UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

GERLANE SOUZA DE LIMA

ÓLEO DE SEMENTE DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis f flavicarpa)*: diferentes métodos de extração, composição química, citotoxicidade e atividade antioxidante

Recife

2019

GERLANE SOUZA DE LIMA

ÓLEO DE SEMENTE DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis f flavicarpa)*: diferentes métodos de extração, composição química, citotoxicidade e atividade antioxidante

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Prof. Dra. Thayza Christina Montenegro Stamford

Co-orientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Junior

Recife

2019

Catalogação na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

L732o Lima, Gerlane Souza de.
Óleo de semente de maracujá (Passiflora edulis f flavicarpa): diferentes métodos de extração, composição química, citotoxicidade e atividade antioxidante / Gerlane Souza de Lima. – 2019.
77 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Thayza Christina Montenegro Stamford.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Resíduos. 2. Agroindústria. 3. Oxidação. 4. Ação antioxidante. 5. Biocompatibilidade I. Stamford, Thayza Christina Montenegro (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2019-051)

GERLANE SOUZA DE LIMA

ÓLEO DE SEMENTE DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis f flavicarpa)*: DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CITOTOXICIDADE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Aprovada em: 18 de fevereiro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Tânia Lúcia Montenegro Stamford (Membro Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Luciana de Oliveira Franco (Membro Externo)

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Sarah Romini de Lima Basto (Membro Externo)

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedico este trabalho aos meus pais, Carmem e Sebastião, minha base, minha força.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar todo o caminho percorrido até este momento, pela força para superação dos obstáculos enfrentados e pelas dádivas concedidas.

Aos meus pais, meus irmãos e meu namorado, que percorreram esse caminho comigo, me dando forças nos momentos difíceis, compartilhando as alegrias e as aflições, contribuindo cada um à sua maneira para que tudo culminasse nessa realização.

À professora Thayza Stamford pela orientação, pelo grande aprendizado durante a realização da pesquisa e do estágio de docência, por estar sempre presente com uma alegria e um comprometimento sem igual.

Ao professor Francisco Humberto Xavier Júnior, pela oportunidade de realizar esse trabalho em conjunto, por todo o auxílio desde o projeto à execução da pesquisa.

À professora Fátima Padilha, que além de orientadora e amiga, também plantou em mim a semente dessa pesquisa.

À professora Tânia Stamford pela preocupação constante, pelo espaço disponibilizado em seu laboratório durante toda a pesquisa, pelas contribuições que vão além da execução desse trabalho.

Aos meus amigos da turma de mestrado de 2017, pelas experiências durante esses dois anos, pelos momentos de grande crescimento e de companheirismo. Foi uma oportunidade maravilhosa conhecer e conviver com vocês.

Aos professores Rafael Ximenes e Jaciana Aguiar, pela atenção em ajudar na realização desse trabalho.

Aos mestrandos Raudiney Franklin e Charles Daniel pela paciência e disponibilidade de contribuir com importantes etapas da pesquisa.

Ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), ao LEAAL e ao CETENE pela estrutura disponibilizada e aos técnicos Camilo, Vivaldo, Olívia, Joana e Katarynna pelo suporte para a realização de diversas análises.

À Oriente Polpas de Frutas pela cessão das sementes. Ao CNPq pela concessão da bolsa, à CAPES e a PROPESQ/UFPE pela concessão de financiamento para a execução da pesquisa.

Aos membros da banca pelas contribuições para o desenvolvimento e conclusão dessa dissertação.

À Universidade Federal de Pernambuco, ao Programa de Pós-Graduação em

Nutrição e aos professores do Programa pela oportunidade e pela experiência tão enriquecedora durante esses dois anos.

A todos que compõem a secretaria da Pós-Graduação em Nutrição, principalmente Cecília Arruda e Andrea Nascimento, pelo empenho e atenção constantes.

A todos aqueles que contribuíram direta e indiretamente para que essa conquista fosse alcançada, agradeço de todo coração!

“*Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa ignorância”*

(John F. Kennedy)

“If you are working on something that you really care about, you don’t have to be pushed. The vision pulls you.”

(Steve Jobs)

RESUMO

O maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) apresenta destaque de produção no Brasil, tanto para consumo interno como exportação, cujo aproveitamento industrial gera um acúmulo de cascas e sementes. Estas sementes contêm óleo rico em ácidos graxos essenciais e compostos antioxidantes naturais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química, estabilidade e toxicidade do óleo de semente de maracujá obtido por diferentes métodos de extração. As sementes do maracujá foram cedidas por empresa de polpas de frutas, lavadas, secas e armazenadas a -20ºC. As amostras dos óleos da semente foram extraídas por prensagem a frio, ultrassom, Soxhlet e Extração Acelerada com Solvente (ASE). Foram avaliados os rendimentos de extração do óleo da semente por cada técnica. Os óleos foram caracterizados quanto ao perfil lipídico por cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização de chama (GC-FID) e à estabilidade termo-oxidativa por análise termogravimétrica (TG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Também foram avaliados a atividade antioxidante por inibição do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrihidrazil), ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), FRAP (Potencial antioxidante de redução do ferro), citotoxicidade pelo ensaio do MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-brometo de difenil tetrazólico) e potencial de irritação pelo teste da membrana corioalantóide do ovo de galinha fecundado (HET-CAM) dos óleos extraídos. Os métodos Soxhlet e ASE apresentaram rendimento superior a 24 % com alta concentração de ácidos graxos insaturados, principalmente de ácido linoleico (62,89% - 64,38%). Todos os óleos apresentaram estabilidade térmica até 300ºC com baixa taxa de peroxidação lipídica durante 15 dias. O óleo extraído por ultrassom apresentou alta atividade antioxidante, superior a 80% de inibição do radical DPPH, 6 µmol TE.g^{-1} e 5 µmol $FeSO_4$.g^{-1}. Os óleos foram classificados como não irritantes e não apresentaram citotoxicidade nas concentrações avaliadas. Tomando o conjunto de resultados, foi possível observar que o método de extração influencia as propriedades físico-químicas e bioativas do óleo de semente de maracujá. Além disso, o aproveitamento de resíduos agroindustriais apresenta potencial para aplicação na indústria alimentícia, promovendo maior sustentabilidade de produção e melhoria à saúde humana.

Palavras-chave**:** Resíduos. Agroindústria. Oxidação. Ação antioxidante. Biocompatibilidade.

ABSTRACT

The yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) has a notorious production in Brazil, both in national and international market, whose industrial use generates peel and seeds accumulation. These seeds contain oil with high concentration of essential fatty acids and natural antioxidant compounds. The objective of this research was to evaluate the chemical composition, stability and toxicity of passion fruit seed oil obtained by different extraction methods. The seeds of the passion fruit were ceded by fruit processing company, washed, dried and stored at -20ºC.Samples from the seed oils were extracted by cold pressing, ultrasound, Soxhlet and Accelerated Solvent Extraction (ASE). Seed oil extraction yields were evaluated for each technique. The oils were characterized by lipid profile by gas chromatography coupled to flame ionization detector (GC-FID) and thermo-oxidative stability by thermogravimetric analysis (TG), differential scanning calorimetry (DSC) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Antioxidant activity was also evaluated by inhibition of the DPPH radical (1,1-diphenyl-2-picryhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) and FRAP (Ferric Reduction Antioxidant Potential), cytotoxicity by the MTT (3- [4,5-dimethylthiazol-2-yl] -2,5-diphenyl tetrazole bromide) test and irritation potential by the chorioallantoic membrane test of the fertilized chicken egg (HET-CAM). The Soxhlet and ASE methods presented extraction yields higher than 24%, with high concentration of unsaturated fatty acids, predominantly linoleic acid (62,89% - 64,38%). The four oil samples presented thermal stability up to 300ºC, with low lipidic peroxidation rate for 15 days. The oil obtained by ultrasound presented high antioxidant activity, higher than 80% of DPPH radical inhibition, 6 µmol TE.g^{-1} and 5 µmol $FeSO_4$.g^{-1}. The oils were classified as non-irritating and did not present cytotoxicity in the analyzed concentrations. Taking this set of results, it was possible to observe that the extraction method influences the physicochemical and bioactive properties of passion fruit seed oil. In addition, the use of agroindustrial residues presents a potential for application in the food industry, enhancing production sustainability and improving human health.

Keywords: Waste products. Agribusiness. Oxidation. Antioxidant. Biocompatibility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fruto da espécie *P. Edulis.*	18
Figura 2 –	Metabolismo dos ácidos graxos essenciais.	23
Figura 3 –	Estruturas químicas do piceatannol (a) e da scirpursina b (b).	26
Figura 4 –	Estrutura do tocoferol e do tocotrienol.	27
Figura 5 –	Fluxograma de execução da pesquisa relatando as etapas de execução e os locais de realização das análises.	33
Figura 6 –	Aspecto visual dos óleos de semente de maracujá amarelo obtidos por diferentes métodos: prensagem (a), ultrassom (b), Soxhlet (c) e ASE (d).	46
Figura 7 –	Espectro em infravermelho (FIT) dos óleos de semente de maracujá, obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE, submetidos a estabilidade a curto prazo (dia 1).	52
Figura 8 –	Espectro em infravermelho (FTIR) dos óleos de semente de maracujá, obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE, submetidos a estabilidade a curto prazo (dia 15).	53
Figura 9 –	Curvas termogravimétricas dos óleos de semente de maracujá amarelo obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE.	55
Figura 10 –	Calorimetria exploratória diferencial (DSC) dos óleos de semente de maracujá amarelo obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição centesimal do maracujá amarelo (*Passiflora edulis Sims* f. *flavicarpa*) e seus coprodutos. 21

Tabela 2 – Composição química percentual de óleos de semente de maracujá amarelo (*Passiflora edulis f flavicarpa*), algodão, soja e girassol. 22

Tabela 3 – Composição centesimal de semente de maracujá amarelo. 41

Tabela 4 – Rendimento e percentual de recuperação dos óleos extraídos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE. 42

Tabela 5 – Caracterização físico-química dos óleos de semente de maracujá extraídos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE. 46

Tabela 6 – Perfil de ácidos graxos dos óleos de semente de maracujá extraídos por diferentes métodos: prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE. 49

Tabela 7 – Quantidade total (%) de ácidos graxos saturados, insaturados, monoinsaturados e poli-insaturados, índice p/s1 e proporção do total de ácido oleico/linoleico dos óleos de sementes de maracujá amarelo obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE. 51

Tabela 8 – Atividade antioxidante *in vitro* pelos métodos DPPH, FRAP e ABTS dos óleos de semente de maracujá amarelo obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE. 58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2’-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AOCS	American Oil Chemists’ Society
ASE	Extração Acelerada com Solvente
CG-FID	Cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização de chama
DPPH	1,1-difenil-2-picrihidrazil
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
FRAP	Potencial antioxidante de redução do ferro
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier
MTT	3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-brometo de difenil tetrazólico
OSM-ASE	Óleo de semente de maracujá amarelo obtido por ASE
OSM-P	Óleo de semente de maracujá amarelo obtido por Prensagem
OSM-SOX	Óleo de semente de maracujá amarelo obtido por Soxhlet
OSM-US	Óleo de semente de maracujá amarelo obtido por Ultrassom
PI	Potencial de irritação
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
TE	Trolox Equivalente
TGA	Análise termogravimétrica
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina
TROLOX	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	**15**
2	**REVISÃO DA LITERATURA**	**17**
2.1	O FRUTO MARACUJÁ	17
2.2	APLICAÇÃO INDUSTRIAL DO MARACUJÁ E SEUS COPRODUTOS	18
2.3	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA SEMENTE E DO ÓLEO DA SEMENTE DE MARACUJÁ	20
2.4	BENEFÍCIOS DOS COMPOSTOS ATIVOS	24
2.5	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS	27
3	**HIPÓTESE**	**31**
4	**OBJETIVOS**	**32**
4.1	OBJETIVO GERAL	32
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
5	**MATERIAL E MÉTODOS**	**33**
5.1	OBTENÇÃO DAS SEMENTES DE MARACUJÁ	34
5.2	MÉTODOS	34
5.2.1	**Preparo e caracterização das sementes**	**34**
5.2.2	**Extração do óleo da semente do maracujá**	**34**
5.2.3	**Caracterização dos óleos obtidos da semente de maracujá**	**36**
5.2.4	**Determinação do perfil de ácidos graxos**	**36**
5.2.5	**Estudo da estabilidade oxidativa do óleo de maracujá**	**36**
5.2.6	**Estabilidade térmica do óleo de maracujá**	**37**
5.2.7	**Atividade antioxidante in vitro**	**37**
5.2.7.1	Capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)	**37**
5.2.7.2	Método ABTS (2,2‟-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)	38
5.2.7.3	Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP)	38
5.2.8	**Determinação da citotoxicidade**	**38**
5.2.9	**Determinação do potencial de irritação**	**39**
5.2.10	**Análises estatísticas**	**40**
6	**RESULTADOS E DISCUSSÃO**	**41**
6.1	CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES DO MARACUJÁ	41

6.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DA SEMENTE DO MARACUJÁ..... 42
6.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS..... 45
6.4 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS..... 48
6.5 ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE MARACUJÁ..... 51
6.6 ESTABILIDADE TÉRMICA DO ÓLEO DE MARACUJÁ..... 54
6.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO..... 58
6.8 CITOTOXICIDADE DOS ÓLEOS DE MARACUJÁ..... 61
6.9 POTENCIAL DE IRRITAÇÃO DOS ÓLEOS DE MARACUJÁ..... 62
7 CONCLUSÃO..... 64
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 65
REFERÊNCIAS..... 66

1 INTRODUÇÃO

Maracujá é o nome popular que recebem várias espécies do gênero *Passiflora*. Com grande disseminação por regiões tropicais e subtropicais, cerca de 90% das espécies deste gênero são originárias dessas áreas, apresentando maior foco de distribuição geográfica no centro-norte do Brasil, com mais de 79 espécies identificadas. A qualidade dos frutos faz com que o maracujá azedo ou amarelo (*Passiflora edulis f flavicarpa*) seja o mais cultivado e comercializado no Brasil (CALEVO et al., 2016; HAMEED; COTOS; HADI, 2017; ZERAIK et al., 2010).

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá e o maior exportador de suco concentrado, atividade esta que representa a grande importância econômica do fruto (BARRALES; REZENDE; MARTÍNEZ, 2015). A produção brasileira de maracujá, em 2017, atingiu 554.598 toneladas, das quais 60,9% correspondem à região Nordeste, com registros mais expressivos para Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte. Em Pernambuco, destaca-se também o pólo de produção da região do São Francisco, nos municípios de Juazeiro (BA) e Petrolina (PE) (IBGE, 2017).

O fruto *in natura* do maracujazeiro é composto por casca (50,5%), polpa (29%) e sementes (20,5%), cujo potencial como fonte de ácidos graxos poli-insaturados essenciais na dieta humana reside, em grande parte, no conteúdo de suas sementes, comumente descartadas logo após a extração da polpa (COELHO; AZEVÊDO; UMSZA-GUEZ, 2016). Dessa forma, é de interesse econômico, científico e ecológico buscar alternativas para o aproveitamento deste resíduo.

As sementes de maracujá já apresentam aplicabilidade na produção de óleo destinado tanto à indústria cosmética como à de alimentos, com maior direcionamento para o primeiro setor (BARRALES; REZENDE; MARTÍNEZ, 2015; FERREIRA et al., 2011). Com o aproveitamento integral dos alimentos, ou seja, a introdução de sementes, cascas e talos como matéria-prima na produção de alimentos, além de diminuir o desperdício, propõe-se o aumento do valor nutricional de diversos produtos (LEÃO et al., 2017; MALLEK-AYADI; BAHLOUL; KECHAOU, 2018).

Essas sementes apresentam teor lipídico entre 18,5% e 29,4%, com composição principal dos ácidos linoleico (55-66%), oleico (18-20%) e palmítico (10-14%). Tanto seu percentual de lipídios como sua composição química são

influenciados por fatores climáticos, meio ambiente, local de cultivo, variedade cultivada e condições de plantio (REGIS; RESENDE; ANOTNIASSI, 2015).

Também é importante ressaltar a presença de tocoferóis, carotenoides, compostos fenólicos, substâncias que atuam como indicadoras das aplicabilidades tecnológicas desse óleo (MALACRIDA; JORGE, 2012). Estes compostos, por sua função antioxidante, agem na prevenção do desenvolvimento de aterosclerose e minimizam o risco de mortalidade por doenças cardiovasculares (ORSAVOVA et al., 2015). Autores também observaram que extratos das frutas, folhas e sementes de espécies de *Passiflora* apresentam atividade citotóxica, ação anti-inflamatória e anti-hipertensiva, agindo também na redução do estresse oxidativo a nível celular (CORRÊA et al., 2016; FERREIRA et al., 2011; HAMEED; COTOS; HADI, 2017).

Para se obter óleos a partir de sementes, existem diferentes métodos de extração, a exemplo da prensagem a frio e da extração por Soxhlet, assim como técnicas mais recentes, como o ultrassom (OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013). Cada extração apresenta rendimentos diferenciados e óleos com composições químicas variadas. Com métodos aplicados a temperaturas mais baixas, é possível a obtenção de melhores concentrações de certos grupos de compostos, como ácidos graxos insaturados e fenólicos (FERREIRA et al., 2011). Dessa forma, a aplicação de métodos com baixa variação térmica aumenta o tempo de prateleira e a qualidade geral dos produtos obtidos, tanto do ponto de vista nutricional como da estabilidade e bioatividade de compostos neles presentes (CILLA et al., 2017).

A aplicação da tecnologia, pela indústria, gera mudanças significativas quanto aos riscos ambientais em produções ecologicamente sustentáveis. Como muitos desses riscos derivam do direcionamento dado aos resíduos industriais, faz-se necessário a introdução de uma prática de aproveitamento biotecnológico integral das matérias primas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química, estabilidade e toxicidade do óleo fixo de semente de maracujá obtido por diferentes métodos de extração.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O FRUTO MARACUJÁ

A Família Passifloraceae, composta por mais de 500 espécies, tem no gênero *Passiflora* seu maior destaque, tanto em relação ao número de espécies agregadas, quanto à sua importância econômica. Sua distribuição geográfica é concentrada em regiões tropicais, sendo também observada em países como China, Austrália, Índia e ilhas do Pacífico. No Brasil, podem ser encontradas mais de 120 espécies, das quais cerca de 50% apresentam potencial de aproveitamento comercial (CERQUEIRA-SILVA et al., 2014; CORRÊA et al., 2016; HAMEED; COTOS; HADI, 2017).

De todas as espécies catalogadas, três se destacam entre as mais cultivadas: o maracujá-amarelo (*P. edulis* f *flavicarpa*), o maracujá-roxo (*Passiflora edulis*) e o maracujá-doce (*Passiflora alata*). Destes, o maracujá-amarelo se sobressai em sua aplicação comercial, correspondendo a 95% dos pomares brasileiros, por apresentar maior tamanho do fruto, maior proporção entre pesos da polpa e do fruto, teor de caroteno, acidez total, resistência a pragas e maior produtividade (ANDRADE et al., 2015; COELHO; AZEVÊDO; UMSZA-GUEZ, 2016; ZERAIK et al., 2010).

O Brasil já se destaca no cultivo do maracujá desde a década de 1970. Nos anos seguintes, países como Colômbia, Equador, Austrália, África do Sul também se mostraram grandes produtores mundiais. Juntamente com Colômbia, Peru e Equador, o Brasil se mantém nesse grupo, ocupando a posição de maior produtor, concentrando 60% da produção mundial, como também a de maior consumidor da fruta, tanto *in natura*, quanto seus derivados (polpas concentradas, sucos, néctares, doces) (COELHO; AZEVÊDO; UMSZA-GUEZ, 2016; CORRÊA et al., 2016).

A cultura do maracujazeiro produz frutos por períodos de um a três anos, podendo sofrer redução pela ocorrência de epidemias causadas pelo PWV (Passion fruit Woodeness Virus), vírus transmitido por pulgões, que deixa os frutos menores, deformados e endurecidos (ZERAIK et al., 2010). Os frutos do maracujazeiro apresentam desenvolvimento completo em 18 dias e, com a abertura da flor, observa-se um amadurecimento dos frutos num período de 80 dias. Comumente, apresenta

formato ovoide, podendo também ser alongado (Figura 1). De casca amarela e fina, com múltiplas sementes, tem peso variando entre 70 e 130 g, dos quais cerca de 30% correspondem a uma polpa gelatinosa de sabor ácido e aroma intenso. O maracujá é rico em vitamina A, ácido ascórbico, tiamina, niacina, riboflavina, cálcio, fósforo (LOPEZ-VARGAS et al., 2013).

Figura 1 - Fruto da espécie *P. edulis f flavicarpa*

Fonte: (CÔRREA et al., 2016).

Em relação à toxicidade do maracujá, avalia-se, principalmente, a presença de glicosídeos cianogênicos, cuja hidrólise produz ácido cianídrico. Dentre os mais descritos, estão os que apresentam anéis de cinco membros, como a prunasina, encontrados em folhas e frutos de espécies de *Passiflora* edulis, mas não em suas sementes (ZERAIK et al., 2010).

2.2 APLICAÇÃO INDUSTRIAL DO MARACUJÁ E SEUS COPRODUTOS

Embora consumido *in natura*, o maracujá tem sua produção mais voltada para processamento na fabricação de polpas concentradas, sucos, doces. Esses produtos, voltados tanto para mercado interno como para exportação, vêm como meio de possibilitar o consumo do fruto a longo prazo e o escoamento da produção, sem a onerosidade da comercialização de um fruto fresco. Dentre tais produtos, o suco concentrado é o mais exportado, com cerca de 76% da produção direcionada para

Holanda, Estados Unidos, Porto Rico, Japão e Alemanha (COELHO; AZEVÊDO; UMSZA-GUEZ, 2016).

Essa produção culmina na geração de grandes quantidades de resíduos, ou seja, partes da matéria-prima não utilizadas no processamento, representando um grande entrave da indústria alimentícia. Especificamente para produção de sucos e polpas, os resíduos são compostos de cascas e sementes, comumente redirecionados para ração animal ou simplesmente descartados. Entretanto, por serem ricos em nutrientes, estes resíduos podem ser aprimorados e introduzidos na dieta humana (CORRÊA et al., 2016; PANTOJA-CHAMORRO; HURTADO-BENAVIDES; MARTINEZ-CORREA, 2017; SILVA; JORGE, 2014).

As cascas e sementes correspondem entre 65% e 75% do peso total do maracujá (COELHO; AZEVÊDO; UMSZA-GUEZ, 2016; SILVA et al., 2015). Esse percentual, quando aplicado sobre as toneladas de maracujá processados na indústria, reflete a grande geração de resíduos desse segmento. A utilização destes resíduos na alimentação se mostra como alternativa para diminuir esse acúmulo, além de reduzir os custos (ZERAIK et al., 2010).

Com base na produção do ano de 2010, Regis, Resende e Antoniassi (2015) apresentaram uma simulação do rendimento de sementes e de sua utilização para a extração de óleo. Seguindo as mesmas proporções apresentadas pelos autores, com base na produtividade do ano de 2017 (IBGE, 2017), uma produção de 555 mil toneladas de maracujá, com 40% desse valor direcionado à indústria e as sementes correspondendo a 4,23% da fruta. Nessa situação seriam obtidas mais de 9,39 toneladas de sementes que, a um rendimento de 24%, produziriam mais de 2,25 toneladas de óleo. Esses números mostram o quanto tais resíduos podem ser aproveitados e ter bastante valor agregado.

Para a utilização das sementes, faz-se necessário que haja um processamento rápido, na própria indústria, para evitar danos à semente e à qualidade do óleo. A presença das arilas, presas às sementes, promove a fermentação e aumenta a umidade desse resíduo, acelerando processos enzimáticos de lipases, responsáveis pela hidrólise dos triglicerídeos do óleo. Dessa forma, a ação mais indicada seria a lavagem das sementes, para retirada das arilas e secagem subsequente, a fim de preservar tais compostos (REGIS; RESENDE; ANTONIASSI, 2015).

A presença de bioativos, como ácidos graxos, fitoesteróis, tocoferóis, compostos fenólicos e carotenoides em óleos de sementes de frutas permite que

esses resíduos industriais sejam transformados em fontes alternativas de óleos com propriedades funcionais, tendo associado ao seu consumo a diminuição de risco de doenças (SILVA; JORGE, 2014). Além disso, a presença de compostos fenólicos já foi detectada em maiores concentrações nesses resíduos do que nas partes comestíveis dos frutos, caracterizando esses resíduos como fontes de aditivos alimentares naturais, contribuindo para a conservação dos alimentos (CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011; BANERJEE et al, 2017).

Como visto, cascas e sementes, apesar de descartados na indústria, podem ser fonte de diversas substâncias – fibras, antioxidantes, ácidos graxos essenciais, minerais –, justificando o interesse crescente de maximizar o uso de resíduos agroindustriais, com redirecionamento para diversos setores, incluindo o alimentício. A transformação desses resíduos industriais em importantes ingredientes pode direcioná-los tanto para indústria como para consumo direto pela população, devido às suas propriedades tecnológicas, nutricionais e funcionais (LAI et al., 2017).

A utilização dessas partes não usualmente consumidas das plantas, como fonte energética, incentiva o aproveitamento integral de alimentos. Essa prática reduz significativamente o desperdício de produtos, sendo também um método alternativo de diminuir a insegurança alimentar. Dessa forma, o estudo de suas características e comportamento sob determinadas situações permite o melhor direcionamento desses resíduos na indústria, tanto para processamento como para aplicação direta (RAMPAZZO, 2015).

2.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA SEMENTE E DO ÓLEO DA SEMENTE DE MARACUJÁ

As sementes do maracujá mostram-se como fonte de lipídios, carboidratos (ramnose, fucose, arabinose, xilose, manose, galactose, glicose não celulósica, glucose celulósica, ácido urônico), proteínas, fibras insolúveis e minerais. Seu teor de ácidos graxos o classifica como boa fonte alimentar, apresentando ácido linoleico como um dos principais ácidos graxos do seu óleo (cerca de 55-66%), seguido pelo ácido oleico (18-20%), ácido palmítico (10-14%) e ácido linolênico (0,8-1%) (LIU et al.,

2008; ZERAIK et al., 2010). A composição de diferentes partes do maracujá pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição centesimal do maracujá amarelo (*Passiflora edulis Sims* f. *flavicarpa*) e seus coprodutos

Componentes	Polpa	Farinha da casca	Semente
Umidade (g)	85,62	7,42	10,8
Energia (Kcal)	51	122,95	398,04
Proteínas (g)	0,39	8,87	10,8
Lipídios (g)	0,05	3,39	23,4
Carboidratos (g)	13,60	14,24	36,06
Fibras totais (g)	0,2	60,08	17,48
Cinzas (g)	0,34	6,00	1,46

Fonte: Adaptado de Corrêa et al. (2016).

No decorrer dos anos, o óleo de semente de maracujá vem sendo obtido de diferentes métodos de extração, com ou sem a aplicação de solventes, apresentando rendimento variável, entre 16,7% a 33,5% (ANDRADE et al., 2015; LIU et al., 2008; MALACRIDA; JORGE, 2012; PANTOJA-CHAMORRO; HURTADO-BENAVIDES; MARTINEZ-CORREA, 2017). O óleo de semente de maracujá apresenta qualidade equivalente a outros óleos comestíveis, como milho, soja e girassol, podendo assim ser considerado um óleo comestível de alta qualidade, por apresentar teor de ácidos graxos poli-insaturados superior a 50% (AYYILDIZ et al., 2015), como apresentado na Tabela 2.

Ácidos graxos poli-insaturados, como os das famílias dos ω-6 e ω-3, são relacionados a diversas funções, em diferentes fases da vida humana. Os ácidos linoleico e α-linolênico, pertencem aos grupos ω-6 e ω-3, respectivamente, e agem no desenvolvimento dos sistemas nervoso e imunológico, por regulação de expressão

gênica (AYYILDIZ et al., 2015). Considerados essenciais, os ácidos graxos poli-insaturados dos grupos mencionados devem ser obtidos por dieta, visto que o organismo humano não os sintetiza, obtendo estes nutrientes a partir de peixes e óleos vegetais, como de semente de linhaça, soja, canola, girassol. Esses compostos apresentam efeito hipocolesterolêmicos, reduzindo os níveis séricos de LDL-colesterol e a síntese de VLDL (lipoproteínas de densidade muito baixa) no fígado, e auxiliando na excreção biliar e fecal do colesterol (RAMPAZZO, 2015).

Tabela 2 – Composição química percentual de óleos de semente de maracujá amarelo (*Passiflora edulis f flavicarpa*), algodão soja e girassol.

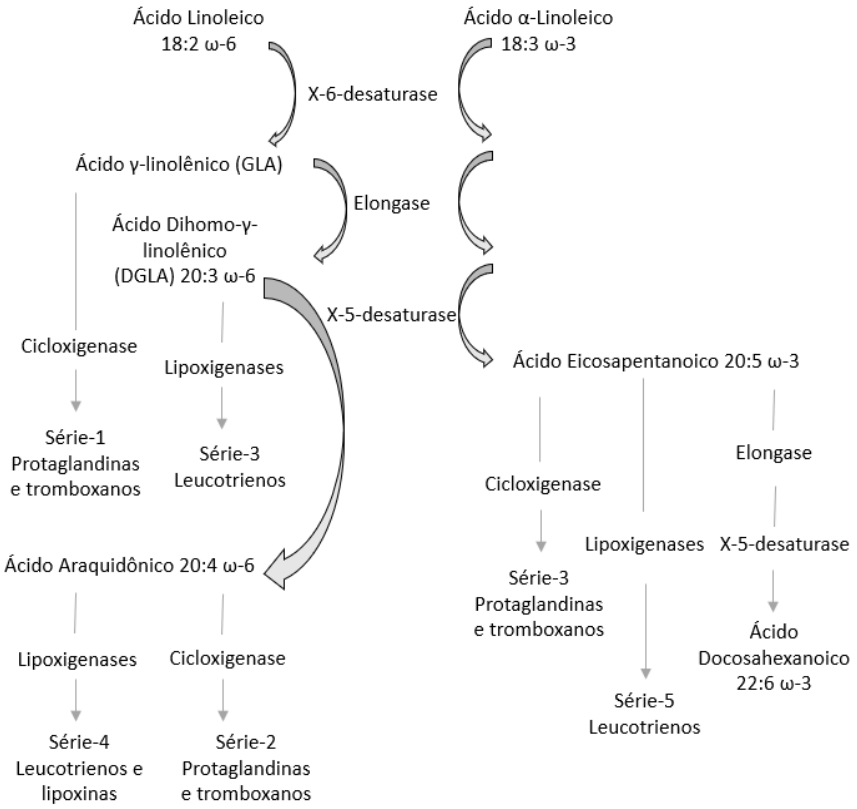
Composição	Óleo de semente de maracujá[1]	Óleo de Milho[2]	Óleo de Soja[2]	Óleo de Girassol[2]
Ácido palmítico (C16:0)	9.73 ± 0.01	11.28 ± 0.72	11.35 ± 0.56	6.68 ± 0.23
Ácido esteárico (C18:0)	2.58 ± 0.01	2.91 ± 0.22	4.74 ± 0.45	5.13 ± 0.51
Ácido oleico (C18:1)	13.83 ± 0.04	26.61 ± 0.51	23.3 ± 0.37	26.65 ± 0.46
Ácido linoleico (C18:2)	73.14 ± 0.05	53.93 ± 0.47	51.23 ± 0.30	58.52 ± 0.35
Ácido linolênico (C18:3)	0.41 ± 0.00	2.21 ± 0.10	5.58 ± 0.12	0.17 ± 0.01

Fonte: (MALACRIDA; JORGE, 2012)[1]; (AYYILDIZ et al., 2015)[2]

A nível celular, a concentração de ω-6 e ω-3 estabelece uma relação de 1:1,5, em condições homeostáticas ideais, muito embora essas concentrações dependam da ingestão alimentar. Através de ação enzimática, esses ácidos são metabolizados em outros, como o EPA (ácido eicopentaenóico) e o DHA (ácido docosa-hexaenóico), também desempenhando papel de substrato para a síntese de eicosanoides, mediadores inflamatórios de origem lipídica, como leucotrienos, prostaglandinas e lipoxinas (Figura 2). O aumento da ingestão diária destes ácidos graxos se reflete na prevenção de doenças crônicas como lúpus, diabetes, psoríase, obesidade, doenças de Crohn e Alzheimer, artrite reumatoide, fibrose cística e esclerose múltipla. Quando

presentes em níveis adequados no sangue, essas substâncias também implicam menores riscos de eventos cardiovasculares adversos, como o acidente vascular cerebral e a morte súbita (BELAYNEH et al., 2015; HUERTA-YÉPEZ, S.; TIRADO-RODRIGUEZ, A. B.; HANKINSON, O., 2016).

Figura 2 – Metabolismo dos ácidos graxos essenciais



Fonte: (HUERTA-YÉPEZ, S.; TIRADO-RODRIGUEZ, A. B.; HANKINSON, O., 2016).

Pesquisas com sementes de maracujá também contribuíram para detectar a presença de fitoesteróis (campesterol, estigmasterol, β-sitosterol e δ-5 avenasterol) e tocoferóis (α-tocoferol, β-tocoferol, γ-tocoferol e δ-tocoferol) (PIOMBO et al., 2006).

Mesmo não sendo tão empregado na alimentação, como, por exemplo, os óleos de soja, milho ou girassol, o óleo de semente de maracujá, a partir dos relatos da literatura, apresenta composição e comportamento térmico semelhante aos citados (RAMPAZZO, 2015).

Em relação à identificação de óleos vegetais e à determinação de características mínimas de qualidade, a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n° 270 (BRASIL, 2005) versa sobre os parâmetros de acidez inferiores a 4,0 mg KOH/g e de índice de peróxido inferior a 15 meq/Kg para óleos prensados a frio e não refinados, seguindo os padrões determinados pelo Codex Alimentarius.

2.4 BENEFÍCIOS DOS COMPOSTOS ATIVOS

Os compostos bioativos são metabólitos secundários, principalmente de origem vegetal, que geram respostas fisiológicas, podendo fazer parte dos macronutrientes (lipídios, proteínas, peptídeos bioativos), micronutrientes (vitaminas e minerais), antioxidantes, fibras (PEREZ-GREGORIO, R.; SIMAL-GANDARA, J., 2017).

O consumo de frutas e vegetais, fontes de ácido ascórbico, tocoferóis, carotenoides e flavonoides possibilita a obtenção de compostos antioxidantes, atuantes na redução de lesões no DNA, de oxidação lipídica, de riscos do desenvolvimento de doenças cardiovasculares e neurológicas, assim como hipertensão, câncer (próstata, mama, cólon) (PEREZ-GREGORIO, R.; SIMAL-GANDARA, J., 2017; PERTUZATTI et al., 2015). Sabe-se que frutas tropicais são importantes fontes de compostos bioativos, substâncias que podem ser detectadas em seus coprodutos, até mesmo em concentrações superiores às de partes usualmente comestíveis. Assim, observa-se a constante busca por novas tecnologias e aplicações para tais produtos (CORRÊA et al., 2016; LEÃO et al., 2017).

Pesquisas anteriores apontam a semente de maracujá como potencial alimento funcional, devido à sua ação antioxidante e antibacteriana, representada pelos ácidos graxos, polifenóis – principalmente flavonoides –, carotenoides, fitoesteróis e tocoferóis. Entretanto, apesar de seu potencial, ainda é frequente seu descarte pelas indústrias (CALEVO et al., 2016; FERREIRA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2016; SILVA; JORGE, 2014).

Os ácidos linolêico e linolênico, como dito anteriormente, participam da síntese de mediadores lipídicos. Estes compostos atuam em diversas respostas fisiológicas, como inflamação, imunidade, coagulação, contração muscular. A ingestão desses ácidos graxos essenciais está relacionada com a diminuição do risco de doenças

crônicas não transmissíveis, como doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes, câncer. Atuam na manutenção das membranas celulares, em funções cerebrais e na transmissão de impulsos nervosos. Assim como seu óleo, o farelo desengordurado da semente apresenta relevante teor de proteínas e fibras, sendo estas atuantes na redução dos níveis de triglicerídeos, colesterol total e no fígado e aumento de lipídeos e de ácido biliares nas fezes, indicando sua propriedade hipocolesterolêmica na alimentação humana (HUERTA-YÉPEZ, S.; TIRADO-RODRIGUEZ, A. B.; HANKINSON, O., 2016; LIU et al., 2008; ZERAIK et al., 2010).

A literatura mostra que compostos fenólicos apresentam atividade antioxidante superior a outras substâncias, tais como o ácido ascórbico, e que uma combinação de antioxidantes com propriedades químicas diferentes é capaz de agir de forma sinérgica na proteção de danos a nível celular (CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011). Além da ação antioxidante, os extratos das sementes de maracujá também apresentam atividade citotóxica pela ação de carotenoides, polifenóis e tocoferóis (FERREIRA et al., 2011). Devido à presença desses compostos, os extratos das sementes são empregados pelos seus efeitos terapêuticos na redução de inflamações e do estresse oxidativo (CORRÊA et al., 2016).

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis de cor amarelo avermelhada, produzidos por plantas, algas, fungos e algumas bactérias. Podem ser classificados em carotenoides pró- vitamina A (α-caroteno, β-caroteno, β-criptoxantina) ou xantofilas (licopeno, luteína, zeaxantina). Os carotenoides, principalmente licopeno, luteína, astaxantina e beta caroteno, tem como principal efeito a atividade antioxidante (CICERO; COLLETTI, 2017). Em pesquisa de Silva e Jorge (2014), foram detectadas concentrações de 6,70 µg de β-caroteno/g de óleo de semente de maracujá amarelo.

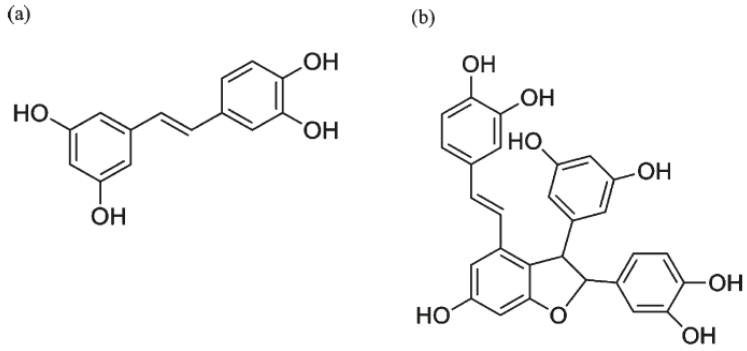
Dentre estes, já foram identificados no maracujá amarelo: ζ-caroteno, fitoeno, fitoflueno, neurosporeno, β-caroteno, licopeno, pró-licopeno, monoepóxi-β-caroteno, β-criptoxantina, β-citraurina, anteraxantina, violaxantina e neoxantina. O β-caroteno se sobressai por sua ação antioxidante se relaciona com a prevenção do câncer, catarata, arteriosclerose e processos de envelhecimento em geral (ZERAIK et al., 2010).

Os flavonoides, um subgrupo dos compostos fenólicos, consistem em estruturas de 15 carbonos, com dois anéis aromáticos ligados a uma cadeia carbônica (C6-C3-C6). Podem ser classificados em flavonóis, flavonas, flavanóis, flavononóis,

isoflavonas, flavanonas. (SAMYOR; DAS; DEKA, 2017). Atuam como sequestrantes de oxigênio e nitrogênio reativos, como também compostos clorados, e diminuem a ação pró-oxidante de íons metálicos. São classificados como agentes anti-inflamatórios pois reduzem a oxidação de LDL (lipoproteína de baixa densidade), diminuindo sua agregação e acúmulo no endotélio vascular (FARAHMANDFAR et al., 2018; PEREZ-GREGORIO, R.; SIMAL-GANDARA, J., 2017).

Segundo Matsui et al. (2010) e SANO et al. (2011), as sementes do maracujá apresentam elevadas quantidades de piceatannol (3,4,3',5' -tetrahidroxi-trans-estilbeno) (Figura 3a), composto fenólico relacionado com a inibição de melanogênese e o aumento de colágeno solúvel total, em culturas de fibroblastos. Outra substância, também encontrada em sementes de maracujá, é o scirpusina B (Figura 3b), um dímero do piceatannol, com função antioxidante e vasodilatadora.

Figura 3 – Estruturas químicas do piceatannol (a) e da scirpursina B (b)

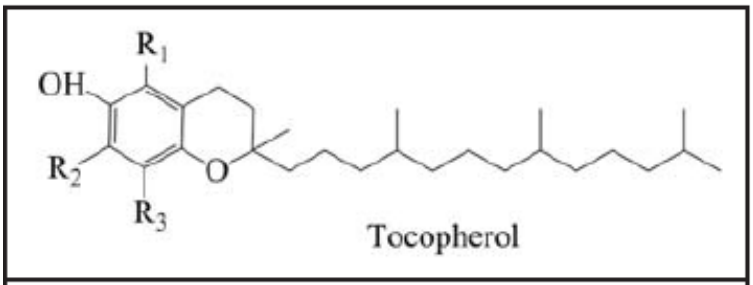


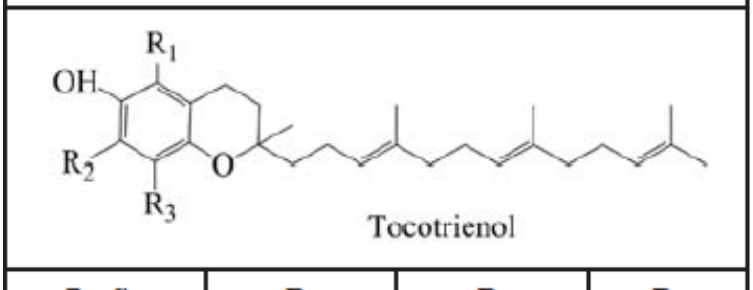
Fonte: (SANO et al., 2011).

Os tocoferóis, juntamente com os tocotrienóis, compõem a vitamina E. São compostos monofenólicos, constituídos de um núcleo básico de dois anéis, um fenólico e outro heterocíclico, ligados a uma cadeia lateral saturada formada por 16 carbonos (MUNTEANU; ZINGG; AZZI, 2004). Cada grupo apresenta quatro isômeros – α-, β-, γ- e δ- (alfa, beta, gama e delta) – com variações quanto ao número de ligantes e a localização dos mesmos no anel cromanol (Figura 4) (VIGANÓ; MARTINEZ, 2015). Há estudos que apontem o α-tocoferol como melhor antioxidante; enquanto pesquisas in vitro classifiquem os tocotrienóis com atividade mais significativa. Em pesquisa de Malacrida e Jorge (2012), o teor de tocoferóis totais do

óleo de semente de maracujá amarelo (P. edulis f. flavicarpa) foi de 50 mg.100g-1, com concentração de β-, γ- e δ-tocoferol de 5,4; 16,7 e 27,9 mg.100g-1, respectivamente.

Figura 4 – Estrutura do tocoferol e do tocotrienol





Prefix	R_1	R_2	R_3
α-	CH_3	CH_3	CH_3
β-	CH_3	H	CH_3
γ-	H	CH_3	CH_3
δ-	H	H	CH_3

Fonte: (CALEVO et al, 2016).

2.5 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS

Dentre os diversos métodos convencionais de extração de óleo a partir de sementes, tem-se a prensagem a frio e a extração por Soxhlet. Como técnicas mais recentes, tem-se as extrações assistidas por ultrassom, com líquidos pressurizados. Suas diferenças quanto às condições de execução se refletem tanto no rendimento de extração como nas concentrações dos compostos encontrados nos óleos (CASTEJÓN; LUNA; SEÑORÁNS, 2018; FERREIRA et al., 2011; OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013).

Dentre os principais fatores a se considerar na escolha do método mais apropriado de extração de óleo, podem ser relacionados: o rendimento, a qualidade do óleo, o resíduo sólido e pré-tratamentos da matéria prima. Em conjunto aos critérios apresentados, também são avaliados o objetivo de aplicação e as características do óleo (SAMPAIO NETO; BATISTA; DE ALMEIDA MEIRELLES, 2018).

A prensagem, método bastante vantajoso do ponto de vista ambiental por não requerer solventes, além de ser de baixo custo e não gerar degradação térmica dos compostos dos óleos. Entretanto, têm como desvantagens a perda de compostos bioativos e redução da vida de prateleira dos óleos, devido à exposição a luz e oxigênio, além do baixo rendimento de extração (OLIVEIRA et al., 2016; SODEIFIAN; SAJADIAN; ARDESTANI, 2017).

O ultrassom é uma técnica empregada na indústria para o incremento de taxa de transferência de massa em diversos processos (CORRALES et al., 2008). A extração por ultrassom consiste na contínua transmissão de ondas de frequência entre 20kHz e 10 MHZ que, ao se propagarem em um meio elástico (líquido), promove uma constante pressão e descompressão da amostra, com formação de bolhas que crescem e se rompem, fenômeno chamado de cavitação. Quando essa ruptura ocorre próximo a superfícies sólidas, gera um rápido jato de fluido capaz de quebrar ligações das substâncias dessa superfície, liberando moléculas do material. Essa extração, comparada a uma filtração, facilita a liberação dos compostos. (BARRALES; REZENDE; MARTÍNEZ, 2015; OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013).

O uso de ultrassom é uma técnica alternativa, que proporciona menores períodos de extração, melhor qualidade de extratos, assim como perigos físicos e químicos inferiores (CHEMAT et al., 2017). Embora permita uma extração mais rápida, com concentrações de solventes e temperaturas mais baixas, caso se realize uma adição de co-solventes, para modificação da polaridade do meio, impossibilita-se o reaproveitamento do produto, além de requerer filtração após a extração, ocasionando uma possível perda do extrato ou contaminações por manipulação (LUQUE-GARCÍA; DE CASTRO, 2003; OLIVEIRA et al., 2016).

A extração por Soxhlet é um método convencional de obtenção de lipídios com utilização de solventes, no qual a amostra é imersa no solvente em ciclos intermitentes, devido às etapas de sifonagens e condensação do solvente aquecido no aparelho. Como solvente, comumente utiliza-se hexano, que por ser um composto apolar e apresentar bom rendimento de extração, também é empregado pela indústria

alimentícia para a obtenção de óleos vegetais. Em contrapartida, essa substância vem sendo submetida à comercialização controlada pelo governo, devido à sua toxicidade (CITEAU et al., 2018; REZIG et al., 2018; RIPKE; PALEZI; NOBRE, 2016). Assim, com a perspectiva do uso de solventes menos impactantes ao meio ambiente, outros solventes vêm sendo introduzidos no processo de extração de óleos, como acetona, etanol e isopropanol (BARRALES; REZENDE; MARTÍNEZ, 2015; CASTEJÓN; LUNA; SEÑORÁNS, 2018; OLIVEIRA; BARROS; GIMENES, 2013). Embora seja bastante difundido, o uso de solventes na extração de óleos pode requerer temperaturas elevadas e longos períodos de processo, com baixa seletividade de compostos. Também gera perda de compostos voláteis durante a evaporação do solvente, podendo esta não ser completa, deixando resíduos no extrato, além promover impacto ambiental negativo. O hexano aplicado na extração de óleos vegetais, por exemplo, além dos altos custos de aquisição, gera a liberação de mais de 20.000 toneladas do solvente na atmosfera, anualmente (DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010; MARTIN; SKINNER; MARRIOTT, 2015; OLIVEIRA et al., 2016; PANTOJA-CHAMORRO; HURTADO-BENAVIDES; MARTINEZ-CORREA, 2017; SODEIFIAN; SAJADIAN; ARDESTANI, 2017).

A extração acelerada com solventes (ASE), ou extração com líquido pressurizado (PLE), é uma técnica automatizada pela qual as amostras, mantidas em celas de aço inoxidável, são submetidas a pressões mais altas, permitindo uma maior eficiência, visto que há um aumento na difusão dos solventes pelos poros da matriz e, assim, carreando seus extratos (AHMAD et al., 2018). Mostra-se como alternativa ao método de Soxhlet, pois mesmo se utilizando de solventes para a obtenção dos extratos, esse processo é realizado sob pressão, com redução do tempo de processamento. Essa técnica permite o emprego de temperaturas mais baixas, assim, preservando compostos termossensíveis e a qualidade do produto obtido (BARRALES et al., 2015; CASTEJÓN; LUNA; SEÑORÁNS, 2018; CORRALES et al., 2008).

De forma semelhante ao ultrassom, o ASE requer menores quantidades de solvente. Apresenta, como diferencial, a possibilidade de extração de várias amostras. É um método mais seguro de extração, pois reduz o contato com solventes, além de apresentar rendimentos similares aos de técnicas convencionais de extração (AHMAD et al., 2018).

Trabalhos anteriores mostram a interferência do método de extração quanto à composição de bioativos dos produtos. Óleos prensados a frio, uma extração sem aplicação de calor, apresentam maiores concentrações de compostos antioxidantes, quando comparadas à extração por Soxhlet. Em contrapartida, substâncias com menores polaridades, como os carotenoides, apresentam maiores concentrações nos óleos, quando a extração é realizada com solventes orgânicos (BANERJEE et al, 2017; FERREIRA et al., 2011).

3 HIPÓTESE

Métodos ecosustentáveis de extração de óleo de semente de maracujá apresentam rendimento semelhante aos apresentados por processos convencionais, demonstrando melhores características quanto à estabilidade térmica, à composição de ácidos graxos e às propriedades funcionais do óleo, principalmente à atividade antioxidante, devido à ausência de utilização de solventes e ao uso de temperatura mais branda no processo de extração. Com base nesses fatos, este trabalho buscou estabelecer uma comparação entre métodos convencionais e não convencionais de extração de óleo de sementes

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a influência de diferentes métodos de extração do óleo da semente do maracujá quanto às suas características físico-químicas, estabilidade e bioatividade.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a composição centesimal da semente do maracujá;

Realizar a extração do óleo fixo da semente do maracujá por diferentes técnicas;

Determinar as características físico-químicas e o perfil de ácidos graxos dos óleos extraídos;

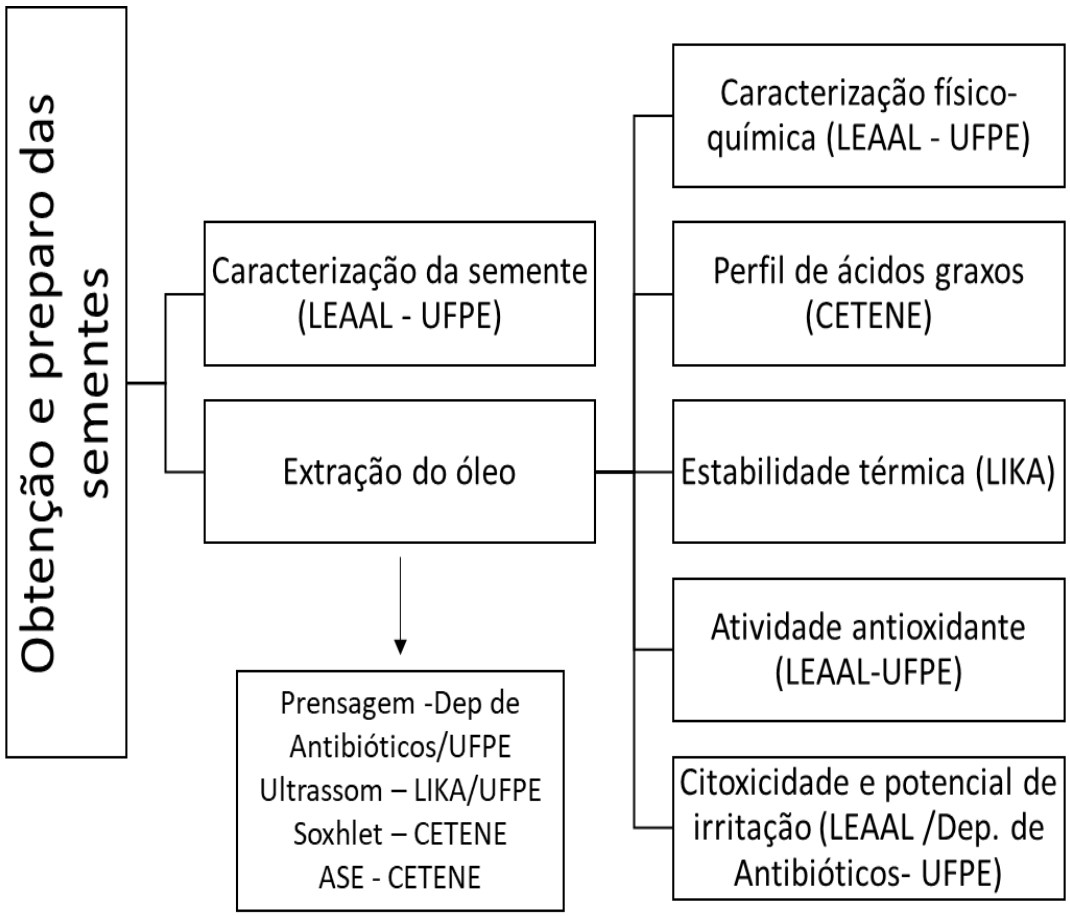
Analisar a estabilidade térmica e oxidativa desses óleos de semente de maracujá;

Determinar a atividade antioxidante, a citotoxicidade e o potencial de irritação dos óleos de semente de maracujá extraídos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

As etapas de execução da pesquisa, juntamente com os locais de realização das análises estão demonstradas na Figura 5.

Figura 5 – Fluxograma de execução da pesquisa relatando as etapas de execução e os locais de realização das análises.



Fonte: (AUTOR, 2018).

5.1. OBTENÇÃO DAS SEMENTES DE MARACUJÁ

As sementes do maracujá amarelo (*Passiflora edulis Sims f flavicarpa*) foram obtidas a partir de doações da empresa de polpas de frutas Oriente Polpas, localizada na Região Metropolitana do Recife. A obtenção das amostras ocorreu no mês de março, sendo processadas logo em seguida ao momento da coleta.

5.2. MÉTODOS

5.2.1 Preparo e caracterização das sementes

As sementes foram lavadas em água corrente por 5 minutos, seguida de higienização com solução de hipoclorito de sódio (1% v/v), por 15 minutos, e de uma segunda lavagem com água corrente. Em seguida, as sementes foram secas a 40°C durante 12 horas em estufa de circulação de ar (FERREIRA et al., 2011), resfriadas à temperatura ambiente em dessecador e armazenadas em sacos de polietileno a vácuo a -20°C para posterior extração do óleo (REGIS; RESENDE; ANOTNIASSI, 2015).

As sementes foram analisadas quanto à sua composição centesimal – umidade, cinzas, lipídios, proteínas, fibras totais –, através de dessecação a 105°C, incineração, obtenção do extrato etéreo em aparelho tipo Soxhlet, processo de digestão Kjeldahl e método enzimático-gravimétrico, respectivamente (AOAC, 2012). Os carboidratos totais foram determinados pelo resultado da diferença entre 100 e a soma dos parâmetros umidade, cinzas, lipídios, proteínas e fibras.

5.2.2 Extração do óleo da semente do maracujá

A extração do óleo foi realizada através dos seguintes métodos: prensagem a frio, ultrassom, Soxhlet e extração acelerada com solventes (ASE). Previamente às extrações, com exceção da prensagem, as sementes foram trituradas em Moinho Analítico Básico (IKA®, A 11, Alemanha).

A prensagem a frio foi realizada em prensa manual Piteba, com processamento de 600 g de sementes. Seguida à extração, a amostra foi centrifugada (Hettich, Rotina 420R, Reino Unido), durante 15 minutos a 4000 rpm, para separação dos materiais resinosos sólidos.

A extração por ultrassom seguiu a metodologia apresentada por Oliveira et al. (2016), com modificações. Foram utilizadas 600 gramas de sementes trituradas. Em erlenmeyrs, porções das sementes foram adicionadas ao solvente (etanol), numa proporção de 1:5 e mantidos em banho ultrassônico USC 2800 (Thornton, Vinhedo, Brasil), a temperatura de 40°C, em frequência de 55 Hz, por 60 minutos, com posterior rotaevaporação do solvente (IKA®, RV 10, Alemanha) e centrifugação (Hettich, Rotina 420R, Reino Unido), para separação do óleo.

A extração por Soxhlet foi realizada com n-hexano, segundo Ramadan; Nader; Ibrahim (2018), com alterações. Em suma, aproximadamente 28g da amostra seca foram adicionadas aos cartuchos de extração. Estes foram acondicionados em aparelho Soxhlet acoplado a um balão de fundo chato, contendo 235 mL de *n*-hexano e dispostos em chapa aquecedora, na qual foram mantidos por 8 horas, a temperatura 60°C. A temperatura foi controlada por sistema de resfriamento com circulação de água durante toda a extração. Após esse período, o balão com o material extraído foi evaporado em evaporador rotatório (IKA®, RV 10, Alemanha), a 40°C, sob pressão reduzida. O óleo obtido foi mantido em dessecador à temperatura ambiente (± 20°C) até a evaporação completa dos resíduos de solvente.

A extração por ASE se baseou em Castejón; Luna; Señoráns (2018), com modificações. Resumidamente, foi realizada em extrator ASE 350 DIONEX (Sunnyvale, Califórnia), com a adição de 30g da amostra a celas de aço inoxidável (100mL), posteriormente preenchidas com hexano. A extração foi realizada por 20 minutos, à 40ºC, com utilização de uma corrente de gás nitrogênio para a recuperação do extrato. O solvente foi removido em evaporador rotativo (IKA®, RV 10, Alemanha) à 40 °C.

Todos os óleos obtidos foram mantidos em frascos âmbar rosqueados a -20°C até o momento das análises. As extrações foram realizadas em triplicata. O rendimento de óleo obtido por cada método foi calculado pela relação entre a massa de extrato obtido pela massa de sementes secas utilizadas no processo, sendo expresso em porcentagem.

5.2.3 Caracterização dos óleos obtidos da semente de maracujá

O índice de refração foi medido com uso de refratômetro de bancada, à 40°C. Os índices de acidez e peróxidos dos óleos obtidos foram quantificados por titulação com NaOH a 0,1 M e com tiossulfato de potássio a 0,1 N, respectivamente (AOCS, 2009). O índice de iodo (IV) foi quantificado a partir da composição de ácidos (AOCS, 2009), através da equação (1).

Equação 1: IV (g I_2/100g) = (% ác. Palmitoleico x 0,950) + (% ác. Oleico x 0,860) + (% ác. Linoleico x 1,732) + (% ác. Linolênico x 2,616)

5.2.4 Determinação do perfil de ácidos graxos

Os óleos extraídos das sementes tiveram suas composições determinadas através de cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização de chama (CG-FID – Agilent Technology 7890, Estados Unidos), segundo Bravi et al. (2017). Previamente, foram preparados ésteres metílicos de ácidos graxos, a partir de 25 mg da amostra, com adição de 0,5 mL de solução de hidróxido de potássio em metanol (0,5 mol/L), seguido de agitação por 2 minutos. Logo após, foram adicionados 2 mL de n-hexano P.A., sendo novamente agitado por 2 minutos. A amostra foi centrifugada (Hettich, Rotina 420R, Reino Unido), por 6 minutos a 4500 rpm, a 25°C. O sobrenadante foi filtrado em filtro PTFE (0,22 µM) e posteriormente separado e analisado sob as seguintes condições cromatográficas: coluna capilar de sílica fundida DB-5MS (30 m x 0,25 cm x 0,25 µm) com temperatura inicial do forno a 150 ºC, programação da coluna até 280 °C (4 °C/min); temperatura do injetor a 300 °C; temperatura do detector a 300 °C; gás de arraste (hélio), a velocidade linear de 1 mL/min; razão de divisão da amostra 1:100. A identificação dos ácidos graxos se procedeu através da integralização das áreas dos picos,, com conversão em percentual dos ácidos graxos detectados.

5.2.5 Estudo da estabilidade oxidativa do óleo de maracujá

As amostras foram mantidas em estufa a 60°C, por 15 dias, semelhante a uma simulação de vida de prateleira acelerada. Os óleos foram analisados antes e após o período de armazenamento na estufa. A análise qualitativa dos compostos formados nos óleos mantidos em estabilidade a curto prazo foi avaliada por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), em espectrômetro Prestige-21 FTIR (Shimadzu, Kyoto, Japão). O espectro foi registrado entre 4000 a 650 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1} e 20 scans. Os dados foram analisados em software IR Solution, versão 1.40 (Shimadzu, Kyoto, Japão) (RUTCKEVISKI et al., 2017).

5.2.6 Estabilidade térmica do óleo de maracujá

A estabilidade térmica foi determinada por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e por Análise Termogravimétrica (TGA) (STA 449F3, NETZSCH GmbH & Co, Selb, Alemanha). Em cadinhos de alumínio, foram adicionados 2 mg de cada óleo, seguindo os seguintes parâmetros: aquecimento de 10°C/min e fluxo de 50 mL/min, com intervalo de temperatura de 25-600 °C (RUTCKEVISKI et al., 2017).

5.2.7 Atividade antioxidante *in vitro*

Foram realizados três ensaios quanto à atividade antioxidante: DPPH, ABTS e FRAP. Anteriormente à execução dos procedimentos, uma alíquota de 200 mg de cada óleo foi dissolvida em 1 mL de solução aquosa de DMSO/TWEEN 80 (1%).

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

A atividade de sequestro do radical DPPH dos óleos foi analisada segundo Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Uma alíquota de 100 µL de óleo dissolvido foi adicionada a 3,9 mL da solução metanólica de DPPH 60 µmol/L e mantida protegida da luz por 30 minutos. A absorbância (Abs) foi medida em espectrofotômetro UV/Vis (Agilent, Varian® 50 Bio), à 515 nm. A solução aquosa de DMSO/TWEEN 80 (1%) foi utilizada como controle negativo (branco). Os valores de absorbância obtidos foram convertidos em porcentagem de inibição do radical DPPH.

5.2.7.2 Método ABTS (2,2"-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

A capacidade de captura do radical 2,2"-azino-bis (3-etilbenzenotiazolina- 6-sulfônico) (ABTS) foi avaliada segundo Granato; Nunes (2017). Inicialmente, foi preparada, uma solução de ABTS 7mM, à qual foi adicionada uma solução de persulfato de potássio a 2,45 mM. A mistura foi mantida a temperatura ambiente e na ausência de luz por 16 horas, para formação do radical ABTS. No momento da análise, essa solução foi diluída em etanol, tendo sua absorbância medida à 734 nm. Uma alíquota de 30 µL de cada diluição dos óleos foi adicionada à 3 mL da solução ABTS. A solução aquosa de DMSO/TWEEN 80 (1%) foi utilizada como controle negativo (branco). Após 6 minutos de incubação no escuro, as absorbâncias das amostras foram analisadas. Uma curva padrão foi plotada a partir de diferentes concentrações de Trolox (2-200 µmol.L^{-1}) e os resultados foram expressos em µmol de equivalente de Trolox por g de óleo (µmol TE.g^{-1}).

5.2.7.3 Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP)

Determinou-se o potencial antioxidante total das amostras de óleos através do poder de redução do ferro (FRAP), de acordo com o método apresentado por Granato; Nunes (2017). 90 µL da amostra diluída foi adicionada a 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, sob o abrigo de luz. Após homogeneização, as amostras foram incubadas em banho maria a 37ºC por 30 minutos, seguida de análise a 595 nm. A solução aquosa de DMSO/TWEEN 80 (1%) foi utilizada como controle negativo (branco). Uma curva padrão foi plotada a partir da mistura de 90 µL de solução de sulfato ferroso (0-2000 µM), 270 µL de água destilada e 2,7 mL de reagente FRAP. Os resultados foram expressos em µmol de sulfato ferroso por grama de óleo (µmol $FeSO^4$.g^{-1}).

5.2.8 Determinação da citotoxicidade

A citotoxicidade foi realizada pelo Ensaio colorimétrico de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio), usando linhagens de células tumorais HCT116 (Carcinoma colorretal humano) e HL-60 (leucemia promielocítica aguda) (ALLEY et al., 1988; MOSMANN, 1983). As células foram cultivadas em RPMI 1640 (Sigma–Aldrich, St Louis, MO), suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de solução de antibiótico (penicilina e estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37 ºC em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO_2. Todas as linhagens de células foram obtidas do Banco de Cultura de Células do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro, Brasil).

Anteriormente à execução dos procedimentos, uma alíquota de 10 mg de cada óleo foi dissolvida em 1 mL de solução aquosa de DMSO/TWEEN 80 (1%). As células HCT116 (10^5 células/mL) e HL-60 (3×10^5 células/mL) foram semeadas em placas de 96 poços e incubadas por 24 h. Após esse período, 10 µL das amostras diluídas foram adicionados aos poços na concentração final de 100 µg/mL e 50 µg/mL. Utilizou-se o fármaco doxorrubicina (10 µg/mL) como padrão. As placas foram incubadas por 72 h e, em seguida, adicionadas de 25 µL de MTT (5 mg/mL), sendo novamente mantidas em incubação por 3 h. Passado o tempo de incubação, o meio de cultura com o MTT foram aspirados, seguido da adição de 100 µL de DMSO a cada poço, para leitura da absorbância em leitor de microplacas (Biorad 680, Hercules, Calif., USA), no comprimento de onda de 560 nm.

5.2.9 Determinação do potencial de irritação

O potencial de irritação dos extratos oleosos seguiu os parâmetros definidos por Steiling et al (1999) e Freire et al. (2015), através do teste da membrana corioalantóide do ovo de galinha fecundado – HET-CAM. Foram realizados testes com os extratos em diferentes concentrações. As substâncias de controle negativo e positivo foram solução salina 0,9% e lauril sulfato de sódio 1%, respectivamente. Após a aplicação das substâncias, foi observada a ocorrência ou ausência de efeitos irritantes, tais como hemorragia, coagulação e lise, por um período de cinco minutos. O potencial de irritação foi quantificado, através da equação 2, o potencial de irritação observado conforme classificação: não irritante (0-0,9); ligeiramente irritante (1-4,7);

irritação moderada (5- 8,9); irritação grave/severa (9-21). Todas as substâncias foram aplicadas cinco vezes.

Equação 2:

$$\frac{(301 - \text{Hemorragia}) \times 5}{300} + \frac{(301 - \text{vasoconstrição}) \times 7}{300} + \frac{(301 - \text{coagulação}) \times 9}{300}$$

5.2.10 Análises estatísticas

Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados expressos como a média (± desvio padrão). As análises estatísticas foram realizadas através de testes de estatística descritiva (média e desvio padrão) e inferencial (ANOVA e teste de Tukey) para determinação de diferenças estatisticamente significantes ($p<0,05$) entre os tratamentos aplicados, utilizando o software GraphPad Prims 6.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES DO MARACUJÁ

A caracterização das sementes do maracujá foi realizada segundo a AOAC (2012) (Tabela 3). A semente do maracujá se destaca quanto ao seu teor de gordura, proteínas e fibras, mostrando-se uma boa alternativa para a alimentação.

Tabela 3 - Composição centesimal de semente de maracujá amarelo.

Parâmetros	Semente de maracujá (%)
Umidade	8,45 ± 0,04
Cinzas	1,12 ± 0,01
Proteínas	13,15 ± 0,11
Lipídios	26,55 ± 0,58
Fibras totais	47,56 ± 0,47
Carboidratos	3,17 ± 0,64

Fonte: Autor (2018).

As sementes secas apresentaram teor de umidade de 8,45% ± 0,04, sendo um valor semelhante aos 8,50% observados por Oliveira et al. (2016) e Sánchez et al. (2017), em sementes de maracujá e canola, respectivamente. Por outro lado, Silva et al. (2015) reportaram 7,45% de umidade nas sementes, percentual inferior ao atingido na presente pesquisa. Para matrizes biológicas voltadas à extração de compostos lipídicos, são necessários baixos valores de umidade. Na literatura são relatados teores inferiores a 10% como ideais para que não haja interferência negativa no processo extrativo nem na qualidade do extrato, pois concentrações mais elevadas de água podem favorecer a ação de lipases, culminando na hidrólise dos triglicerídeos (MALLEK-AYADI; BAHLOUL; KECHAOU, 2018; REGIS; RESENDE; ANTONIASSI, 2015).

Em relação à composição nutricional da semente de maracujá amarelo apresentado por Corrêa et al. (2016) (Tabela 1), os percentuais de proteínas (10,8%) e lipídios (23,4%) foram inferiores aos do presente estudo. Por outro lado, esses valores se mostraram inferiores aos 20,3% e 46,3%, reportados por Sánchez et al (2017), para os teores proteico e lipídico, respectivamente, de sementes de canola.

Outros estudos com sementes de maracujá revelaram divergências quanto ao presente trabalho. Enquanto Silva et al. (2015) apresentaram teores inferiores de umidade (7,45%) e proteínas (11,80%), o percentual de lipídios se mostrou superior (30,22%,); Pantoja-Chamorro; Hurtado-Benavides; Martinez-Correa (2017) apresentaram teor também inferior de umidade (7,80%), combinado a maiores percentuais de proteína (16,48%) e de lipídios (29,93%).

Pode-se observar o destaque dessas sementes também em relação ao seu teor de fibras totais (47,56% ± 0,47), apresentando valor superior ao reportado por Da Silva et al (2017), em sementes de chia (33,37% - 37,18%) obtidas das regiões Centro-Oeste e Sul do Brasil.

Essas variações quanto aos nutrientes presentes em sementes de maracujá podem ser correlacionadas a diversos fatores, como a origem da semente, o método de cultivo, as características climáticas e do solo, as formas de processamento da fruta (REGIS; RESENDE; ANOTNIASSI, 2015).

6.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DA SEMENTE DO MARACUJÁ

Na presente pesquisa, os rendimentos e percentuais de recuperação apresentaram o seguinte panorama (Tabela 4). Observa-se que todas as extrações diferiram estatisticamente uma da outra.

Tabela 4 - Rendimento e percentual de recuperação dos óleos extraídos.

Método de extração	Solvente	Parâmetros	Rendimento (%)	Recuperação (%)
Prensagem	____	25ºC	13,39 ± 0,36[c]	50,43
Ultrassom	Etanol	40ºC/60 min	5,31 ± 0,14[d]	20,00
Soxhlet	N-hexano	60ºC/ 8h	26,53 ± 0,04[a]	99,93
ASE	N-hexano	40ºC/20 min	24,36 ± 0,12[b]	91,75

[a, b, c, d] Letras diferentes na coluna indicam valores diferenças estatisticamente significativas.
Fonte: Autor, 2018.

Sementes podem apresentar variações em seu teor de óleo devido à sua matriz, ao tipo de cultivo, à região e às condições climáticas. Como parâmetros de influência no rendimento de extração, também devem ser considerados as condições

de execução, como presença/ausência de solvente, proporções de semente/solvente, temperatura e tempo de extração (RAMPAZZO, 2015).

A extração por Soxhlet apresentou o melhor rendimento, seguido da extração por ASE, prensagem e ultrassom, respectivamente. Tal fato é justificado pelo uso de hexano no primeiro e segundo métodos, pois o solvente orgânico, de caráter apolar, é capaz de arrastar com maior eficácia a fase lipídica da amostra, também de caráter apolar (RIPKE; PALEZI; NOBRE, 2016). A prensagem manual, por ser um método mecânico, apresenta limitações quanto à pressão aplicada à amostra, resultando assim na manutenção de teores de óleo na torta, resíduo da semente pós-prensagem (POLICARPI et al., 2018).

Enquanto o hexano, por sua toxicidade, deve ter seu uso limitado para obtenção de produtos farmacêuticos; o etanol é considerado um solvente “GRAS” (“geralmente reconhecido como seguro”), não tóxico, renovável (SAMPAIO NETO; BATISTA; DE ALMEIDA MEIRELLES, 2018). O emprego de solventes, mesmo que de fontes renováveis, requer etapas posteriores para purificação do solvente, fator que aumenta o investimento necessário para a aplicação dos métodos em larga escala.

Além da polaridade do solvente, Sampaio Neto; Batista; De Almeida Meirelles (2018) também reportaram alcançar melhores rendimentos de extração ao aumentarem o volume de solvente empregado, pois uma maior proporção de solvente em relação à semente favorece a transferência de massa, graças a um maior gradiente de concentração. Com o presente trabalho apresentando uma proporção de 20% de semente/solvente, houve a saturação do solvente com o óleo, impossibilitando maiores taxas de extração.

O emprego do etanol na extração de óleo de semente de maracujá também foi relatado por Cardoso et al. (2015), ao ser comparado com acetona e isopropanol, com todos os solventes sendo empregados em extração por Soxhlet e ultrassom, com rendimento de 14,6% e 14%, respectivamente. Assim, sugere-se que uma maior razão entre semente e solvente – como 1:15 da pesquisa supracitada – pode favorecer uma equivalência entre os métodos de extração com o emprego de um mesmo solvente, ainda que polar.

Citeau e colaboradores (2018) apontam a temperatura como determinante da eficiência da extração de óleos com etanol, em associação a uma diminuição do teor de água presente no álcool, proveniente de transferência da matriz para o solvente. Assim, maiores rendimentos de extração seriam obtidos a partir de matrizes com

teores de água inferiores a 3% (SAMPAIO NETO; BATISTA; DE ALMEIDA MEIRELLES, 2018). Logo, a extração em ultrassom utilizando etanol, devido à polaridade do solvente e a semente ter apresentado 8% de umidade, resultou em uma recuperação do óleo inferior às demais avaliadas na pesquisa.

Em avaliação de diferentes parâmetros de extração (razão massa/solvente, tempo e natureza do solvente), com emprego de ultrassom, shaker e Soxhlet, Oliveira; Barros; Gimenes (2013) também obtiveram melhores rendimentos de extração com a técnica de Soxhlet (26,4%). Já Oliveira et al. (2016), com uso de etanol, reportaram rendimentos de 23% para extração assistida por ultrassom e de 11,3% para maceração a frio, com razão amostras/solvente de 3:50 e 1:5, com 45 minutos e 7 dias de extração, respectivamente.

Por outro lado, é importante ressaltar que, na presente pesquisa, a extração assistida por ultrassom ocorreu em tempo inferior (60 min), comparado a extração em Soxhlet (8 horas). As condições empregadas nas mencionadas pesquisas e do presente trabalho deixam claro a influência de maiores proporções de solvente e maiores tempos de extração para que se obtenha rendimentos melhores. Entretanto, a nível industrial, é preciso que essas condições sejam bem avaliadas, visto que métodos de extração que demandem maiores volumes de solvente e extrações mais prolongadas demandam maiores investimentos, assim como maior consumo de energia, fatores que inviabilizariam sua aplicação.

Comparando as técnicas de Soxhlet e ASE utilizando o mesmo solvente (N-hexano), a primeira apresentou maiores rendimentos. Na extração em Soxhlet a amostra permanece boa parte do tempo imersa no solvente, ocorrendo sifonagens intermitentes que renovam o líquido constantemente, mantendo cada vez maior o gradiente de concentração de óleo entre solvente e amostra, que possibilita a solubilização do óleo (RIPKE; PALEZI; NOBRE, 2016). Além disso, na extração em Soxhlet, realizada a temperatura mais próxima do ponto de ebulição do solvente (68ºC), a tensão superficial e a viscosidade do solvente são reduzidas quando comparadas a extrações realizadas em temperatura inferior (EFTHYMIOPOULOS et al, 2018), como é o caso do ASE. Isso contribui para que o solvente solubilize maior quantidade de solutos, o que justifica o maior rendimento obtido.

Embora o melhor rendimento de extração tenha sido alcançado por Soxhlet (N-hexano, a 60ºC por 8h), tanto a extração por Soxhlet como por ASE resultaram em rendimentos superiores à extração por Soxhlet, com hexano, em comparação a Liu et

al. (2008), que obtiveram rendimento de 23,40%. O percentual de óleo obtido na presente pesquisa, apesar de inferior aos 30,39% obtidos com éter de petróleo por Malacrida e Jorge (2012), mostrou-se superior ao teor de óleos de outras sementes, como soja (18-20%) e uva (6-20%), como reportado por Rampazzo (2015).

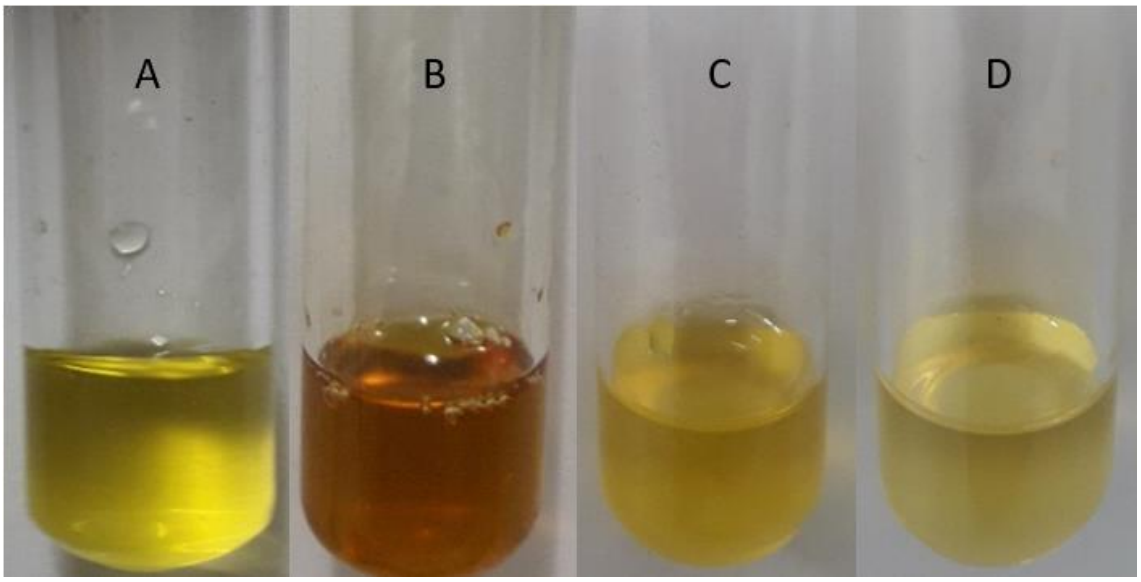
A extração por ASE forneceu resultados bastante satisfatórios de rendimento em relação às condições de processo. É um método rápido de extração que, mesmo utilizando solvente, esse volume foi inferior ao empregado na extração por Soxhlet. Como é um processo pressurizado, não requer aplicação de altas temperaturas ao sistema para que seus resultados sejam semelhantes ou superiores aos de técnicas convencionais, como visto na presente pesquisa, em relação aos óleos obtidos por Soxhlet e prensagem, respectivamente.

Os resultados das extrações indicaram que processos realizados com solventes, a temperaturas mais altas e por períodos maiores registraram melhores rendimentos. Esses parâmetros não se mostram favoráveis à aplicação a nível industrial sem que sejam efetuados altos investimentos. Embora tenha sido um método eficaz, o ASE também demanda um investimento alto para aquisição de equipamentos. Logo, processos com rendimentos satisfatórios e condições mais acessíveis de implantação, como o método da prensagem a frio, ainda são os mais indicados para o aproveitamento das sementes para extração de óleo em larga escala. Em adição a esses benefícios, essa técnica, por não requerer o uso de solventes e altas temperaturas, enquadra-se nos princípios preconizados pela “química verde”, contribuindo também para uma produção sustentável.

6.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS

Quanto ao aspecto visual, pode-se observar os óleos na Figura 6. A extração por ultrassom resultou em um óleo com pigmentação mais escura, cor ligeiramente marrom, que nos demais métodos, cujas cores apresentavam tons amarelos. O emprego de etanol na extração assistida por ultrassom, por ser um solvente polar, favoreceu o arraste de diferentes compostos como proteínas, carboidratos e produtos de reação de Maillard. Essas substâncias podem ter contribuído para a obtenção de um óleo mais escuro (Figura 6b).

Figura 6 – Aspecto visual dos óleos de semente de maracujá amarelo obtidos por diferentes métodos: Prensagem (a), Ultrassom (b), Soxhlet (c) e ASE (d)



Fonte: (AUTOR, 2018).

Quanto às características físico-químicas dos óleos obtidos, pode-se observar os valores dos índices de refração, de acidez, de peróxidos e de iodo na Tabela 5.

Tabela 5 – Caracterização físico-química dos óleos da semente de maracujá obtidos por métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE.

Propriedade	Método			
	Prensagem	Ultrassom	Soxhlet	ASE
Índ. de refração	1,473 ± 0,00 [a]	1,473 ± 0,00 [a]	1,473 ± 0,00 [a]	1,473 ± 0,00[a]
Índ. de acidez (mg NaOH/g)	2,45± 0,04 [c]	17,67 ± 0,16 [a]	4,83 ± 0,35 [b]	4,59 ± 0,03 [b]
Índ. de peróxidos (meq/Kg)	63,61 ± 0,21 [b]	200,40 ± 6,86 [a]	9,25 ± 0,20 [c]	10,41 ± 0,19 [c]
Índ. de iodo (g I_2.100g^{-1})	132,32 ± 1,29 [b]	133,87 ± 0,21 [a]	133,38 ± 0,42 [b]	133,40 ± 0,38 [b]

[a, b, c] Letras diferentes nas linhas indicam valores diferenças estatisticamente significativas.

Fonte: Autor, 2018.

O índice de refração a 40ºC não apresentou variação estatisticamente significativa entre os óleos obtidos, estando de acordo com os parâmetros da legislação para óleos convencionais como azeite de oliva (1,466-1,470), milho (1,465-1,468), algodão (1,458-1,466) e girassol (1,461-1,468) (BRASIL, 2005; CODEX

ALIMENTARIUS COMMISSION, 2008), sendo também semelhante aos óleos de semente de maracujá avaliados por Andrade; De Oliveira Barretto; Francisco (2015) e Malacrida; Jorge (2012), apresentando 1,4763 e 1,4682, respectivamente.

Dentre as propriedades ópticas que influenciam a aparência geral dos óleos, o índice de refração é uma das mais importantes devido à sua interação com a estrutura molecular dos ácidos graxos existentes, indicando a pureza do produto. Seu aumento é devido ao aumento da concentração de cadeias carbônicas mais longas e do número de duplas ligações (BANDYOPADHYAY et al., 2017; SOBHANI et al., 2018).

A extração por prensagem apresentou o menor índice de acidez (2,45± 0,04) dentre os métodos avaliados, enquanto o óleo obtido por ultrassom mostrou o mais alto valor (17,68 ± 0,16), não havendo diferença estatisticamente significativa apenas entre as técnicas de Soxhlet e ASE. A acidez avalia o teor de ácidos graxos livres no óleo, evidenciando o fenômeno da rancidez, visto que reflete a presença de compostos derivados da hidrólise dos triglicerídeos. Está relacionado com a qualidade da matéria prima, o grau de pureza do óleo, assim como as condições de processamento (extração) e conservação desse produto (BANDYOPADHYAY et al., 2017; GRANATO; NUNES, 2017).

Segundo *Codex Alimentarius Commission* (2008) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2005), óleos brutos devem apresentar índice de acidez inferior a 4,0 mg NaOH/g de amostra. Assim, observa-se que apenas o óleo obtido por prensagem se encontra em conformidade com a legislação. Embora o óleo obtido por Soxhlet da presente pesquisa não estivesse dentro dos parâmetros legais, Malacrida e Jorge (2012) detectaram índices de acidez adequados (2,35 mg KOH/g) para óleo de semente de maracujá amarelo obtido por Soxhlet usando éter de petróleo como solvente.

Valores inferiores aos apresentados na presente pesquisa, também foram reportados por Pantoja-Chamorro; Hurtado-Benavides; Martinez-Correa (2017), com o valor de 2,56 para o parâmetro supracitado. No entanto, Ramadan; Nader; Ibrahim (2018) reportaram acidez de 23,4-26,4, para óleo fixo de casca de laranja, valores estes superiores à acidez dos óleos obtidos pelos quatro métodos avaliados.

As características físico-químicas dos óleos sofrem influência dos diferentes tipos e proporções de ácidos graxos nele presentes. São parâmetros de avaliação da qualidade do óleo (nutricional, sensorial, funcional) e da sua estabilidade oxidativa (KEHILI et al., 2018; RUTCKEVISKI et al., 2017). Observa-se, por exemplo, que óleos

com índice de peróxidos superiores a 10 meq/Kg podem apresentar maior propensão à rancidez (BANDYOPADHYAY et al., 2017).

Quanto ao parâmetro acima citado, o *Codex Alimentarius*, assim como a ANVISA (BRASIL, 2005) indica valores inferiores a 15 meq/Kg de óleo bruto. Apenas os óleos obtidos por Soxhlet e ASE obtiveram índices em conformidade, que não diferiram estatisticamente um do outro. Os óleos obtidos por prensagem e ultrassom apresentaram os maiores valores para esse parâmetro, possivelmente indicando que o processo de oxidação nesses óleos já se encontrava em fase de propagação. Valores de peróxidos dentro dos padrões legais também foram obtidos por Pantoja-Chamorro; Hurtado-Benavides; Martinez-Correa (2017), em óleo de semente de maracujá extraído por fluido supercrítico.

Nesta pesquisa, o índice de iodo variou entre 132,32 g I_2.100g^{-1} e 133,87 g I_2..100g^{-1}, evidenciando o alto grau de insaturação presente nos óleos obtidos. Apenas o óleo obtido por ultrassom se mostrou estatisticamente diferente dos demais. Estes são valores semelhantes aos estabelecidos pelo Codex Alimentarius (2008) para o óleo de soja (124-139 g I_2.100g^{-1}), como também aos de milho (109-133 g I_2.100g^{-1}) e girassol (125-144 g I_2.100g^{-1}) (RAMADAN; NADER; IBRAHIM,2018). O índice de iodo está diretamente ligado ao grau de insaturação de óleos. Logo, valores inferiores sugerem processos oxidativos (oxidação, decomposição ou polimerização), responsáveis pela quebra de duplas ligações (SOBHANI et al., 2018).

6.4 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

O perfil de ácidos graxos dos óleos de semente de maracujá amarelo obtidos por diferentes métodos e condições é apresentado na Tabela 6.

A composição química do óleo de semente de maracujá pode sofrer variações a depender da variedade do fruto e sua proporção de cascas/sementes; de fatores genéticos; do grau de maturação, época de colheita, condições climáticas, composição do solo, região de cultivo e práticas de cultura. Também influenciam de forma qualitativa e quantitativa os métodos e a eficiência do processamento do fruto (REGIS; RESENDE; ANOTNIASSI, 2015; SIDDIQ, 2012).

Tabela 6 – Composição percentual de ácidos graxos dos óleos de semente de maracujá extraídos por diferentes métodos: prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE.

Ácido graxo	Método de extração			
	Prensagem	Ultrassom	Soxhlet	ASE
Ácido palmítico (C16:0)	11,44 ± 0,18[a]	11,33 ± 0,04[a]	11,22 ± 0,02[b]	11,10 ± 0,03[b]
Ácido esteárico (C18:0)	3,08 ± 0,05[a]	2,82 ± 0,08[b]	3,04 ± 0,04[a]	3,03 ± 0,04[a]
Ácido oleico (C18:1)	19,70± 0,61[a]	19,11 ± 0,20[a]	19,55± 0,10[a]	19,81 ± 0,31[a]
Ácido linoleico (C18:2)	62,89 ± 0,73[b]	64,38 ± 0,33[a]	63,89 ± 0,40[b]	63,75 ± 0,30[b]
Ácido linolênico (C18:3)	2,31 ± 0,13[a]	2,26 ± 0,07[a]	2,26 ± 0,07[a]	2,27 ± 0,05[a]

[a, b, c] Letras diferentes nas linhas indicam valores diferenças estatisticamente significativas.

Fonte: Autor, 2018.

Óleos de origem vegetal, como de oleaginosas, de soja, milho, canola e girassol, são compostos, principalmente, por ácidos graxos de 18 carbonos. Dentre eles, destacam-se ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2) e ácido linolênico (C18:3) (AYYILDIZ et al., 2015; VASKOVA; BUCKOVA, 2015). Esses mesmos ácidos foram os principais detectados na presente pesquisa, assim como em óleo de castanha do Brasil, avaliado por Sampaio Neto; Batista; De Almeida Meirelles (2018), e em óleo de semente de melão (*Cucumis melo L.*), por Mallek-Ayadi; Bahloul; Kechaou (2018).

Quanto à presença de ácido oleico, foi observada concentração de cerca de 19% nas quatro técnicas avaliadas. Esses valores foram superiores ao apresentado por Ferreira et al. (2011), que detectaram 10,7% de ácido oleico também em óleo de semente de maracujá obtido por Soxhlet. Maiores proporções desse ácido graxo contribuem para a ampliação da estabilidade oxidativa dos óleos, sugerindo o potencial desses produtos para aplicação industrial (REZIG et al., 2018).

Dentre os quatro métodos analisados, o maior percentual de ácido linoleico estava presente no óleo extraído por ultrassom (64,38%). Em extração de óleo de semente de maracujá amarelo, pela técnica de Soxhlet, Ferreira et al. (2011) obtiveram um produto com 72.6% de ácido linoleico, percentagem superior aos

valores detectados na presente pesquisa (62,89%-64,38%), como também aos relatados por Pantoja-Chamorro; Hurtado-Benavides; Martinez-Correa (2017), que obtiveram um teor de 67,0% do ácido graxo acima, em óleo extraído por fluido supercrítico. Por outro lado, concentrações de ácido linoleico inferiores ao presente estudo foram relatados por Oliveira et al. (2014), que reportaram como 50,8% do conteúdo lipídico.

O ácido graxo linolênico (C18:3 n-3) foi identificado nos óleos obtidos pelas quatro técnicas testadas, variando entre 2,26 a 2,31%, com concentração maior no óleo extraído por prensagem. De acordo com o *Codex Alimentarius Commission* (2008), é recomendável a presença desse ácido em concentração mínima de 0,3%. Esse ácido graxo essencial pertence ao grupo dos ω-3 e atua na regulação de funções biológicas, prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (HUERTA-YÉPEZ, S.; TIRADO-RODRIGUEZ, A. B.; HANKINSON, O., 2016).

Dentre os ácidos graxos saturados presentes nos óleos obtidos na presente pesquisa, que equivalem a cerca de 14,45% dos ácidos graxos detectados, há predominância dos ácidos palmítico (11,10%-11,44%) e esteárico (2,82%-3,08%).

Os dados obtidos na presente pesquisa revelam alta concentração de ácidos graxos insaturados, variando entre 84,90- 85,83% (Tabela 7). Esses valores se mostram inferiores aos reportados em óleos de junça (88%) (SOBHANI et al., 2018). Dentre os ácidos graxos insaturados presentes nos óleos obtidos, destacam-se o ácido linoleico, seguido do ácido oleico, de forma semelhante ao relatado por Malacrida e Jorge (2012), com ácidos linoleico e oleico compondo 73,14% e 13,83% dos óleos, respectivamente. Também apresentaram alto grau de insaturação os óleos de semente de maracujá azedo em pesquisa de Silva e Jorge (2014) – com predominância do ácido linoleico (66,3%), seguido do ácido oleico (18,7%).

O perfil de ácidos graxos, além de possibilitar o entendimento sobre a estabilidade do óleo frente à oxidação, também está relacionado com a importância do óleo para a nutrição e saúde humana. Uma maior concentração de ácidos graxos insaturados no organismo acarreta a diminuição da concentração de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue e do risco de doenças cardiovasculares; o aumento da resposta imunológica e da sensibilidade à insulina (KUMAR; SHARMA; UPADHYAYA, 2016; MALLEK-AYADI; BAHLOUL; KECHAOU, 2018).

Tabela 7 - Quantidade total (%) de ácidos graxos saturados, insaturados, monoinsaturados e poli-insaturados, índice I/S1 e proporção do total de ácido oleico/linoleico dos óleos de sementes de maracujá amarelo obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE.

Ácidos graxos	Métodos de extração			
	Prensagem	Ultrassom	Soxhlet	ASE
Saturados	15,48	14,15	14,62	14,13
Monoinsaturados	19,70	19,11	19,55	19,81
Poli-insaturados	65,2	66,64	66,15	66,02
Índice I/S[1]	5,48	6,06	5,86	6,07
Oleico/Linoleico	0,31	0,30	0,30	0,31

[1] Índice Insaturados / Saturados.

[2] Proporção total entre ácidos oleico e linoleico.

Fonte: Autor, 2018.

A proporção entre os ácidos graxos é considerada um parâmetro de qualidade do óleo quanto à sua capacidade de promover benefícios à saúde (AYYILDIZ et al., 2015). As relações correspondentes aos óleos obtidos na presente pesquisa podem ser observadas na Tabela 7. A relação entre os ácidos oleico e linoleico variou entre 0,30 e 0,31. Em óleo analisado por Malacrida e Jorge (2012), essa relação evidenciou uma maior concentração de ácido linoleico (0,19) que o analisado na presente pesquisa.

Também em relação ao valor nutricional dos óleos, a proporção entre ácidos insaturados e saturados (índice I/S) é um importante parâmetro de classificação, visto que óleos com índice I/S superior a 1 são associados a menores acúmulos de gordura no organismo (KOSTIK; MEMETI; BAUER, 2013). O índice I/S dos óleos de semente de maracujá extraídos nesta pesquisa apresentaram valores superiores a 4, com maiores índices do óleo obtido por ultrassom e ASE, sem diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos.

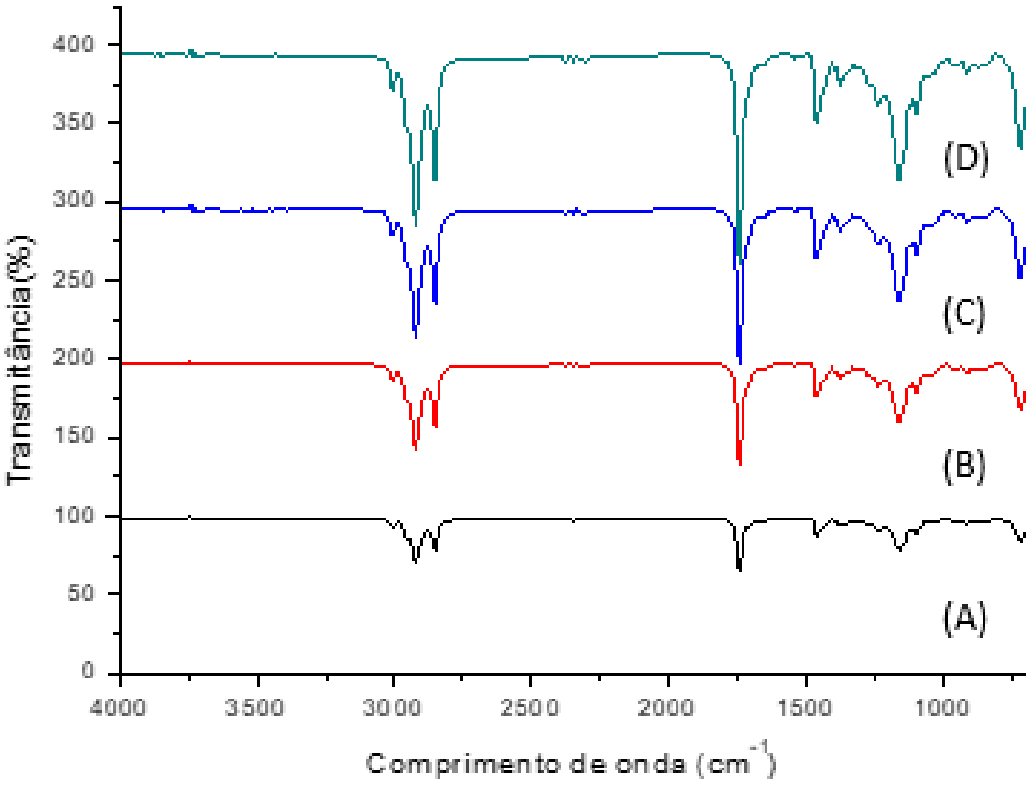
6.5 ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE MARACUJÁ

Os óleos extraídos nessa pesquisa também foram avaliados quanto às alterações químicas provocadas pelo processo oxidativo a curto prazo, a partir de

Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), com os óleos sendo comparados nos dias 1 e 15, depois de mantidos a 60ºC (Figuras 7 e 8).

A análise por FTIR avalia a qualidade dos compostos presentes em um produto, através da observação e classificação de bandas relacionadas a vibração dos grupos funcionais presentes nos óleos (SANTOS et al., 2018; SODEIFIAN; SAJADIAN; ARDESTANI, 2017). Nesse caso, fornece informações sobre o estado de conservação do óleo em cada método de extração. Tanto no dia 1 quanto no dia 15, observa-se comportamentos semelhantes dos óleos, quanto à posição de banda e à sua intensidade.

Figura 7 – Espectro em infravermelho (FTIR) dos óleos de semente de maracujá obtidos pelos métodos de prensagem (A), ultrassom (B), Soxhlet (C) e ASE (D), submetidos a estabilidade a curto prazo (dia 1).

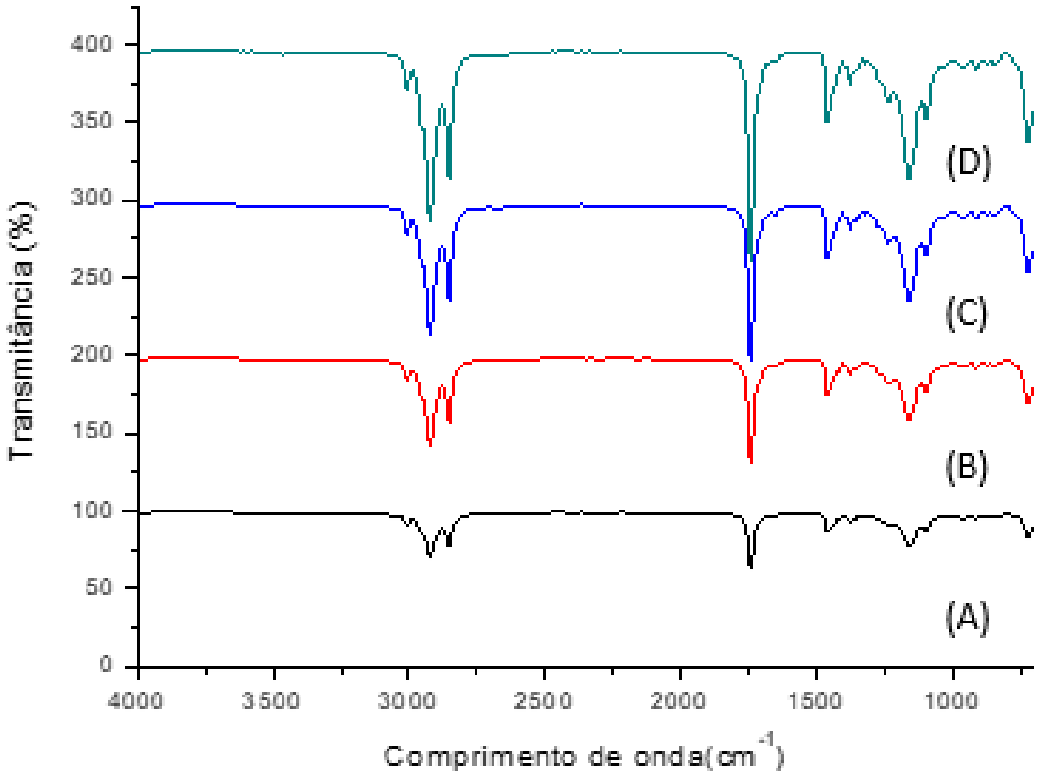


Fonte: (AUTOR, 2018).

Na região dos grupos funcionais (4000-1650 cm^{-1}), foram observadas bandas correspondentes ao estiramento das ligações C=CH (3008 cm^{-1}); ao estiramento

assimétrico e simétrico nos grupamentos $=CH_2$ dos ácidos graxos (2926 cm^{-1} e 2854 cm^{-1}, respectivamente); ao estiramento de ligações duplas (1743 cm^{-1}), característicos do grupamento carbonila, presente nos ácidos graxos. Observa-se maior frequência da banda próxima a 3008 cm^{-1} em óleos com maiores concentrações de ácidos poli-insaturados, principalmente linoleico do que naqueles com maior proporção de ácidos monoinsaturados (oleico) (ZAHIR et al., 2014), como é o caso dos óleos avaliados na pesquisa.

Figura 8 – Espectro em infravermelho (FTIR) dos óleos de semente de maracujá obtidos pelos métodos de prensagem (A), ultrassom (B), Soxhlet (C) e ASE (D), submetidos a estabilidade a curto prazo (dia 15).



Fonte: (AUTOR, 2018).

A região entre 1650-500 cm^{-1} apresentou maior concentração de bandas. O dobramento de ligações CH de alcanos foi detectada em 1460 cm^{-1} (entre 1460-1372 cm^{-1}); o pico em 1237 cm^{-1} (1236-1161 cm^{-1}) registra a vibração do estiramento da ligação carbonila de grupos éster; picos entre 721-723 cm^{-1} indicam vibração de balanço de grupamentos $-CH_2$, relacionados a reações de oxidação. Resultados semelhantes aos da presente pesquisa foram apresentados por Santos et al. (2018),

ao avaliar óleo de murici; assim como Sodeifian; Sajadian; Ardestani (2017), em estudo do óleo de semente de *Dracocephalum kotschyi*.

Podem ser observadas diferenças entre a transmitância das amostras no dia 15, possivelmente decorridas do aquecimento que promoveu alterações no grau e no tipo de insaturações dos grupamentos acila e do comprimento dessas ligações (VASKOVA; BUCKOVA, 2015). O processo de oxidação dos óleos promove a decomposição dos glicerídeos nele presentes, resultando em maior concentração de ácidos graxos livres, como observado em aquecimento de óleos de milho e mostarda em pesquisa reportada por Zahir et al. (2017).

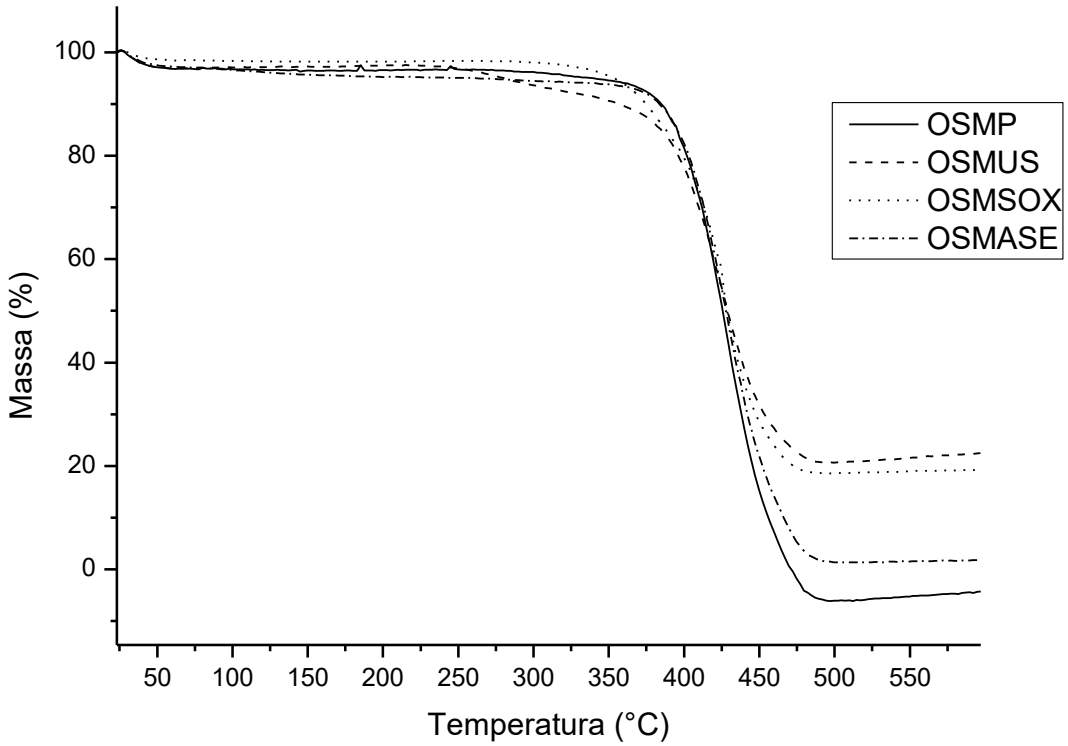
Os espectros de FTIR apresentam sinais químicos referentes às alterações na composição química, que se refletem na posição e na intensidade das bandas do espectro, ao comparar os grupos funcionais das amostras. É uma técnica empregada no estudo de óleos vegetais, auxiliando também na detecção de adulterações desses produtos (POPESCU et al., 2015; ROHAETI et al., 2015),

A aplicação tecnológica de óleos requer que essas matrizes sejam avaliadas quanto ao seu comportamento térmico, a fim de que sejam preservadas suas características nutricionais, sensoriais e funcionais, durante o processamento e a estocagem. Desse modo, é de fundamental importância que as análises acima sejam realizadas nas matérias primas, para a ampliação de sua aplicabilidade, frente às possíveis alterações sofridas pela interação com as condições do meio ou até mesmo pelas demais matrizes envolvidas no processo.

6.6 ESTABILIDADE TÉRMICA DO ÓLEO DE MARACUJÁ

As curvas termogravimétricas dos óleos de semente de maracujá analisados na pesquisa são apresentadas na Figura 9. Observa-se um comportamento semelhante no perfil de decomposição dos óleos, tendo eles apresentado estabilidade térmica até cerca de 300 ºC.

Figura 9 - Curvas termogravimétricas dos óleos de semente de maracujá amarelo obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE.



Fonte: (AUTOR, 2018).

O óleo extraído por ultrassom apresentou maior estabilidade frente ao aumento de temperatura. Observa-se que a decomposição dos óleos ocorreu no intervalo de temperatura entre 300 e 475ºC, correspondendo a cerca de 80% de perda de massa para os óleos obtidos por ultrassom e Soxhlet. O óleo obtido por ASE, assim como o da prensagem, após a temperatura de 475ºC continuaram a se decompor, sendo totalmente degradados após 600ºC. Tal comportamento é corroborado pela análise de Andrade et al. (2015), ao avaliarem óleo de semente de maracujá prensado a frio, antes e depois de ser refinado.

De modo geral, pode-se concluir que o método de extração não influenciou na manutenção da estabilidade entre 0-300ºC. Diferentemente ao comportamento de óleo de murici avaliado por Santos e colaboradores (2018). Os autores reportam que a maior perda de massa de óleo ocorreu a partir de 250ºC. Tais resultados demonstram uma maior estabilidade dos óleos extraídos da semente de maracujá, independente da técnica.

A termogravimetria é uma técnica de análise térmica que consiste no monitoramento de alterações de massa de uma amostra, em função do tempo ou da temperatura, fornecendo informações sobre sua estabilidade térmica, composição (inicial, intermediária e final) e etapas de decomposição (GRANATO; NUNES, 2017). As informações fornecidas por essa análise são essenciais para aplicação industrial desses óleos, contribuindo para a manutenção de sua qualidade sensorial e nutricional durante as etapas de produção, armazenagem, comercialização e consumo (FARAHMANDFAR et al., 2018; SANTOS et al. 2018; RUTCKEVISKI et al., 2017; ZAHIR et al, 2017).

O alto grau de insaturação do óleo de semente de maracujá amarelo , também observado em outros óleos já bastante consumidos, como os de soja, girassol, milho e canola, torna esses produtos mais suscetíveis a reações de deterioração oxidativa, desencadeadas pela presença de oxigênio, luz, aumento de temperatura, visto que o aumento do número de insaturações pode contribuir para uma maior taxa de degradação dos óleos (RAMPAZZO, 2015; REZIG et al., 2018; VASKOVA; BUCKOVA, 2015). Santos et al. (2002) apontam a existência de faixas de decomposição associadas a cada grupo de ácidos graxos, sendo 200-380°C para os poli-insaturados; 380-480 °C para os monoinsaturados; 480-600 °C para os saturados.

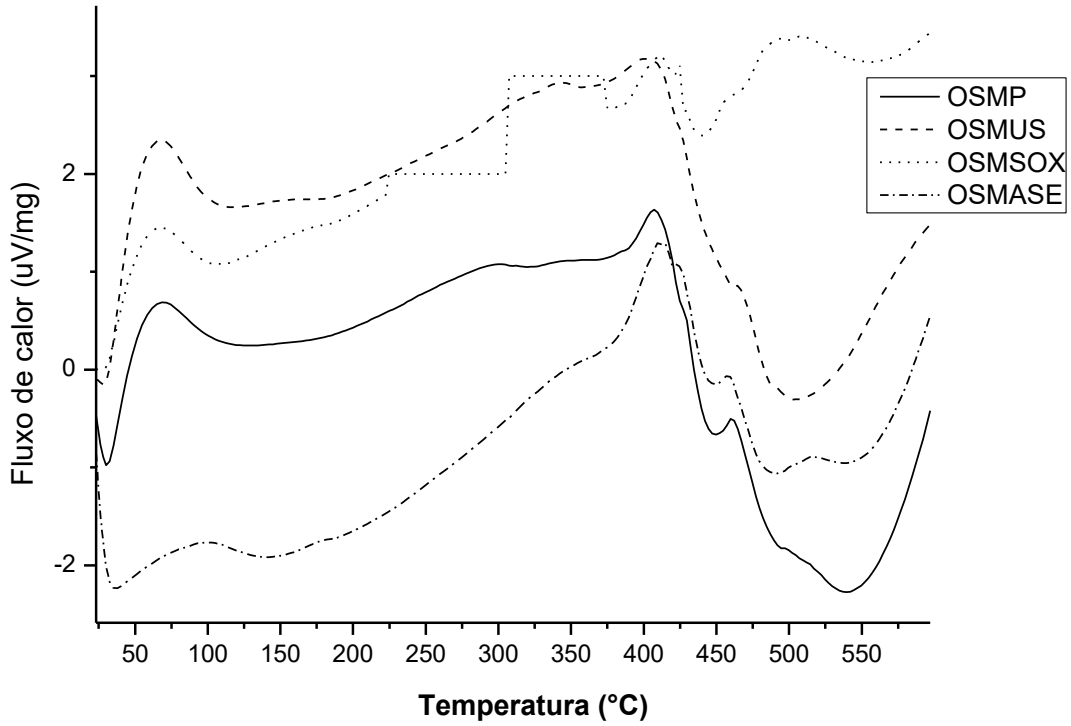
A oxidação lipídica envolve um conjunto de reações derivadas, comumente, da reação em cadeia causada por radicais livres e aceleradas pela presença de metais, luz e calor (RAMPAZZO, 2015; VASKOVA; BUCKOVA, 2015). Os processos oxidativos observados em óleos geram, a partir da decomposição dos triglicerídeos presentes no produto, peróxidos e hidroperóxidos precursores de aldeídos voláteis, ácidos graxos, álcoois, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, acrilamida e acroleína como compostos secundários, substâncias tóxicas, com propriedades mutagênicas e carcinogênicas (KEHILI et al., 2018; ONTANÕN et al., 2015;. VASKOVA; BUCKOVA, 2015).

Dentre os fatores que contribuem para uma melhor estabilidade oxidativa de um óleo estão maiores concentrações de ácidos graxos monoinsaturados, em relação aos poli-insaturados, assim como a presença de antioxidantes naturais. Uma vez que tais compostos agem retardando o início da oxidação ou interrompendo sua propagação (RAMPAZZO, 2015). Assim, observa-se uma boa estabilidade dos óleos avaliados, reforçando sua aplicação em alimentos, visto que as temperaturas de

cocção empregadas nesses produtos não atingem os níveis necessários para que a decomposição térmica se desenvolva (SANTOS et al., 2018).

As curvas de DSC dos óleos avaliados na pesquisa podem ser observados na Figura 10. Em comparação aos intervalos de temperatura registrados com perda de massa pela análise termogravimétrica (Figura 9), as amostras apresentaram comportamentos semelhantes quanto à presença de picos exotérmicos nos intervalos de 50-100ºC e 380-430ºC, no qual se registrou a maior perda de massa (Figura 9) e, consequentemente, maior liberação de energia para o sistema pela degradação dos compostos saturados e insaturados, respectivamente (YUAN et al., 2017). Comportamento térmico semelhante foi observado em estudo de óleo de baru, obtido por extração supercrítica com diferentes solventes, por Fetzer et al. (2018).

Figura 10 - Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) dos óleos de semente de maracujá amarelo obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE.



Fonte: (AUTOR, 2018).

Enquanto o óleo obtido por Soxhlet apresentou pico endotérmico entre 480-500ºC, os demais registraram picos exotérmicos para o mesmo intervalo de temperatura, correspondente à decomposição total dos óleos obtidos por prensagem e ASE. Por outro lado, as curvas de DSC dos óleos de rosa mosqueta e de palma

refinado registraram decomposição com picos exotérmicos em 440ºC e 462ºC, respectivamente (RAMOS et al., 2016).

A análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) também avalia a estabilidade térmica de substâncias pela medida de energia cedida a uma amostra, em função da temperatura, a partir de um processo controlado, avaliando alterações físicas e químicas no produto. Os valores positivos de fluxo de calor correspondem aos processos exotérmicos (reações químicas, cristalização, decomposição) da amostra, enquanto os valores negativos registram os processos endotérmicos (mudança de estado físico) (GRANATO; NUNES, 2017; YUAN et al., 2017).

6.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

Os resultados da atividade antioxidante dos óleos estudados estão dispostos na Tabela 8. Observou-se, para todos os ensaios, diferenças estatisticamente significativas entre as médias de cada extração.

Tabela 8 – Atividade antioxidante *in vitro* pelos métodos DPPH, FRAP e ABTS dos óleos de semente de maracujá amarelo obtidos pelos métodos de prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE.

Método de extração	Método de atividade antioxidante		
	DPPH (%)	ABTS (μmol TE.g^{-1})	FRAP (μmol $FeSO^4$.g^{-1})
Prensagem	14,32±0,03^c	0,39±0,00^d	1,46±0,00^d
Ultrassom	83,45±0,02^a	6,47±0,00^a	5,63±0,03^a
Soxhlet	20,39±0,03^b	3,17±0,00^b	2,51±0,02^c
ASE	11,36±0,04^d	2,98±0,01^c	2,95±0,02^b

$^{a, b, c, d}$ Letras diferentes na coluna indicam valores diferenças estatisticamente significativas.
Fonte: Autor, 2018.

Em relação ao ensaio de DPPH, todos os óleos apresentaram atividade sequestradora do radical, com destaque para a extração por ultrassom (83,45%±0,02). O óleo com menor atividade sequestrante foi o obtido com a técnica

ASE (11,36±0,04). Valores semelhantes foram obtidos por Pereira et al. (2018), na extração de óleo de semente de maracujá amarelo por Soxhlet (82,81%) e ultrassom (80,68%), também empregando etanol como solvente.

É importante ressaltar que, assim como existem diferentes métodos de quantificação da atividade antioxidante de um produto, também variam as formas de expressão desses resultados. Malacrida e Jorge (2012), por exemplo, avaliaram a atividade antioxidante do óleo de semente de maracujá amarelo e apresentaram valores da inibição de DPPH (48%) e EC_{50} (10,62 g óleo/g[DPPH•]); enquanto Barrales, Rezende e Martínez (2015), em pesquisa com o mesmo óleo, apresentaram que o ensaio de DPPH havia resultado em 0,9 mg TE.góleo^{-1}. Dessa forma, a comparação entre resultados da literatura é inviabilizada, mesmo com a aplicação de uma mesma técnica.

Para o método DPPH, os óleos com os menores valores de atividade foram prensagem e ASE. A prensagem pode favorecer a perda de compostos bioativos, como carotenoides e compostos fenólicos, devido à exposição a luz e oxigênio (CILLA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2016). A exposição do óleo durante o processo de extração, como reportado pelos autores, pode ter contribuído para o comprometimento da atividade antioxidante do óleo obtido pela prensagem, visto que seus resultados não se destacaram nos métodos avaliados na presente pesquisa.

Quanto ao ensaio do ABTS, os maiores e menores valores registrados seguem o mesmo padrão do ensaio DPPH, com melhor atividade do método ultrassom (6,47±0,00 μmol TE.g^{-1}), seguido do Soxhlet (3,17±0,00 μmol TE.g^{-1}), ASE (2,98±0,01 μmol TE.g^{-1}) e prensagem (0,39±0,00 μmol TE.g^{-1}).

O método ABTS é aplicável para sistemas contendo antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos (RE et al, 1999), podendo assim ser empregado para diferentes frações de um mesmo produto, como frutas e óleo de sementes. Dessa forma, os resultados desse ensaio foram inferiores aos óleos de linhaça marrom (6,15 ± 0,32 μmol TE.g^{-1}) e linhaça dourada (4,41 ± 0,35 μmol TE.g^{-1}), como reportado por Barroso et al. (2014). Ainda assim, a atividade antioxidante das amostras avaliadas, com exceção do óleo obtido pela prensagem, mostrou-se superior àquelas reportadas para partes comestíveis de abacate (1.16 ± 0.05 μmol TE.g^{-1}), pitaya (2.18 ± 0.13 μmol TE.g^{-1}) e maracujá amarelo (1.83 ± 0.11 μmol TE.g^{-1}) (FU et al., 2011). Esse último valor indica

maior presença de compostos antioxidantes em sementes do que em partes comestíveis, como reportado por Corrêa et al. (2016).

O ensaio FRAP revelou um panorama um pouco diferente dos demais ensaios. Embora os óleos obtidos por ultrassom (5,63±0,27 µmol $FeSO^4.g^{-1}$) e prensagem (1,30±0,27 µmol $FeSO^4.g^{-1}$) apresentem o maior e o menor resultado de atividade, a técnica ASE (2,95±0,02 µmol $FeSO^4.g^{-1}$) se mostrou superior ao Soxhlet (2,51±0,02 µmol $FeSO^4.g^{-1}$). Esses resultados demonstram a capacidade dos compostos antioxidantes presentes no óleo de semente de maracujá amarelo como doadores de elétrons, atuantes na redução de compostos intermediários da oxidação lipídica (SOBHANI et al., 2018).

Os antioxidantes são compostos que presentes em concentrações baixas são capazes de retardar ou inibir a oxidação do substrato no qual se encontra. Sua presença em alimentos promove benefícios aos produtos, por ampliar seu tempo de estocagem e na redução de perdas nutricionais. Também são relatados benefícios à saúde humana, pela sua atuação na redução de lesões no DNA, de oxidação lipídica, de riscos do desenvolvimento de doenças cardiovasculares e neurológicas, hipertensão, câncer (próstata, mama, cólon) (PEREZ-GREGORIO; SIMAL-GÁNDARA , 2017; PERTUZATTI et al., 2015).

Esses compostos antioxidantes, por serem obtidos a partir de extratos naturais, apresentam menor toxicidade, em comparação a compostos sintéticos. Como processos oxidativos ocorrem espontaneamente em óleos, a presença de antioxidantes - como ácido ascórbico, tocoferóis, carotenoides e compostos fenólicos – contribuem para o aumento de sua estabilidade. Essas substâncias estão presentes em grandes concentrações em subprodutos industriais de processamento de matérias primas vegetais (GONZÁLEZ et al., 2017).

A avaliação da atividade antioxidante de um produto ou substância se baseia na sua capacidade de reduzir ou eliminar algum composto (redox-ativo ou radical livre), através da transferência de átomos de hidrogênio e/ou de elétrons (APAK et al., 2016). Em relação aos métodos de análise aplicados na pesquisa, o DPPH e o ABTS podem agir de ambas as formas citadas acima, simultaneamente (CERECEDO-CRUZ et al., 2018). Por outro lado, o FRAP se baseia na transferência de elétrons do composto antioxidante para o complexo de ferro (TPTZ), fazendo passar do estado férrico (Fe3+) para o ferroso (Fe2+) (GRANATO; NUNES, 2017).

Como os alimentos são matrizes complexas, os compostos antioxidantes neles presentes agem de forma complementar, ampliando suas atividades individuais mediante a interação entre eles e aos demais componentes do produto. Logo, apenas um método de análise não é capaz de determinar sua atividade antioxidante total, sendo necessário o emprego de pelo menos dois ensaios de mecanismos de ação diferentes (KEHILI et al., 2018).

Como foi visto, os ensaios são baseados em mecanismos diferentes de determinação de atividade antioxidante. Em conjunto a essas variantes, a própria composição dos compostos antioxidantes (hidrofílico ou lipofílico) presentes em cada óleo sofre alterações a partir da origem da semente, dos tratamentos prévios à extração, do método de extração e suas condições de execução (SCHMIDT; POKORNÝ, 2005). No presente estudo, as sementes de maracujá foram adquiridas sob as mesmas condições (fornecedor, tempo e local de plantio). Contudo, as técnicas de extração dos óleos diferiram. Tal fato pode ter contribuído para a variação dos resultados, devido a diferentes composições dos antioxidantes. Quanto a esse aspecto se destaca a técnica de ultrassom que, por utilizar solvente polar, favoreceu a extração de compostos hidrofílicos presentes na semente, culminando numa maior atividade antioxidante.

A ação dos antioxidantes, tanto na preservação da estabilidade dos óleos quanto na redução do risco de doenças, deriva da efetividade desses compostos em capturar radicais livres, neutralizando as cargas neles presentes (SOBHANI et al., 2018). Desta forma, o óleo de semente de maracujá, além de agregar valor a um resíduo agroindustrial, também é uma relevante fonte de antioxidantes para a dieta humana.

6.8 CITOTOXICIDADE DOS ÓLEOS DE MARACUJÁ

O resultado do ensaio do MTT evidenciou que os óleos nas concentrações avaliadas não apresentaram toxicidade em relação às linhagens de células empregadas no teste. Esses resultados corroboram os dados reportados por Zeraik et al. (2010) pelo fato de que as sementes do maracujá não apresentarem compostos tóxicos, apesar de estarem presentes em suas folhas e frutos. Ao contrário do

observado na presente pesquisa, Guo e colaboradores (2016), a avaliarem a atividade citotóxica de óleo de semente de beldroega, reportaram que esse produto apresentou inibição do desenvolvimento de linhagens de células tumorais humanas MCF-7, Eca-109 e HeLa.

Na presente pesquisa, foram utilizadas duas concentrações diferentes dos óleos de semente de maracujá, em avaliação de apenas um período de incubação. Entretanto, outras pesquisas reportam a avaliação de um maior intervalo de concentrações das amostras, em tempos de incubação distintos, como Guo et al. (2016), Farshi et al. (2017) e Martins et al. (2018), em estudo com óleo de semente de beldroega, nanoemulsão de óleo de semente de cominho e nanocápsulas de semente de chia, respectivamente. Logo, para um maior entendimento da atividade citotóxica do óleo de semente de maracujá, faz-se necessária a ampliação das concentrações empregadas nos ensaios, como também o tempo de incubação das células em contato com as amostras avaliadas.

6.9 POTENCIAL DE IRRITAÇÃO DOS ÓLEOS DE MARACUJÁ

No ensaio da membrana corioalantoide (HET-CAM) não foram registrados efeitos inflamatórios e vasculares (vasoconstrição, coágulo e hemorragia), podendo concluir que as amostras, mesmo sendo obtidas por diferentes métodos de extração, não se apresentaram como substâncias irritantes, possibilitando sua aplicação em produtos alimentícios. Resultados semelhantes foram obtidos em avaliação de óleo de dedo-de-dama (*Nigella damascena*) (EFREMOVA; IVASHEVA; KOROKIN, 2017).

O teste de HET-CAM fornece dados qualitativos e quantitativos quanto aos potenciais efeitos a exposição de membranas e mucosas de mamíferos a uma determinada substância, sendo comumente realizado em medicamentos de uso tópico e cosméticos (SOUSA et al., 2018). Como o trato digestivo também é revestido por mucosas, a aplicação do ensaio do HET-CAM também pode ser realizada em produtos para fins alimentícios.

A aplicação dessa análise visa a substituição do teste Drazer em olho de coelho, visto que os efeitos observados na membrana corioalantoide são semelhantes

a mucosas de mamíferos. É considerado um teste não-animal, simples, de rápida execução e de baixo custo. Em países como Alemanha e França, já é um método *in vitro* oficial para a avaliação do potencial de irritação e da biocompatibilidade de substâncias. Para ser considerado *in vitro*, o teste deve ser realizado até o 10º dia após a fecundação dos ovos, visto que após esse período, o embrião passa a ser considerado um animal (FREIRE et al., 2015; STEILING et al., 1999).

7 CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa mostram que as sementes de maracujá se destacam pelo seu teor de proteínas e lipídios. Através das extrações por prensagem, ultrassom, Soxhlet e ASE, é possível concluir que os melhores rendimentos foram registrados nas duas últimas técnicas, muito embora defenda-se o uso de óleos livres de solventes, para aproveitamento no setor alimentício, como o obtido por prensagem.

O óleo obtido por prensagem está de acordo com os parâmetros legais quanto ao índice de acidez, favorecendo sua utilização na indústria alimentícia, como também o aproveitamento da torta de extração. As técnicas de Soxhlet e ASE produziram óleos com propriedades físico-químicas semelhantes, em relação aos índices de acidez, peróxidos, refração e iodo.

O perfil lipídico mostrou elevadas concentrações de ácidos graxos insaturados, com predominância dos ácidos linolêico e oleico em todas as amostras analisadas. Os óleos apresentam estabilidade térmica até 300ºC, sofrendo maior perda de massa entre 300-400ºC, além da ausência de mudanças químicas nos óleos durante 15 dias armazenados à 60 °C.

Todos os óleos avaliados apresentam atividade antioxidante para as técnicas empregadas, com destaque para óleo obtido por ultrassom. As amostras se apresentam não tóxicas e biocompatíveis, podendo ser empregados para consumo humano nas concentrações testadas.

A aplicação de óleo de semente de maracujá na alimentação humana se mostra uma alternativa viável, quando comparada a de outros óleos já consolidados, como de soja, girassol, milho e canola. Suas características quanto à composição de ácidos graxos, como ao seu aporte de compostos bioativos, combinada à estabilidade térmica satisfatória apresentada, faz desse produto um componente em potencial da dieta humana, tanto do ponto de vista nutricional, como também o funcional.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prensagem é uma técnica de baixo custo, de fácil implementação tanto para escala industrial, como para pequenos e médios produtores, fator que pode agregar valor à cadeia de produção do maracujá amarelo. A otimização das características do óleo pode ser alcançada pelo estudo do processamento das sementes e de manipulação do óleo durante e após a extração, para introdução em grande escala.

As análises desta pesquisa e tantas outras que não puderam ser realizadas contribuem para compreender o comportamento do óleo, sendo fundamental para sua aplicação na indústria de alimentos, e conservação de suas características e benefícios à saúde humana.

REFERÊNCIAS

AHMAD, F. B. et al. Optimising extraction of microalgal oil using accelerated solvent extraction by response surface methodology. **Journal of Engineering Science and Technology**, v. 13, n. 4, p. 964-976, 2018.

ALLEY, M. C. et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. **Cancer Research**, v. 48, p. 589- 601, 1988.

ANDRADE, J. K. S. et al. Yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa Deg.*) oil refining extracted by mechanical pressing. **International Journal of Engineering Research & Science**, v.1, n.5, p. 39-47, 2015.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 19. ed., Washington, 2012.

AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign: AOCS Press; 2009.

APAK, R. et al. et al. Antioxidant activity/capacity measurement. Classification, physicochemical principles, mechanisms and electron transfer (ET)-based assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 997-1027, 2016.

AYYILDIZ, H. F. et al. Evaluation of fatty acid composition, tocols profile, and oxidative stability of some fully refined edible oils. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 9, p. 2064-2076, 2015.

BANDYOPADHYAY, K. et al. Change in physicochemical properties of edible oil during frying: A review. **The Pharma Innovation Journal**, vol. 6, n.10, p. 196-199, 2017.

BANERJEE, J. et al. Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. **Food Chemistry**, v. 225, p. 10-22, 2017.

BARRALES, F. M. et al. Extração de compostos bioativos de sementes de maracujá-azedo (*Passiflora edulis*) utilizando líquidos pressurizados. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 3444-3450, 2015.

BARRALES, F. M.; REZENDE, C. A.; MARTÍNEZ, J. Supercritical CO_2 extraction of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) seed oil assisted by ultrasound. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 183-192, 2015.

BARROSO, A. K. M. et al. Linhaça marrom e dourada: propriedades químicas e funcionais das sementes e dos óleos prensados a frio. **Ciência Rural**, v. 44, n. 1, 2014.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BELAYNEH, H. D. et al. Extraction of omega-3-rich oil from *Camelina sativa* seed using supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 153-159, 2015.

BRASIL. ANVISA RDC N° 270. **Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e cremes vegetais**, 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/82d8d2804a9b68849647d64600696f00/RDC_n_270.pdf>. Acesso em: 03 dez 2016.

BRAVI, E; MARCONI, O; SILEONI, V; PERETTI, G. Determination of free fatty acids in beer. **Food Chemistry**, v. 215, p 341 - 346, 2017.

CALEVO, J. et al. Chemical composition of the volatile oil from flowers and leaves of new *Passiflora* hybrids. **International Journal of Applied Research in Natural Products**, v. 9, n. 4, p. 21-27, 2016.

CARDOSO, L. C. D. et al. Extração e caracterização do óleo da semente de maracujá. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 3, p. 172-177, 2015.

CASTEJÓN, N.; LUNA, P.; SEÑORÁNS, F. J. Alternative oil extraction methods from *Echium plantagineum L.* seeds using advanced techniques and green solvents. **Food Chemistry**, v. 244, p. 75-82, 2018.

CERECEDO-CRUZ, L. et al. Evaluation of the oxidative stability of Chipotle chili (*Capsicum annuum L.*) oleoresins in avocado oil. **Grasas y Aceites**, v. 69, n. 1, p. 240, 2018.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. et al. A history of passion fruit woodiness disease with emphasis on the current situation in Brazil and prospects for Brazilian passion fruit cultivation. **European Journal of Plant Pathology**, v. 139, p. 261-270, 2014.

CHEMAT, F. et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

CICERO, A. F.; COLLETTI, A. Effects of carotenoids on health: are all the same? Results from clinical trials. **Current pharmaceutical design**, 2017.

CILLA, A. et al. Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds–A review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2017.

CITEAU, M. et al. Improved rapeseed oil extraction yield and quality via cold separation of ethanol miscella. **OCL**, v. 25, n. 2, p. D207, 2018.

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

COELHO, E. M.; AZEVÊDO, L. C.; UMSZA-GUEZ, M. A. Fruto do maracujá: importância econômica e industrial, produção, coprodutos e prospecção tecnológica. **Cadernos de Prospecção**, v. 9, n. 3, p. 347, 2016.

CONTRERAS-CALDERÓN, J. et al. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2047-2053, 2011.

CORRALES, M. et al. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 1, p. 85-91, 2008.

CORRÊA, R. C. G. et al. The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of *Passiflora* spp. (passion fruit). **Trends in Food Science & Technology**, v. 58, p. 79-95, 2016.

DA SILVA, B. P. et al. Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1709-1716, 2017.

DE CASTRO, M. D. L.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383-2389, 2010.

EFREMOVA, M. P.; IVASHEVA, A. V.; KOROKIN, M. V. Study of pharmacological activity of *Nigella damascena* fixed oil in experiment. **Research Results in Pharmacology**, v. 3, n. 4, 2017.

EFTHYMIOPOULOS, I. et al. Influence of solvent selection and extraction temperature on yield and composition of lipids extracted from spent coffee grounds. **Industrial Crops and Products**, v. 119, p. 49-56, 2018.

FARAHMANDFAR, R. et al. Evaluation of antioxidant properties of lemon verbena (*Lippia citriodora*) essential oil and its capacity in sunflower oil stabilization during storage time. **Food Science & Nutrition**, 2018.

FARSHI, P. et al. Evaluation of Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Cumin Seed Oil Nanoemulsion Stabilized by Sodium Caseinate-Guar Gum. **PHARM**, v. 23, n. 4, 2017.

FETZER, D. L. et al. Extraction of baru (Dipteryx alata vogel) seed oil using compressed solvents technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 137, p. 23-33, 2018.

FERREIRA, B. S. et al. Comparative properties of amazonian oils obtained by different extraction methods. **Molecules**, v. 16, n. 7, p. 5875-5885, 2011.

FREIRE, P. L. L. et al. Action of silver nanoparticles towards biological systems: cytotoxicity evaluation using hen's egg test and inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 45, n. 2, p. 183-187, 2015.

FU, Li et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 345-350, 2011.

GONZÁLEZ, D. et al. The profile of bioactive substances in ten vegetable and fruit by-products from a food supply chain in Colombia. **Sustainable Production and Consumption**, v. 9, p. 37-43, 2017.

GRANATO, D.; NUNES, D. **Análises Químicas, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas: Uma Abordagem Teórico-Prática**. Elsevier Brasil, 2017.

GUO, G. et al. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Purslane Seed Oil. **Journal of Hypertension: open access**, v. 5, n. 2, 2016.

HAMEED, I. H.; COTOS, M. R. C.; HADI, M. Y. Antimicrobial, Antioxidant, Hemolytic, Anti-anxiety, and Antihypertensive activity of Passiflora species. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 10, n. 11, p. 4079-4084, 2017.

HUERTA-YÉPEZ, S.; TIRADO-RODRIGUEZ, A. B.; HANKINSON, O. Role of diets rich in omega-3 and omega-6 in the development of cancer. **Boletín Médico del Hospital Infantil de México**, 2016.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal (PAM) 2017**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>. Acesso em: 18 nov. 2018

KEHILI, M. et al. Oxidative stability of refined olive and sunflower oils supplemented with lycopene-rich oleoresin from tomato peels industrial by-product, during accelerated shelf-life storage. **Food Chemistry**, v. 246, p. 295-304, 2018.

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

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

LAI, W. T. et al. A review: Modified agricultural by-products for the development and fortification of food products and nutraceuticals. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 148-160, 2017.

LEÃO, D. P. et al. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasilense Camb.*) fruit by-products. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146-153, 2017.

LIU, S. et al. Physical and chemical analysis of *Passiflora* seeds and seed oil from China. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 59, n. 7-8, p. 706-715,

2008.

LOPEZ-VARGAS, J. H. et al. Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products. **Food Research International**, v. 51, p. 756-763, 2013.

LUQUE-GARCIA, J. L.; DE CASTRO, M. D. L. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 41-47, 2003.

MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): physical and chemical characteristics. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 1, p. 127-134, 2012.

MALLEK-AYADI, S.; BAHLOUL, N.; KECHAOU, N. Chemical composition and bioactive compounds of *Cucumis melo L.* seeds: Potential source for new trends of plant oils. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 113, p. 68-77, 2018.

MARTIN, L.; SKINNER, C.; MARRIOTT, R. J. Supercritical extraction of oil seed rape: Energetic evaluation of process scale. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 105, p. 55-59, 2015.

MARTINS, E. S. R. et al. Production and characterization of hydrogel with chia seed oil-loaded nanocapsules. **Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas**, v. 19, n. 3, p. 413-427, 2018.

MATSUI, Y. et al. Extract of passion fruit (Passiflora edulis) seed containing high amounts of piceatannol inhibits melanogenesis and promotes collagen synthesis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 20, p. 11112-11118, 2010.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 1983.

MUNTEANU, A.; ZINGG, J.-M.; AZZI, A. Anti-atherosclerotic effects of vitamin E–myth or reality?. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 8, n. 1, p. 59-76, 2004.

OLIVEIRA, D. A. et al. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by- products: Sustainable recovery and biological activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 55-62, 2016.

OLIVEIRA, R. C. et al. Effect of process variables on the oil extraction from passion fruit seeds by conventional and non-conventional techniques. **Acta Scientiarum. Technology**, v.36, p.87-91, 2014.

OLIVEIRA, R. C.; BARROS, S. T. D.; GIMENES, M. L. The extraction of passion fruit oil with green solvents. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 458-463, 2013.

ONTANÕN, I. et al. A modified commercial Gas Chromatograph for the continuous monitoring of the thermal degradation of sunflower oil and off-line Solid Phase Extraction Gas Chromatography Mass Spectrometry characterization of released volatiles. **Journal of Chromatography A**, v. 1388, p.52-59, 2015.

ORSAVOVA, J. et al. Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 6, p. 12871-12890, 2015.

PANTOJA-CHAMORRO, A. L.; HURTADO-BENAVIDES, A. M.; MARTINEZ-CORREA, H. A. Caracterización de aceite de semillas de maracuyá (*Passiflora edulis Sims.*) procedentes de residuos agroindustriales obtenido con CO2 supercrítico. **Acta Agronómica**, v. 66, n. 2, p. 178-185, 2017.

PEREIRA, M. G. et al. Effect of Extraction Process on Composition, Antioxidant and Antibacterial Activity of Oil from Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis* Var. *Flavicarpa*) Seeds. **Waste and Biomass Valorization**, p. 1-15, 2018

PEREZ-GREGORIO, R.; SIMAL-GANDARA, J. A Critical Review of Bioactive Food Components, and of their Functional Mechanisms, Biological Effects and Health Outcomes. **Current Pharmaceutical Design**, v. 23, n. 19, p. 2731-2741, 2017.

PERTUZATTI, P. B. et al. Carotenoids, tocopherols and ascorbic acid content in yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) grown under different cultivation systems. **LWT-Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 259-263, 2015.

PIOMBO, G. et al. Characterization of the seed oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*). **Oléagineux, Corps gras, Lipides**, v. 13, n. 2-3, p. 195-199, 2006.

POLICARPI, P. B. et al. Nutritional potential, chemical profile and antioxidant activity of Chichá (*Sterculia striata*) nuts and its by-products. **Food Research International**, v. 106, p. 736-744, 2018.

POPESCU, R. et al. Discrimination of vegetable oils using NMR spectroscopy and chemometrics. **Food Control**, v.48, p. 84-90, 2015.

RAMADAN, K.; NADER, S.; IBRAHIM, A. et al. Orange peel fixed oil (*Citrus sinensis "valencia"*), physiochemical properties, fatty acids profile, potential uses and the effect of environmental factors on it. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 24, n. 1, p. 91-98, 2018.

RAMPAZZO V. **Avaliação da degradação térmica de óleos vegetais por termogravimetria,cromatografia gasosa e espectroscopia de infravermelho médio.** Universidade Federal do Paraná; 2015.

RAMOS, P. M. et al. Vibrational and thermal characterization of seeds, pulp, leaves and seed oil of Rosa rubiginosa. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 51, n. 3, p. 429-439, 2016.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

REGIS, S. A.; RESENDE, E. D.; ANTONIASSI, R. Oil quality of passion fruit seeds subjected to a pulp-waste purification process. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 977- 984, 2015.

REZIG, L. et al. *Cucurbita maxima* Pumpkin Seed Oil: from the Chemical Properties to the Different Extracting Techniques. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 46, n. 2, p. 663-669, 2018.

RIPKE, V. P.; PALEZI, S.C.; NOBRE, L. R. Estudo da oxidação lipídica em óleos de sementes de chia obtidos por diferentes métodos de extração. **Unoesc & Ciência-ACET**, v. 7, n. 1, p. 69-76, 2016.

ROHAETI, E. et al. Fourier transform infrared spectroscopy combined with chemometrics for discrimination of *Curcuma longa*, *Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber cassumunar*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.137, p.1244-1249, 2015.

RUTCKEVISKI, R. et al. Thermo-Oxidative Stability Evaluation of Bullfrog (*Rana catesbeiana Shaw*) Oil. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 606, 2017.

SAMPAIO NETO, O. Z.; BATISTA, E. A. C.; DE ALMEIDA MEIRELLES, A. J. The employment of ethanol as solvent to extract Brazil nut oil. **Journal of Cleaner Production**, v. 180, p. 866-875, 2018.

SAMYOR, D.; DAS, A. B.; DEKA, S. C. Pigmented rice a potential source of bioactive compounds: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, 2017.

SÁNCHEZ, R. J. et al. Bidimensional modeling applied to oil extraction kinetics of microwave-pretreated canola seeds. **Journal of food engineering**, v. 192, p. 28-35, 2017.

SANO, S. et al. Identification of the strong vasorelaxing substance scirpusin B, a dimer of piceatannol, from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 11, p. 6209-6213, 2011.

SANTOS, O. V. et al. Quality parameters and thermogravimetric and oxidative profile of Muruci oil (*Byrsonima crassifolia L.*) obtained by supercritical CO2. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 172-179, 2018.

SANTOS, J. C. O. et al. Thermal stability and kinetic study on thermal decomposition of comercial edible oils by thermogravimetry. **Journal of Food Science**, v.67, p.1393-1398, 2002.

SCHMIDT, S.; POKORNÝ, J. Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids–a review. **Czech J Food Sci**, v. 23, n. 3, p. 93-102, 2005.

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

SILVA, A. C.; JORGE, N. Bioactive compounds of the lipid fractions of agro-industrial waste. **Food Research International**, v. 66, p. 493-500, 2014.

SILVA, R. M. et al. Chemical characterization of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) seeds. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, p. 1230-1233, 2015.

SOBHANI, A. et al. Determining the oxidative stability and quality of tiger nut (*Cyperus esculentus*) oil and its antioxidant activity during microwave heating. **Revista Española de Nutrición Humana y Dietética**, v. 22, n. 1, p. 52-63, 2018.

SODEIFIAN, G.; SAJADIAN, S. Ali.; ARDESTANI, N. S. Supercritical fluid extraction of omega-3 from *Dracocephalum kotschyi* seed oil: process optimization and oil properties. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 139-149, 2017.

STEILING, W. et al. The HET–CAM, a useful in vitro assay for assessing the eye irritation properties of cosmetic formulations and ingredients. **Toxicology *in vitro***, v. 13, n. 2, p. 375-384, 1999.

VASKOVA, H.; BUCKOVA, M. Thermal degradation of vegetable oils: spectroscopic measurement and analysis. **Procedia Engineering**, v. 100, p. 630-635, 2015.

VIGANÓ, J.; MARTINEZ, J. Trends for the application of passion fruit industrial by-products: a review on the chemical composition and extraction techniques of phytochemicals. **Food and Public Health**, v. 5, n. 5, p. 164-173, 2015.

YUAN, C. et al. Oxidation behavior of light crude oil and its SARA fractions characterized by TG and DSC techniques: differences and connections. **Energy & Fuels**, v. 32, n. 1, p. 801-808, 2017.

ZAHIR, E et al. Study of physicochemical properties of edible oil and evaluation of frying oil quality by Fourier Transform-Infrared (FT-IR) Spectroscopy. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S3870-S3876, 2017.

ZERAIK, M. L. *et al.* Maracujá: um alimento funcional? Revisão **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, p. 459–471, 2010.