de 85°C por 15 min. Em seguida o meio foi resfriado até que atingisse a temperatura de reação, em torno de 40 ± 2 °C.

Procedeu-se então com a adição do extrato enzimático, nas proporções determinadas em planejamento experimental, todas calculadas em relação à massa de polpa utilizada. As extrações se seguiram com a imersão do béquer contendo a polpa diluída e extrato enzimático em banho ultrassônico Limp Sonic, modelo LS-3D-2 com capacidade de 2,8 L, frequência de 40 kHz, potência máxima de 90 W e dimensões da cuba de 13,7x24,0x10,0 cm. Ao conjunto, foi acoplado um agitador mecânico da marca Fisatom e modelo 713D, usado ao longo do tempo de extração complementar (ausência de atividade cavitacional do ultrassom) e um termômetro digital tipo espeto Tramontina, modelo IM-910.0150E para controle de temperatura ao longo do tempo de reação.

Ao término de cada tempo de reação, procedeu-se com a adição de 20 mL de n-hexano ao reator a fim de interromper a reação e diminuir a viscosidade do meio. A amostra foi então centrifugada a 3.000 rpm por 30 minutos. A fase que continha o óleo foi recolhida com uso de uma pipeta Pasteur e a fase aquosa resultante da centrifugação foi então desprezada.

O óleo coletado foi mantido em estufa a 50°C, para evaporação do solvente e eliminação de umidade residual, até a obtenção de peso constante. O produto final foi quantificado por método gravimétrico, bem como seu rendimento e, em seguida, acondicionado em frascos de vidros envoltos com papel alumínio para evitar exposição à luz, e armazenado sob refrigeração.

A Figura 16 apresenta a unidade experimental utilizada no desenvolvimento dos ensaios de extração do óleo de murici.



Figura 16 - Foto da Unidade Experimental para extração de óleo de murici. Fonte: O autor (2016).

4.7.2 Extração clássica por soxhlet

A extração do óleo foi realizada com o solvente hexano em um extrator soxhlet. Uma amostra de 50 g de polpa de murici foi pesada em papel filtro e disposta na forma de cartucho, sendo posteriormente introduzida no extrator, por sua vez acoplado a um balão de fundo chato. O volume de hexano utilizado foi o necessário para cobrir todo o cartucho contendo a amostra. A extração foi realizada de forma contínua durante 24 horas, com uso de temperatura constante e o óleo extraído foi seco em estufa à 50°C, por duas horas, para eliminação do solvente remanescente. O extrato foi então quantificado por gravimetria e acondicionado em frascos de vidro cobertos com papel alumínio.

4.8 Análises físico-químicas do óleo bruto

4.8.1 Índice de acidez

O índice de acidez do óleo de murici foi determinado em conformidade com as normas analíticas do IAL (2008), através da quantificação de ácidos graxos livres

presentes nas amostras durante o processo de extração. O método consistiu na pesagem de 0,5 g do óleo de murici em frasco Erlenmeyer, diluído posteriormente em solução neutra de éter-álcool (2:1) sob agitação constante e titulada, em seguida, com solução de hidróxido de sódio 0,1 M.

O índice de acidez foi calculado a partir da equação:

$$IA \text{ (mgKOH/g)} = \frac{V \times f \times 0,561}{P}$$

em que:

V= nº de mL de solução de hidróxido de sódio 0,1M gasto na titulação.

f= fator de correção da solução de hidróxido de sódio

P= nº de gramas da amostra

4.8.2 Índice de refração

O índice de refração teve sua determinação feita em refratômetro Abbé, modelo 2WAJ, à temperatura de 20°C, com uso de 10 µL de cada amostra.

4.8.3 Índice de saponificação

Para a determinação de matéria saponificável, fez-se uso da metodologia determinada pela AOCS, descrita pelo IAL (2008). Utilizou-se, para tanto, 0,5 g de amostra de óleo, e a análise realizada em duplicata. O cálculo para o índice de saponificação foi feito a partir da equação seguinte:

$$I. S. = \frac{28,06 \times f \times (B - A)}{P}$$

Onde:

A = volume gasto da titulação da amostra

B = volume gasto da titulação do branco

f = fator da solução de HCl 0,5 M

P = massa, em gramas, da amostra.

4.9 Avaliação da estabilidade térmica do óleo por termogravimetria (TG/DTG e DSC)

A análise termogravimétrica do óleo de murici extraído foi realizada em uma termobalança com análise térmica simultânea TG/DTA, Shimadzu, modelo DTG-60, em atmosfera de oxigênio com fluxo de 100 mL min⁻¹, e razão de aquecimento de 10°C min⁻¹. A massa de óleo utilizada para a análise foi de aproximadamente 8 mg para ambas as amostras de óleo (por extração enzimática e extração por solvente) dispostas em cadinho de alumínio.

A variação da massa de óleo em função da temperatura foi verificada no intervalo de 25 a 900°C.

Para a análise de DSC foi utilizada amostras de até 3 mg, hermeticamente fechadas em cadinho de alumínio e colocadas em um calorímetro Shimadzu, modelo DSC-60, numa atmosfera de oxigênio de 100 mL min⁻¹, na razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ até a temperatura de 450°C.

4.10 Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo por Rancimat

Para os ensaios de estabilidade oxidativa do óleo de murici extraído, as amostras foram submetidas a envelhecimento em equipamento Rancimat da Methorm, modelo 873, fazendo para tal aplicabilidade do método regido pela norma EN 14112. Para tanto, fez-se uso de 2 g de amostra de óleo extraída por via enzimática e por extração clássica com solvente. Ambas as análises foram realizadas em duplicata.

As amostras foram submetidas a envelhecimento em temperatura de 110°C, sob fluxo constante de ar atmosférico seco, a uma vazão de 10 L h⁻¹. A análise teve duração de 6 horas.

Os gráficos de condutividade em função do tempo de envelhecimento foram registrados automaticamente pelo *software* que acompanha o equipamento, assim como o cálculo para determinação do período de indução (PI).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal da polpa de murici

Considerando as condições de composição das distintas partes do fruto do muricizeiro, a polpa é rica em óleo e água, além de outros constituintes de natureza nutricional. Os valores referentes aos dados de composição centesimal da polpa de murici estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Composição centesimal e valores para pH, atividade de água (A_w), acidez titulável (AT) e β -Caroteno para a polpa de murici.

Componentes	Média \pm DP
Umidade (%)	74,78 \pm 0,006
Carboidratos (%)	15,23
Lipídios (%)	7,58 \pm 0,15*
	27,84 \pm 0,09**
Cinzas (%)	1,89 \pm 0,74
Proteínas (%)	0,52 \pm 0,006
β -Caroteno (μ g/g)	23,4
Acidez Titulável (%)	1,36 \pm 0,008
pH	3,7 \pm 0,20
A_w	0,99

*Em polpa úmida **Em polpa seca

O maior percentual em constituintes encontrado foi para a umidade (74,78%), seguido pelo teor de lipídios em polpa seca (27,84%) e carboidratos (15,23%). O teor lipídico encontrado pode ser considerado relativamente alto quando comparado a outros resultados reportados em literatura. Considerando que a metodologia empregada na extração do óleo em estudo fez uso da polpa úmida, vale referenciar que em determinações análogas realizadas por diversos autores, o valor para o teor de lipídios encontrado (em polpa úmida) encontra-se bem próximo do exposto acima.

Vendruscolo *et al.*, (2013) encontraram valores de 5,17% de lipídios para extrações em polpa úmida, quantidade que se encontra abaixo das determinadas neste trabalho. Ainda, foram encontrados valores próximos aos dispostos em estudo, em trabalho de caracterização da polpa de murici, desenvolvido por Costa *et al.*, (2013) que obteve um percentual de 7,48%. Diversos estudos apresentam

valores de composição lipídica de frutos de murici da espécie *Byrsonima crassifolia* com valores, no entanto, bem abaixo dos pré-dispostos.

O teor médio para o resíduo mineral fixo de 1,89% apresentou-se similar aos de diversos trabalhos e dos descritos em literatura, e ainda em concordância com a faixa de teores de cinza para frutas e derivados descritos pela TACO (2011), que está entre 0,2 e 1,9%. O elevado teor pode ser explicado em razão da composição em matéria mineral do fruto. Siguemoto (2013), avaliando a composição mineral de muricis da espécie *Byrsonima crassifolia* de três regiões distintas observou diferenças nas composições de minerais de acordo com a região de coleta do fruto, verificando a maior predominância de micronutrientes como o potássio, cálcio, magnésio e enxofre, encontrando valor médio para cinzas de 0,7 g/100 g. Morzelle *et al.*, (2015) avaliando de modo semelhante a composição química de frutos do cerrado brasileiro, encontrou valor de 1,02% em resíduo mineral fixo para o murici da espécie *B. crassifolia*.

Essas variações ocorrem de acordo com o estado nutricional da planta, e principalmente, com a disponibilidade de minerais no solo (CAMARGO, 2001).

O teor de carboidratos encontrado (15,23%) foi igual ao mesmo obtido em determinações por Monteiro *et al.* (2015) para o mesmo fruto e espécie, embora Morzelle *et al.* (2015) tenham encontrado um percentual de 18,85% para o mesmo constituinte. E também ficou próximo do valor de carboidratos referência para polpas de frutas frescas (14,40%) (BRASIL, 2000).

Com relação ao teor de proteínas presente na polpa do murici (0,52%), o mesmo encontra-se relativamente abaixo de valores determinados em literatura, em estudos realizados com frutos da mesma espécie. Morzelle *et al.* (2015) determinou teor de 1,94%, Siguemoto (2013) encontrou valor médio de 1,0% e os menores valores encontrados de 0,82% e 0,79% foram determinados respectivamente por Monteiro *et al.* (2015) e Costa *et al.*, (2013).

O teor de β -caroteno, considerado de grande importância na inibição de efeitos oxidativos no fruto e no óleo do murici, também se apresentou em quantidades de significância relativa, quando comparado com teores dispostos em estudos realizados por Sales e Waughon (2013) e Sousa (2013), que verificaram teores respectivos de 18,60 e 16,78 $\mu\text{g/g}$ para o fruto do muricizeiro.

Segundo LUTEROTTI *et al.* (2013), o método espectrofotométrico em média produz resultados 5 a 9% maiores do que aqueles quantificados por CLAE. Ainda

assim, o valor em estudo se mostra representativo do ponto de vista físico-químico e nutricional, estando também acima daqueles encontrados em frutas como mamão (300 µg/100g) e manga (1550 µg/100g) (CAMPOS *et al.*, 2005).

Além da importância na manutenção de estabilidade, esses teores de β-caroteno também se demonstram valiosos do ponto de vista nutricional.

Com relação ao valor de pH, observou-se que o mesmo corrobora com os relatados por CANUTO *et al.* (2010) e SIGUEMOTO (2013), que determinaram valores de pH médios respectivos de 3,7 e 3,5. O valor em estudo é semelhante aos encontrados para outras espécies do mesmo gênero, *B. verbascifolia* (pH 3,4), *B. myricifolia* (pH 3,6), *B. dealbata* (pH 3,5) (VALLILO *et al.*, 2007; GUIMARÃES e SILVA, 2008; RUFINO *et al.*, 2009).

De acordo com VILLACHICA (1996), frutos ácidos como o murici, favorecem processos de industrialização como a fabricação de sorvetes, doces e geleias.

A acidez titulável da polpa de murici em estudo apresentou valor de 1,36%, expressa em porcentagem de ácido cítrico, valor este próximo dos encontrados por Sales e Waughon (2013) e Canuto *et al.* (2010), que foram de 1,68 e 1,0%, respectivamente.

Em relação à atividade de água, a polpa se caracterizou como um alimento com elevado teor de água livre ($A_w > 0,9$).

Vale ressaltar que aspectos de composição centesimal de frutos é bastante variável e depende de diversos fatores, entre os quais, a composição em nutrientes do solo de plantio, a região, o clima, entre outros. No entanto, a composição do fruto em estudo apresentou-se de viabilidade notória no propósito de extração da fração lipídica e na validação da estabilidade pretendida para o produto extraído.

5.2 Extração a partir de hidrólise enzimática assistida por ultrassom

No intuito de avaliar o rendimento do óleo mediante a aplicação do método de extração combinado (enzima/ultrassom), as condições de processo utilizadas foram verificadas através de um delineamento composto central rotacional (DCCR) com três variáveis independentes: razão de diluição da polpa em água (RDA), concentração da enzima (CE) e tempo de exposição ao ultrassom (TE).

Os valores experimentais obtidos para o rendimento sob as diferentes condições testadas estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Delineamento composto central rotacional para as variáveis razão de diluição da polpa em água (RDA), concentração da enzima (CE) e tempo de exposição o ultrassom (TE) com resultados para o rendimento.

Variáveis independentes				Variável dependente
Ensaio	Razão diluição polpa em água (mg/mL)	Concentração de enzima (%)	Tempo de exposição ao ultrassom (min)	Rendimento (%)
1	200	0,09	30	0,916707
2	300	0,09	30	1,116955
3	200	0,21	30	1,673967
4	300	0,21	30	1,310473
5	200	0,09	60	1,395528
6	300	0,09	60	2,213422
7	200	0,21	60	1,756589
8	300	0,21	60	1,767174
9	166	0,15	45	1,628888
10	334	0,15	45	1,997337
11	250	0,05	45	3,556162
12	250	0,25	45	1,713851
13	250	0,15	20	2,439868
14	250	0,15	70	1,713476
15	250	0,15	45	1,275417
16	250	0,15	45	2,091901
17	250	0,15	45	2,109931

A partir da Tabela 9 pode-se observar que o rendimento máximo (3,56%) foi obtido em tempo de exposição ao ultrassom de 45 minutos, concentração de enzima de 0,05 % e diluição da polpa em água na razão de 250 mg/mL. Esse rendimento equivale a 47% do óleo presente na polpa úmida do murici, correspondendo a aproximadamente metade do seu teor lipídico.

Os resultados avaliados estatisticamente por regressão linear múltipla estimam os efeitos das variáveis independentes sobre a variável resposta representada pelo rendimento, e seguem apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Estimativas dos efeitos para a resposta rendimento, a partir de planejamento fatorial 23 com ponto central.

Fatores	Efeitos	Erro Padrão	t(7)	p-valor	Limite de confiança-95%	Limite de confiança +95%
Interação entre as Médias	1,878832	0,441912	4,251599	0,003786	0,83388	2,923788
(1) Razão diluição de polpa em água (mg/ml) (L)	0,188237	0,415622	0,452904	0,664322	-0,79455	1,171027
(2) Concentração da enzima (%) (L)	-0,325317	0,416988	-0,780160	0,460858	-1,31134	0,660703
(3) Tempo de exposição ao ultrassom (min.) (L)	0,133371	0,416988	0,319843	0,758422	-0,85265	1,119390
1L x 2L	-0,342763	0,542797	-0,631476	0,547788	-1,62627	0,940747
1L x 3L	0,247931	0,542797	0,456766	0,661675	-1,03558	1,531441
2L x 3L	-0,258991	0,542797	-0,477142	0,647798	-1,54250	1,024519

De acordo com os dados dispostos na Tabela 10, somente apresentou efeito significativo o fator interação entre as médias dos tratamentos observados, considerando que a razão entre $QM_{\text{Tratamentos}}$ (quadrados médios dos tratamentos) e $QM_{\text{Resíduos}}$ (quadrados médios dos resíduos) apresentou valor de 1,87883, sendo este valor maior que 1. E também o p-valor encontrado a partir da análise de regressão linear múltipla mostrou-se abaixo do nível de significância utilizado que foi de 0,05. Isso permite afirmar a existência de efeitos diferenciados para, pelo menos dois tratamentos.

Pode-se observar que tratadas isoladamente, as variáveis tempo de exposição ao ultrassom e razão de diluição da polpa em água apresentaram efeitos positivos sobre a condição de extração do óleo de murici, embora esse efeito não tenha sido significativo do ponto de vista estatístico. Já para a variável concentração da enzima, quando avaliada de maneira isolada, esta provoca efeitos negativos sobre a variável resposta, o rendimento da extração.

De modo análogo, para os efeitos combinados, somente as variáveis razão de diluição da polpa em água em relação ao tempo de exposição ao ultrassom apresentaram-se positivas no rendimento da extração do óleo, porém não

representando interação significativa entre os fatores. A combinação de efeitos com a variável concentração de enzima mostrou valor negativo sobre o aumento na variável resposta (o rendimento).

Os óleos extraídos pelos métodos respectivos de hidrólise enzimática e por solvente, em Soxhlet encontram-se dispostos na Figura 17.

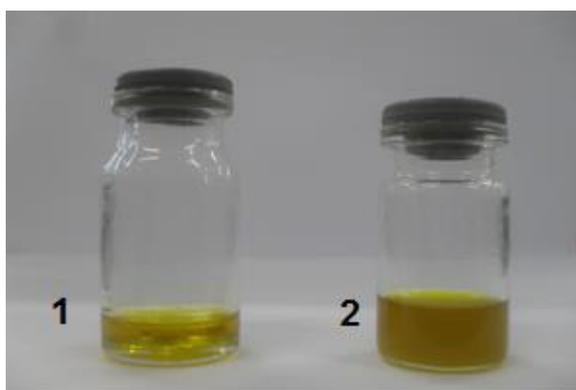


Figura 17 - Foto dos óleos de murici extraídos por: 1 - hidrólise enzimática assistida por ultrassom; 2 - método clássico com solvente. Fonte: O autor (2016).

5.3 Caracterização Físico-Química do óleo bruto

As determinações de parâmetros físico-químicos para óleos vegetais são relevantes nas suas especificações de qualidade, quando se trabalha com técnicas que possibilitem reduzir ao máximo esses limites determinados em legislação vigente.

Os parâmetros possíveis avaliados para o óleo de murici extraído por hidrólise enzimática assistida por ultrassom mostraram-se dentro das especificações de limites estabelecidos para outros óleos comestíveis, conforme a RDC nº 270 da ANVISA (BRASIL, 2005). Os valores respectivos encontram-se dispostos na Tabela 11.

Tabela 11 - Caracterização Físico-química do óleo de murici extraído por hidrólise enzimática.

Parâmetros	Unidade	Óleo de Murici
Índice de Acidez (IA)	mg KOH/g	2,27 ±0,073
Índice de Saponificação (IS)	mg KOH/g	123,47
Índice de Refração (IR)	-	1,463

O Índice de Acidez de 2,27 mg KOH/g equivale a acidez em ácido oleico de 1,14%, e apresenta valor inferior àquele permitido em Legislação vigente para óleos prensados a frio e não refinados, com um máximo de 4,0 mg KOH/g (BRASIL, 2005). COSTA *et al.*, (2012) encontrou o valor de 2,72 mg KOH/g para o índice de acidez do óleo de murici extraído por método convencional em Soxhlet, que se apresenta bem próximo do valor tabelado para o óleo em estudo, com diferença no teor de ácidos graxos livres, que se apresentou menor para o óleo extraído por enzima.

No estabelecimento dos parâmetros de qualidade aceitáveis para óleos vegetais é importante que os valores para o índice de acidez sejam os menores possíveis, uma vez que elevados valores são indicativos de alterações pronunciadas, comprometendo a capacidade de utilização dos mesmos, sejam para fins alimentícios ou carburantes. O monitoramento da acidez dos óleos vegetais também é usado como método auxiliar durante as fases de processamento, estocagem e controle de qualidade dos mesmos (GALVÃO, 2007).

O índice de refração obtido à temperatura de 20°C (1,463) foi semelhante ao reportado por COSTA *et al.*, (2012) para o mesmo óleo extraído por método convencional, com uso de solvente. Sendo responsável pela caracterização de cada tipo de óleo, dentro de certos limites, esse índice está relacionado com o grau de saturação das ligações, podendo ser afetado por outros fatores tais como: teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico (IAL, 2008).

Assim, o índice de refração de um óleo aumenta com o comprimento da cadeia hidrocarbonada e com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídeos (CECCHI, 2003).

Considerando que os maiores percentuais de ácidos graxos constituintes do óleo de murici determinados por Castro *et al.* (2007) são para os ácidos oleico (21,02%) e linoleico (12,07%) e correspondem a ácidos de cadeias com uma insaturação e duas insaturações, respectivamente, o índice de refração em estudo é considerado representativo, quando o mesmo se equipara aos índices de refração para os óleos de canola (1,473), girassol (1,475), milho (1,474) e soja (1,475) (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Em relação ao índice de saponificação (123,47 mg KOH/g), indicativo do peso molecular dos ácidos graxos, o valor determinado em estudo apresentou-se superior

aos também descritos por Costa *et al.*, (2012) para o mesmo óleo em processo de extração com solvente, apresentando teor de 110,39 mg KOH/g).

Essa característica permite classificar o óleo extraído por via enzimática com propriedades melhores para a utilização em processos de elaboração de cosméticos. No entanto, quando da sua utilização para produção de biodiesel, este necessita de tratamentos prévios para a correção tanto do índice de saponificação, como do índice de acidez. Uma vez que elevados índices de saponificação e de acidez podem dificultar no processo de lavagem do produto e diminuir o rendimento das reações de transesterificação.

5.4 Avaliação da estabilidade térmica do óleo de murici por análises termogravimétricas e calorimétrica

Os aspectos de decomposição térmica do óleo de murici avaliados através da análise termogravimétrica em atmosfera de oxigênio, e representados pelas curvas simultâneas de TG/DTG demonstraram uma sequência de 4 eventos térmicos de perda de massa, sendo os 3 últimos de maior relevância para o estudo do comportamento da estabilidade térmica do óleo referido, conforme apresentado na Figura 18.

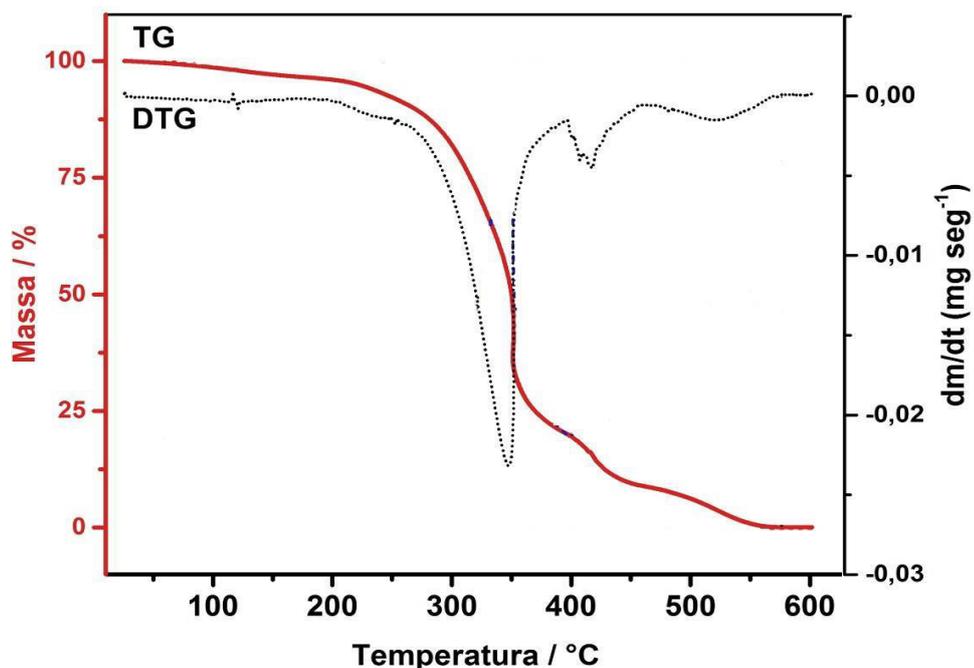


Figura 18 - Curva TG/DTG para o óleo de murici obtido por hidrólise enzimática, assistida por ultrassom, com taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹.

O primeiro deles se caracterizou por uma rápida perda de massa ocorrendo entre as temperaturas de 26-205°C, estando associado a perda de materiais mais suscetíveis à volatilização ou mesmo à vaporização, tendo em vista que o método de recuperação do óleo na extração não o isenta integralmente da presença de umidade. Esse primeiro evento se caracterizou pela perda de massa em água e pela volatilização de ácidos graxos insaturados e saturados de cadeia curta, sendo o valor percentual dessa perda em torno de 5,0% (0,41 mg).

O segundo e mais relevante evento de decomposição aconteceu na faixa de temperatura de 205-400°C, com perda de massa de 77,5% (6,4mg), correspondendo ao período de decomposição de ácidos graxos insaturados como os ácidos oleicos e linoleicos (33% da composição de ácidos presentes no óleo de murici). A máxima perda de massa verificada corresponde à temperatura de pico representada na curva DTG, em 350°C. Essa temperatura é equivalente à maior resistência do óleo a efeitos de degradação.

O terceiro evento, por sua vez, apresentou perda de massa de 8% (0,66 mg), na faixa de temperatura de 400-460°C, correspondendo ao processo de oxidação do óleo. Um discreto aumento de massa é observado devido à formação de polímeros provenientes do processo oxidativo. O quarto evento de perda de massa se caracteriza justamente pela combustão desses polímeros, no intervalo de temperaturas de 460-560°C. O percentual de massa perdido foi de 9,18%, e a amostra não apresentou massa residual representativa, evidenciando sua decomposição completa na temperatura de 600°C.

O óleo de murici apresentou boa estabilidade térmica, tendo em vista a temperatura inicial (T_i) de decomposição em 205°C ser superior à de degradação de óleos vegetais utilizados em processo de fritura.

Partindo do parâmetro de temperatura *onset* (T_{onset}) verificado na curva termogravimétrica (350°C), o óleo de murici extraído por hidrólise enzimática pode ser considerado mais estável termicamente que diversos óleos comestíveis, como os de girassol, soja, canola, milho e oliva (DWECK, 2004)

CARVALHO (2011), avaliando o perfil térmico do óleo da semente do quiabo extraído por método clássico, observou comportamento similar ao óleo de murici aqui referenciado, com início de perda de massa significativa em temperatura de

195°C, apresentando máxima perda de massa em 380°C, com o percentual de massa (ácidos graxos insaturados) perdida de 70%.

Os eventos observados na curva de TG consistiram em transições do tipo exotérmicas, conforme se evidencia na curva de DTA disposta na Figura 19. Os respectivos eventos são responsáveis pela caracterização dos tipos de reações ocorridas ao longo das perdas de massas evidenciadas. Portanto, verificou-se que o primeiro evento exotérmico ocorreu com maior liberação de energia com temperatura máxima de 360°C, próxima da T_{onset} . E estes se caracterizam pela decomposição de ácidos graxos poli-insaturados, seguido pela oxidação do óleo e formação de polímeros e a posterior combustão polimérica.

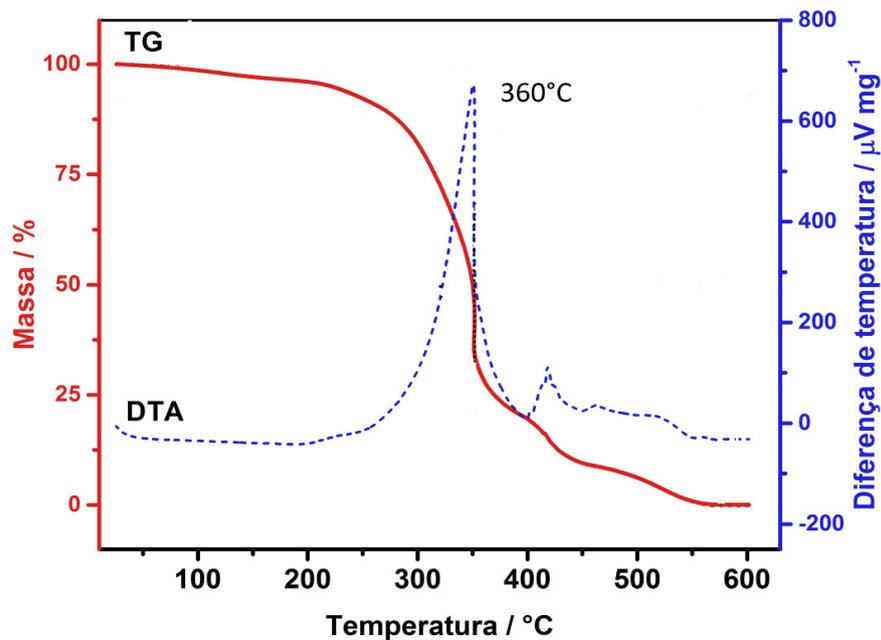


Figura 19 - Curva TG/DTA do óleo de murici extraído por hidrólise enzimática assistida por ultrassom, com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e caracterização de eventos térmicos.

O óleo da polpa seca de murici, extraído por método convencional em Soxhlet também teve sua estabilidade térmica avaliada. O termograma referente à análise encontra-se disposto na Figura 20.

O comportamento térmico do óleo obtido por método clássico com solvente apresentou-se de maneira semelhante ao extraído por via enzimática em relação aos eventos de perda de massa. No entanto, o intervalo entre as temperaturas de início ($T_i = 200^{\circ}\text{C}$) e fim ($T_f = 415^{\circ}\text{C}$) que caracterizam essa perda de massa de forma representativa, mostrou-se maior em comparação com aqueles obtidos para o óleo extraído por hidrólise enzimática. Essa característica é permissível na

determinação de que o óleo obtido por processo enzimático se mostrou mais estável à degradação térmica que o óleo extraído por solvente.

Mothé e Azevedo (2002) afirmam que a diferença entre as duas temperaturas ($T_f - T_i$) é chamada de intervalo da reação e, quanto menor for esse intervalo, mais estável é o material à decomposição. A estabilidade térmica se define como a capacidade da substância em manter suas propriedades, durante o processamento térmico, o mais próximo possível de suas características iniciais. Nesse sentido, com relação aos eventos térmicos de degradação para a amostra de óleo extraído em Soxhlet, foi observado que a mesma também sofreu processo de oxidação antes do término do estágio de maior perda de massa verificado. E ainda, a temperatura em que teve início essa oxidação, em torno de 385°C , mostrou-se abaixo daquela constatada para o processo de decomposição da amostra de óleo obtido por hidrólise enzimática (400°C). Isso pode ser atribuído à maior quantidade de ácidos graxos livres dispostos para a formação de radicais alquilos responsáveis pelo desencadeamento das reações oxidativas. Os processos de formação de compostos poliméricos e sua combustão posterior tornaram-se identificáveis por meio da curva de DTA.

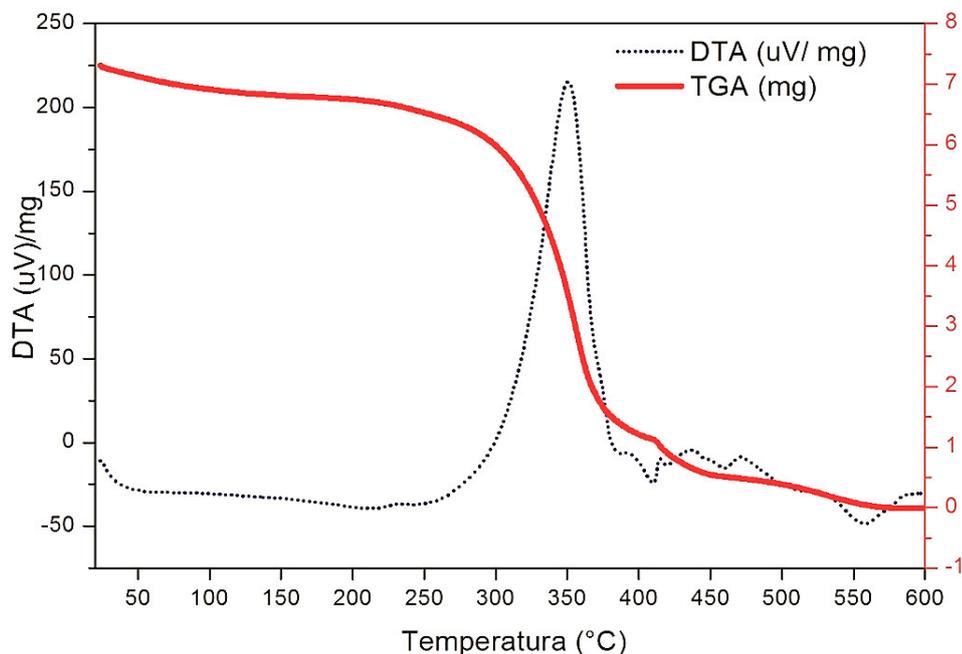


Figura 20 - Curva TG/DTA do óleo de murici extraído por método clássico com solvente, em Soxhlet, com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

A análise calorimétrica em DSC do óleo de murici obtido por processo de extração enzimática caracterizou-se por dois eventos de transição, a saber, um inicialmente endotérmico, conseqüentemente relacionado à desidratação da amostra

e a volatilização de ácidos graxos de cadeias curtas, culminando na fusão da amostra em temperatura de pico característica de 200°C. E o outro exotérmico, correspondente aos eventos de volatilização/decomposição de ácidos graxos mono e poli-insaturados. Não foi possível de observar o evento de decomposição característico pela oxidação da amostra, tendo em vista a amostra submetida a análise não ter suportado temperaturas superiores aos 300°C, nas condições de tratamento impostas. A Figura 21 apresenta o gráfico representativo da curva DSC e a Tabela 12 os eventos observados e suas respectivas temperaturas de pico e variação de energia.

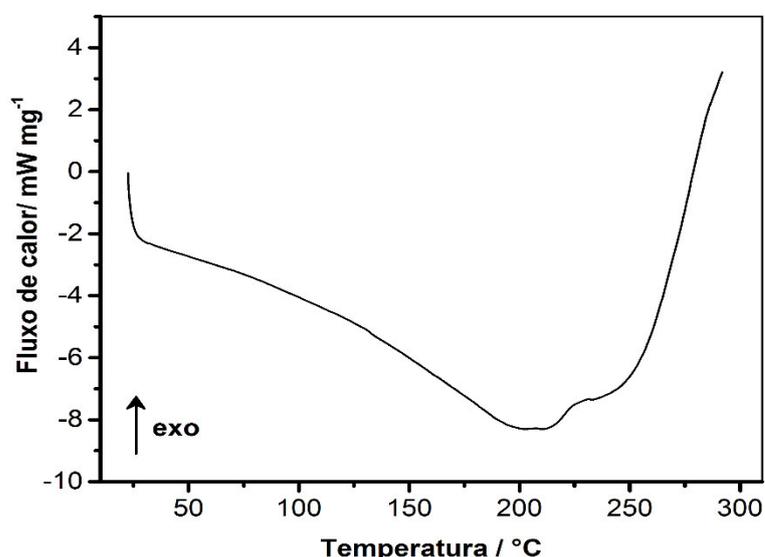


Figura 21 - Curva DSC para o óleo de murici obtido por hidrólise enzimática combinada com ultrassom.

Tabela 12 - Eventos observados por análise de DSC para o óleo de murici obtido por hidrólise enzimática combinada com ultrassom.

Eventos	T _{onset} (°C)	Energia (kJ/g)	Atribuição
1	30	-3,8x10 ³	Desidratação
2	200	-8x10 ³	Fusão
3	290	3,2x10 ³	Volatilização

5.5 Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de murici por método Acelerado em Rancimat

Os óleos de murici extraídos por hidrólise enzimática e por método clássico com solvente (Soxhlet) tiveram sua estabilidade oxidativa avaliadas por método

acelerado em Rancimat. As Figuras 22 e 23 apresentam as curvas características para o Período de Indução (PI) à oxidação para as amostras respectivas.

Os períodos de indução para ambas as amostras não foram observáveis no tempo de análise proposto (6 horas). Portanto, só foi possível de se determinar que este período de indução se encontra acima de 6 horas, considerando que não foi identificável a região correspondente ao aumento brusco de condutividade, quando este ocorreria.

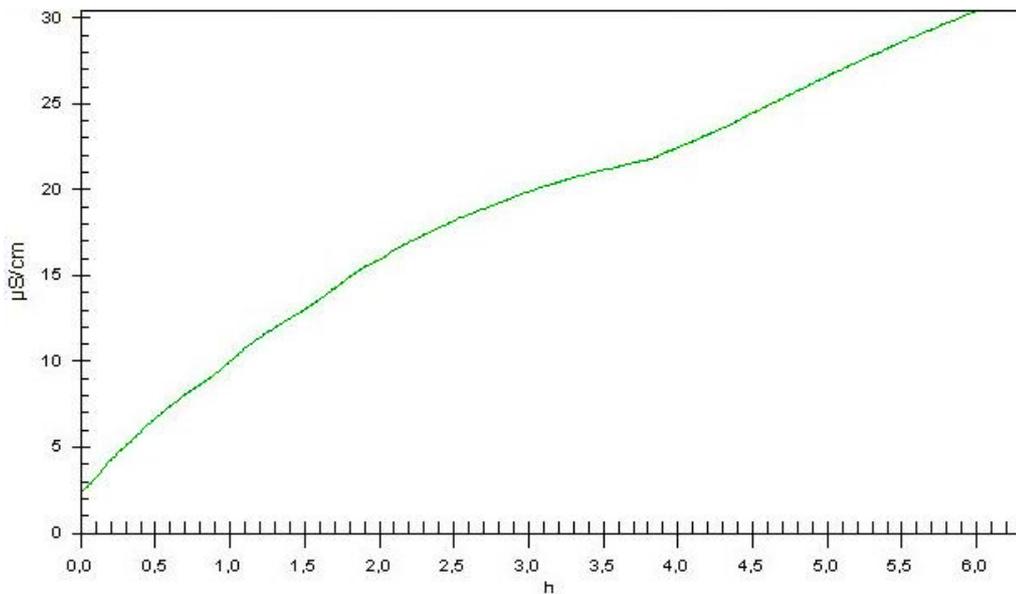


Figura 22 - Período de indução (PI) para o óleo de murici obtido por hidrólise enzimática.

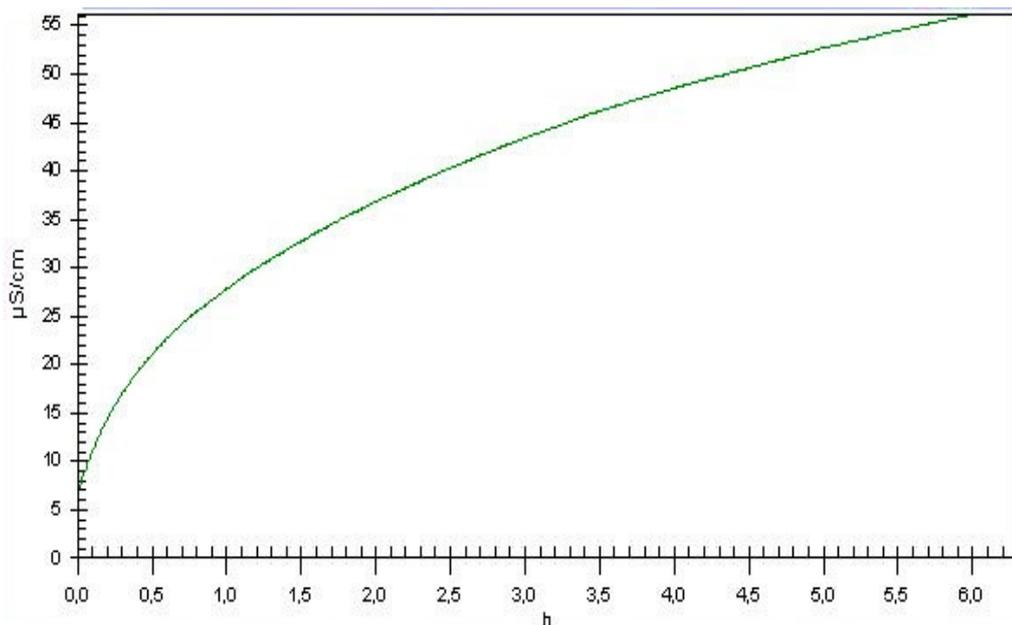


Figura 23 - Período de indução (PI) para o óleo de murici obtido por método clássico com solvente, em Soxhlet.

A análise gráfica, no entanto, permite inferir que para os dois processos de extração, os óleos apresentaram estabilidade representativa, principalmente quando comparados com outros óleos vegetais como os de amendoim (PI = 4,20 h), gergelim (PI = 2,01h), dendê (PI = 2,64 h), linhaça (PI = 1,18 h) e pequi (PI = 2,52 h) (MELO, 2010).

Da avaliação comparada entre os métodos de extração em estudo, observou-se que embora os períodos de indução não tenham sido detectáveis no tempo de análise utilizado, o óleo obtido por via enzimática apresentou-se menos tendencioso ao processo oxidativo, quando mostrou valor de condutividade elétrica (30 $\mu\text{S}/\text{cm}$) menor que aquele para o óleo obtido em Soxhlet (55 $\mu\text{S}/\text{cm}$) nas 6 horas de submissão das amostras às condições de análise.

6 CONCLUSÃO

A extração por hidrólise enzimática, assistida por ultrassom, do óleo contido na polpa do murici (*Byrsonima crassifolia*) e os eventos posteriores de avaliação da estabilidade termo-oxidativa do referido óleo foram realizados conforme as proposições deste trabalho. Embora a significância do método de extração não tenha sido verificada nas condições de rendimento do óleo, todavia mostrou-se representativa na avaliação da sua estabilidade térmica e oxidativa.

A caracterização da composição centesimal da polpa do murici apresentou-se dentro dos padrões estabelecidos em legislações específicas vigentes e de acordo com os pré-dispostos em estudos semelhantemente realizados, tornando asseguradas que as variações mais significativas nos teores avaliados se remetem a condições de cultivo, caracterização do solo e espécie da matéria-prima empregada.

Os métodos de extração empregados se mostraram efetivos no propósito de obtenção do óleo. Entretanto, as condições de rendimentos não foram satisfatórias para o método enzimático com assistência do ultrassom, enquanto que para o método clássico de extração com solvente esse rendimento mostrou-se em concordância com os índices físico-químicos verificados para a matéria-prima empregada.

O planejamento experimental utilizado não se apresentou progressista no intuito de otimização das condições de extração, nem tampouco demonstrou-se significativo do ponto de vista estatístico quando da mensuração de valores para as variáveis empregadas, principalmente para a concentração enzimática.

A caracterização físico-química do óleo extraído pelo método proposto mostrou bons índices de qualidade, tendo apresentado valores em conformidade com aqueles dispostos em legislação específica vigente.

Quanto à caracterização da estabilidade termo-oxidativa para os óleos extraídos pelos métodos supracitados, os termogramas demonstraram que o óleo mais estável termicamente foi aquele obtido por via enzimática, considerando as variações de massa mais representativas em intervalos de temperaturas que regem o processo menores que os observados para o óleo extraído com solvente.

Os períodos de indução, embora não identificados no tempo de análise proposto, demonstraram maior suscetibilidade às condições de oxidação para o óleo extraído com solvente.

A análise calorimétrica por meio das curvas de DSC permitiu a identificação dos eventos térmicos característicos para o óleo de murici extraído por hidrólise enzimática, com caracterização determinística dos valores para as variações de energia no processo e para os estados de transição entre as fases.

De um modo geral, diante dos resultados conseguidos no presente trabalho, observa-se que o método de extração proposto para o óleo em estudo mostrou-se promissor no melhoramento das suas condições de estabilidade termo-oxidativa, embora haja a necessidade de tornar-se potencialmente viável nas condições de rendimento de processo. Vale ainda ressaltar a viabilidade do método, em se tratando de uma técnica limpa e segura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDRINO, V. H. D.; SOUSA, J. S.; BASTOS, M. N. C. Estudo taxonômico da família Malpighiaceae Juss. das restingas de Algodão/ Maiandeuá, Maracanã, Pará, Brasil. Boletim do Museu Paraense Emílio Goldi. Ciências Naturais 6(3): p. 335-347, 2011.
- ALLEN, J.C., HAMILTON, R.J. Rancidity in Foods. Third edition. An Aspen Publication, 1994. Disponível em: http://books.google.com.br/books?hl=pt-PT&lr=&id=lcmgZHWIRUsC&oi=fnd&pg=PA1&dq=+Rancidity+in+Foods&ots=MWu3WvEqcg&sig=3WLu9Az6_xRZoJ-tpRVpg9PQLRo#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 19 jun. 2015.
- ALMEIDA, M. M. B.; DE SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; DO PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A.; DE LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. Food Research International, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.
- ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B; SANO, S.M; RIBEIRO, J.F. Cerrados: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 464p, 1998.
- ALVES, G. L.; FRANCO, M. R. B. Headspace gas chromatography– mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). Journal of Chromatography A, v. 985, n. 4, p. 297-301, 2003.
- ANTONIASSI, Rosemar. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. B.CEPPA, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 353-380, 2001.
- ARAÚJO, J. M. A; Química de alimentos – Teoria e Prática. 2a edição. Editora da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, 1999.
- BABICZ, I. Produção de diacilgliceróis via hidrólise enzimática de óleo de palma. Mestrado em Ciências e Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Escola de Química da Universidade Federal do Rio De Janeiro, UFRJ, Rio de Janeiro, 2009.
- BARBOZA, J. C. S.; SERRA, A. A. Ultra-som(I): Influência do ultrassom na química. Química Nova, v. 15, p. 302, 1992.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: Relação entre Geração de Espécies Reativas e Defesa do Organismo. Ver. Química Nova, vol. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BARRETO, G. P. M.; BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Bioactive Compounds from Several Tropical Fruits and Correlation by Multivariate Analysis to Free Radical Scavenger Activity. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 20, n. 10, p.1856-U124, 2009.
- BELITZ, H-D.; GROSH, W. Química de los alimentos. Segunda ed. Zaragoza: Acribia, 1992.
- BLOCK, J. M; Dissertação de Mestrado – Comportamento térmico de gorduras produzidas no Brasil. USFC – Centro de Ciências dos Alimentos, Florianópolis – S.C, 1992.

BOBBIO, P. A. e BOBBIO, F. O. Química do processamento de alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela, 2001, 143 p.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Aprova Regulamento Técnico para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Cremes Vegetais. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 2005.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 01, de 07 de janeiro de 2000. Aprova Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta (revoga a instrução normativa n. 12, de 10 de setembro de 1999). Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 2000. Seção 1, p. 54.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Alimentos regionais brasileiros. Brasília, DF, 2002. (Série F. Comunicação e Educação, n. 21).

BRIGELIUS-FLOHÉ, R. Vitamina E: The shrew waiting to be tamed. Free Radical Biology & Medicine, vol. 46, p. 543-554, 2009.

BRUNETON, Jean. Elementos de fitoquímica y de Farmacognosia. Editora Acribia: Zaragoza. Espanha, 1991.

CAMARGO, M. S. Nutrição e adubação de *Aster ericoides* (White Master) influenciando produção, qualidade e longevidade. Tese de Doutorado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz: Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2001.

CAMPOS, F. M.; ROSADO, G. P. Novos fatores de conversão de carotenoides provitamínicos A. Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 25, n. 3, p. 571-578, 2005.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. Ver. Bras. Frutic., v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CAPONERO, J.; TENÓRIO, A. S. JORGE. Técnicas de Análise Térmica. Disponível em: <http://www.angelfire.com/crazy3/qfl2308/1_multipart_xF8FF_9_ANALISE_TER MICA_PMI-2201.pdf>. Acesso em 30 de novembro de 2015.

CARDIM, R. Site: Árvores de São Paulo, 2012. Disponível em: <<https://arvoresdesaopaulo.wordpress.com/2012/06/06/vitoria-para-a-biodiversidade-e-historia-de-sao-paulo-as-novas-reservas-de-campos-cerrados-na-usp/>>. Acesso em: 23 dez. 2015.

CARVALHO, M. L. B. Avaliação da estabilidade termo-oxidativa do óleo das sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba). João Pessoa, PB, 2011. 87fl.

CASTRO, R. A. O.; LEITE, J. J. G. Propriedade antioxidante e caracterização dos ácidos graxos do extrato hexânico do murici (*Brysonima crassifolia* L. Rich). Fortaleza, UECE, 2007. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/13/13-38-137.htm>>. Acesso em: 12 de março de 2015, às 19h13min.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Editora da UNICAMP: 2º Ed. rev.- Campinas, SP, Editora da UNICAMP, 2003. 207p.

CHOE, E, MIN, D.B. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. Food Science and Food Safety. pp. 345 – 358. Vol. 8, 2009. Online Library. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2009.00085.x/full>>. Acesso em: 19 jun. 2015.

COELHO, M.A.Z.; LEITE, S.G.F.; ROSA, M.F.; FURTADO, A.P.L. Aproveitamento de resíduos agroindustriais: produção de enzimas a partir da casca de coco verde. B.Ceppa, Curitiba, v. 19, n. 1, 2001.

COMANDINI, P., VERARDO, V., MAIOCCHI, P., CABONI, M.F. *Accelerated oxidation: Comparative study of a new reactor with oxidation stability instrument*. European Journal of Lipid Science and Technology, v. 111, n. 9, p. 933 – 940. Online Library. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.200900009/abstract>>. Acesso em 15 jul 2015.

CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1974. V. 5, p. 264-269.

COSTA NETO, P. R. et al. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. Química Nova, v. 23, p. 531-537, 2000.

COSTA, J. R. M.; MADEIRA, D. S. S; FREITAS, A. C. Caracterização físico-química da polpa de murici (*Byrsonima crassifolia* L. Kunth.). 65ª Reunião Anual da SBPC: Recife – PE, 2013.

COSTA, J. R. M.; SILVA, E. S. Extração de óleo de murici (*Byrsonima verbascifolia* L.). 64ª Reunião Anual da SBPC: São Luís – MA, 2012. Disponível em: <<http://www.sbpnet.org.br/livro/64ra/resumos/resumos/2850.htm>>. Acesso em:

COURI, C. & FREITAS, S.P. Aplicação de enzimas na extração aquosa de óleos vegetais. Ciência de Alimentos: Avanços e Perspectivas, Ed. UNICAMP, cap. 10, p. 28 - 32, 2001.

COURI, C. & FREITAS, S.P. Aplicação de enzimas na extração aquosa de óleos vegetais. Ciência de Alimentos: Avanços e Perspectivas, p. 28-32, 1997.

CRAVOTTO, G., BOFFA, L., MANTEGNA, S., PEREGO, P.; Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. Ultrasonic Sonochemistry p.898–902, 2008.

DAVISON, A.; ROESSEAU, E. and DUNN, B. P. Putative anticarcinogenic actions of carotenoids: nutritional implications. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, v. 71, p. 732-745, 1993.

DE SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; DE DEUS, J. S. C. Determination of bioactive compound, antioxidante activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. Food Chemistry, v. 134, n. 1, p. 381-386, 2012.

DENARI, Gabriela Bueno; CAVALHEIRO, Éder Tadeu Gomes. Princípios e aplicações de análise térmica. São Carlos: IQSC/USP, 2012, 40p.

DWECK J, SAMPAIO CMS. Analysis of the Thermal Decomposition of Commercial Vegetable Oils in Air by Simultaneous TG/DTA. JTAC. 2004.

EMATER. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural, Rondônia. Disponível em: <<http://www.emater-rondonia.com.br/Murici.htm>>. Acesso em 07 jan. 2006.

EMBRAPA. Frutas Nativas da região Centro-Oeste. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 320 p.

EPIGENTEK. EpiSonic Multi-Functional Bioprocessor 11002014, 2014. Disponível em: <<http://www.epigentek.com/catalog/episonic-multi-functional-bioprocessor-1100-p-2997.html>>. Acesso em: 07 nov. 2015.

EYCHENNE, V.; MOULOUGUI, Z.; GASET, A. Thermal behavior of neopentylpolyol esters Comparison between determination by TGA-DTA and flash point. Thermochim. Acta, v.320, p. 201-208, 1998.

FARIA, E. A.; LELES, M. I. G.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T. O.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gordura vegetais por TG/DTG e DTA. Eclética Química, v. 27, p. 111-119. São Paulo, 2002.

FILHO, S. C.V. Caracterização anatômica e histoquímica de folhas, calogênese e fitoquímica de calos de murici [*Byrsomina verbascicola* (L.) Rich. Ex Juss]. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, 2008.

FOX, N.J., STACHOWIAK, G.W. Vegetable oil-based lubricants: A review of oxidation. pp. 1035 – 1046. Vol. 40. Elsevier. ScienceDirect, 2006.

FRANKEL, E. N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. Food Chem. 1996, v. 57, p. 51-55.

FREEDMAN, B. E BAGBY, M. O. Heat of combustion of Fatty Esters and Triglycerides. Journal of the American Oil Chemists' Society, p. 1601-1605, 1989.

FREITAS, A. C. Produção de protease por *aspergillus* em fermentação semi-sólida utilizando torta de canola. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia Química – Universidade Federal do Ceará). Fortaleza, 2009.

FREITAS, S. P.; CABRAL, L. C.; HARTMAN, Leopold . Economic evaluation of soymilk production: comparative study of two processes. Alimentaria (Madrid), Madrid - Espanha, v. 281, p. 97-107, 1996.

FREITAS, S. P.; COURI, S.; JABLONKA, F. H.; CARVALHO, C. W. P. HARTMAN, L. The combined application of extrusion and enzymatic technology for extraction of soya bean. Fett and Lipid. v. 99, p.333 - 337, 1998.

FREITAS, S. P.; LAGO, R.C.A.; QASSIM, R.Y. Economics analysis of enzymatic extraction of avocado oil, Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, Milano, v.75, p.15-19, 1998.

- FREITAS, S.; HARTMAN, L.; COURI, S. Alternativa biotecnológica ao uso de solventes orgânicos na extração de óleos vegetais. *Óleos e Grãos*, n.32, p.29-32, 1996.
- FREITAS, S.P.; LAGO, R.C.A.; JABLONKA, F.H.; HARTMAN, L. Extraction aqueuse enzymatique de l'huile d'avocat a partir de la pulpe fraîche. *Revue Française des Corps Gras*, Paris, v.41, p. 365-371, 1993.
- GALVÃO, L.P.F.C. Avaliação Termoanalítica da Eficiência de Antioxidantes na Estabilidade Oxidativa do Biodiesel de Mamona. 159f. Dissertação (Mestrado em Química): Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.
- GARCIA-MESA, J.A.; LUQUE DE CASTRO, M.D.; VALCARCEL, M. Factors affecting the gravimetric determination of the oxidative stability of oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.70, n.3, p.245-247, 1993.
- GIACOMETTI, D. C. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruz das Almas, BA. Anais... Cruz das Almas, BA: Embrapa-CNPMPF, p. 13-27, 1993.
- GOMES, C.A.O.; PINTO, A.S.; TERZI, S.C.; FREITAS, S.P. Aqueous Enzymatic Extraction of Peach Palm Oil. *Braz. J. Food Technol.*, v. 5, p. 211-216, 2002.
- GOMES, R. P. Fruticultura brasileira. 11. ed. São Paulo, SP: Nobel, 1983. 446 p.
- GUIMARÃES, M.M.; SILVA, M.S. Valor nutricional e características químicas e físicas de frutos de murici-passa (*Byrsonima verbascifolia*). *Food Science e Technology (Campinas)*, v. 28, p. 817-821, 2008.
- GUNSTONE F. *The Chemistry of Oils and Fats: Sources, Composition, properties and uses*. Wiley-Blackwell, 2009.
- GUNSTONE FD. *Oils and Fats in Food Industry: Food Industry Briefing Series*. Wiley-Blackwell, 2008.
- GUNSTONE FD. *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, properties and uses*. 2ed. Wiley-Blackwell, 2011.
- GUNSTONE, F.D. *The Chemistry of oils and fats: Sources, Composition, Properties and uses*. CRC Press. pp. 23 – 49, 150 – 171, 2004.
- GUSMÃO, E.; VIEIRA, F. A.; FONSECA, E.M. da. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex A. Juss.). *Cerne*. Lavras, vol. 12, n.01, p. 84-91, 2006.
- HADORN, H.; ZURCHER, K. Zur bestimmung der oxydationsstabilitat von olen und fetten. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, v.70, n.2, p.57-65, 1974.
- HANMOUNGJAI, PYLE, D.L.; NIRAJAN, K. Enzymatic process for extracting oil and protein from rice bran. *JAOCs*, v. 78, n. 8, p. 817-821, 2001.
- HARTMAN, L; FREITAS, S.P.; COURI, S.; CARVALHO, C.W.P.; JABLONKA, F.H. Processo de hidrólise enzimática da soja para obtenção do óleo e das proteínas

modificadas; óleo de soja; proteínas modificadas. Patente de Invenção 1100048-1A. Embrapa, 1996.

HASSEL, R. L. Thermal analysis: an alternative method of measuring oil stability. *Journal American Oil Chemistry Society*, v. 53, p. 179-181, 1976. Disponível em: <<http://tede.biblioteca.ufpb.br/bitstream/tede/4025/1/arquivototal.pdf>>. Acesso em: 23 fev. 2016.

HIELSCHER, T. Ultrasonic Production of Nano-Size Dispersions and Emulsions. *Dans European Nano Systems Workshop - ENS*, Paris: France, 2005.

HORST, M. A. e LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: Silvia Maria Franciscato Cozzolino. (Org.). Biodisponibilidade de Nutrientes. 2 ed. São Paulo: Manole, v.1, p.697-731, 2007.

HUANG, S. W.; FRANKEL, E. N.; GERMAN, J. B.; Antioxidant activity of α - and γ -tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 1994, v. 42, 2108-2114.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4. ed. 1. ed. Digital. São Paulo, 2008. v.1020p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Estudo nacional de despesa familiar: Tabelas de composição de alimentos. 4. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1996. 137p.

IOM-US. Institute of medicine. In: (Ed.). Food and nutrition Board. Washington, DC: National Academy Press. cap. Standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids, 2001.

IONASHIRO, M. G. Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial. Araraquara: Giz editorial, 2004.

IQBAL, S., BHANGER, M.I. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*. pp. 246 – 254. Vol. 100. Elsevier. ScienceDirect, 2005.

JAIN, S, SHARMA, M.P. Renewable and Sustainable Energy Reviews. *Rev. Elsevier*, v. 14, p. 667-678, 2010.

JORGE, N.; GONÇALVES, L. A. G. Aditivos utilizados em óleos e gorduras de frituras. *Bol. SBCTA*, Campinas, v.32, n.1, p.40-47, 1998.

JUNG, M. Y.; MIN, D. B.; Effects of α -, γ -, and δ -tocopherols on oxidative stability of soybean oil. *J. Food Sci.* 1990, v. 55, p. 1464-1465.

JUNIOR, S. V. C. Técnicas de caracterização de polímeros. Editora Artiber, 2004.

KANNER, J., ROSENTHAL, I. (1992) – An assessment of lipid oxidation in foods. *International Union of Pure and Applied Chemistry. Commission on food chemistry. Commission on oils, fats and derivatives*. p. 1959 – 1964. Vol. 64, n. 12. Disponível em: <http://www.iupac.org/publications/pac/1992/pdf/6_412x1959.pdf>. Acesso em 20 jun. 2015.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J.; RAMOS, L.P., Manual do Biodiesel. Traduzido do original "The Biodiesel Handbook" por Luiz Pereira Ramos, São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

KORN, M.; ANDRADE, M.V.A.S.; BORGES, S.S. Procedimentos analíticos assistidos por ultrassom. Revista Analytica, n. 3, p. 34-39, 2003.

LAMBELET, P.; SAUCY, F.; LÖLIGER, J. Mecanismos de acción de los antioxidants. In: Libro 10º Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p. 733.

LEE, A.K.; LEWIS, D.M.; ASHMAN P.J. Disruption of microalgal cells for the extraction of lipids for biofuels: processes and specific energy requirements. Biomass Bioenergy, v. 46, p. 89–101, 2012.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica. 2. ed., São Paulo: Sarvier, 1995.

LIU, Y.; JIN, Q.; SHAN, L.; LIU, Y.; SHEN, W.; WANG, X. The effect of ultrasound on lipase-catalyzed hydrolysis of soy oil in solvent-free system. Ultrasonics Sonochemistry, v.15, p. 402-407, 2008.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2. Ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 1998. v. 2, 228 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.

LUTEROTTI, S.; MARKOVIC, K.; FRANKO, M.; BICANIC, D.; MADZGALJ, A.; KLJAK, K. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods of determination of carotenoids in food. Food Chemistry, v. 140, p. 390-397, 2013.

MA, L.; LIN, X. M. Effects of lutein and zeaxanthin on aspects of eye health. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 90, n. 1, p. 2-12, 2010.

MACHADO, G. C.; CHAVES, J. B. P. e ANTONIASSI, R. Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. Revista Ceres, 53(308): 463-470, 2006.

MARIANO, Renata Gomes de Brito. Extração do óleo da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense*) por processos convencionais combinados com tecnologia enzimática. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2008.

MARTÍNEZ, J. A. M. Estudio de los índices de calidad em aceites de oliva de la provincia de Granada. Tesis (Doctorado em Farmacia) – Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada – Granada, 2007. 222 p.

MARTINS, L.F. Caracterização do complexo celulásico de *Penisillium echinulatum*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

MATOS, J. R.; MERCURI, L.; BARROS, G. Análise térmica aplicada a fármacos e medicamentos. In: STORPIRTS, S. et al. Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009, cap. 4, p. 32-65.

MIZUKOSHI, Y.; NAKAMURA, H.; BANDOW, H.; MAEDA, Y.; NAGATA, Y. Sonolysis of organic liquid: effect of vapour pressure and evaporation rate. Ultrasonics Sonochemistry, v. 6, p. 203-209, 1999.

MONTEIRO, D. C. B.; DE SOUSA, W. C.; PIRES, C. R. F.; AZEVEDO, L. A.; BORGES, J. S. Caracterização físico-química do fruto e da geleia de Murici (*Byrsonima crassifolia*). Enciclopédia Biosfera, v.11, n.21; p. 3356-3366. Centro Científico Conhecer, Goiânia, 2015.

MORAES, F. P. e COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 3, n.2, p.109-122, 2006.

MORETTO, E.; FETT, R. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. São Paulo: Varela, 1998.

MORZELLE, M. C.; BACHIEGA, P.; DE SOUZA, E. C.; VILAS BOAS, E. V. B.; LAMOUNIER, M. L. Caracterização química e física de frutos de curriola, gabioba e murici provenientes do cerrado brasileiro. Rev. Bras. Frutic., v. 37, n. 1, p. 096-103. Jaboticabal – SP, 2015

MOTHÉ, C. G. e AZEVEDO, A. D. Análise térmica de materiais. São Paulo: iEditora, 2002.

MUSSATTO, S.I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A.M.F. Enzimas: poderosa ferramenta na indústria. Revista Ciência Hoje, v.41, n. 242, p. 28-33, 2007. Disponível em: <<http://cienciahoje.uol.com.br/bancodeimagens/lg/protected/ch/242/enzimas242.pdf/view>>. Acesso em 30 de janeiro de 2015.

NASCIMENTO, R.J.S. Extração aquosa enzimática do óleo de açaí. 2004. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

NELSON, D. L. e COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. 1274 p.

NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M.; LAMPSRT-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. Food Chemistry, Missouri, v. 93, n. 2, p. 227-235, 2005.

OCHOCKA, R. J., WESOLOWSKI, M., LAMPARCZYK, H. Thermal analysis supported by principal component analysis of essential oil samples. Termochim. Acta, v.173, p. 199 -210, 1990.

OOMMEN, T.V. Vegetable oils for liquid-filled transformers. IEEE Electrical Insulation Magazine, jan, 6-11, 2002.

PARDAUIL, J.J.R., SOUZA, L.K.C., MOLFETTA, F.A. Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area. *Bioresource Technology*. pp. 5873 – 5877. Vol. 102. Elsevier. ScienceDirect, 2011.

PARMENTIER, M.; GUILLEMIB, S.; BARBAR, R. et al. De nouveaux procédés d'extraction des huiles pour des produits finis de haute qualité. *Eurofedlipid*. v. 11, p.377-380, nov/dez 2004.

PEREZ-GUTIERREZ, R. M.; UMÑIZ-RAMIREZ, A.; GOMES, Y. G.; RAMÍREZ, E. B. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antiglycation effects of *Byrsonima crassifolia* fruit and seed in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Plant Foods Hum Nutr.*, v. 65, n. 4, p. 350-357, 2010.

POKORNÝ, J.; PARKÁNYIOVÁ, J. Lipids with antioxidant properties. In: AKHO, C.; LAI, O. M. *Healthful lipids*. New York: Marcel Dekker, 2005. cap. 13, p. 273-300.

POLVILHO, M.M, RUIZ, G.M., DOBARGANES, M.C. Oxidative Stability of Sunflower Oils Differing in Unsaturation Degree During Long-Term Storage at Room Temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. pp.577 – 583. Vol. 81, 2004.

POLYAKOV, N. E.; LESHINA, T. V.; KONOVALOVA, T. A.; KISPERT, L. D. Carotenoids as scavengers of free radicals in a Fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants? *Free Radical Biology & Medicine*, v. 31, n. 3, p. 398-404, 2001.

PRESA-OWENS, S.; LÓPEZ-SABATER, M. C.; RIVERO-URGEL, M. Shelf-life prediction of an infant formula using an accelerated stability test (Rancimat). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 43 (11), p. 2879-2882, 1995.

RASO, J.; MANAS, P.; PAGÁN, R.; SALA, F.J. Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 5, p. 157-162, 1999.

REDA, S. Y.; CARNEIRO, P. I. B. Óleos e Gorduras: Aplicações e Implicações. *Revista Analytica*, n. 27, p. 60-67, 2007.

REZENDE, C. M.; BRAGA, S. R. Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (*Byrsonima crassifolia* L.). *Journal Brazilian Chemistry Society*, v. 14, n. 3, p. 425-428, 2003.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Latin american food sources of carotenoids. *Arch Latinoam Nutr.*, v. 49, n.3, p. 745-845, 1999.

ROKHINA, E.V.; LENS, P.; VIRKUTYTE, J. Low-frequency ultrasound in biotechnology: state of the art. *Trends in Biotechnology*, v. 27, p. 298-306, 2009.

ROSENTHAL, A.; PYLE L.D.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme Microbiology Technology*, v. 19, p. 402-420, 1996.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; SILVEIRA, M. R. S.; MOURA, C. F. H. Quality for fresh consumption and processing of some non-traditional tropical fruits from Brazil. *Fruits*, v. 64, n. 6, p. 361-370, 2009.

RUIZ, G.M., POLVILLO, M.M., VELASCO, J. Formation of oxidation compounds in sunflower and olive oils under oxidative stability index conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*. pp. 465 – 471. Vol. 110. Nº5, 2008. Online Library. Disponível em:<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.200700246/abstract>>.

SALES, A.; WAUGHON, A. G. M. Influência do processamento no teor de compostos bioativos em frutos de murici e cajá. *Revista Agrarian*, v. 6, n. 19, p. 7-15. Dourados, 2015.

SÁNCHEZ-PÉREZ, A.; DELGADO-ZAMARREÑO, M. M.; BUSTAMANTE-RANGEL, M.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J. Automated analysis of vitamin E isomers in vegetable oils by continuous membrane extraction and liquid chromatography-electrochemical detection. *Journal of Chromatography*, Amsterdam, v. 881, n. 1-2, p. 229-241, 2000.

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. *Journal of Food Science*. V. 67, p. 1393-1398., 2002.

SANTOS, R. D.; FERRARI, R. A.; Extração aquosa enzimática de óleo de soja. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas v. 25, p.132-138, março 2005.

SHAMI, N. J. I. E. e MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. *Revista de Nutrição*, v. 17, n.2, p. 227-236, 2004

SIGUEMOTO, Érica Sayuri. Composição nutricional e propriedades funcionais do murici (*Byrsomina crassifolia*) e moringa (*Moringa Oleifera*). Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade de São Paulo – Faculdade de Saúde Pública; s.n.; 124 p. São Paulo, 2013.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para Avaliação do Grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante. *Química Nova*, 1999, v. 22, n. 1, p. 94-103.

SINISTERRA, J.V. Application of ultrasound to biotechnology: an overview. *Ultrasomics*, v. 30, p. 180-184, 1992.

SMITH, S.A., KING, R.E., MIN, D.B. Oxidative and thermal stabilities of genetically modified high oleic sunflower oil. *Food Chemistry*. pp. 1208 – 1213. Vol. 102. Elsevier. ScienceDirect, 2006.

SMOUSE, T.H. Factors affecting oil quality and stability. In: WARNER, K.; ESKIN, N.A.M. *Methods to assess quality and stability of oils and fat-containing foods*. Champaign, IL: AOCS, 1995.

SOUSA, M. S. B. Mecanismos de ação antioxidante de extratos de murici (*Byrsonima crassifolia* (L) Kunth). Dissertação de Mestrado (Mestrado em Nutrição em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013. 134 f.

SOUZA, J. N. S.; SILVA, E. M.; LOIR, A.; REES; ROGEZ, J.; LARONDELLE, Y. Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological *in vitro* assays. *Food Chemistry*, v. 106, n. 1, p. 331-339, 2008.

STELL, C. J. Gorduras vegetais hidrogenadas: produtos da termoxidação e ação antioxidante dos tocoferóis. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas - SP, 2002.

STRINGHAM, J. M.; BOVIER, E. R.; WONG, J. C.; HAMMOND, B. R. The influence of dietary lutein and zeaxanthin on visual performance. *Journal of Food Science*, v. 75, n. 1, p. 24-29, 2010.

SUAREZ, P. A. Z. e MENEGHETTI, S. M. P. 70º aniversário do biodiesel em 2007: evolução histórica e situação atual no Brasil. *Química Nova*, v. 30, n. 8, p. 2068-2071, 2007.

TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP- 4. ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

TUBEROSO CARLO I.G.; ADAM KOWALCZYK; ERIKA SARRITZU; PAOLO CABRAS. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chemistry*, v. 103, p. 1494-1501. Italy, 2006.

TURATTI, J. M. Extração de óleos vegetais utilizando-se enzimas no pré-tratamento das sementes. Campinas, 1999, 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. e PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007.

UHREN, W. Aplicação de óleo vegetal como meio isolante em equipamentos elétricos, em substituição ao óleo mineral isolante. Curitiba, 2007. 123 p. Dissertação (Mestrado profissionalizante - PRODETEC) - Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento e Instituto de Engenharia do Paraná.

VACLAVIK, V. A.; CHRISTIAN, E. W. *Essentials of food science*. 2nd ed. Springer Science: New York, 2003.

VALLILO, M. I.; PASTORE, J. A.; DE ESTON, M. R.; GARBELOTTI, M. L.; DE OLIVEIRA, E. Caracterização química e valor nutricional de *Byrsonima Myricifolia* Griseb (Malpighiaceae) – Alimento de aves silvestres. *Revista do Instituto Florestal*, v. 19, n. 1, p. 39-45, 2007.

VAN ACKER, S.B.E.; KOYMANS, L.M.H.; BAST, A. Molecular pharmacology of vitamin E: structural aspects of antioxidante activity. *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 15, p. 311-328, 1993.

VENDRUSCOLO, T.P.; SANTOS, M.C.; PINTO, R.A.; NASCIMENTO, J.C.; COSTA, T.M.; PINTO, J.M.; SANTOS, C.C.A. Avaliação do percentual lipídico e influência da secagem na extração do óleo presente na casca, polpa e castanho do murici (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth, visando à produção de Biodiesel. VI Simpósio Nacional de Biocombustíveis. Canoas - RS, 2013. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/13/1344-14201.html>. Acesso em 12 de março de 2015, às 19h25min.

VILLACHICA, H. Frutales y hortalizas promisorios de la amazonia. Lima: TCA, 1996, p.50-55.

VOLL, F.A.P. Produção e Separação de Diacilglicerol a partir do Triacilglicerol do Óleo de Palma. Tese de doutorado em Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, 2011.

VULFSON, E.N.; SARNEY, D.B; LAW, B.A. Enhancement of subtilisincatalyzed interesterification in organic solvents by ultrasound irradiation, *Enzyme Microbiol. Technol.*, v.13, p. 123–126, 1991.

WATANABE, T.; SUGIURA, M.; SATO, M.; YAMADAB, N.; NAKANISHI, K. Diacylglycerol production in a packed bed bioreactor. *Process Biochemistry*, v.40, p. 637-643, 2005.

WEI, F.; GAO, G.-Z.; WANG, X.-F.; DONG, X.-Y.; et al.; Quantitative determination of oil content in small quantity of oilseed rape by ultrasoundassisted extraction combined with gas chromatography. *Ultrasonic Sonochemistry* p.938–942, 2008.

WESOLOWSKI, M., ERECINSKA. J. Thermal analysis in quality assessment of rapeseed oils. *Thermochimi. Acta*, v.323, p. 137-143, 1998. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040603198004869>>. Acesso em: 26 nov. 2015.

WHITE, P. J. Flavor quality of fats and oils. In: O'BRIEN, R. D.; FARR, W. C.; WAN, P. J. *Introduction to Fats and Oils Technology*. 2. ed. Champaign: AOCS Press, 2000. cap. 18, p. 341-370.

WILHELM, H. M.; STOCCO, G. B. Determinação da Estabilidade à Oxidação de Óleos Vegetais Isolantes pelo Método Condutivimétrico. Relatório Técnico – Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento (LACTEC): Curitiba, PR, 2007.

YACHMENEV, V., BRIAN, C., THOMAS, K., ALLAN, L. Acceleration of the enzymatic hydrolysis of corn stover and sugar cane bagasse celluloses by low intensity uniform ultrasound, *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, v. 3, p. 25–31, 2009.

YACHMENEV, V.G.; BLANCHARD, E.J.; LAMBERT, A.H. Use of ultrasonic energy for intensification of the bio-preparation of greige cotton, *Ultrasonics*, 42 87–91, 2004.

YOSHIDA, H.; TATSUMI, M.; KAJIMOTO, G. Relationship between oxidative stability of vitamin E and production of fatty acids in oils during microwave heating. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1991, v. 68, p. 566-570.

YOSHIMOTO M.; LI, C.; OGATA H.; TSUKUDA, N.; FUKUNAGA, K.; NAKAO, K. Effects of ultrasonic intensity and reactor scale on kinetics of enzymatic saccharification of various waste papers in continuously irradiated stirred tanks, *Ultrason. Sonochem.* 12, p. 373– 384, 2005.

ZHANG, Y., YANG, L., ZU, Y., et al. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, vol. 118, p. 652-662. Elsevier. ScienceDirect, 2009.