

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIA DA BIOMASSA

ALSON DAVID RODRIGUES DA SILVA

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DAS SEMENTES DO FRUTO DA
GRAVIOLA (*Annona muricata* L.)**

RIO LARGO

2017

ALSON DAVID RODRIGUES DA SILVA

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DAS SEMENTES DO FRUTO DA
GRAVIOLA (*Annona muricata* L.)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Energia da Biomassa da Universidade Federal de Alagoas, para obtenção do grau de Mestre em Energia da Biomassa.

Orientador: Prof. Dr. João Inácio Soletti

RIO LARGO

2017

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

- S586e** Silva, Alson David Rodrigues da
Extração e caracterização do óleo das sementes do fruto da graviola (*annona muricata* L.) / Alson David Rodrigues da Silva. – 2017.
75 p. ; il.
- Dissertação (Mestrado em Energia da Biomassa) – Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2017.
Orientação: Prof. Dr. João Inácio Soletti
- Inclui bibliografia
1. Graviola 2. Extração de óleo - rendimento 3. *Annona muricata* L.
I. Título

CDU: 66.0

TERMO DE APROVAÇÃO

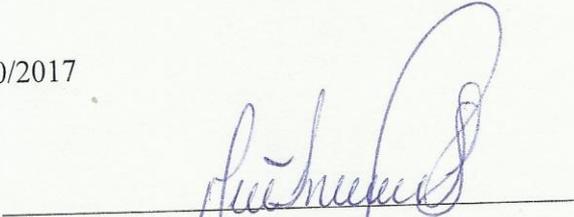
ALSON DAVID RODRIGUES DA SILVA

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DAS SEMENTES DO FRUTO DA GRAVIOLA *ANNONA MURICATA* L.

Esta dissertação foi submetida a julgamento como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre Profissional em Energia da Biomassa, outorgado pela Universidade Federal de Alagoas.

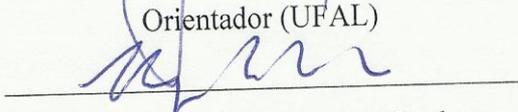
A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

Aprovado em 04/010/2017



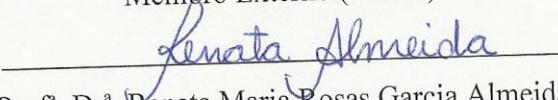
Prof. Dr. João Inácio Soletti

Orientador (UFAL)



Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart

Membro Externo (UFAL)



Profª. Drª. Renata Maria Rosas Garcia Almeida

Membro Interno (UFAL)

Rio Largo – AL

2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as bênçãos concedidas, por sua graça em minha vida e por ter me dado força, sabedoria e determinação para ultrapassar os obstáculos mais difíceis.

A minha mãe, Joalice Rodrigues, por toda paciência, incentivo, amor e apoio constante em minha vida. Você é o meu rochedo, a minha força e o meu exemplo.

Aos meus irmãos, Francisco e Jedeny, pelos momentos de descontração e alegria depois de dias exaustivos, pelo companheirismo e amor.

A meu orientador, João Inácio Soletti, pela oportunidade concedida, pelos ensinamentos transmitidos, pela paciência e por estar sempre à disposição.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Energia da Biomassa que contribuíram para minha formação acadêmica.

Aos amigos, pelo carinho, apoio e torcida. Em especial a Rafaela Gabriel, Kleber Jean, Felipe Duarte, Margarete Cabral e Maria dos Prazeres Menezes que me auxiliaram nas dificuldades.

Ao Laboratório de Sistemas de Separação e Otimização de Processos e ao Laboratório de Tecnologias de Bebidas e Alimentos da UFAL, onde foram desenvolvidas as análises.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão desse trabalho, obrigado por ajudarem a tornar esse sonho realidade!

RESUMO

As sementes dos frutos da graviola (*Annona muricata* L.) apresentam teor de óleo considerável sendo descartadas logo após o processo de beneficiamento da fruta, desperdiçando seu potencial uso como fonte energética, farmacêutica e de bioinseticida. Assim, o presente trabalho teve como objetivo extrair e caracterizar o óleo das sementes do fruto da graviola visando avaliar a eficiência da extração mecânica com uso de prensa hidráulica a pistão, da extração com uso do método Soxhlet empregando metanol e etanol como solventes e analisar as propriedades físico-químicas das amostras de óleo obtidas por esses métodos. As sementes foram expostas ao sol para secar durante 30 dias. Para as análises de teor de umidade, três frutas foram adquiridas no mercado local tendo suas sementes retiradas e postas para secar em balança de secagem. Nessas condições, o teor médio de umidade das sementes *in natura* foi de $27,87 \pm 0,45\%$. O processo de extração mecânica compreendeu o uso de 100 g de sementes trituradas, submetidas durante 90 minutos a pressões de 509; 610,8; 712,6 e 814,4 kgf/cm² as quais extraíram $4,28 \pm 0,32\%$, $7,16 \pm 0,61\%$, $10,92 \pm 0,87\%$ e $13,44 \pm 1,18\%$ de óleo respectivamente. A extração por Soxhlet utilizou extrator Buchi, modelo B-811, com metanol como solvente tendo eficiência de $18,12 \pm 0,96\%$ e $22,43 \pm 1,77\%$ para 4h e 6h de extração respectivamente. Com uso de etanol a eficiência do processo foi de $25,35 \pm 0,63\%$ para 4h de extração e $27,25 \pm 0,23\%$ para 6h. A caracterização físico-química das amostras de óleo extraída a frio (P), com metanol (SM) e com etanol (SE) mostrou: índice de acidez (mg KOH/g) de $4,10 \pm 0,58$ (P), $6,49 \pm 0,08$ (SM) e $6,49 \pm 0,4$ (SE); índice de iodo (g I₂/100g de óleo) de $87,67 \pm 0,71$ (P), $82,19 \pm 1,61$ (SM) e $59,56 \pm 3,22$ (SE); índice de saponificação de $159,6 \pm 0,58$ (P), $162,27 \pm 3,51$ (SM) e $199,2 \pm 3,00$ (SE); índice de peróxido (meq O₂/Kg) de $8,66 \pm 0,44$ (P), $9,87 \pm 0,01$ (SM) e $9,82 \pm 4,5$ (SE); densidade (g/cm³) a 20 °C de 0,9117 (P), 0,9262 (SM) e 0,9469 (SE), viscosidade (mm²/s) a 25 °C de $41,02 \pm 0,07$ (P), $105,04 \pm 1,54$ (SM) e $94,90 \pm 1,57$ (SE); e índice de refração de 1,468104 (P), 1,469098 (SM) e 1,461503 (SE). Foram identificados 11 ácidos graxos na amostra P, 9 em SM e 5 em SE. A presença de acetogeninas nas 3 amostras de óleo foi observada com utilização de ressonância magnética nuclear.

Palavras-chaves: graviola, *Annona muricata* L., extração de óleo, caracterização e rendimento.

ABSTRACT

The seeds of graviola (*Annona muricata* L.) fruits present considerable oil content and they are discarded directly after the process of the fruit processing, wasting their potential use as an energy source, pharmaceutical and bioinsecticide. The aim of the present work was to extract and characterize the seed's oil of the graviola fruit to evaluate the efficiency of the mechanical extraction using a hydraulic piston press, from the extraction using the Soxhlet method using methanol and ethanol as solvents and to analyze the Physicochemical properties of the oil samples obtained by these methods. The seeds were exposed to the sun to dry for 30 days. For the analysis of moisture content, three fruits were purchased in the local market and their seeds were removed and put to dry in a drying scale. Under these conditions, the average moisture content of the seeds in natura was $27.87 \pm 0.45\%$. The mechanical extraction process involved the use of 100 g of crushed seeds submitted for 90 minutes at pressures of 509, 610.8, 712.6 and 814.4 kgf/cm^2 which extracted $4.28 \pm 0.32\%$, $7.16 \pm 0.61\%$, 10.92 ± 0.87 and $13.44 \pm 1.18\%$ oil respectively. The extraction by Soxhlet used Buchi extractor, model B-811, with methanol as solvent having efficiency of $18.12 \pm 0.96\%$ and $22.43 \pm 1.77\%$ for 4h and 6h of extraction respectively. With ethanol use the process efficiency was $25.35 \pm 0.63\%$ for 4h of extraction and $27.25 \pm 0.23\%$ for 6h. The physical-chemical characterization of the samples of cold extracted oil (P), methanol (SM) and ethanol (SE) showed: acidity index (mg KOH /g) of 4.10 ± 0.58 (P), 6.49 ± 0.08 (SM) and 6.49 ± 0.4 (SE); Iodine content ($\text{g I}_2 / 100 \text{ g oil}$) of 87.67 ± 0.71 (P), 82.19 ± 1.61 (SM) and 59.56 ± 3.22 (SE); Saponification index of 159.6 ± 0.58 (P), 162.27 ± 3.51 (SM) and 199.2 ± 3.00 (SE); Peroxide index ($\text{meq O}_2 / \text{kg}$) of 8.66 ± 0.44 (P), 9.87 ± 0.01 (SM) and 9.82 ± 4.5 (SE); Density (g/cm^3) at 20°C of 0.9117 (P), 0.9262 (SM) and 0.9469 (SE), viscosity (mm^2/s) at 25°C of 41.02 ± 0.07 (P), 105.04 ± 1.54 (SM) and 94.90 ± 1.57 (SE); And refractive index of 1.468104 (P), 1.469098 (SM) and 1.461503 (SE). Eleven fatty acids were identified in the sample P, 9 in SM and 5 in SE. The presence of acetogenins in the 3 oil samples was observed using nuclear magnetic resonance.

Key words: graviola, *Annona muricata* L., oil extraction, characterization and yield.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1. <i>Annona muricata</i> L. | 15 |
| Figura 2. (A) Flores; (B) Frutos e (C) Sementes. | 17 |
| Figura 3. Estrutura química da acetogenina isolada Corossolona, presente nas sementes de <i>A. muricata</i> | 20 |
| Figura 4. Estrutura química da acetogenina isolada Murisolina, presente nas sementes de <i>A. muricata</i> | 20 |
| Figura 5. Prensa hidráulica | 22 |
| Figura 6. Exemplo de equipamento Soxhlet usado na extração de lipídeos de material sólido | 25 |
| Figura 7. Fluxograma para realização dos procedimentos analíticos | 28 |
| Figura 8. Balança de secagem | 30 |
| Figura 9. Aparato para extração do óleo das sementes de <i>A. muricata</i> composto de prensa hidráulica, chapa coletora e aparato de captação e aferição do óleo extraído. | 31 |
| Figura 10. (A) Cilindro utilizado para extração; (B) Pesagem da massa de sementes após o processo de prensagem | 32 |
| Figura 11. Processo de extração do óleo das sementes de <i>A. muricata</i> em extrator Soxhlet, marca Buchi® | 33 |
| Figura 12. Processo de recuperação do óleo em aparelho Soxhlet..... | 35 |
| Figura 13. (A) Viscosímetro de Ostwald e (B) banho térmico..... | 37 |
| Figura 14. Refratômetro digital | 38 |
| Figura 15. Conversão entre índice de refração e °BRIX | 39 |
| Figura 16. Densímetro digital | 40 |
| Figura 17. Sistema de refluxo montado para processamento da reação de derivatização do óleo de <i>A. muricata</i> | 48 |
| Figura 18. Teor de umidade removido das sementes <i>in natura</i> de <i>A. muricata</i> em função do tempo. | 51 |
| Figura 19. Massa real de óleo extraída de 100 g de sementes de <i>A. muricata</i> obtida em função do tempo a pressões constantes | 53 |
| Figura 20. Massa de sementes prensadas a pressão de 509 kgf/cm ² | 53 |
| Figura 21. Massa de sementes prensadas a pressão de 814,4 kgf/cm ² | 54 |

| | |
|--|----|
| Figura 22. Cromatograma dos ácidos graxos do óleo das sementes de <i>A. muricata</i> extraído com prensa hidráulica (P)..... | 60 |
| Figura 23. Cromatograma dos ácidos graxos do óleo das sementes de <i>A. muricata</i> extraído com uso de metanol (SM)..... | 60 |
| Figura 24. Cromatograma dos ácidos graxos do óleo extraído das sementes de <i>A. muricata</i> com uso de etanol (SE)..... | 61 |
| Figura 25. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída a frio, (P). | 62 |
| Figura 26. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída a frio, (P). | 63 |
| Figura 27. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com metanol, (SM)..... | 63 |
| Figura 28. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com solvente metanol (SM). | 63 |
| Figura 29. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com solvente metanol (SM). | 64 |
| Figura 30. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com solvente etanol (SE)..... | 64 |
| Figura 31. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com solvente etanol (SE)..... | 64 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Cultivo de <i>A. muricata</i> por região brasileira no ano de 2006..... | 18 |
| Tabela 2. Cultivo de <i>A. muricata</i> no Nordeste brasileiro em 2006. | 18 |
| Tabela 3. Variação do rendimento com o tempo para extração por solvente..... | 55 |
| Tabela 4. Propriedades físico-químicas do óleo das sementes de <i>A. muricata</i> extraído por diferentes métodos..... | 56 |
| Tabela 5. Média de viscosidade do óleo das sementes de <i>A. muricata</i> a diferentes temperaturas..... | 57 |
| Tabela 6. Composição dos ácidos graxos do óleo das sementes de <i>A. muricata</i> | 59 |
| Tabela 7. Compostos identificados na cromatografia em quantidades traço. | 61 |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | OBJETIVOS | 14 |
| 2.1 | OBJETIVOS GERAIS..... | 14 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 14 |
| 3 | REVISÃO DE LITERATURA..... | 15 |
| 3.1 | GÊNERO <i>ANNONA</i> , ASPECTOS GERAIS..... | 15 |
| 3.2 | <i>ANNONA MURICATA</i> L..... | 16 |
| 3.2.1 | Morfologia | 16 |
| 3.2.2 | Distribuição Geográfica..... | 17 |
| 3.2.3 | Produção de <i>A. muricata</i> no Brasil | 17 |
| 3.2.4 | Acetogeninas..... | 19 |
| 3.3 | MÉTODOS EMPREGADOS PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS..... | 21 |
| 3.3.1 | Extração Mecânica..... | 21 |
| 3.3.2 | Prensa Hidráulica..... | 22 |
| 3.3.3 | Extração por Solvente..... | 23 |
| 3.4 | ÓLEO..... | 26 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS | 28 |
| 4.1 | LOCAL DO EXPERIMENTO E DESCRIÇÃO DOS SISTEMAS..... | 28 |
| 4.2 | AMOSTRAS..... | 29 |
| 4.3 | ESTUDO DO TEOR DE UMIDADE DAS SEMENTES..... | 29 |
| 4.4 | DESCRIÇÃO DOS SISTEMAS DE EXTRAÇÃO..... | 30 |
| 4.4.1 | Extração Mecânica com uso de Prensa Hidráulica..... | 31 |
| 4.4.2 | Extração com uso de Solventes | 33 |
| 4.5 | FILTRAÇÃO DO ÓLEO DAS SEMENTES DE <i>A. MURICATA</i> | 34 |

| | | |
|--------|--|----|
| 4.6 | CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO..... | 35 |
| 4.6.1 | Viscosidade..... | 36 |
| 4.6.2 | Índice de Refração..... | 37 |
| 4.6.3 | Densidade Absoluta..... | 39 |
| 4.6.4 | Índice de Acidez..... | 40 |
| 4.6.5 | Índice de Iodo..... | 42 |
| 4.6.6 | Índice de Saponificação..... | 43 |
| 4.6.7 | Índice de Peróxido..... | 45 |
| 4.6.8 | Derivatização do Óleo das Sementes de <i>A. muricata</i> | 47 |
| 4.6.9 | Ácidos Graxos..... | 49 |
| 4.6.10 | Presença de Acetogeninas por Análise de Ressonância Magnética Nuclear..... | 49 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 51 |
| 5.1 | TEOR DE UMIDADE DAS SEMENTES..... | 51 |
| 5.2 | EXTRAÇÃO..... | 52 |
| 5.2.1 | Rendimento em Óleo na Extração com uso de Prensa Hidráulica..... | 52 |
| 5.2.2 | Rendimento em Óleo na Extração com uso de Solventes..... | 55 |
| 5.2.3 | Caracterização Físico-Química do Óleo das Sementes de <i>A. muricata</i> | 56 |
| 5.2.4 | Acetogeninas..... | 62 |
| 6 | CONCLUSÕES..... | 65 |
| 7 | SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS..... | 66 |
| 8 | BIBLIOGRAFIA..... | 67 |

1 INTRODUÇÃO

O modelo atual de manufatura energética privilegia estruturas centralizadas de produção de derivados de petróleo, petroquímicos e geração de eletricidade baseado em combustíveis fósseis. Mesmo em regiões ricas em potencial hidroelétrico, o modelo centralizado de produção elétrica ainda é privilegiado com projetos de grandes usinas. Ambos os modelos impactam negativamente o meio ambiente, seja devido à poluição atmosférica proveniente da queima dos combustíveis fósseis ou através do alagamento de grandes áreas para formação dos lagos das hidrelétricas, ao passo que ambos precisam de economia de escala para que seja economicamente viável sua implantação o que requer grandes investimentos financeiros e tecnológicos em particular para geração de energia elétrica (JANNUZZI, 2014).

A diversificação de fontes energéticas renováveis tem sido a estratégia adotada para se ampliar a oferta de energia ao passo que tal iniciativa desenvolve uma matriz energética de menor impacto ambiental e diminui a dependência de combustíveis fósseis, fonte finita de energia e notória causadora de impactos ambientais severos como, por exemplo, a emissão de Gases de Efeito Estufa (GEE's) tais como óxidos de enxofre, dióxido de carbono e monóxido de carbono que são gerados durante seu processamento e uso (SHARMA; SINGH; UPADHYAY, 2008).

A utilização da biomassa como fonte energética passa a ser uma interessante opção, seu uso para obtenção de energia minimiza os impactos ambientais decorrentes da utilização de combustíveis fósseis; é também obtida das mais variadas fontes tendo seus produtos energéticos um grande potencial para substituir o consumo de alguns combustíveis fósseis como, por exemplo, o petrodiesel, o carvão mineral e a gasolina, porém é necessário que haja grandes fontes de biomassa para uma produção contínua de energia.

A agricultura e a agroindústria associadas têm como um dos seus pontos fracos a pouca atenção do setor em geral em relação à geração de resíduos e seu posterior destino e/ou tratamento. Os resíduos de biomassa gerados nestas atividades podem impactar o meio ambiente caso não sejam tratados de modo correto. Os impactos ambientais associados a estes resíduos decorrem da grande geração em termos quantitativos e do lento processo de degradação em certos casos, e, em outros, da geração de subprodutos que podem ser tóxicos, cumulativos ou de difícil degradação. Reduzir, reciclar, ou reaproveitar os resíduos gerados

com o objetivo de recuperar matéria e energia tem por finalidade fundamental preservar os recursos naturais e evitar a degradação ambiental (MALHEIROS e JÚNIOR, 1997).

Diante disso, a utilização da biomassa residual do campo e dos processos agroindustriais para obtenção de energia é extremamente vantajosa, pois evita a competição por terras agricultáveis, são matérias primas de menor importância econômica, em sua maioria não são utilizadas para alimentação humana, são de baixo custo e amplamente encontradas no campo.

A espécie arbórea *Annona muricata* L., espécie pertencente à família Annonaceae, é originária da América Central, sendo encontrada em regiões que vão desde o nível do mar até 1.100 metros de altitude, amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais de países como Austrália, Brasil, sudeste do México, vales peruanos, Caribe Nova Zelândia, alguns países da Europa, Ásia e África (MORTON, 1966; RAMOS *et al.*, 2001; SACRAMENTO *et al.*, 2009).

Gravioleira, como é chamada no Brasil, tem fruto uma polpa comestível *in natura*, mas geralmente é utilizada para produção de sorvetes, sucos entre outros produtos. Seus frutos são bastante procurados devido a qualidades sensoriais e funcionais, pois possuem propriedades na medicina homeopática e na culinária caseira (ZACARONI *et al.*, 2014).

Devido ao fato das sementes da fruta e cascas serem descartadas logo após o processo de beneficiamento, a produção industrial de resíduos foi aumentada de forma exponencial nos últimos anos. Desta forma, torna-se necessário utilizar tecnologias de aproveitamento destes resíduos para enriquecer a alimentação, diminuir desperdícios e reduzir impacto ambiental (SOUZA *et al.*, 2011).

Desta forma, o presente trabalho pretende analisar dois processos de extração e as características físicas e químicas do óleo da semente de *Annona muricata* L. visando o aproveitamento dessa matéria prima.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Extrair e caracterizar o óleo da semente da *Annona muricata* L. visando avaliar suas propriedades.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o óleo das sementes da fruta de *A. muricata* utilizando dois métodos: prensa hidráulica e Soxhlet com uso de etanol e metanol;
- Determinar o rendimento dos métodos empregados para extração do óleo das sementes de *A. muricata*;
- Determinar a eficiência entre os solventes avaliados;
- Caracterizar as amostras de óleo extraídas por diferentes métodos de extração objetivando conhecer suas propriedades físico-químicas e comparar com os resultados encontrados na literatura.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 GÊNERO *ANNONA*, ASPECTOS GERAIS

A família *Annonaceae* possui cerca de 135 gêneros e mais de 2.500 espécies sendo a maioria das espécies adaptada ao clima tropical e subtropical onde crescem a baixa altitude. Apenas três gêneros presentes nesta família, *Annona*, *Rollinia* e *Duguetia*, produzem frutos comestíveis e destes, o gênero *Annona* é o de maior importância como fonte de frutos. (BARON, 2010; CHATROU *et al.*, 2004; CHATROU *et al.*, 2012; JOLY, 1979; NUNES *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2004).

Segundo São José *et al.*, (2014), o gênero *Annona* possui 118 espécies, sendo 108 nativas da América Tropical e 10 da África Tropical. No Brasil há catalogadas 162 espécies de árvores e arbustos do gênero *Annona* L. (CHATROU *et al.*, 2012) sendo 60 espécies encontradas com maior frequência em florestas (COSTA *et al.*, 2011). Os autores ainda citam que do gênero *Annona*, 13 espécies são produtoras de frutos comestíveis, com 9 sendo cultivadas e destas, 5 possuem importância econômica relevante com 3 se destacando no mercado: *Annona muricata*, *Annona squamosa* e *Annona cherimola*.

Algumas espécies do gênero *Annona* têm seus frutos muito consumidos no Brasil na forma *in natura* como, por exemplo, a fruta do conde (*Annona squamosa*) e a graviola (*Annona muricata* L.), Figura 1, sendo muito populares na maioria dos Estados. A graviola passou a figurar nos Estados nordestinos como uma interessante alternativa para a pequena agroindústria de polpas congeladas e de outros produtos industrializados tendo seu cultivo se expandido para outras regiões do Brasil (LEMOS, 2014).

Figura 1. *Annona muricata* L.



Fonte: <https://soursopvscancer.wordpress.com/category/annona-muricata-2/>.

3.2 *ANNONA MURICATA* L.

3.2.1 MORFOLOGIA

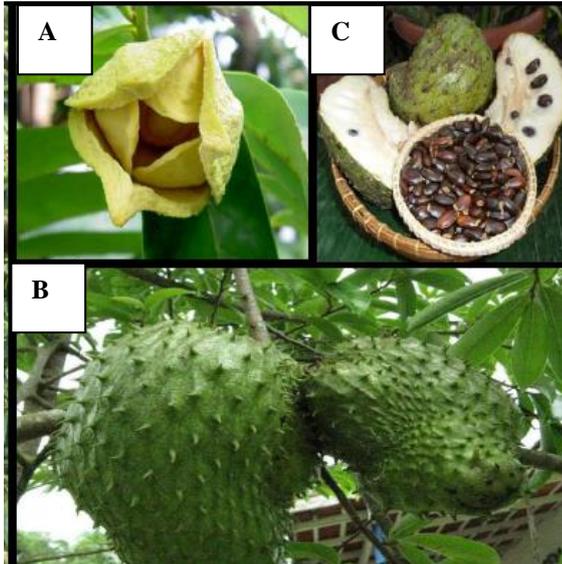
Conhecida como graviola ou gravioleira no Brasil, *A. muricata* é uma árvore de tronco com crescimento ereto, média de 4 a 8 metros de altura quando adulta e elevada relação altura/diâmetro de copa. O tronco é único e com ramificação assimétrica, Figura 1. Crescimento de frutos inicia-se entre o terceiro e quinto ano alcançando seu desenvolvimento pleno entre o sexto e o oitavo ano (FREITAS, 1997). As folhas são verdes, elípticas, com pecíolo curto, são vernicosas na página superior e com bolsas na axila das nervuras laterais na página inferior, ligeiramente tomentosas. Seu tamanho varia entre 14 e 16 centímetros de comprimento e de 5 a 7 centímetros na largura maior, com nervuras pouco perceptíveis (MOSCA *et al.*, 2006).

Suas flores são hermafroditas, Figura 2A, verde-escuras quando em crescimento passando para o verde-claro quando próximas da antese (abertura das pétalas) (PASSOS, 2001). São solitárias, com cálice de sépalas triangulares e pétalas externas grossas (BRANDÃO, 2003).

O fruto é descrito como uma baga composta, em formato ovoide, geralmente assimétrico, com comprimento entre 15 a 40 centímetros e diâmetro de 10 a 20 centímetros com peso variando de 0,4 a 10 quilos possuindo casca de coloração verde-escura quando maduro tendo sua superfície recoberta de espículas rígidas, Figura 2B. Possui polpa branca, muito aquosa e subácida. Os frutos podem conter até 490 sementes, Figura 2C, as quais são ovoides, de coloração negra quando recém retiradas dos frutos passando a uma coloração marrom clara após algum tempo. As sementes têm de 1 a 2 centímetros, peso de aproximadamente 0,60 g (BRANDÃO, 2003; MOSCA *et al.*, 2006; SACRAMENTO *et al.*, 2009).

Fatores edáficos e climáticos, como temperatura, precipitação, umidade relativa, luminosidade influenciam a época de produção, produtividade e qualidade do fruto (SACRAMENTO *et al.*, 2009).

Figura 2. (A) Flores; (B) Frutos e (C) Sementes.



Fonte: <http://www.ipa.br/novo/noticias/ipa-realiza-curso-de-enxertia-em-cha-grande>.

3.2.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Originária da América Central, a *A. muricata* é uma planta que é extensivamente disseminada por toda faixa equatorial tendo sua forma silvestre e seus cultivos distribuídos em terrenos que vão do nível do mar até altitudes superiores a 1.100 m, em regiões da África, América do Sul e Ásia (BRAGA SOBRINHO, 2010; MORTON, 1966). Há registro de amplos cultivos da planta em todos os países de clima tropical (CORRÊA, 1984) bem como em regiões de clima subtropicais da Europa, Ásia, África, Nova Zelândia e Austrália (RAMOS *et al.*, 2001; SACRAMENTO *et al.*, 2009).

No Brasil, a *A. muricata* é amplamente cultivada nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste com destaque para os Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Minas Gerais, Pará, Paraíba e Pernambuco como grandes produtores (FREITAS, 2012).

3.2.3 PRODUÇÃO DE *A. MURICATA* NO BRASIL

O cultivo da *A. muricata* embora recente é o segundo maior de uma anonácea, em área, no Brasil. Em 2006 produção brasileira da fruta, atingiu 5,5 mil toneladas, tendo a região

Nordeste contribuído com 80% desse total e a região Norte destacando-se como a segunda maior produtora como pode ser visto na Tabela 1 (LEMOS, 2014).

Tabela 1. Cultivo de *A. muricata* por região brasileira no ano de 2006.

| | Área (ha) | Área (%) | Nº Plantas em produção (x1.000) | Nº Plantas novas (x1.000) | Produção (t) |
|--------------|--------------|-------------|------------------------------------|------------------------------|-----------------|
| Brasil | 1.585 | 100 | 1.091 | 314 | 5.536 |
| Nordeste | 1.262 | 80 | 816 | 206 | 4.472 |
| Norte | 253 | 16 | 216 | 89 | 738 |
| Sudeste | 52 | 3 | 44 | 15 | 257 |
| Centro-Oeste | 18 | 1 | 13 | 3 | 69 |
| Sul | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Média | 317 | 20 | 218 | 63 | 1.107 |

Fonte: IBGE, 2009. Adaptado de LEMOS (2014).

De fato, o cultivo comercial da *A. muricata* ocorre com sucesso nas regiões litorâneas e semiáridas do Nordeste brasileiro devido à adaptabilidade da planta às condições edafoclimáticas dessas localidades (ARAÚJO FILHO *et al.*, 1998). Na Tabela 2 é possível observar a situação do cultivo no Nordeste brasileiro para o ano de 2006, o que demonstra a adaptabilidade da planta na região.

Tabela 2. Cultivo de *A. muricata* no Nordeste brasileiro em 2006.

| | Área (ha) | Área (%) | Nº Plantas em produção (x1.000) | Nº Plantas novas (x1.000) | Produção (t) |
|----------|--------------|-------------|------------------------------------|------------------------------|-----------------|
| Brasil | 1.585 | - | 1.091 | 314 | 5.536 |
| Nordeste | 1.262 | 100 | 816 | 206 | 4.472 |
| BA | 342 | 27 | 274 | 67 | 1.048 |
| PE | 333 | 26 | 243 | 73 | 1.478 |
| CE | 220 | 17 | 95 | 16 | 809 |
| AL | 148 | 12 | 101 | 34 | 531 |
| RN | 107 | 8 | 48 | 5 | 264 |
| PB | 92 | 7 | 45 | 10 | 236 |
| SE | 15 | 1 | 7 | 1 | 79 |
| PI | 4 | 0,30 | 1 | 0 | 26 |
| MA | 1 | 0,07 | 2 | 1 | 1 |
| Média | 140 | 11 | 91 | 23 | 497 |

FONTE: IBGE, 2009. Adaptado de LEMOS (2014).

Apesar da escassez de dados recentes sobre a cultura da *A. muricata*, sabe-se que seu cultivo tem crescido nos últimos anos em especial no sul da Bahia onde há condições mais favoráveis para o desenvolvimento das plantas e devido à busca de agricultores por alternativas rentáveis à lavoura cacaueteira (LEMOS, 2014). A Agência de Defesa

Agropecuária da Bahia relatou crescimento da área georreferenciada dos 342 ha no ano de 2006 para 1.300 ha no ano de 2010 (ADAB, 2010).

O rendimento da fruta na região é bastante expressivo. A produtividade média dos pomares de *A. muricata* do sul da Bahia é de 5,6T/ha, considerando apenas lavouras em produção, porém a produtividade média é significativamente elevada para 12T/ha, tendo em vista os pomares mais produtivos. Entretanto, a produção pode oscilar de 0,2 a 35 T/ha, demonstrando grande variância decorrente dos diferentes níveis tecnológicos dos produtores (FREITAS, 2012).

Já a região Sudeste tem São Paulo como maior centro de comercialização da *A. muricata*, sendo negociadas entre os anos de 2007 e 2010, em média, 241 toneladas/ano, 296 toneladas/ano em 2011 e 346 toneladas em 2012 (CEAGESP, 2013).

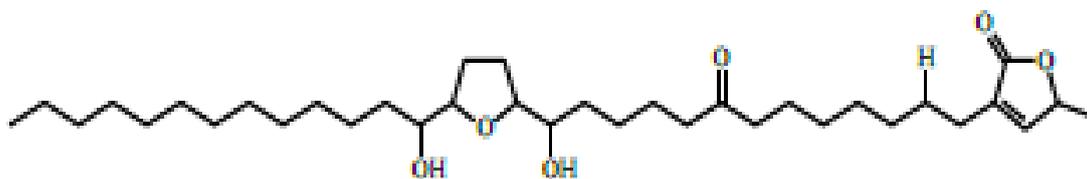
A agroindústria é o principal destino dos frutos visando à obtenção de polpa, suco, néctar, doces, produtos medicinais, cosméticos e outros. Uma quantidade importante da produção da fruta fresca é comercializada nos mercados locais (SÃO JOSÉ, 2003).

3.2.4 ACETOGENINAS

A família Anonácea tem reconhecida importância farmacológica, atuando como matéria prima de cosméticos, perfumaria, uso na medicina natural, além de apresentar atividade antimicrobiana e inseticida devido à presença de constituintes bioativos principais, as acetogeninas. Como agente inseticida, as acetogeninas atuam nas mitocôndrias, inibindo a nicotinamida-adenina-dinucleotídeo ubiquinona oxirredutase (NADH), causando a morte dos insetos (KRINSKI *et al.*, 2014; LÜMMEN, 1998; ZAFRA-POLO *et al.*, 1996). Dentre as diferentes espécies da família anonáceas com potencial inseticida a *A. muricata* é uma delas.

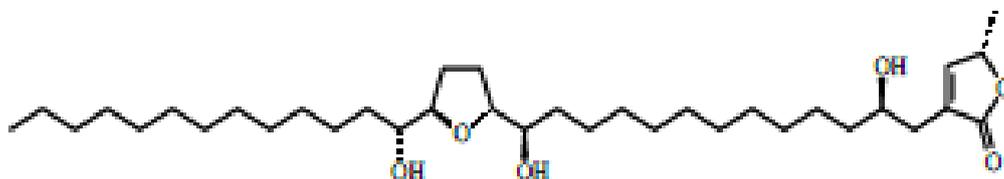
A planta *A. muricata* produz em seu metabolismo secundário uma classe de fitoquímicos bioativos como acetogeninas que estão presentes nas folhas, casca do caule, frutos e sementes (ZENG *et al.*, 1996). Essas substâncias são derivadas de ácidos graxos de cadeia longa, sendo caracterizadas por possuírem uma cadeia alifática longa, geralmente C-35 ou C-37, com a presença de hidroxilas, carbonila, acetila e um anel γ -lactona terminal, que são externamente importantes para eficácia dessas moléculas (FIGURA 3 e FIGURA 4). Se originam pela condensação de unidades do acetilCoA através da rota biossintética do acilpolimalonato (SIMÕES *et al.*, 2010).

Figura 3. Estrutura química da acetogenina isolada Corrossolona, presente nas sementes de *A. muricata*



Fonte: (VILA-NOVA et al., 2011)

Figura 4. Estrutura química da acetogenina isolada Murisolina, presente nas sementes de *A. muricata*



Fonte: (LI et al., 2008)

Os mecanismos de ação das acetogeninas resultam na inibição da produção de ATP. Devido à alta demanda de produção de ATP pelas células tumorais graças a seu intenso metabolismo, tanto para divisão celular quanto para síntese de ácidos nucleicos, é possível correlacionar a sensibilidade das linhagens de células neoplásicas para inibidores de complexo I. Dessa forma, a ativação do processo de morte celular em células tumorais através da inibição do metabolismo mitocondrial pode ser uma abordagem terapêutica promissora no tratamento do câncer com uso dessas substâncias (ALALI *et al.*, 1998; MORAES *et al.*, 2015).

A atividade antitumoral das acetogeninas já foi comprovada através de testes em algumas linhagens de células tumorais como câncer de fígado, mama, próstata e cólon mostraram atividades fortes e moderadas quando comparadas aos controles positivos e também mostraram seletividade à algumas linhagens (CHEN *et al.*, 2013; GU *et al.*, 1997; LIAW *et al.*, 2002, 2010).

Além da atividade antitumoral, testes biológicos com várias espécies de larvas e mosquitos adultos, incluindo o mosquito vetor da dengue, *Aedes aegypti*, mostraram

promissora atividade inseticida e larvicida (GRANADOS *et al.*, 2001; KRINSKI *et al.*, 2014; MOGHADAMTOUSI *et al.*, 2015).

3.3 MÉTODOS EMPREGADOS PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS

Os métodos comumente usados para extração de óleo são: Prensagem hidráulica por batelada; Prensagem mecânica contínua (expeller); e Extração por solventes, podendo haver variações ou mesmo combinações entre esses processos de acordo com uma série de fatores como, por exemplo, matéria prima utilizada, estado inicial dos grãos utilizados, tecnologias empregadas na planta de extração, viabilidade financeira, etc. Grãos de algodão, canola, girassol e coco seco, podem ser pré-prensados, como uma etapa que antecede a extração por solvente (WOERFEL, 2006). Do processo de prensagem resulta a torta, que é triturada sendo em seguida inserida no extrator por solvente. Em processos combinados de extração (prensagem + extrator por solvente), o óleo bruto obtido da prensagem é adicionado ao óleo bruto que sai da destilação da miscela na extração por solvente (CORREIA, 2009).

3.3.1 EXTRAÇÃO MECÂNICA

A extração por prensagem mecânica é um dos processos mais utilizados atualmente em indústrias que visam à extração dos óleos de sementes de frutos fazendo uso de equipamentos mais sofisticados e com maior eficiência. Hoje em dia, o processo industrial faz uso de prensas contínuas onde as sementes entram em contacto com um parafuso helicoidal, que movimentam a massa de sementes para frente. Na saída da prensa existe um cone (nozzle) de tamanho regulável, que tem por finalidade aumentar ou diminuir a abertura para a saída do material, determinando assim a pressão no interior da prensa. No final do processo, dois produtos são obtidos: o bagaço, que consiste na parte sólida resultante da prensagem das sementes e o óleo extraído, que poderá conter partículas sólidas resultantes do processo (RAMALHO; SUAREZ, 2013).

Em geral, a extração mecânica necessita que a matéria-prima passe por pré-tratamento como o despulpamento, a redução da granulometria do material e aquecimento para aumento de rendimento da extração do óleo (BRENNAN *et al.*, 1990).

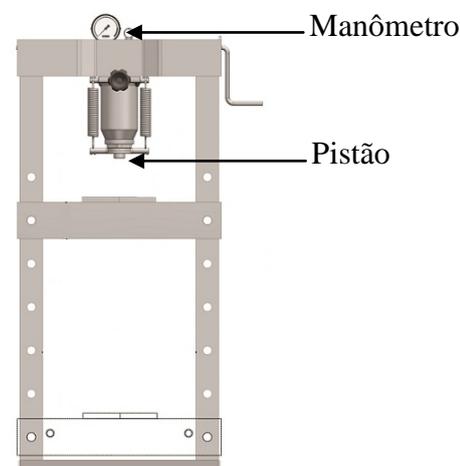
A extração por compressão é conhecida como extração a frio, como vantagem, esse método permite que o resíduo sólido obtido ao fim da operação seja utilizado na alimentação animal ou para obtenção de proteínas que podem ser utilizadas na alimentação humana (ex.: proteína de soja) para tanto, é importante que não haja desnaturação proteica e a presença de solventes deve ser evitada (MORETTO, 1998; OLIVEIRA, 2003). Esse método de extração apresenta maior segurança, simplicidade do processo, favorece a qualidade do óleo bruto e não há presença de resíduos químicos, tanto para a torta quanto no óleo (PIMENTA, 2010).

A desvantagem do processo de extração mecânica é a ineficiência do sistema, que deixa entre 8 e 14% de óleo na torta (PIGHINELLI, 2007). Carr (1997) ressalva que o uso da extração mecânica para obtenção de óleos essenciais é recomendado para matérias-primas com conteúdo lipídico (em óleo) superior a 20%.

3.3.2 PRENSA HIDRÁULICA

A prensa hidráulica, Figura 5, é constituída por um pistão, com acionamento hidráulico, que progride sobre o material contido no interior de um anel metálico ou cesto provido de orifícios onde este pistão imprime uma força de pressão sobre a massa ali contida promovendo o expurgo do óleo, em ciclos de tempo e pressões definidas (CARR, 1997; NUNES, 2013; RITTNER, 1996).

Figura 5. Prensa hidráulica



Gomes Filho (2013) em estudo da extração do óleo das sementes de chichá (*Sterculia striata*) usando prensa hidráulica com pressão de 495 kgf/cm² e variando a massa entre 100, 200, 300 e 400 gramas, identificou que as extrações realizadas com massas menores se mostraram mais eficientes, em decorrência da melhor compactação das sementes. Segundo Costa (2016) em estudo do processo de extração do óleo da macaúba (*Acrocomia intumescens*) seguindo metodologia semelhante à utilizada por Gomes Filho (2013), a diferença entre a menor pressão utilizada e a maior pressão (577,5 kgf/cm²) foi igual 28% na extração do óleo da amêndoa da macaúba, pois, devido a pressão mais elevada sobre as amostras houve uma maior compressão dos glóbulos oleaginosos, causando maior ruptura nas células e conseqüentemente a melhor extração do óleo. Experimentos realizados por Gomes Filho (2013) demonstraram que o tempo de 1 hora de extração foi o suficiente para a extração de mais 80% do óleo presente na amostra de sementes de chichá, sendo inviável o aumento do tempo de extração. Ainda segundo o autor, o aumento do volume na extração com prensa hidráulica reduz o rendimento da extração, pois, volumes muito grandes são difíceis de compactar.

3.3.3 EXTRAÇÃO POR SOLVENTE

A extração por esse método utiliza solventes com estrutura química similar ao soluto que se pretende dissolver. Assim, solventes orgânicos, que são apolares, são usados para dissolver óleos vegetais.

Segundo Bockisch (2006), um solvente ideal para a extração de óleo deve apresentar algumas propriedades básicas:

- a) Ter alta solubilidade em óleo em baixas temperaturas;
- b) Ter alta seletividade pela substância a ser extraída, no caso, os triglicerídeos;
- c) Ser inerte quimicamente, evitando reações paralelas e protegendo os equipamentos utilizados na planta;
- d) Ter baixa viscosidade e tensão de superfície para garantir boa percolação e umedecimento superficial;
- e) Ser facilmente removido do farelo e do óleo, com baixa demanda energética;
- f) Ser imiscível em água, que deve ser facilmente removida;
- g) Possuir ponto de ebulição e baixo calor de evaporação;

h) Ser pouco poluente.

Com tamanha gama de requisitos específicos a serem satisfeitos a indústria passou a adotar o hexano por ele atender a alguns desses requisitos, como ser totalmente apolar e dissolver prontamente o óleo, ter baixo calor latente de ebulição, não atacar as canalizações e o maquinário com o qual tem contato apesar de ter como desvantagens alta inflamabilidade, explosividade e toxicidade (OETTERER, REGINATO-D'ARCE, SPOTO, 2006).

A utilização do etanol (álcool etílico) como solvente para extração de óleos se deve a sua versatilidade, sendo miscível em água e em muitos compostos orgânicos. É também miscível em hidrocarbonetos alifáticos (ex.: pentano e hexano) (RAMALHO; SUAREZ, 2013).

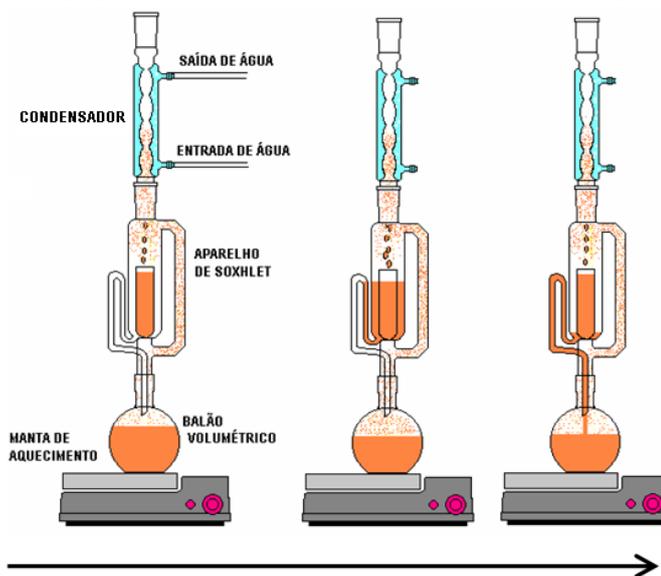
Já o metanol (álcool metílico), outro solvente que é comumente utilizado, é um álcool de cadeia curtíssima, com fórmula química (CH_3OH), encontrado na forma líquida. O metanol é principalmente um solvente industrial, pois ele dissolve alguns sais melhor do que o etanol (MARTINS *et al.*, 2013).

Antes que ocorra o processo de extração é necessário primeiramente que a matéria-prima a ser utilizada passe por tratamento prévio, a fim de reduzir sua granulometria e facilitar a penetração do solvente no material celular (MORETTO; FETT, 1998).

Durante a extração há a ocorrência de dois processos: a dissolução, que ocorre rápido e fácil, e a difusão, mais demorado e depende da mistura solvente/óleo através da parede semipermeável da célula vegetal. Logo, a velocidade de dissolução do óleo nos farelos dos grãos é inicialmente rápida, decrescendo no decurso do processo. Importante frisar que não ocorre, contudo, a extração completa do óleo. Após o processo de extração o farelo ainda guarda em torno de 0,5% a 0,6% de óleo (MANDARINO; ROESSING, 2001).

A extração com uso de solventes quentes utiliza o extrator Soxhlet para substâncias sólidas. Na extração Soxhlet padrão, o sistema permite que certa quantidade de solvente, puro, passe várias vezes na amostra formando um ciclo. Cada ciclo corresponde a uma lavagem, teoricamente total da amostra sólida (OLIVEIRA *et al.*, 2011). A Figura 6 ilustra o processo de extração por solvente com uso de equipamento Soxhlet onde o solvente é gotejado sobre a amostra de forma a retirar o óleo nela presente.

Figura 6. Exemplo de equipamento Soxhlet usado na extração de lipídeos de material sólido



Fonte: GASTALDI, 2010.

A obtenção do equilíbrio no sistema óleo-miscela-solvente é o fator que define a velocidade de extração. No entanto, o processo de difusão é mais facilitado caso a temperatura usada seja próxima ao de ebulição do solvente e a umidade do material seja apropriada (MANDARINO; ROESSING 2001).

Após a extração do conteúdo lipídico é necessário à destilação da miscela sob vácuo onde ocorre a evaporação do solvente. Nessa etapa o óleo é exposto a temperaturas mais altas que aquecem e volatilizam todo o solvente residual (CORREIA, 2009).

Embora a extração com uso de solventes orgânicos mostre alto rendimento no teor de óleo obtido, seu uso tem como principais restrições a possível contaminação ambiental, extração de compostos indesejáveis, aumentando o custo de purificação e diminuindo o rendimento dos compostos de interesse, a presença no extrato de resíduos do solvente empregado, o que reduz a qualidade do produto devido à toxicidade do solvente (MEZZOMO *et al.*, 2012).

Na busca de melhorar a eficiência do processo de extração e a obtenção de rendimentos satisfatórios em condições operacionais amenas, tecnologias menos agressivas ao meio ambiente tem impulsionado estudos envolvendo métodos alternativos, utilizando como solventes substâncias inofensivas ao meio-ambiente e à saúde humana (TIAN *et al.*, 2013). Um desses solventes em estudo é o etanol que passou a ser um substituto viável ao hexano em algumas aplicações, devido ao fato do mesmo ser um solvente não tóxico e ter grande potencial para extração de óleo sem perdas de rendimento.

3.4 ÓLEO

Segundo definição adotada por ANVISA, Resolução RDC nº 270 (2005), óleos e gorduras vegetais são produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos de espécies vegetais, podendo conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídios, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na gordura.

Adotando uma classificação mais ampla, óleos e gorduras são lipídeos em que os glicerídeos são predominantes em sua composição. Estes são constituídos pelos triglicerídeos, fosfolipídios, ceras e alcoóis graxos, compostos saponificáveis, bem como por compostos insaponificáveis, esteróis e carotenoides. Os triglicerídeos representam cerca de 95% dos lipídeos encontrados nos óleos e gorduras, são ésteres de glicerol e são produzidos pela reação de esterificação. A reação reversa é a hidrólise, que produz o glicerol e os ácidos graxos (REGITANO-D'ARCE, 2006).

Na composição dos óleos vegetais, os ácidos graxos livres assumem considerável participação na constituição das moléculas de glicerídeos e de não glicerídeos, que representam até 90% da massa total do óleo, além de ser o principal grupo reativo de uma molécula de triglicerídeo, afetando assim as características dos óleos. Esses ácidos dispõem de longa cadeia de hidrocarbonetos em um grupo terminal carboxila, que difere entre si pelo comprimento da cadeia e pelo número de duplas ligações (BRANDÃO, 2009).

A lista dos ácidos graxos naturais é superior a 1000, mas os de interesse comercial estão limitados a um menor número. Nos óleos vegetais três ácidos graxos são dominantes: palmítico, oléico, linoléico e por vezes acompanhado de ácido esteárico e pelo ácido linolênico. Os outros, que ocorrem em óleos especiais, incluem o mirístico, láurico, erúico, hexadecenóico, ácido γ -linolênico, eleostearico e isômeros, ricinoléico e vernólico (GUNSTONE, 2005).

Em ácidos graxos saturados observa-se uma organização quase cristalina das moléculas, o que aumenta as interações de Van Der Waals. Já em ácidos graxos insaturados é o estereoisomerismo que pode ser observado em suas moléculas. Os ácidos graxos saturados mais encontrados nos óleos vegetais são o ácido palmítico e esteárico (BRANDÃO, 2009). Em relação aos ácidos graxos insaturados predominantes em óleos vegetais têm-se os ácidos oléico e linoléicos como os de maior importância. Os ácidos graxos poli-insaturados estão

reunidos nas famílias ômega-3 e ômega-6. A primeira inclui o ácido α -linolênico (ALA ou C18:3n-3), o ácido eicosapentaenoico (EPA ou C20:5n-3) e o ácido docosaenoico (DHA ou C22:6n-3). Já a segunda é composta pelo ácido γ -linolênico (GLA ou C18:3n-6), ácido linoleico (LA), ácido araquidônico (ARA ou C20:4n-6) e ácido linolênico conjugado (CLA). Esta nomenclatura envolve o número de carbonos presentes na cadeia alifática, o número de ligações duplas, suas posições e configurações. O ácido linoleico é encontrado praticamente em todos os alimentos, tais como carnes, laticínios, legumes, óleos vegetais, cereais, frutas, nozes, sementes e pães. Já o γ -linolênico é produzido no corpo como um produto do metabolismo de LA, mas também pode ser encontrado em alguns óleos de plantas. O ácido mais abundante nos seres humanos é o araquidônico, presente em órgãos, músculos, tecidos e sangue, além de ter um importante papel como um lipídeo estrutural associado predominantemente com os fosfolipídios. Ainda é o principal ômega-6 presente no cérebro (BÉLIGON *et al.*, 2016).

Existem duas grandes utilizações para o óleo vegetal: alimentar e industrial. Dentro do setor industrial, tem-se mais comumente: combustível (biodiesel e bioquerosene), cosméticos, higiene e limpeza, pintura, lubrificante, farmacêutico entre outros produtos à base de óleo. O consumo de óleo vegetal no Brasil tem se intensificado com políticas públicas voltadas para inserção de biocombustíveis na matriz energética. O Governo Federal brasileiro tem incentivado o aproveitamento dos óleos vegetais como fonte de energia renovável através do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), criado por Decreto Lei em 23 de dezembro de 2003 e complementado pela Lei nº 11.097 de 13 de janeiro de 2005 (NUNES, 2013).

No caso das sementes da *A. muricata* rotineiramente descartadas na indústria alimentícia, existe a alternativa de extração do óleo para o emprego inovador na síntese do biodiesel (ALBURQUERQUE, 2014). Segundo Albuquerque (2014), existe a viabilidade na produção de ésteres etílicos de óleo das sementes de *A. muricata* via transesterificação por catálise básica, com alta porcentagem de conversão obtida (máxima de 94,99%), devido à otimização do processo, sendo uma alternativa rentável economicamente para produção de biocombustíveis. Estudo conduzido por (MARCIEL *et al.*, 2015) avaliou a utilização de extratos das sementes de *A. muricata* obtidos por etanol, água e hexano para controle do ácaro *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). O autor relata a maior toxicidade do extrato etanólico (CL50 em torno de 1,77 mg/ml) seguido dos extratos hexânico e aquoso, CL50 3,29 e 151,74 mg/ml respectivamente, demonstrando a viabilidade da utilização desse óleo em aplicações que vão da energética até a de controle de pragas.

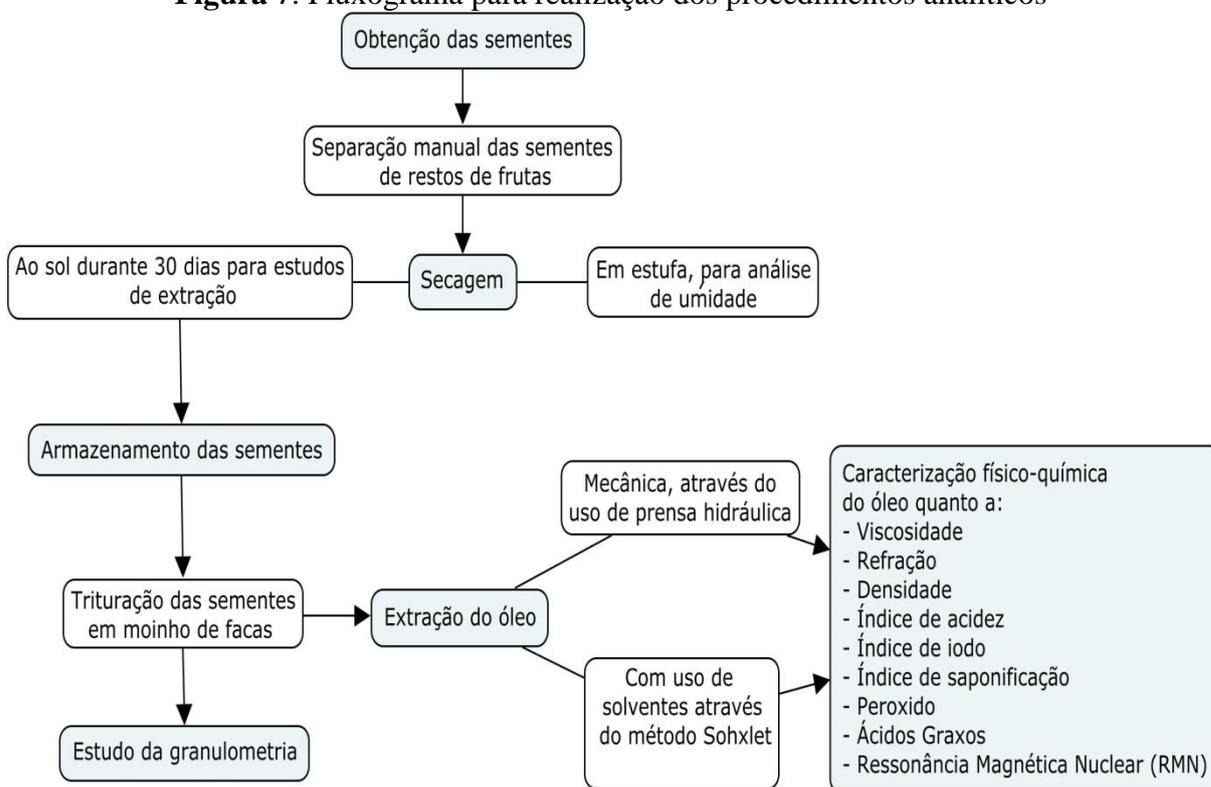
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E DESCRIÇÃO DOS SISTEMAS

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Sistemas de Separação e Otimização de Processos (LASSOP), Campus A. C. Simões da Universidade Federal de Alagoas.

A metodologia desenvolvida neste trabalho consistiu na extração do óleo das sementes de *A. muricata* através de dois métodos de extração sendo um mecânico, com a utilização de prensa hidráulica, e o segundo através do método Soxhlet com o uso de dois solventes, metanol e etanol anidro. As amostras obtidas por cada um dos métodos foram caracterizadas pelos seguintes parâmetros: índice de acidez, viscosidade, índice de peróxido, refração, saponificação, ácidos graxos e densidade. O fluxograma das etapas seguidas para realização dos procedimentos analíticos está ilustrado na Figura 7.

Figura 7. Fluxograma para realização dos procedimentos analíticos



4.2 AMOSTRAS

As sementes de *A. muricata* foram obtidas em uma fábrica de sorvete localizada no município de Maceió-AL, misturadas a restos de frutas, cascas e polpa. Para prosseguir os trabalhos as sementes precisaram passar por um processo de limpeza que consistiu na separação manual dos restos das frutas, sendo em seguida lavadas em água corrente e postas para secar ao sol por um período de 30 dias para retirada de sua umidade. Após esta etapa foram armazenadas para posterior trituração e extração do óleo nos experimentos de prensagem e extração química pelo método Soxhlet, sendo que neste último foram utilizados como solventes o metanol P.A. absoluto (99,8%) e etanol P.A. absoluto (99,5%).

4.3 ESTUDO DO TEOR DE UMIDADE DAS SEMENTES

A determinação do teor de umidade das sementes seguiu o método padrão de estufa adaptado das Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O procedimento consistiu na pesagem de aproximadamente 10 g de sementes intactas e frescas em recipiente previamente tarado que foram levadas a estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas. Em seguida a amostra foi retirada da estufa e deixada em dessecador até atingir temperatura ambiente. Logo após a amostra foi pesada e os valores de sua massa foram anotados. O experimento foi realizado em triplicata e o teor de umidade pôde então ser obtido através da média aritmética dos valores obtidos da Equação 1.

$$U(\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde,

M_i é a massa inicial de sementes em gramas;

M_f é a massa final de sementes pós estufa, em gramas;

U é a porcentagem referente à umidade das sementes.

Seguiu-se também a determinação da curva de secagem das sementes com a utilização de balança de secagem da marca Marconi®, modelo ID 50, Figura 8.

Figura 8. Balança de secagem



Fonte: Autor, 2016.

O método consistiu na pesagem de aproximadamente 10 g de sementes intactas e frescas. A temperatura da balança foi ajustada para $105 \pm 1^\circ\text{C}$ e os valores de massa foram anotados em intervalos regulares de 3 minutos até a massa se manter constante. Este experimento foi realizado em triplicata.

4.4 DESCRIÇÃO DOS SISTEMAS DE EXTRAÇÃO

Para extração do óleo serão comparados dois sistemas: extração mecânica por prensa hidráulica e extração por solvente utilizando o método Soxhlet.

O estudo do processo de extração do conteúdo lipídico das sementes de *A. muricata* visou à comparação de dois sistemas sendo o primeiro caracterizado por utilização de prensa hidráulica e o segundo sistema de extração é por uso de solventes em equipamento Soxhlet, onde foi utilizado metanol e etanol como solvente para extração do óleo das sementes.

4.4.1 EXTRAÇÃO MECÂNICA COM USO DE PRENSA HIDRÁULICA

Este experimento teve como objetivo identificar qual o rendimento do conteúdo lipídico para pressões previamente determinadas em um intervalo de tempo fixado e determinar o rendimento lipídico até o completo encerramento do escoamento do óleo da massa de sementes prensadas de acordo com metodologia adaptada de Andrade, *et al.*, (2015).

As sementes de *A. muricata*, secas ao sol, passaram por processo de trituração em moinho de facas com abertura de peneira de 0,47 mm. O aparato para extração consistiu em prensa hidráulica com capacidade operacional de 15 toneladas na qual foi montada placa metálica coletora do óleo por onde este escoava para um béquer, previamente tarado, posicionado sobre uma balança que tinha por função aferir a massa de óleo escoada das sementes prensadas. Todo o aparato pode ser visto na Figura 9.

Figura 9. Aparato para extração do óleo das sementes de *A. muricata* composto de prensa hidráulica, chapa coletora e aparato de captação e aferição do óleo extraído.



Fonte: Autor, 2017

O processo de extração foi realizado em triplicata para as pressões de 509; 610,8; 712,6 e 814,4 kgf/cm² sendo preestabelecido tempo de 90 minutos onde era tomada nota do valor da massa de óleo escoada em intervalos regulares de 5 minutos o que permitiu a confecção da curva de extração do óleo das sementes. A pressão de 763,5 kgf/cm² foi

escolhida para extração de longa duração, onde o tempo de operação do sistema era desconhecido, o valor da massa de óleo e a massa da torta foram tomados após a total parada do escoamento. Para a extração em prensa foram utilizados 100 g de sementes trituradas, acondicionadas em cilindro metálico com diâmetro interno de 9,9 cm e altura de 4 cm, Figura 10A, preenchendo a totalidade do volume interno do mesmo.

Os cálculos seguiram metodologia adotada por Andrade *et al*, (2015), adaptada. A determinação do rendimento do óleo extraído foi obtida em relação à massa de sementes secas utilizadas na extração. A torta das sementes prensadas foi retirada do cilindro e imediatamente pesada como mostrado na Figura 10B.

Figura 10. (A) Cilindro utilizado para extração; (B) Pesagem da massa de sementes após o processo de prensagem



Fonte: Autor

Para o rendimento em óleo extraído foi utilizado a Equação 2.

$$R(\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde,

R é o rendimento em óleo extraído em porcentagem;

M_i é a massa de sementes inicial, em gramas;

M_f é a massa de sementes após a extração, em gramas.

Para cálculo de perdas de óleo no equipamento será utilizada a Equação 3.

$$P = M_i - M_f - M_o \quad (\text{Equação 3})$$

Onde,

P é a massa de óleo não recuperada no equipamento, em gramas;

M_o é a massa de óleo recuperado no béquer, em gramas.

4.4.2 EXTRAÇÃO COM USO DE SOLVENTES

A extração com uso de solventes em aparelho Soxhlet, Figura 10, visou determinar qual entre os dois solventes escolhidos tinha melhor eficiência na extração do conteúdo lipídico das sementes bem como determinar o tempo de extração necessário para a remoção da fração de óleo.

Figura 11. Processo de extração do óleo das sementes de *A. muricata* em extrator Soxhlet, marca Buchi®



Fonte: Autor, 2017.

O processo de extração em aparelho Soxhlet é frequentemente usado para extração sólido-líquido onde o solvente é gotejado sobre a amostra, carreando a porção lipídica já

dissolvida até um balão onde há maior concentração de solvente. O equipamento Soxhlet utiliza o refluxo do solvente em um processo intermitente.

De forma a isentar as sementes de *A. muricata* de traços residuais de umidade, depois de trituradas em moinho de facas com abertura de peneira de 0,47 mm, as sementes foram postas para secar em estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 24 horas.

O teor de óleo das amostras foi determinado utilizando o método de Soxhlet, adaptado de Andrade (2014). A extração por solvente foi realizada em extrator Soxhlet, marca Buchi®, em tempos pré-estabelecidos de 4 e 6 horas para ambos os solventes utilizados. A massa de sementes trituradas foi de 3 g condicionados em cartuchos de papel filtro. O conjunto cartucho + sementes teve então sua massa registrada antes e depois do processo de extração sendo que neste último, o conjunto cartucho + sementes, levado à estufa para completa evaporação do solvente.

O cálculo da massa de óleo extraída pelo método Soxhlet foi realizado utilizando a Equação 4.

$$M_o = M_{c,i} - M_{c,f} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde,

M_o é a massa de óleo extraída, em gramas;

$M_{c,i}$ é a massa do conjunto cartucho + sementes antes da extração, em gramas;

$M_{c,f}$ é a massa do conjunto cartucho + sementes após a extração, em gramas.

4.5 FILTRAÇÃO DO ÓLEO DAS SEMENTES DE *A. MURICATA*

Observou-se que após a extração do óleo com uso de prensa hidráulica que alguns resíduos sólidos se acumulavam nas amostras coletadas. Para isentar as amostras dessas impurezas, os óleos obtidos nas extrações mecânicas passaram por um processo de filtração a vácuo, com uso de papel filtro.

4.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO

Todo o óleo obtido durante os processos de prensagem e de extração com uso de solvente foi recolhido e armazenado separadamente em frascos de vidro âmbar, sendo acondicionado em refrigerador a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para caracterização físico-química todo o óleo obtido do processo de prensagem foi misturado e homogeneizado sendo logo após essa etapa, filtrado em papel filtro.

Os óleos obtidos por extração química foram recuperados por meio da separação dos alcoóis utilizados através do próprio equipamento. Para isso o extrator Soxhlet da marca Buchi® conta com programação própria onde a temperatura do recipiente que contém a mistura óleo-álcool é elevada até o ponto de evaporação do solvente usado. O solvente então é acumulado na parte superior do equipamento enquanto o óleo permanece no recipiente inferior, Figura 12. Após essa etapa os óleos foram armazenados em refrigerador a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Figura 12. Processo de recuperação do óleo em aparelho Soxhlet.



Fonte: Autor, 2016

Essas três amostras de óleo foram analisadas quanto aos aspectos físico-químicos: viscosidade, densidade relativa, índice de saponificação, índice de acidez, umidade e ácidos graxos.

4.6.1 VISCOSIDADE

A viscosidade de um fluído pode ser medida por meio de viscosímetros, aparelhos onde o fluído escoava através de um orifício de pequeno diâmetro determinando-se o tempo do escoamento por completo.

Ocorre devido a interações entre moléculas de um fluído (líquido ou gasoso) ocasionando assim atrito interno. Em líquidos o coeficiente da viscosidade decresce com o aumento de temperatura.

Para os cálculos que envolvem a seleção de equipamentos e o dimensionamento de bombas e tubulações o conhecimento da viscosidade é essencial e de fundamental importância. O efetivo controle de processos e a garantia de qualidade do produto final estão intimamente ligados ao conhecimento da viscosidade dos óleos (CANCIAM, 2010). Além disso, em óleos e gorduras o aumento da viscosidade está relacionado com a presença de compostos resultantes da oxidação (BORGIO, 2005).

A viscosidade cinemática foi determinada de acordo com a norma ASTM D445 (2006).

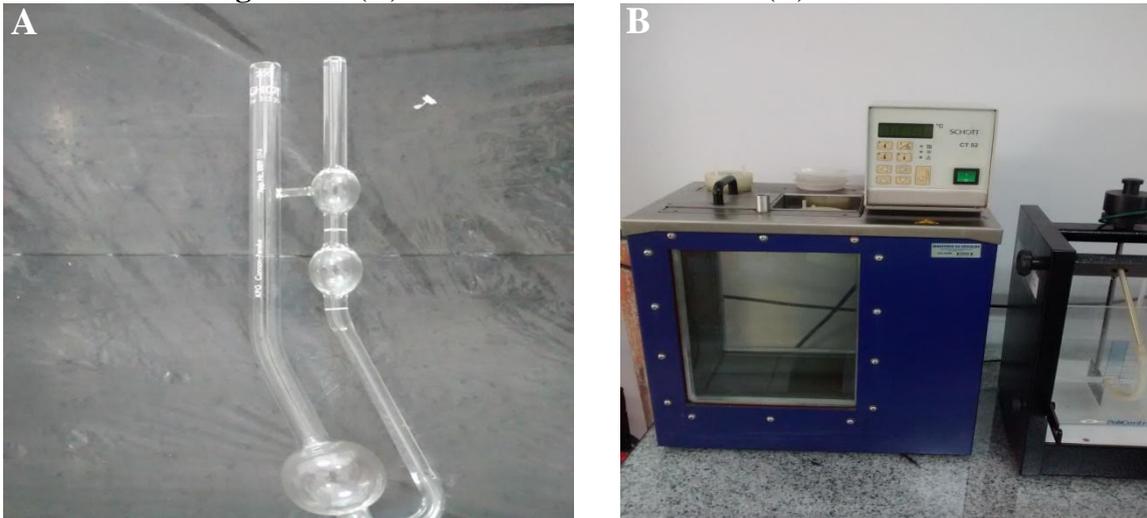
Materiais

- Viscosímetro de Ostwald;
- Banho térmico;
- Cronômetro.

Procedimento

Foram utilizados 8mL das amostras de óleo das sementes de *A. muricata* adicionados ao viscosímetro de Ostwald, Figura 13A. Após essa etapa o viscosímetro foi imerso em banho térmico, Figura 13B, e aguardado 10 minutos até que o conjunto atingisse o equilíbrio térmico. O tempo (t) necessário para o escoamento do óleo entre o 1º e o 2º menisco do capilar foi cronometrado em segundos. A análise foi realizada em triplicata.

Figura 13. (A) Viscosímetro de Ostwald e (B) banho térmico.



Fonte: Autor, 2017.

Cálculo

Para o cálculo da viscosidade foi realizada a média aritmética dos três tempos (\bar{T}) e esta foi multiplicada pela constante do viscosímetro (κ).

$$v = \kappa \times \bar{T} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde,

v é a viscosidade cinemática (g/cm^3);

K é a constante do viscosímetro, que neste caso foi de $0,08902 \text{ mm}^2/\text{s}^2$;

\bar{T} é a média dos tempos (s).

4.6.2 ÍNDICE DE REFRAÇÃO

Óleos sofrem deterioração devido à oxidação que ocorre quando o oxigênio atmosférico é dissolvido no óleo reagindo assim com os ácidos graxos insaturados, que são tanto mais reativos quanto maior o número de insaturações em suas cadeias.

Os métodos mais utilizados para verificar os níveis de oxidação do óleo são o índice de peróxido e o índice de refração.

O índice de refração é característico para cada tipo de óleo, dentro de certos limites. Está relacionado com o grau de saturação das ligações, mas é afetado por outros fatores tais como teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico (LUTZ, 2008).

Para a medição do índice de refração foi utilizado refratômetro digital. Este aparelho identifica tanto o índice de refração de uma substância quanto o percentual de Brix (símbolo °Bx). Com valor de Brix pode-se calcular o valor de índice de refração (RIBEIRO, 2010).

Para determinação do índice de refração foi utilizada a norma do Instituto Adolf Lutz (LUTZ, 2008) adaptada.

Equipamento

Foi utilizado refratômetro HANNA, modelo HI 96801 com correção automática de temperatura (Figura 14).

Figura 14. Refratômetro digital



Fonte: Hanna Instruments

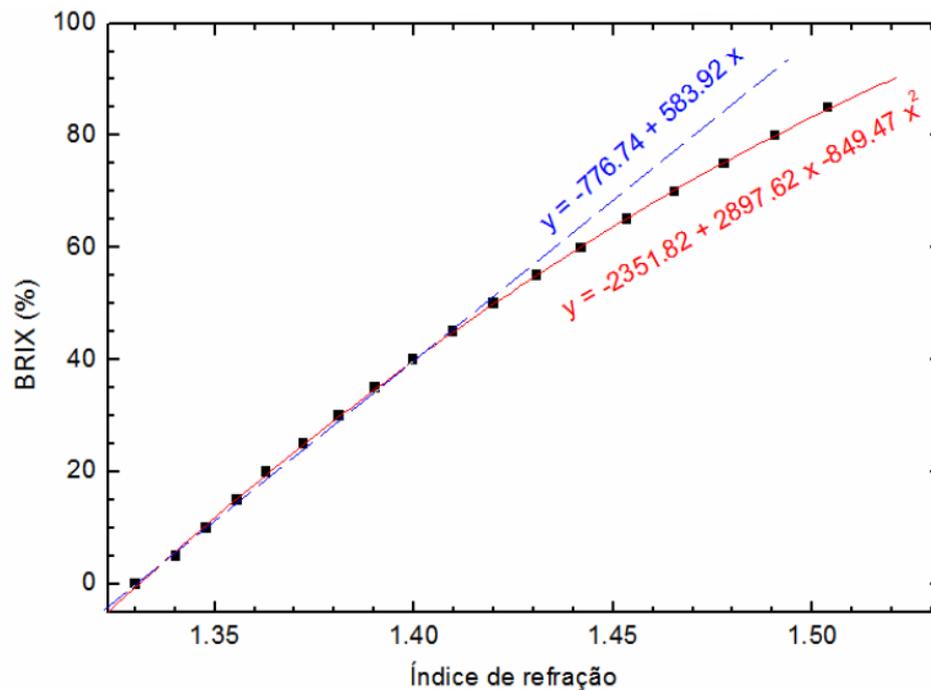
Procedimento

O refratômetro foi previamente calibrado com água destilada. Após estabilização do equipamento foram colocadas 2 gotas das amostras sobre o seu prisma. Esperou-se entre 1 e 2 minutos até que a amostra atingisse a temperatura do aparelho e logo após essa etapa procedeu-se a leitura do Brix.

Cálculo

Para a conversão entre o valor Brix e índice de refração foi utilizada a seguinte relação:

Figura 15. Conversão entre índice de refração e °BRIX



Fonte: Adaptado de http://www.omega.com/Green/pdf/REF_Refrac_Value.pdf

4.6.3 DENSIDADE ABSOLUTA

A densidade absoluta é a razão entre a massa e o volume de um determinado material sendo esta uma característica específica deste material. Na indústria ela é um dos métodos para se averiguar adulterações como contaminantes ou substâncias dissolvidas no óleo utilizado no processo. A densidade absoluta foi determinada segundo norma ASTM-D 4052 (2011).

Equipamentos

- Densímetro digital da MRC, modelo DA-130N (Figura 15);
- Chapa aquecedora com banho.

Procedimento

As amostras de óleo foram acondicionadas em frasco de vidro cor âmbar e resfriadas em banho termostático até atingir a temperatura de 20°C. Após a estabilização da temperatura, as amostras de óleo foram analisadas no densímetro digital e o valor da densidade lido diretamente no visor do aparelho. O procedimento foi realizado em triplicata.

Figura 16. Densímetro digital



Fonte: Autor, 2016

4.6.4 ÍNDICE DE ACIDEZ

A determinação da acidez fornece um dado importante na avaliação do estado de conservação do óleo. Devido a processos de decomposição como, por exemplo, hidrólise, oxidação ou fermentação, as propriedades do óleo relativas à concentração de íons de hidrogênio quase sempre são alteradas. A decomposição dos glicerídeos é por sua vez acelerada na presença de luz, sendo a rancidez, deterioração do óleo, quase sempre acompanhada pela formação de ácidos graxos livres (LUTZ, 2008).

A metodologia para determinação do índice de acidez foi realizada segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2008) para análise de óleo e gorduras.

Reagentes

- Solução 2:1 de éter de petróleo e álcool P.A.;
- Solução de Fenolftaleína a 1%;
- Solução de hidróxido de sódio a 0,1 M.

Procedimento

A metodologia consistiu da pesagem de 2 gramas de cada amostra de óleo em frasco erlenmeyer de 125 mL. Foram adicionados a estes 25 mL de solução éter-álcool (2:1) e duas gotas de solução indicadora de fenolftaleína. Após agitação e homogeneização das amostras houve início a titulação com hidróxido de sódio a 0,1 M até o aparecimento da cor rosa. O experimento foi realizado em triplicata para todas as amostras.

Cálculos

O índice de acidez pode então ser calculado através da Equação 6 (LUTZ, 2008).

$$I.A. = \frac{V \times f_{NaOH} \times 5,61}{M} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde,

I.A. é o índice de acidez;

V é o volume de hidróxido de sódio a 0,1M gasto na titulação;

f_{NaOH} é o fator da solução de hidróxido de sódio;

M é a massa, em gramas, da amostra.

4.6.5 ÍNDICE DE IODO

O índice de iodo de um óleo ou gordura é a medida do seu grau de insaturação dos ácidos graxos presentes e é expresso em termos do número de centigramas de iodo absorvido por grama da amostra, porcentagem de iodo absorvido, (LUTZ, 2008).

Para cada óleo existe um intervalo de tempo característico do valor do índice de iodo esperado. O método a ser empregado para determinação deste valor está relacionado índice de iodo (RIBEIRO, 2010). É através dele que se podem verificar adulterações no óleo ou gordura, controlar o processo de hidrogenação, determinar o teor de ácidos graxos insaturados e efetuar a medida da suscetibilidade à rancidez oxidativa.

A análise de índice de iodo das amostras de óleo foi realizada de acordo com metodologia adaptada das Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2008).

Reagentes

- Clorofórmio;
- Solução de Wijs;
- Solução de Iodeto de Potássio 15% m/v;
- Solução de indicador de amido a 1% m/v;
- Solução de tiosulfato de sódio a 0,1M padronizado.

Procedimento

A amostra foi filtrada em papel filtro para retenção de impurezas sólidas e traços de umidade residual.

Em três Erlenmeyers de 250 mL foram pesados 0,25 g da amostra filtrada de óleo.

Em seguida, foram adicionados 20 mL de clorofórmio aos Erlenmeyers seguido de agitação a fim de solubilizar a amostra de óleo.

Com auxílio de pipeta volumétrica foram acrescentados aos Erlenmeyers 25 mL de solução de Wijs sendo em seguida os Erlenmeyers fechados com rolhas de silicone, agitados

até que houvesse homogeneização da mistura e foram deixados em descanso ao abrigo da luz por período de 30 minutos.

Findo o tempo, foram adicionados 10 mL de iodeto de potássio a 15% e 100 mL de água destilada e procedeu-se a titulação com solução de tiosulfato de sódio 0,1 M e agitação manual até o aparecimento de uma fraca coloração amarela. Após essa etapa, foram adicionados 2 mL de solução indicadora de amido a 1% retornando em seguida a titulação até o desaparecimento da cor azul. O processo foi repetido para as três amostras de óleo.

Uma prova em branco (sem óleo) foi preparada nas mesmas condições descritas acima.

Cálculos

Para se calcular o índice de iodo nas amostras de óleo foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{I.I.} = \frac{(V_b + V_a) \times M \times 12,69}{P} \quad (\text{Equação 7})$$

Onde,

I.I. é o índice de iodo;

V_b é volume gasto na titulação do branco (mL);

V_a é o volume gasto na titulação da amostra (mL);

M é a molaridade da solução de tiosulfato de sódio;

P é a massa da amostra (g).

4.6.6 ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO

O índice de saponificação é a quantidade de álcali necessário para saponificar uma quantidade definida de amostra. É expresso em número de miligramas de hidróxido de

potássio necessário para saponificar um grama de amostra. Durante o processo de saponificação há formação de sabão.

O valor obtido de forma indireta indica a quantidade em peso de ácidos graxos, obtidos após a saponificação da amostra.

Reagentes

- Solução de ácido clorídrico 0,5 M;
- Hidróxido de potássio;
- Solução de fenolftaleína a 1%;
- Solução alcoólica de hidróxido de potássio a 4% m/v.

Procedimento

A análise para determinação do índice de saponificação das amostras de óleo foi realizada de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2008). Para esta análise foram pesados aproximadamente 5 gramas de óleo de cada amostra em erlenmeyers previamente tarados. Foram adicionados a estes 50 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH) a 4% procedendo-se, em seguida, com a agitação até dissolução dos óleos.

Os erlenmeyers foram então colocados em banho termostático sobre chapa aquecedora com agitação magnética e conectado a um condensador. As amostras foram então aquecidas e mantidas sobre agitação durante aproximadamente 1 hora. Após este período os erlenmeyers foram desconectados dos condensadores, fechados com rolha de silicone e deixados para resfriar a temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado 1 mL de solução de fenolftaleína a cada erlenmeyer e realizada a titulação com solução padronizada de ácido clorídrico a 0,5 M até o completo desaparecimento da cor rosa. Foi preparado um branco (sem óleo) sobre iguais condições das amostras de óleo. Os volumes de ácido clorídrico gastos na titulação das amostras de óleo e do branco foram registrados.

O índice de saponificação foi então determinado pela Equação 8.

$$\text{I.S.} = \frac{28,05 \times f_{\text{HCl}} \times (V_B + V_A)}{M} \quad (\text{Equação 8})$$

Onde,

I.S. é o índice de Saponificação;

f_{HCl} é o fator da solução de HCl a 5 M;

V_B é o volume gasto na titulação do branco (mL);

V_A é o volume gasto na titulação da amostra (mL);

M é a massa da amostra (g).

4.6.7 ÍNDICE DE PERÓXIDO

É o indicador que caracteriza a rancidez oxidativa que por sua vez é a auto-oxidação dos acilgliceróis com ácidos graxos insaturados por oxigênio atmosférico. O índice de peróxido indica o grau de oxidação do óleo e sua presença é o indício de que a deterioração do sabor e odor, em função de sua estabilidade, está iniciando. Quando sua concentração atinge determinado patamar há a ocorrência de mudanças complexas, com formação de compostos de baixo peso moleculares oriundos de sua degradação como, por exemplo, aldeídos cetonas, ácidos, álcoois e hidrocarbonetos (ARAÚJO, 2008; MORETTO; FETT, 1998).

A análise de índice de peróxido das amostras de óleo foi realizada de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2008).

Reagentes

- Solução de ácido acético-clorofórmio (3:2) v/v;
- Solução de tiosulfato de sódio a 0,01 M;
- Solução de indicador de amido a 1% m/v;
- Solução de iodeto de potássio 70% m/v.

Procedimento

Foram pesados 2,5 gramas da amostra de óleo em três frascos Erlenmeyers de 125 mL sendo logo em seguida adicionado, com ajuda de proveta, 15 mL de solução de ácido acético-clorofórmio 3:2 procedendo-se com agitação manual vigorosa até a completa dissolução da amostra.

Com o auxílio de uma pipeta automática foram adicionados 0,25 mL de solução saturada de iodeto de potássio com homogeneização da amostra e esta foi posta em repouso ao abrigo da luz por um minuto. Após o repouso, foram acrescentados 15 mL de água destilada seguindo-se de titulação com solução de tiosulfato de sódio a 0,01 M sobre constante agitação até completo desaparecimento da coloração amarela.

Foram adicionados 0,5 mL de solução indicadora de amido e procedeu-se com a titulação até o completo desaparecimento da coloração azul.

Este procedimento foi replicado para as três amostras de óleo e uma prova em branco (sem óleo) foi feita seguindo as mesmas condições das amostras.

Cálculo

Para se calcular o índice de peróxido nas amostras de óleo foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{I.P.} = \frac{1000 \times M \times f \times (A - B)}{P} \quad (\text{Equação 9})$$

Onde,

A é o volume (em mL) da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação da amostra;

B é o volume (em mL) da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação da prova em branco;

M é a molaridade da solução de tiosulfato de sódio;

f é o fator da solução de tiosulfato de sódio;

P é a massa, em gramas, da amostra.

4.6.8 DERIVATIZAÇÃO DO ÓLEO DAS SEMENTES DE *A. MURICATA*

Cromatografia gasosa é a técnica de análise onde uma amostra de uma substância complexa é vaporizada e introduzida em um fluxo de gás (gás de arraste). Essa mistura (gás de arraste + amostra vaporizada) passa então por uma coluna de enchimento (coluna cromatográfica) através da qual os componentes da amostra se deslocam a velocidades diferentes ocorrendo assim o fracionamento (quebra) da amostra vaporizada dando origem a substâncias químicas mais simples. À medida que cada substância simples sai da coluna, é detectada e identificada.

Os requisitos para separação e análise de compostos utilizando a cromatografia gasosa são a volatilidade e a estabilidade térmica.

Para análise de muitos compostos que não apresentam estas características, como os ácidos graxos, é necessário que se proceda uma derivatização, pois eles apresentam baixa volatilidade, são termolábeis produzindo cromatogramas de difícil interpretação devido aos múltiplos picos e a não separação de seus estereoisômeros (WELLS, 1999; SCHUMMER *et al.*, 2009; KOUREMENOS *et al.*, 2010). Além de fornecer condições para análise por cromatografia gasosa a derivatização diminui a polaridade dos compostos e aumenta a sensibilidade e seletividade do detector para os analitos de interesse (WELLS, 1999; SHAREEF; ANGOVE & WELLS, 2006; SCHUMMER *et al.*, 2009; KOUREMENOS *et al.*, 2010).

O processo de derivatização do óleo de *A. muricata* seguiu metodologia adotada por Freitas (2013).

Reagentes

- Metanol;
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado;
- NaCl à 20% (m/v);
- Éter etílico;

- Vermelho de metila;
- Água destilada.

Procedimento

Em um balão de vidro (50 mL) de fundo redondo foi pesado aproximadamente, 0,5 gramas de óleo das sementes de *A. muricata*. Em seguida, foram adicionados 10 mL de álcool metílico e sobre agitação manual vigorosa, 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado e agitador magnético (peixinho).

O balão foi acoplado ao condensador de refluxo e o conjunto posto em banho térmico de água onde o aquecimento era controlado por chapa de aquecedora contendo controle automático de temperatura e agitação magnética.

A reação foi mantida em refluxo por 2 horas com temperatura de aproximadamente 65 °C. Após as 2 horas de reação o sistema (Figura 17) foi desligado.

Figura 17. Sistema de refluxo montado para processamento da reação de derivatização do óleo de *A. muricata*.



Fonte: Autor (2017)

Após resfriamento a temperatura ambiente, a amostra foi transferida para um funil de separação com 10 mL de solução de NaCl à 20%. Foram adicionados posteriormente 10 mL de éter etílico sendo em seguida o funil agitado manualmente e posto em repouso aguardando-se até a separação da fase orgânica da fase aquosa. Esse processo de separação foi repetido por mais duas vezes. A fase orgânica foi lavada adicionando-se 15 mL de água destilada

tantas vezes quanto necessário até a remoção de toda acidez da amostra que foi assinalada quando o indicador vermelho de metila passou de vermelho para laranja.

4.6.9 ÁCIDOS GRAXOS

Os ésteres de ácidos graxos foram analisados em um cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa modelo QP2010 Ultra da marca Shimadzu com quadropolo de analisador de massa utilizando uma coluna capilar DB-05 (Polidimetil-siloxano 95% / 5% Fenil) de 30 m de comprimento, com 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura do filme.

Procedimento

Os ácidos graxos do óleo presentes na amostra de óleo foram determinados por meio de cromatografia gasosa, utilizando um cromatógrafo Shimadzu GC-17A, equipado com um espectrômetro de detector de massa (Shimadzu GC-QP2010 Ultra). Foi injetado 1 microlitro de amostra no modo split com a razão de 1/50, a temperatura do injetor foi de 250 °C, a temperatura da coluna foi de 100 °C por 2 minutos, com gradiente de aumento linear de temperatura de 8 °C/min até 300°C, mantidos por 10 minutos. A temperatura da interface foi 220 °C, o gás de arraste foi o hélio, com fluxo 1,33 mL/min. Foi utilizado o modo scan com o tempo de aquisição de 3 a 37 minutos com a faixa de massas foi de 35 a 500 e ionização por impacto eletrônico de 70 eV. A identificação dos picos foi realizada por comparação dos tempos de retenção das amostras com os de padrões ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma189-19 USA) e seus padrões de fragmentação comparados com a biblioteca do aparelho.

4.6.10 PRESENÇA DE ACETOGENINAS POR ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

A aplicação da ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio tem obtido sucesso em vários trabalhos de *fingerprinting*, nos quais as impressões digitais dos espectros de misturas complexas em condições padronizadas são avaliadas.

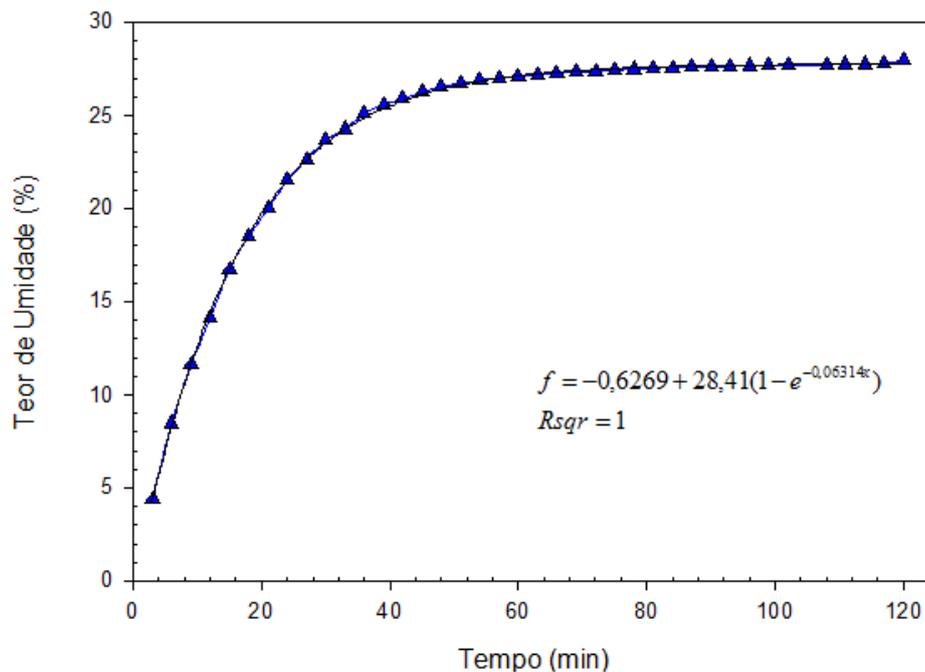
Para determinação da presença de acetogeninas nas amostras de óleo foi utilizada Ressonância Magnética Nuclear de ^1H usando clorofórmio deuterado como solvente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TEOR DE UMIDADE DAS SEMENTES

O teor de umidade é a diferença de massa sofrida quando a amostra é aquecida, o que promove a remoção de água dos poros, do espaço intercelular e da água livre presente no interior das células vegetais. A Figura 18 apresenta a plotagem da curva de secagem para a análise do teor de umidade das sementes *in natura* (recém-colhidas do fruto) da *A. muricata*.

Figura 18. Teor de umidade removido das sementes *in natura* de *A. muricata* em função do tempo.



Fonte: Autor (2017)

A análise dos resultados indica um teor médio de umidade para as sementes na forma *in natura* de $27,87 \pm 0,45\%$. Já o teor médio de umidade presente nas sementes expostas para secar ao sol durante um período de 30 dias foi de $8,57 \pm 1,74\%$. É importante salientar que os teores de umidade aqui expostos são para as sementes intactas, ou seja, não foram trituradas. Infere-se a partir da Figura 17 que a remoção da umidade presente nas sementes tende a se estabilizar a partir de aproximadamente 55 minutos a temperatura de 105°C , sendo pouco atrativa a continuidade do processo de secagem do ponto de vista da eficiência energética.

Observou-se durante o processo de extração do óleo com uso de prensa que o teor de umidade de $8,57 \pm 1,77\%$ foi satisfatório para a extração do óleo da massa de sementes trituradas para as pressões empregadas nesse estudo. Uma maior redução do teor de umidade poderia permitir que o óleo, durante o processo de extração, preenchesse os espaços vazios deixados pela água fazendo com que a massa sofresse polimerização, retendo o óleo no interior da amostra segundo relatado por Singh *et al.*, (2002).

5.2 EXTRAÇÃO

A extração de óleo das sementes de *A. muricata* foi dividida em extração por prensagem e extração contínua em extrator Soxhlet usando como solvente metanol e etanol anidro. Os resultados dos processos de extração serão expostos a seguir.

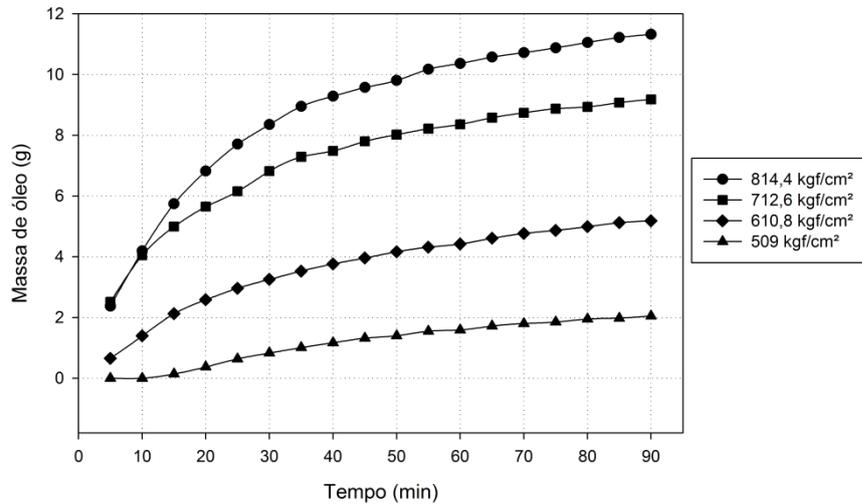
5.2.1 RENDIMENTO EM ÓLEO NA EXTRAÇÃO COM USO DE PRENSA HIDRÁULICA

Nos ensaios preliminares foi constatado que a utilização das sementes de *A. muricata* intactas não era adequada, pois se verificou que o emprego da pressão máxima fornecida pelo equipamento em nada contribuía para a expulsão do óleo da torta onde esta apresentava pouca coesão e com elevado teor de óleo.

Inicialmente foi realizado o estudo de extração por prensagem nas sementes trituradas empregando pressões constantes de 509; 610,8; 712,6 e 814,4 kgf/cm² as quais extraíram um teor real de óleo de $4,28 \pm 0,32\%$, $7,16 \pm 0,61\%$, $10,92 \pm 0,87\%$ e $13,44 \pm 1,18\%$, respectivamente em um período de extração que durou 90 minutos.

A massa de óleo recolhida durante todo o processo de extração via prensa hidráulica foi anotada sendo somadas a essa as perdas de óleo para o equipamento que foi contabilizada de acordo com a Equação 3 isso permitiu a plotagem das curvas de massa real de óleo em função do tempo para cada pressão aplicada nas sementes trituradas de *A. muricata* conforme ilustrado na Figura 19.

Figura 19. Massa real de óleo extraída de 100 g de sementes de *A. muricata* obtida em função do tempo a pressões constantes



Fonte: Autor (2017)

Observa-se um lento crescimento da massa de óleo escoada na pressão de 509 kgf/cm² nos primeiros 15 minutos de extração tendo, a partir dos 20 minutos, um leve crescimento até praticamente se estabilizar aos 70 minutos. Uma causa provável para tal fato é a baixa pressão aplicada que foi insuficiente para expulsão do conteúdo lipídico da massa de sementes trituradas. Na Figura 20 é possível observar que a expulsão do óleo da torta de sementes prensada segue o sentido radial, com o centro do disco (coloração mais clara) apresentando uma massa mais seca em óleo e as bordas (coloração mais escura) concentrando o óleo remanescente não expulso durante o processo.

Figura 20. Massa de sementes prensadas a pressão de 509 kgf/cm²



Fonte: Autor (2017)

Outro fator que pode ter colaborado para o baixo rendimento de óleo extraído à pressão de 509 kgf/cm^2 foi a não utilização de aquecimento durante o processo. Wiesenborn, *et al.*, (2001) e Rittner (1996) citam que o aquecimento de oleaginosas durante o processo de extração é um dos fatores que influenciam o rendimento desse método. As mudanças ocasionadas pelo aquecimento das sementes, como o aumento da permeabilidade da membrana celular, diminuição da viscosidade do óleo e de sua tensão superficial, permitem que haja uma melhor remoção do óleo da amostra (MANDARINO; ROESSING, 2001).

A pressão de $610,8 \text{ kgf/cm}^2$ conseguiu resultado superior na extração do óleo da massa de sementes do que a pressão 509 kgf/cm^2 extraíndo $7,16 \pm 0,61\%$ de óleo. Santos *et al.* (2013), aplicando metodologia semelhante para extração de óleo de ouricuri, obteve valores superiores a 55% utilizando pressão maior ($618,75 \text{ kgf/cm}^2$). O autor cita em seu estudo que o valor encontrado se aproxima do valor ideal indicado na literatura para aquela matéria-prima.

Já a pressão de $814,4 \text{ kgf/cm}^2$ mostrou-se mais eficiente na extração de óleo, tendo um crescimento acelerado nos 35 minutos iniciais da extração. A massa de óleo recuperada durante esse período correspondeu a aproximadamente 4,3 vezes do total de massa de óleo extraída à pressão de 509 kgf/cm^2 . A Figura 21 mostra a massa de sementes após a extração à pressão de $814,4 \text{ kgf/cm}^2$. A coloração mais escura nas bordas do disco de sementes corresponde à porção lipídica que ali se acumulou não sendo expulsa durante o processo.

Figura 21. Massa de sementes prensadas a pressão de $814,4 \text{ kgf/cm}^2$



Fonte: Autor (2017)

O estudo de extração por prensagem compreendeu ainda a extração de óleo à pressão de $763,5 \text{ kgf/cm}^2$ até que não houvesse mais escoamento de óleo da torta de sementes. Esta

pressão foi escolhida levando em conta a margem de segurança do equipamento e o tempo que o mesmo ficaria exposto a condições rígidas de operação. O intuito desta extração foi verificar o quanto era possível extrair de óleo mecanicamente independente do tempo de operação da prensa. Nessas condições, o rendimento médio real de óleo extraído após 72 horas, a pressão de $763,5 \text{ kgf/cm}^2$, correspondeu a $13,91 \pm 0,5\%$ por 100 g de sementes, valor muito próximo daquele encontrado utilizando pressão de $814,4 \text{ kgf/cm}^2$ durante 90 minutos.

5.2.2 RENDIMENTO EM ÓLEO NA EXTRAÇÃO COM USO DE SOLVENTES

O rendimento máximo de óleo extraído das amostras em tempos pré-fixados foi determinado através do método amplamente descrito na literatura, a extração com uso de solvente utilizando o método de Soxhlet, onde 3 g de sementes moídas foram introduzidas no extrator, utilizando como solventes o metanol e etanol em tempos de 4 e 6 horas.

A Tabela 3 mostra o rendimento em óleo para as extrações realizadas em períodos de 4 e 6 horas.

Tabela 3. Variação do rendimento com o tempo para extração por solvente

| TEMPO DE EXTRAÇÃO (h) | RENDIMENTO EM ÓLEO NA EXTRAÇÃO (%) | |
|--------------------------|------------------------------------|--------------------|
| | METANOL | ETANOL |
| 4 | $18,12 \pm 0,96\%$ | $25,35 \pm 0,63\%$ |
| 6 | $22,43 \pm 1,77\%$ | $27,25 \pm 0,23\%$ |

Fonte: Autor (2017)

O maior rendimento na extração do óleo foi obtido utilizando etanol após 6 horas de extração. Esse elevado percentual de óleo removido pode ser devido à maior capacidade do etanol de superar as forças que ligam os lipídios dentro da amostra (LUMLEY; COLWELL, 1991). Estudo realizado por Freitas (2013) empregando solvente hexano na extração do óleo das sementes de *A. muricata*, mostraram que o percentual máximo extraído foi de 23,3%, no entanto, Navaratne e Subasinghe (2014) relatam que obtiveram um rendimento de 30% após 5 horas de extração usando o método de Soxhlet com solvente éter dietílico. Essas variações já eram esperadas, pois, variações no processo de extração e utilização de solventes distintos, além de condições edafoclimáticas, da idade das árvores, do ciclo de reprodução e período de coleta dos frutos, afetam o resultado final. No entanto, o teor médio de óleo das sementes de

A. muricata está dentro da expectativa geral, tornando essa matéria-prima uma fonte promissora de lipídeos. Embora o percentual obtido na extração de 4h seja 1,9% inferior à extração de 6h, a extração do óleo por cooperativas rurais, que não contam com equipamentos sofisticados e um maior controle do processo, pode ser mais atrativa dependendo da massa de sementes a ser utilizada.

A extração com metanol teve um significativo aumento no rendimento após 6 horas de extração. Tal fato se deve à provável presença de compostos apolares no óleo que diminuem a possibilidade do metanol formar pontes de hidrogênio com os triacilglicerol e ácidos graxos e que, conseqüentemente, afetam na solubilização desses compostos no álcool em períodos curtos de contato do metanol com o soluto.

5.2.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DAS SEMENTES DE *A. MURICATA*

As amostras de óleo das sementes de *A. muricata* obtidas dos ensaios de extração anteriormente citados foram unificadas e homogeneizadas de acordo com o processo extrativo a qual passaram, sendo reunidas em três amostras maiores: a extraída a frio em prensa (P), a extraída com metanol (SM) e a extraída com etanol (SE). A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos da terminação das características físico-químicas do óleo das sementes de *A. muricata* e também valores encontrados por alguns autores.

Tabela 4. Propriedades físico-químicas do óleo das sementes de *A. muricata* extraído por diferentes métodos

| Propriedades | Valores obtidos | | | Literatura |
|---|-----------------|-------------|------------|------------------------------|
| | P | SM | SE | |
| Índice de Acidez (mg KOH/g) | 4,10±0,58 | 6,49±0,08 | 6,39±0,4 | 5,17 ^a |
| Índice de Iodo (g I ₂ /100g de óleo) | 87,67±0,71 | 82,19±1,61 | 59,56±3,22 | 87,98 - 102 ^{bc} |
| Índice de Saponificação | 159,6±0,58 | 162,27±3,51 | 199,2±3,00 | 168,2 - 192,89 ^{db} |
| Índice de Peróxido (meq O ₂ /kg) | 8,66±0,44 | 9,87±0,01 | 9,82±4,5 | 3,5 - 6,45 ^{cb} |
| Densidade (g/cm ³) a 20 °C | 0,9117 | 0,9262 | 0,9469 | 0,912 ^a |
| Viscosidade (mm ² /s) a 25 °C | 41,02±0,07 | 105,04±1,54 | 94,90±1,57 | 62 ^c |
| Índice de Refração | 1,468104 | 1,469098 | 1,461503 | 1,468 ^d |

Fonte: Autor (2017). ^aFreitas (2013); ^bNogueira (2015); ^cNavaratne (2014), viscosidade a 24 °C; ^dSolís-Fuentes (2010); (P) Óleo extraído com prensa; (SM) Óleo extraído com metanol; (SE) Óleo extraído com etanol.

O índice de acidez é um importante parâmetro de avaliação do estado de conservação do óleo e está ligado a processos de decomposição do óleo (hidrólise, oxidação ou fermentação). O calor e a luz incidente na matéria-prima são fatores que aceleram a decomposição dos glicerídeos promovendo a rancificação que quase sempre é acompanhada pela formação de ácidos graxos livres (CRUZ, 2015). Os valores dos índices de acidez e de peróxido determinados para as três amostras de óleo extraído por prensagem e em Soxhlet com o uso de solventes, estão de acordo, ou muito próximos aos valores encontrados na literatura. Convém salientar que dependendo da aplicação a qual se destinará a óleo há valores ideais de acidez e de peróxidos. Caso a finalidade de uso seja a produção de biodiesel, segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP, 2008), considera índice de acidez de até 0,5 mg.KOH/g como sendo o ideal para essa aplicação. A ANVISA (2005) por sua vez, estabelece que óleos prensados a frio e não refinados tenham no máximo índice de acidez de 4,0 mg.KOH/g e o índice de peróxido de 15 meq/kg para fins alimentícios.

As amostras de óleo extraídas a frio com prensa (P) e em Soxhlet com uso de metanol (SM) como solvente, apresentaram valores muito próximos aos valores encontrados na literatura para os índices de iodo, saponificação e refração. Para densidade da amostra obtida com metanol (SM) apresenta leve aumento, provavelmente devido à precisão de cada equipamento utilizado nos estudos ou pela solubilização de outros compostos orgânicos (ceras, pigmentos, etc), além do próprio óleo, fatores esses que também podem ter influenciado a densidade da amostra de óleo extraída com etanol (SE). A viscosidade de todas as amostras em estudo não apresentou conformidade com os dados presentes na literatura. A Tabela 5 apresenta valores de viscosidade a diferentes temperaturas.

Tabela 5. Média de viscosidade do óleo das sementes de *A. muricata* a diferentes temperaturas

| T (°C) | v (mm ² /s) | | |
|--------|------------------------|-------------|------------|
| | P | SM | SE |
| 25 | 41,02±0,07 | 105,04±1,54 | 94,90±1,57 |
| 30 | 34,19±0,03 | 80,47±0,09 | 73,20±0,36 |
| 35 | 27,95±0,1 | 64,60±0,05 | 58,25±0,1 |
| 40 | 23,12±0,06 | 52,28±0,1 | 46,79±0,13 |

Fonte: Autor (2017). (P) Óleo extraído a frio com prensa; (SM) Óleo extraído com metanol; (SE) Óleo extraído com etanol.

Observam-se diferenças significativas entre as viscosidades determinadas para as três amostras o que provavelmente advém da solubilização de compostos orgânicos, além do próprio óleo, por ambos os solventes. Os óleos vegetais apresentam em sua composição triglicerídeos, ácidos graxos livres (originados do processo de extração dos óleos de sua matriz vegetal), água, fosfolipídios, esteróis e tocoferóis (RINALDI *et al.*, 2007; RAMOS *et al.*, 2011). Um dos fatores que pode ter contribuído para o aumento da viscosidade das amostras de óleos obtidas por extração com solventes pode estar relacionada à provável presença de umidade residual que, solubilizada junto aos fosfolipídios nos solventes durante a extração do óleo da torta, é absorvida pelas gomas (fosfolipídios) aumentando assim a viscosidade das amostras dos óleos extraídos com uso de metanol e etanol, tese essa corroborada por Kimbonguila, *et al.* (2010) em estudo com o óleo das sementes de *A. muricata* cultivadas no Congo. Segundo o autor, houve aumento da viscosidade das amostras de óleo ocasionada pela água que foi absorvida pelos fosfolipídios durante a extração com solventes. A temperatura usada para recuperação dos solventes utilizados no processo de extração pode ter influenciado, ainda que minimamente, na viscosidade do óleo. Embora as temperaturas utilizadas para evaporação dos solventes estejam abaixo de 100 °C, a exposição prolongada a essas temperaturas pode ter promovido à formação de radicais livres os quais podem combinar-se formando dímeros, o que aumenta a viscosidade das amostras de óleos obtidos com o uso de solventes em relação à amostra obtida a frio. Outro fator que pode explicar a diferença de viscosidade entre amostras obtidas com o uso de solventes é a temperatura de recuperação dos solventes utilizados no processo. O etanol tem temperatura de recuperação maior do que a do metanol, 78,37 °C contra 64,7 °C respectivamente, o que pode ter levado a quebra de triglicerídeos, acarretando na formação de di e monoglicerídeos reduzindo a viscosidade das amostras de óleo extraídas com etanol em relação às extraídas com metanol.

Em relação aos ácidos graxos foram identificados onze na amostra P, nove na amostra SM e cinco na amostra SE, sendo comum a todas as amostras a predominância dos ácidos oléico, palmítico e linoleico, respectivamente. As amostras apresentam, no geral, valores muito próximos aos encontrados na literatura para os ácidos graxos observados neste estudo.

A composição percentual dos ácidos graxos presentes no óleo das sementes de *A. muricata* é apresentada na Tabela 6, comparativamente a dados da literatura.

Tabela 6. Composição dos ácidos graxos do óleo das sementes de *A. muricata*

| Ácido Graxo | Nomenclatura | Valores Obtidos (%) | | | Literatura* |
|-------------|--------------------------|---------------------|-------|-------|-------------|
| | | P | SM | SE | |
| C 12:0 | Láurico | 0,54 | - | - | 0,7 |
| C 14:0 | Mirístico | 0,42 | 0,22 | - | 0,2 |
| C 16:0 | Palmítico | 19,49 | 30,53 | 36,46 | 20 - 25,5 |
| C 16:0 | Palmítico, ester etílico | - | 0,16 | - | - |
| C 16:1 | Palmitoleico | 1,2 | 1,96 | 2,59 | 1,1 - 1,5 |
| C 17:0 | Margarico | 0,06 | 0,06 | - | - |
| C 18:0 | Esteárico | 3,54 | 3,67 | 3,06 | 2,1 - 6 |
| C 18:1 | Oléico | 44,46 | 38,56 | 33,57 | 39,5 - 42,8 |
| C 18:2 | Linoleico | 29,76 | 24,54 | 23,69 | 27 - 31,1 |
| C 18:3 | Linolênico | - | 0,11 | - | 1,3 - 2,38 |
| C 20:0 | Araquídico | 0,29 | - | - | 0,2 |
| C 20:1 | Gondoico | 0,07 | - | - | 0,5 |
| C 24:0 | Lignocérico | 0,06 | - | - | - |

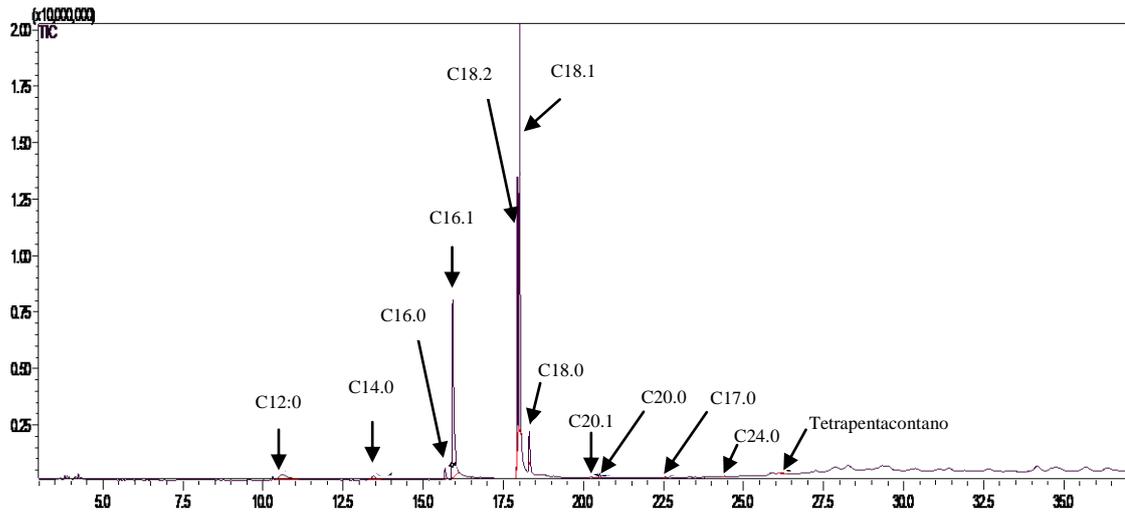
Fonte: Autor, 2017. *Segundo estudos de SOLÍS-FUENTES (2010), KIMBONGUILA (2010) e FREITAS (2014) com o óleo das sementes de *A. muricata*; (P) Óleo extraído a frio com prensa; (SM) Óleo extraído com metanol; (SE) Óleo extraído com etanol.

Óleos e gorduras têm seus respectivos pontos de fusão afetados tanto pelo tamanho da cadeia carbônica dos ácidos graxos que os compõe quanto pelo número de insaturação presente nas ligações da cadeia tornando os óleos líquidos a temperatura ambiente (20 °C) e as gorduras sólidas nas mesmas condições.

O maior grau de saturação e o tamanho da cadeia do éster graxo tornam a viscosidade mais elevada (MACHADO, 2010). Nas amostras de óleo P, SM e SE a presença de ácidos graxos insaturados com 18 átomos de carbono é maior podendo assim ser o óleo das sementes de *A. muricata* classificado como insaturado.

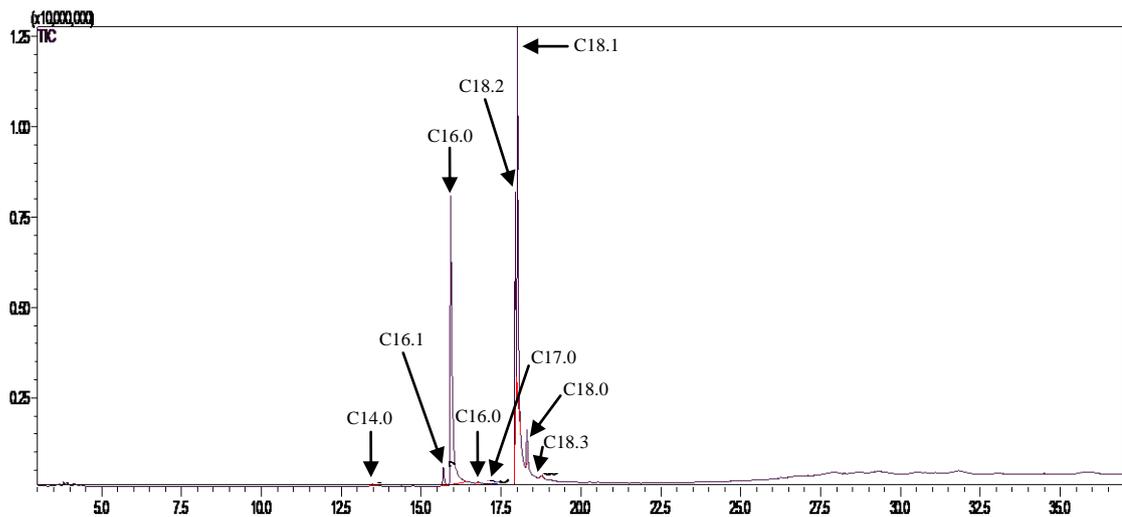
Os ácidos graxos C 20:0, C 20:1 e C 24:0 foram encontrados em quantidades traço apenas na amostra P provavelmente devido ao fato desta amostra ser obtida a frio, o que conserva as características naturais do óleo. As figuras 22, 23 e 24 mostram os cromatogramas das amostras de óleos P, SM e SE respectivamente.

Figura 22. Cromatograma dos ácidos graxos do óleo das sementes de *A. muricata* extraído com prensa hidráulica (P).



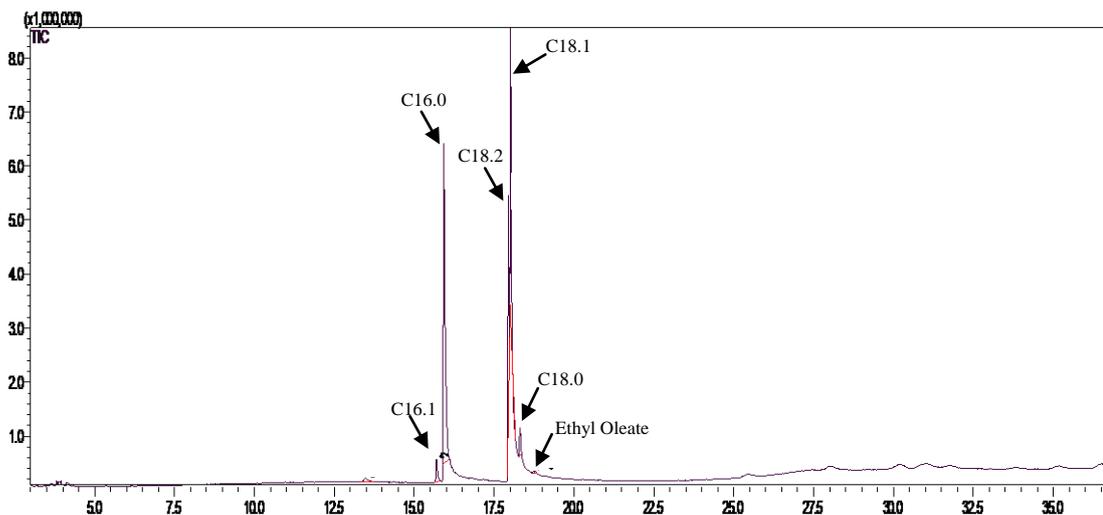
Fonte: Autor, 2017.

Figura 23. Cromatograma dos ácidos graxos do óleo das sementes de *A. muricata* extraído com uso de metanol (SM).



Fonte: Autor, 2017.

Figura 24. Cromatograma dos ácidos graxos do óleo extraído das sementes de *A. muricata* com uso de etanol (SE).



Fonte: Autor, 2017.

O ácido palmítico se apresenta como sólido cristalino inodoro, com densidade $0,853 \text{ g.mL}^{-1}$, é insolúvel em água ($7,2 \times 10^{-4} \text{ g / 100 g}$ de água a $20 \text{ }^\circ\text{C}$), tem pouca solubilidade em etanol a frio, porém é muito solúvel em etanol a quente, éter, propanol e clorofórmio (MARKLEY, 1960; THE MERCK INDEX, 1996). A amostra SE, apresentou uma porcentagem de 36,46% do ácido graxo palmítico enquanto as amostras P e SM apresentaram 19,49% e 30,53% respectivamente, sendo uma causa provável para este fato a maior solubilização deste ácido no etanol combinado com o método Soxhlet para extração do óleo.

A Tabela 7 apresenta outros compostos que foram identificados na cromatografia gasosa.

Tabela 7. Compostos identificados na cromatografia em quantidades traço.

| OUTROS COMPOSTOS | P | SM | SE |
|--|------|------|------|
| Tetrapentacontano | 0,11 | - | - |
| Oleato de etilo (CAS), éster etílico de ácido oleico | - | 0,19 | - |
| Ethyl Oleate | - | - | 0,24 |

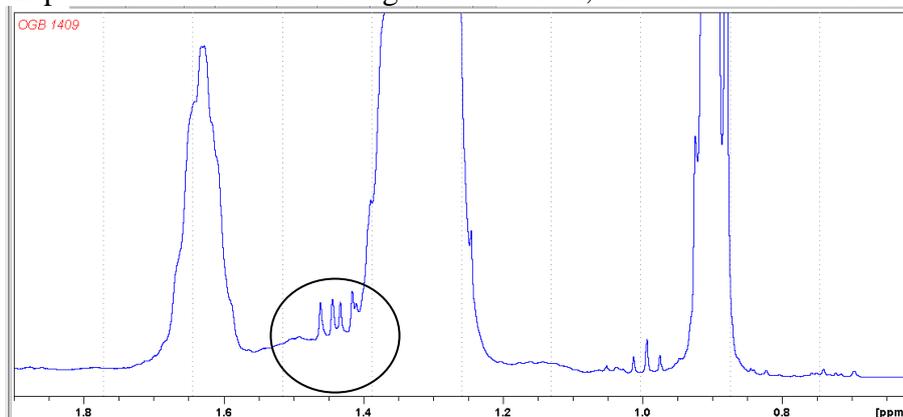
Fonte: Autor, 2017.

5.2.4 ACETOGENINAS

Os resultados das análises das amostras de óleo, P, SM e SE, através do espectro de RMN de ^1H sugerem presença de acetogeninas nas regiões de sinais δ 1,40, 5,05, 6,98 e 7,18, Figuras 25 a 31. Em estudos dos metabólitos da raiz de *A. muricata*, Machado, (2014), relata que nas regiões desses sinais, há a presença de grupos γ -lactona α , β -insaturadas de acetogeninas de anonáceas. Para confirmar a presença desses compostos nos espectros de RMN de ^1H , o autor submeteu os extratos obtidos das raízes a análise por CLAE analítica em fase reversa e EM-IQPA corroborando sua afirmação.

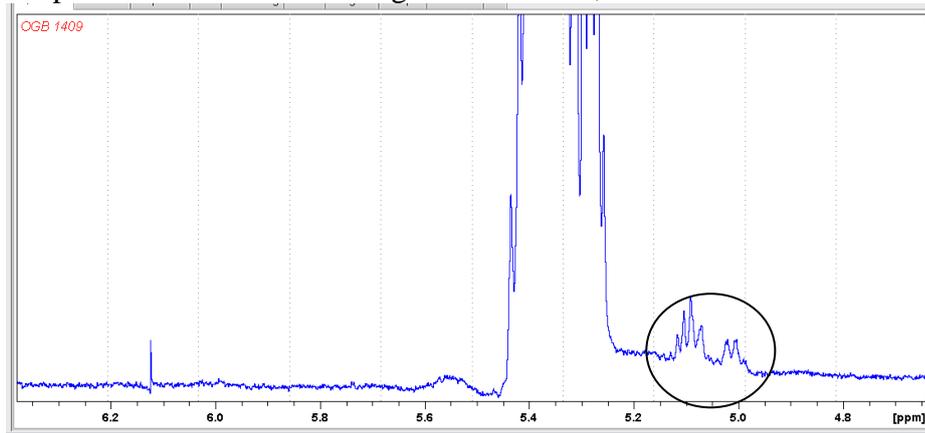
A quantidade e a complexidade química dos componentes das amostras de óleos aliados à grande diversidade de acetogeninas associadas a uma mesma fórmula estrutural devido à grande heterogeneidade destes metabólitos tornam impraticável a quantificação e classificação da(s) acetogenina(s) sem que haja antes um isolamento e purificação dos compostos de interesse.

Figura 25. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída a frio, (P).



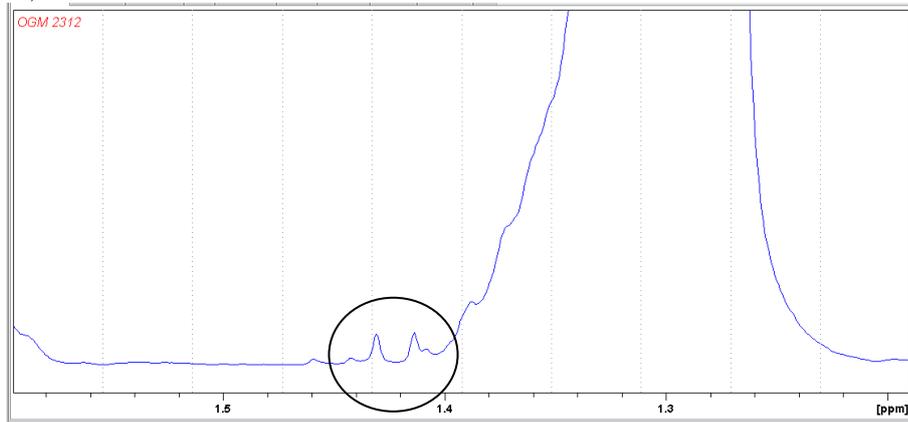
Fonte: Autor, 2017.

Figura 26. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída a frio, (P).



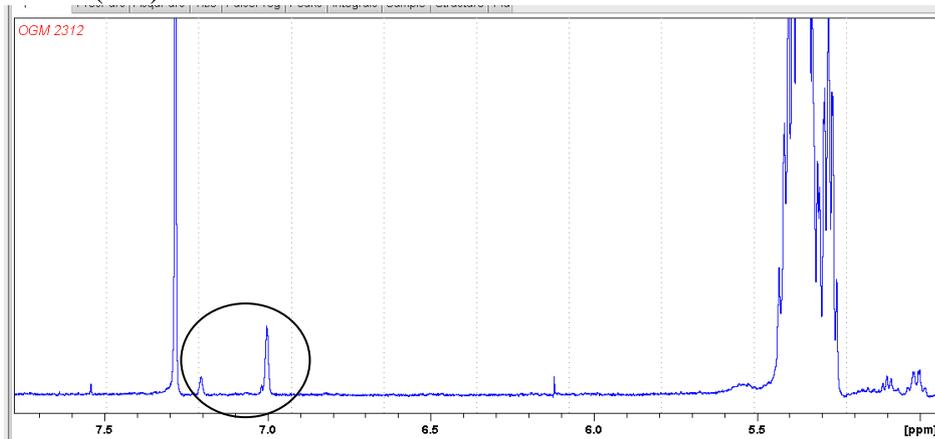
Fonte: Autor, 2017.

Figura 27. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com metanol, (SM).



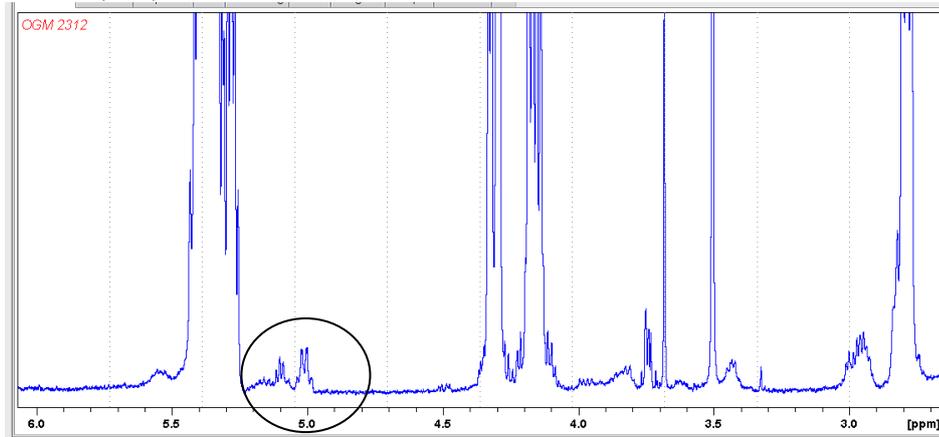
Fonte: Autor, 2017.

Figura 28. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com solvente metanol (SM).



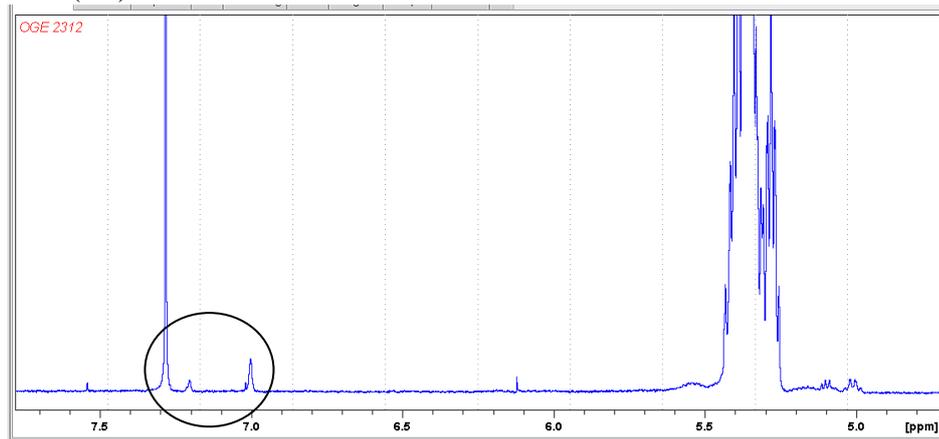
Fonte: Autor, 2017.

Figura 29. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com solvente metanol (SM).



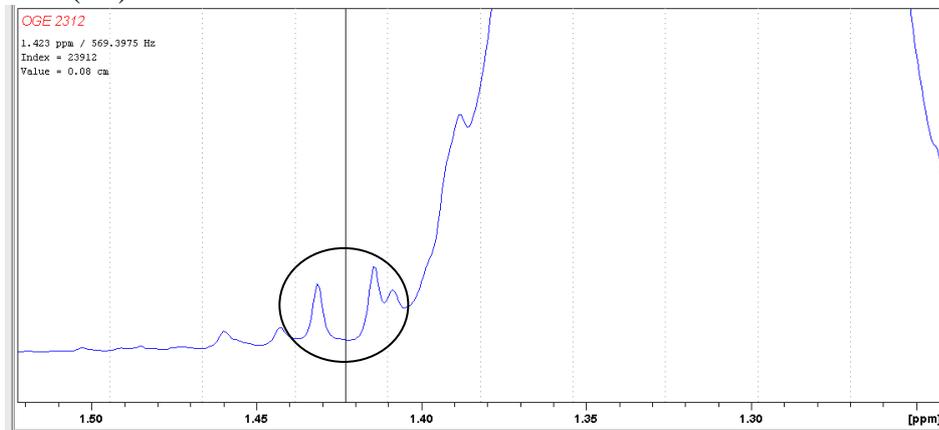
Fonte: Autor, 2017.

Figura 30. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com solvente etanol (SE).



Fonte: Autor, 2017.

Figura 31. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear, amostra de óleo extraída com solvente etanol (SE).



Fonte: Autor, 2017.

6 CONCLUSÕES

Os dados obtidos durante a realização dos experimentos de extração e caracterização das propriedades físico-químicas do óleo das sementes de *A. muricata* permitiram, após a discussão dos resultados, concluir alguns aspectos sobre essa matéria-prima.

A extração do óleo com solvente etanol mostrou ser a melhor para extração do óleo devido a seu alto rendimento se comparado com a extração por prensagem ou mesmo com a extração com solvente metanol, aproximando do rendimento adquirido com o uso de solventes mais tóxicos e de uso mais perigoso como, por exemplo, o hexano, éter dietílico e clorofórmio. A utilização do etanol como solvente ainda traz como vantagens o mesmo vir de fontes renováveis e ter uma cadeia de produção e distribuição já consolidada, além de seu uso ser menos perigoso se comparado aos solventes acima citados.

Quanto às propriedades físico-químicas como índice de acidez, índice de iodo, índice de saponificação e índice de peróxido apresentaram similaridades entre si demonstrando que o método de extração e os solventes usados não interferiram na qualidade final do óleo. Porém, nos aspectos como densidade, viscosidade e índice de refração houve significativa mudança nas propriedades aqui destacadas o que não inviabiliza a utilização deste óleo para produção de biodiesel, por exemplo, bastando apenas à escolha de uma blenda de óleos em proporções adequadas.

A presença no espectro de RMN de ^1H de sinais característicos de acetogéninas no estudo das três amostras de óleos indica potencial uso destes em aplicações que vão das farmacológicas até sua utilização para o controle de pragas em lavouras necessitando, no entanto, de mais pesquisas inclusive de seu uso para fins alimentícios.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Quantificar os componentes minoritários do óleo das sementes de *A. muricata*;
- Isolar as acetogeninas presentes óleo;
- Avaliar a utilização do óleo na confecção de cosméticos;
- Avaliar possíveis usos do óleo no setor energético como, por exemplo, isolante em transformadores, lubrificantes, etc;
- Estudar a influência da relação diâmetro e comprimento do vaso cilíndrico da prensa hidráulica no rendimento da extração;
- Estudar a possibilidade de uso do farelo de sementes para alimentação animal.

8 BIBLIOGRAFIA

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DA BAHIA (ADAB). 2017. Disponível em: <<http://www.adab.ba.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=63>>. Acesso em: 23 jan. 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Regulamento Técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal**. 2005 Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0270_22_09_2005.html>. Acesso: 12 dez. 2016.

ALBUQUERQUE, H. C. Situação atual e perspectivas para as anonáceas no Estado de Alagoas. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; MORAIS, O. M., REBOUÇAS, T. N. H. **Anonáceas, produção e mercado: pinha, graviola, atemóia e cherimóia**. Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 1997. p. 150-152.

ALBUQUERQUE, I. M. C. DE. **Otimização de síntese de biodiesel de óleo de sementes de graviola**. 89 f. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, 2014.

ALILA, F. Q.; KAAKEH, W.; BENNET, G. W.; MACLAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins as natural pesticides; potent toxicity against insecticide-susceptible and resistant German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). **Journal of Economic Entomology**. v.91, n.3, p 641-9, 1998.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D 4052**: Density and relative density of liquids by digital density meter, 2011.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D 445**: Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids and Calculation of Dynamic Viscosity, 2013.

ANDRADE, B. K. S. A. **Estudo do processo da extração do óleo do pinhão manso**. 2014. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Graduação em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia - Universidade Federal de Alagoas. Maceió. Alagoas. 2014.

ANDRADE, B. K. S. A.; SOLETTI, J. I.; CARVALHO, S. H. V. **Curva de Rendimento da extração mecânica e caracterização do óleo de pinhão manso**. In: XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Unicamp – Campinas – SP. 19 a 22 de julho de 2015.

ARAÚJO FILHO, G. C. *et al.* Instruções técnicas para o cultivo da gravioleira. Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1998. 20 p. (Instruções Técnicas, 2).

ARAÚJO, J. M. A. Química de alimentos: teoria e prática. Viçosa, Minas Gerais: Ed. UFRV, 4ª ed., 2008.

BARON, D. **Desenvolvimento de plantas jovens de *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. Rainer (Araticum-de-terra-fria) cultivadas em solução nutritiva.** 2010. 111 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2010.

BÉLIGON, V. *et al.* Microbial lipids as potential source to food supplements. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 35–42, 2016.

BOCKISCH, M. Fats and oil handbook. Champaign, AOCS, 1993. In: OETTERER, M; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M. H. **Fundamentos de Ciência e tecnologia dos alimentos.** São Paulo: Manole, 2006.

BRAGA SOBRINHO, R. **Potencial de anonáceas no nordeste do Brasil.** Fortaleza: EMBRAPA, 2010.

BRANDÃO, L.F.P.; Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

BRANDÃO, J. A. C. B. **Simbiose micorrízica arbuscular de gravioleiras (*Annona muricata*) em solo infestado por *pratylenchus coffeae*.** 2003. 74 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Programa de Pós-Graduação em biologia de fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 2009. 399p

BRASIL. Resolução ANP N° 7, de 19.3.2008 – D.O.U. 20.3.2008. Disponível em: <www.anp.gov.br>. Acesso em: 05 setembro 2017.

BRENNAN, J. G.; BUTTERS, J. R.; COWELL, N. D.; LILLEY, A. E. V. **Food engineering operations.** Linton Road, England: Elsevier Applied Science, 1990.

BORGIO, L. A; ARAÚJO, W. M. C. Mechanisms of the process of lipid oxidation. **Hig Alimentar.** 2005; 19(30):50-8.

CANCIAM, A.C. Efeito da temperatura na viscosidade de óleos vegetais refinados. **Publicatio UEPG Exact Earth Sciences, Agrarian Sciences and Engineering**, v. 16, n.1 p 07-12, jun. 2010.

CARR, R. A. Oilseeds Processing. In: **Wan, P.J. & Wakelyn, P.J. Technology and Solvents for Extracting Oilseeds and Nonpetroleum Oils**, AOCS Press. Champaign, 1997. p. 323-332.

CEAGESP. **Companhia de entrepostos e armazéns gerais de São Paulo.** Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br>>. Acesso em: 23 out. 2017.

CHATROU, L.W.; RAINER, H.; MAAS, P.J.M. Annonaceae. In: SMITH, N.; MORI, S.A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D.W.; HEALD, S.V (Ed.). **Flowering plants of the neotropics**. New York: Princeton University Press, 2004. p.18-20.

CHATROU, L.W. et al. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 169, n. 1, p. 5-40, 2012.

CHEN, Y. et al. Antitumor activity and toxicity relationship of annonaceous acetogenins. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 394–400, 2013.

CORREIA, I. M. S. **Extração e pirólise do óleo de girassol (*Helianthus annus L.*) visando à produção de biocombustíveis**. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Tecnologia. Natal, RN, 2009.

CORRÊA, M. P. Dicionário de plantas medicinais do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: **Instituto Brasileiro de desenvolvimento Florestal**, v. 6, n 3, p. 646, 1984.

COSTA, D. A. DO N. **Estudo do processo de extração do óleo da macaúba (*Acrocomia intumescens*)**. 84 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió – AL, 2016.

COSTA, E. V. *et al.* Trypanocidal Activity of Oxoaporphine and Pyrimidine- β - Carboline Alkaloids from the Branches of *Annona foetida* Mart. (Annonaceae). **Molecules**, v. 16, p. 9714-9720, 2011.

CRUZ, L. S. DA. **Óleo das sementes de atemoia 'Gefner': Caracterização química, físico-química e produção de biodiesel**. 2015. 80 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, 2015.

FERELLI, C.; NEPOMUCENO, M. F. Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos de graviola (*Annona muricata*) e suas frações. In: 3º CONGRESSO DE PESQUISA, 2005, Piracicaba. 3ª Mostra Acadêmica da UNIMEP.

FREITAS, A. L. G. E. **Caracterização da produção e do mercado da graviola (*Annona muricata L.*) no Estado da Bahia**. 2012. 109 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Sudeste da Bahia. Campus Vitoria da Conquista – Bahia, 2012.

FREITAS, G. B. **Propagação, florescimento, frutificação e produção da gravioleira (*Annona muricata L.*)**. 1997. 87 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

FREITAS, M. DE L. **Estudos das espécies *Cnidocolus quercifolius* Pax e *K. Hoffm* e *Annona muricata* L. para geração de energia.** 2013, 73 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2013.

GOMES FILHO, J. C. **Estudo da produção de biodiesel etílico de chichá (*sterculia striata*) e do equilíbrio de fase líquido-líquido para o sistema contendo biodiesel + álcool + glicerina.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2013.

GRANADOS, H. et al. Actividad insecticida in vitro de las semillas de *Annona* aff. *spraguei* (Annonaceae) en dos modelos biológicos del énero de los dípteros: *Drosophila melanogaster* y *Aedes aegypti*. **Afinidad: Revista de química teórica y aplicada**, v. 58, n. 491, p. 44–48, 2001.

GU, Z. M. et al. Isolation of new bioactive annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa* guided by liquid chromatography/mass spectrometry. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 10, p. 1911–1916, 1997.

GUNSTONE, F.D. Vegetable Oils. In: **SHAHIDI, Fereidoon**. *Bailey's Industrial Oil & Fat Products: Edible Oil & Fat Products Chemistry, Properties & Health Effects*. 6. ed. New Jersey: Wiley Interscience, 2005. v.1. Cap. 6, p. 213-268.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4. ed. São Paulo: IMESP, p. 593 – 629. 2008..

JANNUZZI, G. M. A nova geopolítica da energia. In: **DIÁLOGOS SOBRE A POLÍTICA EXTERNA**. 2014, Palácio do Itamaraty, Distrito Federal. **A nova geopolítica da energia**. Disponível em: <<http://goo.gl/nAWiEG>>. Acesso em: 22 jun. 2016.

JOLY, A.B. **Botânica, introdução a taxonomia vegetal**. São Paulo: Nacional, p. 550, 1979.

JUNQUEIRA, N. T. V. et al. **Graviola para exportação: aspectos fitossanitários**. Brasília: EMBRAPA, 1996. 67 p. **Publicações Técnicas**.

KIMBONGUILA, A. Proximate Composition and Physicochemical Properties on the Seeds and Oil of *Annona muricata* grown In: Congo-Brazzaville. **Research Journal of Environmental and Earth Sciences** 2(1): p. 13-18, 2010.

KOUREMENOS, K. A. et al. **Journal of Chromatography B**, v. 878, n. 21, p. 1761-1770, 2010.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 225–242, 2014.

LEMOS, E. E. P. DE. A produção de anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, edição especial, e., p. 077-085, Janeiro 2014.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M.; **Princípios de Bioquímica**, 4° Ed., Sarvier: São Paulo, 2006.

LIAW, C. C. et al. Historic perspectives on Annonaceous acetogenins from the chemical bench to preclinical trials. **Planta Medica**, v. 76, n. 13, p. 1390–1404, 2010.

LIAW, C.-C. et al. New Cytotoxic Monotetrahydrofuran Annonaceous Acetogenins from *Annona muricata*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 4, p. 470–475, abr. 2002.

LIMA, M. A. C. et al. Uso de cera e 1-metilciclopropeno na conservação refrigerada de graviola (*Annona muricata* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 433-437. 2004.

LUMLEY, I.D.; COLWELL, R. K.. Fats From Fatty Foods and Determination of Fat Content. In: **Analysis of Fats and Fatty Foods**. Rossell, J.B. and J.L.R. Pritchard, (Eds.), p. 238-247, 1991.

LÜMMEN, P. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1364, n.2, p.287–296, 1998.

MACHADO, A. B. **Caracterização de sistemas envolvidos nos processos de purificação de biodiesel**, 2010, 180 f., Tese (Doutorado) – Departamento de processos químicos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2010.

MALACRIDA, C. R.; KIMURA, M.; JORGE, N. Characterization of a high oleic oil extracted from papaya (*Carica papaya* L.) seeds. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 929-934, out./dez. 2011.

MALHEIROS, S. M. P.; PAULA JÚNIOR, D. R. Utilização do processo de compostagem com resíduos agroindustriais. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO**, 26, 1997.

MANDARINO, J. M. G.; ROESSING, A. C. Tecnologia para produção do óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos. 1 ed. Londrina, PR: **EMBRAPA Soja**, 2001. p. 40.

MARCIEL, A. G. S. *et al.* Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). In: **African Journal of Agricultural Research**. v.10, p 4370-4375, 26 nov. 2015.

MARKLEY, K. S. Fatty Acids. **Their Chemistry, Properties, Production, and Uses**. Part I, p. 34, 39-42. Second Edition, 1960.

MARTINS, C. R.; LOPES W. A. *et al.* Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p 1248-1255, jul. 2013.

MEZZOMO, N.; PAZ, E., MARASCHIN, M., MARTIN, A., COCERO, M. J., FEREEIRA, S. R. S. 2012. Supercritical anti-solvent precipitation of carotenoid fraction from pink shrimp residue: Effect of operational conditions on encapsulation efficiency. **The Journal of Supercritical Fluids**, 66, 342-349.

MOGHADAMTOUSI, S. *et al.* *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 7, p. 15625–15658, 10 jul. 2015.

MORAES, M. O.; BARRETO, F. S.; MOURA, A. F.; ARAUJO, R. M.; SANTOS, C. C.; WILKE, D. V. Potencial antitumoral de compostos obtidos de plantas da família annonaceae. In: ALMEIDA, J.R.S.; OLIVEIRA JUNIOR, R.G.; OLIVEIRA, A.P. **Annonaceae: tópicos selecionados**. Curitiba: CRV, Cap. 14, p.427-458, 2015.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. 1ª. ed., São Paulo: Varela, 1998.

MORTON, J. F. The Soursop of guanábana (*Annona muricata* L.). **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**. v. 79, p. 355-366, 1966.

MOSCA, J. L.; CAVALCANTE, C. E. B.; DANTAS, T. M. Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos de maturação. Fortaleza, CE: **EMBRAPA Agroindústria Tropical**, 2006. 28p.

NAVARATNE, S. B.; SUBASINGHE, D. J. S. Determination of fatty acid profile and physicochemical properties of Watermelon and Soursop seed oils. **European International Journal of Applied Science and Technology**. v. 1, n. 4, p. 25-32; June 2014.

NOGUEIRA, J. P. Compostos Voláteis, poder odorífero e perfil de aroma de óleo extraído do processamento de Graviola (*Annona muricata* L.). Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Sergipe. Ciências Agrárias, 2015.

NUNES, A. A. **Óleo da Polpa de Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq) Lood. ex Mart.) com Alta Qualidade: Processo de Refino e Termoestabilidade**. 127f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande - MS, 2013.

NUNES, C.R. *et al.* Flavonóides em Annonaceae: ocorrência e propriedade biológicas. **Vértices**, v. 14, n. 1, p. 39-57, 2012.

OETTERER, M; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M. H. **Fundamentos de Ciência e tecnologia dos alimentos**. São Paulo: Manole, 2006.

OLIVEIRA, G.P.; ECHEVENGUÁ, M.M.; MESSIAS, R.S.; **Processo de extração e caracterização do óleo de semente de uva**. Santa Catarina: UFSC, 2003.

OLIVEIRA, L. C. P. *et al.* Estudo da extração e avaliação do rendimento de óleo de baru. **Revista Hestia Citino**, v. 1, n. 1, p. 16 – 20, 2011.

PASSOS, V. M. **Alterações fisiológicas e anatômicas em plântulas de *Annona muricata* (graviola) L. e *Annona squamosa* L. (pinha) submetidas a estresse salino**. 2001. 15f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana – BA, 2001.

PIGHINELLI, A. L. M. T. **Extração mecânica de óleos de amendoim e de girassol para produção de biodiesel via catálise básica**. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP. 2007.

PIMENTA, T. V. **Metodologias de obtenção e caracterização dos óleos do fruto da macaúba com qualidade alimentícia: da coleta à utilização**. 114 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG. 2010.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. **Revista Virtual Química**, Niterói, v. 5, n. 1, p. 2-15, 2013.

RAMOS, L. P. *et al.* Tecnologias de Produção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 5, 2011. ISSN 1984-6835.

RAMOS, V. H. V.; PINTO, A. C. Q.; RODRIGUES, A. A. Introdução e importância socioeconômica. In: OLIVEIRA, M. A. S. (ed.). **Graviola. Produção: aspectos técnicos**. Embrapa Cerrados, Planaltina, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001.

REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Química básica dos lipídeos. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos da ciência e tecnologia dos alimentos**. São Paulo: Manole, cap. 5, p. 196-240, 2006.

RIBEIRO, L. M. DE O. **Estudo do processo de produção de biodiesel de óleo de coco catalisado enzimaticamente**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2010.

RINALDI, R. *et al.* Síntese de Biodiesel: Uma Proposta Contextualizada de Experimento para Laboratório de Química Geral. Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, **Química Nova**, v. 30, n. 5, 2007. ISSN1374-1380.

RITTNER, H. **Óleo de mamona e derivados**. São Paulo: H. Rittner, p. 559, 1996.

SACRAMENTO, C. K.; MOURA, J. I. L.; COELHO JUNIOR, E. Graviola. In: SANTOS-SEREJO, J. A. et al. (eds.). **Fruticultura tropical**: espécies regionais e exóticas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 95-132, 2009.

SANTOS-ANDRADE, F. G.; MAIA, A. C. D.; SCHLINDWEIN, C. **Polinização da gravioleira (*Annona muricata* L., Annonaceae)**. 2004. Disponível em: <<http://www.seb-ecologia.org.br/viiceb/resumos/262a.pdf>>. Acessado em: 22 jan. 2017.

SANTOS B. P. T. *et al.* Determinação da eficiência da extração de óleo de ouricuri (*Syagrus coronata*) por prensagem hidráulica, In: **X Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, 2013, p. 171-175.

SÃO JOSÉ, A. R. et al. Atualidades e perspectivas das Anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 86–93, fev 2014.

SÃO JOSÉ, A. R. **Cultivo e mercado da graviola**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2003. 36 p.

SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MARTINS, A. B. G. Clonagem de quatro espécies de Annonaceae potenciais como porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 286-289, 2003.

SCHUMMER, C. et al. **Talanta**, v. 77, n. 4, p. 1473-1482, 2009.

SHAREEF, A.; ANGOVE, M. J.; WELLS, J. D. **Journal of Chromatography A**, v. 1108, n. 1, p. 121-128, 2006.

SHARMA, Y. C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S. N. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. **Fuel**, v. 87, p. 2355-2373, 2008.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFSC, 2010.

SINGH, K. K. *et al.* Influence of moisture content and cooking on screw pressing of crambe seed. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.79, p.165–170, 2002.

SOUSA, M. S. B. *et al.* Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.554-559, 2011.

THE MERCK INDEX. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Published by **Merck Research**. Laboratories Division of Merck & CO., Inc. Whitehouse Station, NJ, Twelfth Edition, 1996.

TIAN, Y. et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punicagranatum* L.) seed oil. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1. p.202–208, 2013.

WELLS, R. J. **Journal of Chromatography A**, v. 843, n. 1-2, p. 1-18, 1999.

WIESENBORN, D.; DODDAPANENI, R.; TOSTENSOM, K.; KANGAS, N. Cooking indices to predict screw-press performance for crambe seed. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 78, p. 467-471, 2001.

WOERFEL, J.B. Extraction. In: Oetterer, M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.; **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Manole, 2006.

ZACARONI, A. B. *et al.* Desempenho agrônômico de gravioleira (*Annona muricata* L.) sobre diferentes espécies de porta-enxertos. **Cadernos de Agroecologia**, v.9, n. 3, 2014.

ZAFRA-POLO, M. C. *et al.* Acetogenins from Annonaceae, inhibitor of mitochondrial complex I. **Phytochemistry**, Oxford, v.42, p.253-271, 1996.

ZENG, L. *et al.* Five new monotetrahydrofuranring acetogenins from the leaves of *Annona muricata*. **Journal of Natural Products**, v. 59, n. 11, p. 1035-1042, 1996.