

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

GESLIA THAISE BENÇAL

**AVALIAÇÃO DO ÓLEO DA SEMENTE DE CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum*)
EXTRAÍDO POR BANHO ULTRASSÔNICO E PELO MÉTODO DE SOXHLET COM
DIFERENTES SOLVENTES**

PONTA GROSSA

2024

GESLIA THAISE BENÇAL

**AVALIAÇÃO DO ÓLEO DA SEMENTE DE CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum*)
EXTRAÍDO POR BANHO ULTRASSÔNICO E PELO MÉTODO DE SOXHLET COM
DIFERENTES SOLVENTES**

**EVALUATION OF CUPUAÇU SEED OIL (*Theobroma grandiflorum*) EXTRACTED
BY ULTRASONIC BATH AND BY THE SOXHLET METHOD WITH DIFFERENT
SOLVENTS**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pelo Programa de Pós Graduação em Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Erica Roberta Lovo da Rocha Watanabe.
Coorientadora: Prof^a. Dr^a Priscilla dos Santos Gaschi Leite.

PONTA GROSSA

2024



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Ponta Grossa



GESLIA THAISE BENCAL

**AValiação DO Óleo DA Semente DE CUPUAÇU (THEOBROMA GRANDIFLORUM) EXTRAÍDO POR
BANHO ULTRASSÔNICO E PELO MÉTODO DE SOXHLET COM DIFERENTES SOLVENTES**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Desenvolvimento De Processos.

Data de aprovação: 07 de Maio de 2024

Dra. Erica Roberta Lovo Da Rocha Watanabe, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Juliana Martins Teixeira De Abreu Pietrobelli, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Melina Savioli Lopes, Doutorado - Universidade Federal de Alfenas (Unifal-Mg)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 07/05/2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre guiar e iluminar meu caminho, com amor, sabedoria e esperança.

Às minhas orientadoras, Profa. Dra. Erica Roberta Lovo da Rocha Watanabe e Profa. Dra. Priscilla dos Santos Gaschi Leite pela orientação com toda a sabedoria, paciência e apoio.

Ao meu esposo, Saulo, pelo amor, incentivo, paciência e companheirismo, e ao meu filho, Gregorio, pelo amor incondicional que me motivam nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, Alfredo e Andréa, por todo amor e apoio durante a minha vida, e as minhas irmãs, Lauanny e Isabella, pelo amor e atenção dedicadas quando sempre precisei.

Às professoras Prof^a Dr^a Melina Savioli Lopes e Prof^a Dr^a Juliana de Abreu Pietrobelli pela composição da banca de defesa e seus comentários.

Prof. Dr. Alex Sanches Torquato, Centro de Pesquisa em Lipídios Vegetais e suas Aplicações (CEPELIVA) e ao Laboratório Multiusuário Central Analítica Multiusuário de Medianeira (CEANMED) pela realização das análises e interpretação dos resultados desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Jânio Sousa Santos, pela disponibilidade e por todo conhecimento compartilhado.

Às minhas amigas, Daiane Rogeski e Karolina Yaekashi, pelo companheirismo e ajuda com as análises.

Ao Henrique Carbonar, pelo conhecimento repassado para que eu pudesse dar início a esse projeto.

RESUMO

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), fruta nativa brasileira originária da Amazônia, possui amplo consumo de sua polpa no Brasil, porém mesmo a sua semente apresentando grande quantidade de óleo em sua estrutura, tem destino inadequado, muitas vezes virando rejeito. Desta forma, este trabalho teve como objetivo contribuir com o aproveitamento da semente de cupuaçu por meio da extração deste óleo usando solventes orgânicos variados, como o hexano, etanol, isopropanol e acetato de etila, visando avaliar as características de cada produto obtido. As extrações com cada solvente ocorreram por dois métodos distintos, o Soxhlet e o ultrassom, para se avaliar o teor de óleo obtido em cada ensaio.. Além disso, os produtos das extrações foram analisados por cromatografia gasosa para determinação dos ácidos graxos constituintes do óleo e suas concentrações e pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) para analisar quantitativamente a presença de atividade antioxidante nas amostras. Assim, foi possível correlacionar os resultados dos ensaios de acordo com o solvente utilizado e com o método de extração estudado. Obteve-se um rendimento de óleo entre 10 e 36% com o uso do ultrassom, sendo 10% obtido com etanol e 36% com acetato de etila, e de 25 a 36%, sendo 25% obtido com etanol e 36% com isopropanol e acetato de etila, para o método de Soxhlet. Já em relação aos dados da cromatografia gasosa observou-se que os ácidos graxos não sofreram grandes variações com a mudança de método e de solvente, havendo predominância dos ácidos oleico e esteárico. Os resultados para atividade antioxidante mostraram-se elevados com todos os solventes e indiferente com relação ao método de extração, variando entre 26% com o acetato de etila, a 103% com o etanol. Concluiu-se que a extração de óleo com solventes alternativos foi eficiente, visto que obteve-se bons resultados dos ácidos graxos analisados e grande potencial antioxidante do óleo de cupuaçu.

Palavras-chave: extração de óleo; ultrassom; solventes alternativos; atividade antioxidante.

ABSTRACT

Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) is a native Brazilian fruit, belonging to the Sterculiaceae family, widely consumed in Brazil. It stands out for the characteristic flavor of its acidic pulp and intense aroma. Its seed has its fate neglected, turning into a waste, although it has a large amount of oil in its structure. The extraction of vegetable oils can be done using various organic solvents, such as hexane, but in this case, we sought to replace it with alternative solvents, such as ethanol, isopropanol and ethyl acetate, due to its toxicity, aiming at a better quality of the oils linked to a similar amount. The factors that act on the extraction mechanisms are temperature, particle size and the type of method used. Therefore, extraction was also carried out using two different methods, Soxhlet and ultrasound, with the aim of proving the difference in oil quality due to high temperatures. The present work aims to extract cupuaçu oil by the Soxhlet and ultrasound methods and characterize them by gas chromatography and the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method, quantitatively analyzing the presence of antioxidant activity in the samples. Thus, it was possible to correlate the results of the tests according to the solvent used and the extraction method studied. An oil yield of between 10 and 36% was obtained using ultrasound, with 10% obtained with ethanol and 36% with ethyl acetate, and 25 to 36%, with 25% obtained with ethanol and 36% with isopropanol. In relation to gas chromatography data, it was observed that fatty acids did not suffer major variations with the change of method and solvent when analyzing the data obtained by gas chromatography, with the predominance being oleic and stearic acids, as literature. The results for antioxidant activity were high with all solvents and regardless of the protection method, varying between 26%, with ethyl acetate, to 103%, with ethanol. It is concluded that oil extraction with alternative solvents was efficient, given that it obtained good results for fatty acids analysed and high antioxidant potential in the cupuaçu oil.

Keywords: oil extraction; ultrasound; alternative solvents; antioxidant activities.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Cupuaçu.....	13
Figura 2: Soxhlet.	16
Figura 3: Banho ultrassônico.....	18
Figura 4: Processo de cavitação do banho ultrassônico.	19
Figura 5: Esquema do processo para extração e caracterização do óleo de cupuaçu.....	25
Fotografia 1: Esquema em série do método de soxhlet.	26
Fotografia 2: Esquema de extração por banho ultrassônico.	27
Fotografia 3: Extratos após banho ultrassônico.	32
Fotografia 4: Corpo de fundo da extração com etanol após rotoevaporação....	33
Fotografia 5: Curva padrão de ácido ascórbico.	37
Fotografia 6: Amostras de óleo após tempo de reação com DPPH.....	38
Gráfico 1: Atividade antioxidante dos óleos.....	39
Quadro 1: Nomenclatura adotada para as amostras.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição do ácido graxo de cupuaçu.	14
Tabela 2: Concentrações das soluções de ácido ascórbico e volume da solução de DPPH adicionado.	29
Tabela 3: Porcentagem de óleo obtida pelo método de soxhlet.	31
Tabela 4: Porcentagem de óleo obtida pelo método de ultrassom.	33
Tabela 5: Concentração de ácidos graxos dos óleos extraídos pelo método de soxhlet.	34
Tabela 6: Concentração de ácidos graxos dos óleos extraídos por ultrassom.	35
Tabela 7: Porcentagem equivalente do perfil de ácidos graxos dos óleos extraídos.	35
Tabela 8: Atividade antioxidante dos óleos.	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
C16:0	Ácido palmítico
C18:0	Ácido esteárico
C18:1n-9	Ácido oléico
C18:2n-6	Ácido linoléico
C18:3n-3	Ácido linolênico
C20:0	Ácido araquídico
C20:1	Ácido gadoléico
C20:4n-6	Ácido araquidônico
mg	Miligrama
L	Litro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Objetivo geral	11
1.2 Objetivos específicos	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Cupuaçu	12
2.2 Óleos vegetais	15
2.2.1 Extração pelo método de soxhlet	16
2.2.2 Extração por ultrassom	17
2.2.3 Extração com solventes alternativos	20
2.2.4 Caracterização do óleo	21
2.2.5 Usos do óleo da semente de <i>theobroma grandiflorum</i>	22
3 METODOLOGIA	24
3.1 Materiais	24
3.2 Método	24
3.2.1 Preparo da amostra	25
3.2.2 Extração do óleo	25
3.2.3 Caracterização do óleo	28
<u>3.2.3.1 Determinação dos ácidos graxos do óleo de cupuaçu</u>	<u>28</u>
<u>3.2.3.2 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH</u>	<u>29</u>
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
4.1 Quantificação da extração do óleo	31
4.2 Determinação dos ácidos graxos	34
4.3 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH	36
5 CONCLUSÃO	42
5.1 Trabalhos futuros	43
REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de espécies nativas do mundo, com uma vasta diversidade genética, destacando-se por sua produção de frutas tropicais e colocando o país em terceiro lugar como maior produtor mundial de frutas, atrás da China e da Índia (ESALQ, 2022). Devido ao elevado índice de produtividade, há um grande número de agroindústrias instaladas pelo Brasil, sendo assim grande também a produção dos seus resíduos (BELING, 2005; LOUSADA *et al.*, 2005; SCHIEBER *et al.*, 2001).

A geração desses resíduos ocorre principalmente no processamento da fruta, sendo geralmente constituídos de casca, caroço ou semente e bagaço, e na maioria das fábricas são desperdiçados. Porém, destaca-se que muitos nutrientes e compostos antioxidantes se concentram majoritariamente nas cascas e sementes, e diversos autores relacionam o seu consumo aos efeitos benéficos na saúde do homem (LIMA, 2001; KIM *et al.*, 2007; MELO *et al.*, 2008; NIKI *et al.*, 2005).

Entre as espécies da Amazônia, o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) apresenta potencial oleaginoso, em que podem ser extraídos óleos e gorduras com excelentes propriedades físico-químicas. As sementes podem ser utilizadas para diversas finalidades, tanto na indústria cosmética quanto alimentícia, pois possuem altos valores de proteínas (9,80g/100g), lipídios (63,13g/100g) e calorias totais (671,73kcal/100g), além de serem fontes de compostos bioativos que podem ter diferentes potenciais antioxidantes. Assim, busca-se constantemente tecnologias para a extração de gordura e óleo do cupuaçu, porém a maior dificuldade é devida a resistência da casca das sementes (ESALQ, 2022; SOUSA, 2011; VILALBA, 2003).

O método de extração mais utilizado é a sólido-líquido, sendo o hexano o solvente mais empregado devido a sua baixa temperatura de ebulição, alta estabilidade e alta capacidade de dissolução. Em contrapartida, este solvente é um grande contribuinte da poluição ambiental e seu uso pode afetar o sistema nervoso central do manuseador. Assim, visando o meio ambiente e a segurança do trabalhador, tem-se estudado solventes alternativos, ou seja, solventes mais verdes no processo de extração (GANDHI *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Dentre os solventes verdes, os álcoois de cadeia curta, especialmente o etanol e o isopropanol, ganharam atenção como solventes potenciais para extração

de óleos. São solventes alcoólicos menos tóxicos que o hexano e mais seguros devido ao maior ponto de inflamação e possuem facilidade de adaptação às instalações do processo industrial já existente (SETH *et al.*, 2007; BAKER, 1983).

Para minimizar os efeitos da degradação do óleo decorrentes das altas temperaturas e longas horas de processo, além do uso excessivo de solventes que acontecem no método de extração por soxhlet, uma alternativa é a extração por ondas ultrassônicas. Esta vem se mostrando eficiente, uma vez que em alguns casos o rendimento de óleo extraído chega próximo ao da extração por soxhlet, porém sendo um método mais barato e rápido, menos perigoso e com menor interferência no produto obtido (BRUNI *et al.*, 2014; FREITAS *et al.*, 2007).

Desta forma, considerando-se o grande potencial da semente de cupuaçu e a importância dos compostos antioxidantes advinda do óleo, este estudo objetivou quantificar o óleo de cupuaçu obtido por extração ultrassônica assistida e pelo método soxhlet com diferentes solventes e avaliar a atividade antioxidante e o perfil de ácidos graxos dos produtos. Estudos e pesquisas na área agregam valor a esses resíduos, uma vez que colaboram com a utilização eficiente, econômica e segura dos mesmos, sendo um assunto de interesse econômico e ambiental de todo o país.

1.1 Objetivo geral

Comparar o teor óleo obtido da semente de cupuaçu por extração ultrassônica assistida e pelo método de soxhlet com diferentes solventes e determinar a atividade antioxidante e o perfil de ácidos graxos dos produtos.

1.2 Objetivos específicos

- Realizar a extração do óleo de cupuaçu pelo método de soxhlet e pelo banho ultrassônico, com proporção solvente/amostra conhecidos e tempo de extração ou ciclos de descarga pré-estabelecidos;
- Utilizar os solventes hexano, etanol, isopropanol e acetato de etila para o processo de extração e quantificar o rendimento do óleo bruto em cada caso;
- Determinar, por cromatografia gasosa, o perfil de ácidos graxos dos óleos obtidos e compará-los quanto ao método e solventes utilizados;
- Quantificar a ação antioxidante de cada óleo extraído pelo método de DPPH.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste tópico serão abordados o cupuaçu, os usos das suas sementes, os óleos vegetais, os métodos de extração de óleos, a extração com solventes alternativos e também as caracterizações dos óleos, por cromatografia gasosa e método DPPH.

2.1 Cupuaçu

O cupuaçuzeiro é uma espécie nativa das florestas tropicais, encontrado, principalmente, no Brasil nos estados do Pará, Amazonas, Rondônia e Acre. Pertence à família Malvaceae, gênero *Theobroma*, composto por 22 espécies de plantas, e está em processo de domesticação, recebendo cada vez mais atenção de instituições de pesquisa (PUGLIESE, 2010).

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) destaca-se entre as frutas de potencial econômico na região amazônica devido às suas características distintas de paladar, fragrância e às oportunidades que sua polpa oferece nos setores doméstico e agroindustrial. Essa fruta é considerada uma das culturas mais rentáveis na Amazônia e já está atraindo interesse global no mercado de frutas exóticas tropicais (SANTOS, 2010).

O fruto do cupuaçuzeiro é uma baga com a casca dura de forma elíptica podendo pesar em média 1,500 kg, sendo até 45% do seu peso representado pela polpa. Devido à sua forte acidez, a polpa de cupuaçu não costuma ser consumida diretamente, sendo então destinada principalmente para o preparo de sucos, sorvetes, geleias, mousses e bolos. (ALVES *et al.*, 2007).

Figura 1: Cupuaçu



Fonte: Almeida; Borin (2023).

Por outro lado, as sementes representam uma fração significativa do fruto, visto que correspondem de 15 a 21,1% de seu peso, apresentando-se em número de 35 a 50 por fruto. Possuem forma circular achatada com dimensões médias de 2,5 a 2,6 cm de diâmetro por 2,0 a 2,3 cm de largura e 0,9 a 1,1 cm de espessura (SAID, 2011). Além disso, as sementes frescas contêm cerca de 84% de umidade e teor de gordura de aproximadamente 60% do peso seco (AZEVEDO *et al.*, 2003).

Antes consideradas resíduos, as sementes do cupuaçu estão despertando interesse, uma vez que é possível obter produtos semelhantes aos derivados das sementes de cacau, seguindo processos idênticos de processamento (OLIVEIRA, 2003; LANNES *et al.*, 2004). A torra das sementes de cupuaçu resulta em amêndoas semelhantes às do chocolate, sendo usadas em um produto similar, conhecido como cupulate, porém com um teor lipídico 10 vezes maior. Devido a esta característica, o fruto é bastante visado na indústria farmacêutica e alimentícia (FRANCO *et al.*, 2000; TACO, 2006; LUCCAS *et al.*, 2001).

Outra destinação possível para as sementes está na sua extração de óleo, que possui ésteres (butanoato de etila, hexanoato de etila) formados a partir de ácidos graxos ligados ao glicerol. Tem-se dos ácidos graxos saturados, os mais importantes que são o láurico, palmítico e esteárico e dos insaturados temos os ácidos oléico, linoléico e linolênico (OLIVEIRA *et al.*, 2003; ALLINGER *et al.* 1976; FREITAS, 2007).

O óleo, também denominado de manteiga, é um triglicerídeo que apresenta equilíbrio em sua composição de ácidos graxos saturados e insaturados, conferindo assim baixo ponto de fusão (aproximadamente 30°C) o que faz com que em

temperatura ambiente seu estado seja sólido e macio que funde rapidamente entrando em contato com a pele (ARAÚJO *et al.*, 2007; LUCCAS *et al.*, 2001; AZEVEDO, 2001). Na Tabela 1 é possível observar os principais ácidos graxos e suas quantidades presentes na manteiga de cupuaçu.

Tabela 1: Composição do ácido graxo de cupuaçu.

Ácido graxo	%
(C16:0) palmítico	6,6 – 7,8
(C18:0) esteárico	30,8 – 43
(C18:1) oleico – ômega 9	42,2 – 46
(C18:2) linoleico – ômega 6	3 – 4,6
(C20:0) araquídico	2 – 11
(C22:0) behênico	1,8 – 3,2

Fonte: Adaptado de Lannes *et al.* (2004).

Destaca-se na Tabela 1 que a manteiga de cupuaçu possui maiores teores dos ácidos esteárico e oleico. O primeiro é sólido à temperatura ambiente, insolúvel em água, mas solúvel em solventes orgânicos como álcool e éter. É amplamente utilizado na indústria de sabões, cosméticos e produtos farmacêuticos devido à sua capacidade de formar sais de sódio, cálcio e magnésio, além de suas propriedades emulsificantes e estabilizantes. Em contrapartida, o ácido oleico é líquido à temperatura ambiente, é solúvel em álcool e éter, mas ligeiramente solúvel em água. É encontrado em óleos vegetais, como o azeite de oliva, e é conhecido por seus efeitos benéficos para a saúde cardiovascular devido às suas propriedades de redução do colesterol (BURDGE; CALDER, 2015).

Algumas das características físico-químicas da manteiga de cupuaçu são o índice de Iodo de aproximadamente 41,5 g I₂/100 g e o índice de saponificação de aproximadamente 190 mg KOH/g. Na fração não saponificável, os fitoesteróis encontrados são: β -sitosterol (78,56%), estigmasterol (10,35%) e campesterol (4,4%), que atuam como repositores da barreira lipídica da pele, diminuindo seu ressecamento e sua desidratação¹¹. As sementes também são fontes de compostos bioativos que podem ter diferentes potenciais antioxidantes contra o estresse oxidativo associado a doenças crônicas (FLECK; NEWMAN, 2012; LANNES *et al.*, 2004; REVILLA, 2002).

O cupuaçu também desempenha um papel crucial na economia e sustentabilidade da região amazônica, sendo a fruta uma fonte de renda para

comunidades locais, promovendo práticas agrícolas sustentáveis e a conservação da biodiversidade (BARROS, 2016).

2.2 Óleos vegetais

A crescente demanda por óleos e gorduras destinados ao consumo humano com ênfase em alimentos saudáveis e novos usos industriais aumentou o interesse em fontes alternativas de óleos vegetais. Estas tem sido alvo de estudos, na busca de fontes de lipídios com melhor valor nutricional e de potencializar o uso comercial. Nesse contexto, a região amazônica se destaca por apresentar muitas espécies que produzem oleaginosas com características interessantes e composições únicas (DORNI *et al.*, 2018).

Os óleos vegetais são gorduras extraídas de plantas, geralmente encontrados nas sementes de seus frutos, mas como exemplos diferentes disso tem-se o óleo de abacate que é encontrado na polpa, o de canela encontrado na casca e o de copaíba encontrado no caule. Estes são indispensáveis na dieta humana como fornecedores de ácidos graxos essenciais e compostos bioativos lipossolúveis (SERRA *et al.*, 2019).

Em se tratando da composição dos óleos vegetais, são triglicerídeos formados por uma mistura de ácidos graxos saturados ou insaturados e devido a sua natureza apolar, são insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos. São utilizados nos alimentos, nos medicamentos e também na produção de biocombustíveis (SUTILLE *et al.*, 2007).

Sendo o cupuaçu uma fruta com sementes ricas em óleo, seu método de extração é vital para desbloquear uma variedade de benefícios visando a conservação de suas propriedades nutricionais, pois são utilizados nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica, destacando a importância econômica e sustentável desse recurso da Amazônia (BARROS, 2016).

Para a extração de óleos e gorduras vegetais, as tecnologias industriais incluem prensagem mecânica e hidráulica, a extração química, além de outras técnicas mais avançadas utilizando fluido supercrítico e enzimas. A principal extração a quente aplicada em pesquisas utiliza o equipamento chamado soxhlet (CARBONAR, 2022).

A utilização de processos mecânicos é vantajosa para a produção de óleos de alta qualidade, mas o rendimento do produto é relativamente baixo. Por outro lado, rendimentos mais elevados são alcançados utilizando métodos de extração com solvente (CAVALCANTI *et al.*, 2016).

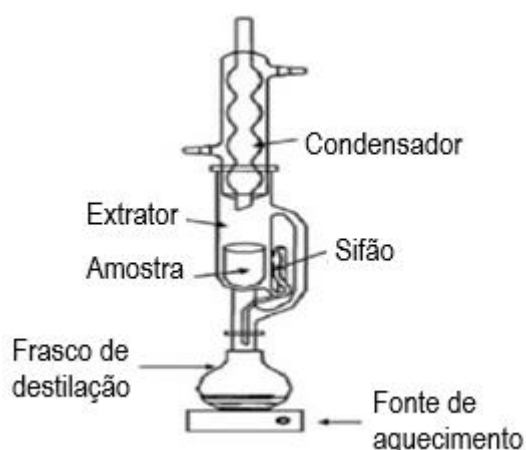
Visando minimizar as desvantagens dos métodos clássicos de extração, como longos tempos de processo, grandes volumes de solventes e sua toxicidade, degradação e perda de propriedades físico-químicas e bioquímicas de compostos extraídos, é de suma importância considerar tecnologias avançadas e verdes para a extração de óleos, como é o caso da extração por ultrassom, dependendo do solvente utilizado (FREITAS *et al.*, 2007; LIAUW *et al.*, 2008).

2.2.1 Extração pelo método de soxhlet

A técnica de extração de óleo a quente utilizando o método de soxhlet é um processo onde ocorre a transferência dos constituintes de um material inerte para o solvente em contato. O óleo transferido para o solvente é recuperado sem reação química, sendo este um ponto favorável ao processo (SUTILLE *et al.*, 2007).

O nome é dado ao aparelho de laboratório inventado em 1879 por Franz von Soxhlet, um químico agrícola de origens germânicas conforme a Figura 2.

Figura 2: Soxhlet.



Fonte: adaptado de Jensen (2007).

Na extração em laboratório, as sementes são colocadas em cartuchos no extrator. O solvente aquecido fica conectado ao soxhlet em um balão e evapora,

condensando sobre o material sólido diversas vezes, denominadas ciclos. O solvente condensado atinge certo volume na câmara do soxhlet contendo a fase sólida, depois escoar novamente para dentro do balão, onde é aquecido e novamente evaporado (SUTILLE *et al.*, 2007).

As vantagens da extração pelo método de soxhlet consistem na metodologia simples, não sendo necessário treinamento especializado para o processo, na quantidade final maior de óleo extraído quando comparado a outros métodos e em não haver necessidade de filtração do sólido ao término da extração, visto que a amostra fica envolta nos cartuchos (LEMES, 2018).

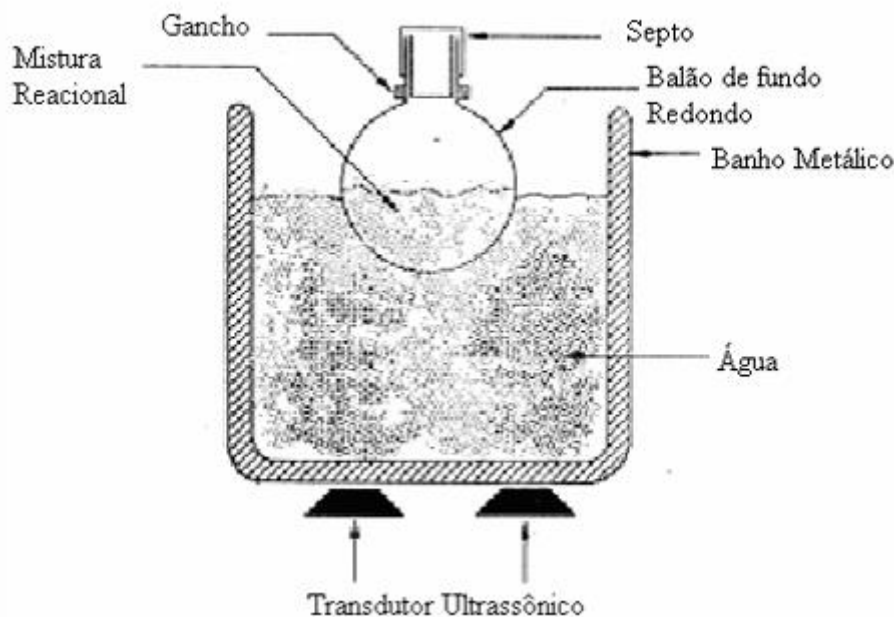
Foi apresentado no trabalho de Pereira *et al.* (2017) uma comparação entre métodos de extração do óleo da semente de maracujá, sendo o óleo avaliado em termos de rendimento, propriedades físico-químicas e propriedades de bioatividades. Como esperado, o maior rendimento em peso foi obtido pelo método soxhlet usando n-hexano como solvente, e, além disso, o maior teor de tocoferóis e atividade antioxidante foram encontrados nos extratos obtidos com etanol usando soxhlet e a técnica de extração assistida por ultrassom.

Apesar da maior quantidade de óleo extraído a extração pelo soxhlet apresenta desvantagens devido ao tempo de extração longo, na grande quantidade de solvente utilizado e, principalmente, nas elevadas temperaturas utilizadas durante a extração, sendo estas responsáveis pela degradação das propriedades do óleo (LEMES, 2018).

2.2.2 Extração por ultrassom

A extração assistida por ultrassom é uma técnica alternativa a extração por solvente a quente (soxhlet) e tem se mostrado igual ou até mais eficiente que a mesma. Este método tem apresentado resultados promissores, e possui vantagens como a simplicidade do equipamento, a redução da quantidade dos reagentes utilizados, gerando assim uma economia de custos, a possibilidade de usos de variados solventes na extração e também a diminuição do tempo necessário para realizá-las (BRUNI *et al.*, 2014; FREITAS *et al.*, 2007; MATA *et al.*, 2009; MULET *et al.*, 2002).

Figura 3: Banho ultrassônico.



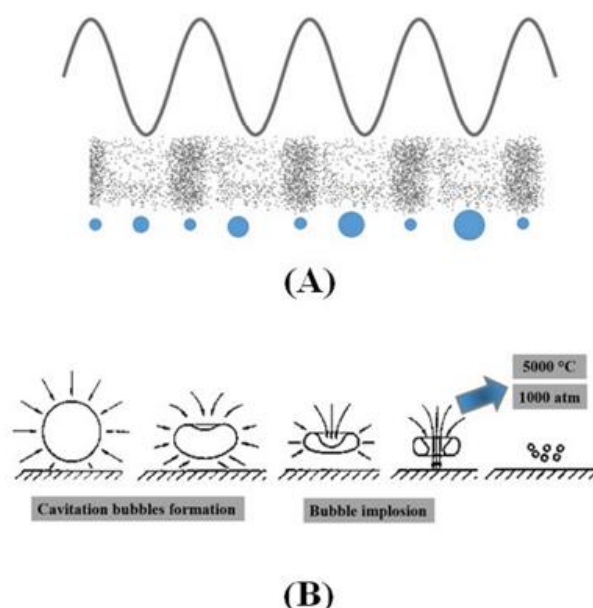
Fonte: Low (1989).

Na Figura 3 encontra-se a representação de uma amostra em banho ultrassônico. A amostra (mistura reacional) é colocada dentro do balão de fundo redondo inserido, geralmente, na água do banho, que precisa cobrir o nível da amostra dentro do balão, pois ela é responsável pela emissão das ondas geradas no transdutor ultrassônico, fazendo assim ocorrer o processo de cavitação (LOW, 1989).

No banho ultrassônico, as ondas se propagam no meio líquido devido a variação de pressão, causando mudanças físicas e químicas gerando assim as forças de cavitação resultantes, onde as bolhas geradas podem se chocar de forma intensa e produzir pressão local causando a ruptura dos tecidos, favorecendo a liberação de substâncias intracelulares do solvente (BRUNI *et al*, 2014; VALLADÃO *et al*, 2017).

A cavitação é diretamente proporcional a frequência do equipamento, ou seja, quanto maior a frequência, maior a cavitação resultante. Neste processo ocorre a geração de microbolhas que implodem gerando pontos de alta temperatura e pressão facilitando assim o processo extrativo. Deve-se considerar também o meio em que se está inserida a amostra, no caso de um líquido promove-se efeitos de ativação em reações químicas e otimização em processos extrativos (VALLADÃO *et al*, 2017; MATOS *et al.*, 2009).

Figura 4: Processo de cavitação do banho ultrassônico.



Fonte: Adapto de Van Wijngaarden (2016).

(A) Formação de bolas de cavitação; (B) Efeito de cavitação observado no banho ultrassônico;

Segundo Bruni *et al.* (2014), em seu trabalho sobre o estudo do método de ultrassom para a extração de óleo de sementes de uva provenientes de rejeitos do processo, obtiveram o resultado de 15,15% de óleo pelo método de extração por ultrassom, e 15,50% de óleo pelo método de extração por solvente a quente. Assim, mostrou-se que o método de ultrassom é uma alternativa ao método de extração a quente, pois utiliza temperatura e tempo menores, evitando assim perdas na qualidade de óleo decorrente destes fatores, sendo então considerado mais vantajoso.

Conforme Schons *et al.* (2017), utilizando-se a extração assistida por ultrassom da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.), foi possível obter um rendimento de 37,38% de óleo. Os resultados de caracterização mostraram uma boa qualidade do óleo obtido, e a comparação feita com os resultados obtidos por prensagem e soxhlet demonstrarem a eficiência da extração por ultrassom.

Em se tratando do tempo, a extração assistida por ultrassom se destaca por ser um método adequado para extração de óleo em tempos menores do que os utilizados no soxhlet. O trabalho de Pereira *et al.* (2017) mostrou que a extração por ultrassom com etanol resultou em um rendimento do óleo da semente de maracujá semelhante ao obtido por soxhlet, porém aquele em um tempo menor (60 min) contra 240 min para este. A intensa agitação do solvente utilizado na extração por

ultrassom aumenta o contato e a interação entre o solvente e o soluto compostos, aumentando a transferência de massa e a solubilidade dos sistemas e melhorando assim o rendimento da extração.

2.2.3 Extração com solventes alternativos

Os solventes usualmente utilizados em extrações de óleos são orgânicos, como é o caso do hexano, que é o mais utilizado, sendo um solvente apolar, com baixo ponto de ebulição, facilitando a posterior separação, e elevada capacidade de dissolver o óleo. Entretanto, suas desvantagens incluem questões ambientais, de segurança operacional e de saúde, como ser um solvente altamente tóxico e com potencial cancerígeno, levando assim a busca da sua substituição por solventes alternativos, menos tóxicos ou solventes verdes (BAKER; SULLIVAN, 1983; DAGOSTIN; CARPINE; CORAZZA, 2015; FREITAS; LAGO, 2007).

Solventes atóxicos, derivados de fontes renováveis e produzidos em larga escala são fatores determinantes na escolha dos solventes para a extração. Logo, dentre muitos outros, tem-se o etanol, também chamado de álcool etílico (C_2H_6O), que é um biocombustível derivado de recursos naturais renováveis, que apresenta menor emissão de gases poluentes quando comparado aos demais combustíveis e possui um custo mais acessível, devido a produção nacional em grande escala (FREITAS; LAGO, 2007). Porém, sendo um composto polar, este tem a capacidade de extrair também a água e compostos bioativos presentes nas amostras, além de ser um solubilizante mais fraco de triacilgliceróis (DAGOSTIN *et al.*, 2015).

Tem-se também o acetato de etila ($C_4H_8O_2$), derivado do etanol, que é um solvente orgânico oxigenado, de polaridade moderada, não higroscópico e de baixa toxicidade. Possui custo mais elevado que o etanol, visto que sua produção envolve muitas etapas de processamento e utiliza reagentes diversos e ácidos minerais como catalisadores (CHAZIN, 2012; FREITAS, 2010). Vem sendo utilizado como substituto para os solventes de origem petroquímica, especialmente os aromáticos considerados cancerígenos (INT, 2009).

Álcoois de cadeia curta são classificados como solventes alternativos, entre eles, além do etanol, temos o isopropanol (C_3H_8O), produzido a partir do petróleo. Apresenta como vantagens maior segurança ambiental, possuir menor toxicidade que o hexano, ter menor probabilidade de ocorrência de problemas operacionais,

além de produzir óleo de alta qualidade contendo altas quantidades de tocoferóis e compostos fenólicos (GANDHI *et al.*, 2003; RODRIGUES; ARACAVA; ABREU, 2010).

O trabalho de Oliveira e Menezes (2017), apresentou extrações de óleo da polpa de abacate (*Persea americana* MILL) utilizando diferentes solventes, em que foi possível observar o etanol como um bom solvente alternativo a ser utilizado na extração de óleos vegetais devido a sua alta produtividade, maior segurança ambiental e à saúde e menor probabilidade de ocorrência de problemas operacionais.

Carmo (2019) em sua monografia sobre a caracterização do óleo de café verde e a solubilidade, teve como objetivo avaliar o efeito da temperatura de extração na solubilidade do óleo de café verde nos solventes isopropanol e etanol. Além disso, complementou o estudo com a avaliação do óleo em relação ao seu teor de ácidos graxos livre, entre outras coisas, concluindo que o isopropanol mostrou-se o mais eficiente dentre os parâmetros analisados.

Ainda em relação ao efeito de diferentes solventes na extração, Cao, *et al.* (2022) mostraram que há influência significativa no rendimento e na qualidade do óleo de sementes de peônia. Os maiores rendimentos de óleo foram alcançados para a mistura de clorofórmio com metanol e hexano com isopropanol, porém a acetona e o isopropanol apresentaram vantagem na extração de polifenol e maior estabilidade oxidativa e capacidade antioxidante.

2.2.4 Caracterização do óleo

Como citado anteriormente, o óleo de cupuaçu é uma fonte de ácidos graxos essenciais, se destacando pela alta concentração dos monoinsaturados, especialmente ácido oleico (C18:1) (LANNES, 2004). Além disso, a presença natural de antioxidantes indica um potencial e importante papel na proteção contra a oxidação lipídica, especialmente em ácidos graxos com alto grau de instauração (SERRA *et al.*, 2019).

Assim, para avaliar a qualidade do óleo extraído se faz necessária a sua caracterização. Dentre tantas técnicas, é de suma importância a determinação da composição dos ácidos graxos do óleo por cromatografia gasosa, além da avaliação de sua atividade antioxidante.

Esta separação ocorre na migração da amostra de uma fase estacionária por intermédio de uma fase móvel. Depois da amostra entrar no sistema cromatográfico, ela é vaporizada e introduzida em um fluxo de um gás adequado denominado de fase móvel ou gás de arraste. Este fluxo passa por um tubo contendo a fase estacionária, chamada coluna cromatográfica, onde ocorre a separação da mistura. As substâncias separadas saem da coluna dissolvidas no gás de arraste e passam por um detector que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de material eluido, gerando assim o cromatograma, onde as substâncias aparecem nele como picos com área proporcional à sua massa, possibilitando a análise quantitativa (UNESP, 2022).

O método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) para atividade antioxidante é baseado na medida do consumo do radical DPPH por um composto antioxidante. O método mais utilizado para avaliar a ação antioxidante é medir espectrofotometricamente a diminuição da absorbância do radical DPPH após o início da reação, pois no início a amostra apresenta cor violeta escuro e após a reação torna-se amarelo ou violeta claro. Trata-se de um método considerado simples, preciso e econômico, apresentando boa estabilidade na ausência da luz (KEDARE; SINGH, 2011; MONTEIRO, 2017).

Originalmente, este método utiliza metanol como solvente para o DPPH e também as amostras. Porém, como o metanol não dissolve óleos, faz-se necessário adaptações para os compostos lipofílicos dos óleos vegetais. Assim, usa-se solventes apropriados para as amostras lipídicas, como o acetato de etila (ESPIN *et al.*, 2000). Também encontra-se na literatura, porém com menor frequência, usos de reagentes como tolueno (RAMADAN; MOERSEL, 2006) e isooctano (LEE *et al.*, 2006).

No ensaio de DPPH pode-se encontrar a capacidade antioxidante da fração apolar ou da fração polar, como é o caso de Castelo-Branco e Torres (2011) que citam que os óleos de soja e de milho apresentam maiores valores de capacidade antioxidante integral e para fração apolar, enquanto o azeite de oliva extravirgem apresenta maiores valores de capacidade antioxidante para a fração polar.

2.2.5 Usos do óleo da semente de *theobroma grandiflorum*

O óleo de cupuaçu possui potencial medicinal, pois é uma fonte significativa de ácidos graxos essenciais, como ácido oleico, que ajuda a manter a saúde do

coração, reduzindo os níveis de colesterol ruim (LDL) e aumentando o colesterol bom (HDL). Possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, que ajudam a combater os radicais livres no corpo, auxiliando na prevenção de danos celulares, no envelhecimento precoce e prevenindo doenças crônicas. Pesquisas também indicam que o cupuaçu pode ter efeitos benéficos no controle da glicose sanguínea, podendo ser promissor para indivíduos com diabetes ou em risco de desenvolver a doença (BARROS, 2016).

Para a indústria farmacêutica o óleo de cupuaçu é considerado um ingrediente cosmético com alta capacidade de retenção de água, podendo chegar a 240%, superior ao da lanolina, podendo assim substituí-la, visto que sua maior afinidade com a água contribui para a estabilidade de emulsões e aumenta o efeito hidratante. É também um excelente emoliente, com rápida penetração na pele, sendo comumente utilizado em produtos cosméticos como cremes, loções e produtos para cabelo. Além da hidratação, o óleo de cupuaçu é reconhecido por suas propriedades regenerativas, auxiliando na reparação da pele danificada e na melhoria da elasticidade (OLIVEIRA, 2003).

Contém em sua composição fitoesteróis, que atuam promovendo ação anti-inflamatória da pele, estimulando o processo de cicatrização e atenuando dermatites e ulcerações, pois os mesmos são capazes de regular o equilíbrio hídrico e atividade dos lipídeos da camada superficial da pele. De modo geral, o óleo pode ser usado em emulsões para cuidado da pele, tratamento de cabelo, batons e protetores labiais (FLECK; NEWMAN, 2012; LANNES *et al.*, 2004).

Já na indústria alimentícia, a manteiga de cupuaçu é utilizada no preparo de sorvetes, chocolates, geleias e outros doces, muitas vezes substituindo a manteiga de cacau com a vantagem de proporcionar um produto mais macio e à sua estabilidade em altas temperaturas (LANNES *et al.*, 2004).

3 METODOLOGIA

Neste tópico serão descritas as metodologias utilizadas para o processo extrativo de óleo de cupuaçu, incluindo o preparo da amostra, a extração do óleo e sua caracterização.

3.1 Materiais

As amostras de sementes de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) provém de agricultura familiar, coletadas em janeiro de 2022 na cidade de Pimenta Bueno – Rondônia, localizada em 11° 40' 29"S 61° 11' 28"O.

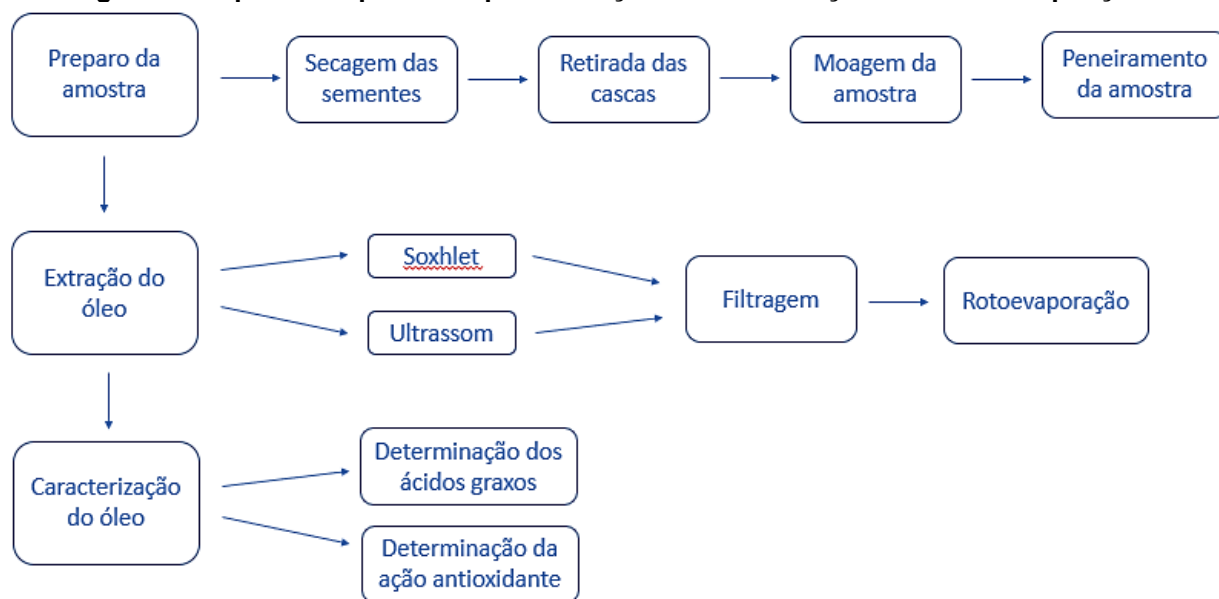
Utilizou-se os solventes hexano 99,5% da marca Neon ($MM=86,18 \text{ g.mol}^{-1}$), etanol 99,9% da marca Neon ($MM=46,07 \text{ g.mol}^{-1}$), isopropanol 99,5% da marca Vetec ($MM=60,1 \text{ g.mol}^{-1}$) e acetato de etila 99,5% da marca Neon ($MM= 88,11 \text{ g.mol}^{-1}$), da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa.

3.2 Método

De acordo com estudos de e Silva et.al. (2015), existem variáveis que influenciam no processo de extração para maior rendimento de óleos, como o tamanho da partícula, o solvente utilizado no processo, a proporção solvente/amostra e o tempo de extração (Lago & Freitas, 2006; Tsukui, 2013).

Neste tópico descreveu-se os métodos utilizados nos processos, desde preparo de amostra até a caracterização do óleo de *Theobroma Grandiflorum*, conforme a Figura 5.

Figura 5: Esquema do processo para extração e caracterização do óleo de cupuaçu.



Fonte: Autoria própria (2022).

3.2.1 Preparo da amostra

A amostra consiste em sementes de *Theobroma grandiflorum* que foram secadas em estufa a 50 °C, pelo período de 5 horas. Posteriormente, descascou-se as sementes, triturou-as em liquidificador doméstico e peneirou-as.

Para padronização do tamanho das partículas, utilizou-se o agitador de peneiras para análises granulométricas eletromagnético, cuja abertura do diâmetro era de 1 mm, especificação ABNT 18, mesh 16 da marca Bertel. Esse tamanho foi definido baseado no trabalho de Gabriel (2020), não sendo utilizado diâmetro de partícula menor por comprometer a etapa de filtração no processo.

3.2.2 Extração do óleo

A extração do óleo de cupuaçu foi realizada utilizando-se o método de soxhlet e o banho ultrassônico de 40 kHz, da marca Tecnal. O procedimento consistiu inicialmente em pesar em balança analítica, modelo Mark 205 A (BEL Engineering), 10 gramas da amostra de cupuaçu de diâmetro médio de 1mm, para cada análise.

Para o método soxhlet, testes foram realizados para definição do número de ciclos necessários para extração do óleo de cupuaçu. Estabeleceu-se 6 ciclos de

extração para os solventes estudados (hexano, etanol, isopropanol e acetato de etila), uma vez que a partir do 7º refluxo não se encontrou mais óleo no solvente.

O sistema foi montado em série para a extração em duplicata, conforme a Figura 6, sendo pesado previamente o balão com as esferas de vidro (B_v) e acoplado ao equipamento para extração. Após finalizados os 6 ciclos, o balão com as esferas contendo o óleo extraído e o solvente foi colocado em evaporador rotativo para remoção do solvente, sendo em seguida levado ao dessecador e pesado a cada 10 min até peso constante do óleo (B_c).

Fotografia 1: Esquema em série do método de soxhlet.



Fonte: Autoria própria (2022).

Em relação à extração realizada no banho ultrassônico, as amostras foram adicionadas a erlenmeyers e colocadas em contato direto com cada solvente estudado, sendo utilizada a proporção de amostra/solvente de 1:5 e o tempo de extração de 90 minutos, de acordo com o descrito nos trabalhos de Gabriel (2020) e Carbonar (2022). Os ensaios foram realizados em duplicata.

Os erlenmeyers preparados foram colocados no banho ultrassônico centralizados e lado ao lado, de forma a se garantir a homogeneidade de sonificação em ambos. Em seguida, colocou-se água no equipamento até que as amostras dentro dos erlenmeyers ficassem submersas, conforme Fotografia 2, e manteve-se a temperatura do banho durante a extração por volta de 25 °C para evitar a degradação das propriedades do óleo e a peroxidação de seus compostos.

Fotografia 2: Esquema de extração por banho ultrassônico.



Fonte: Autoria própria (2022).

Após os 90 min de extração no banho ultrassônico, a suspensão foi filtrada, por filtração simples com papel filtro qualitativo, em um balão de fundo redondo (B_V), previamente pesado, sendo colocado no evaporador rotativo para a evaporação total do solvente. Posteriormente, manteve-se o balão no dessecador, pesando a cada 10 minutos até peso constante (B_C).

Finalizadas as extrações com os dois métodos para os solventes hexano, etanol, isopropanol e acetato de etila, em duplicata, calculou-se a porcentagem de óleo bruto obtida, pela Equação 1, sendo possível a comparação entre os mesmos. A nomenclatura adotada para cada ensaio é descrita no Quadro 1.

$$X_{\text{óleo}} = \frac{B_C - B_V}{M_A} \times 100$$

Equação 1: Porcentagem de óleo obtido.

Onde:

B_C = peso do balão com óleo.

B_V = peso do balão vazio.

M_A = massa da amostra.

Quadro 1: Nomenclatura adotada para as amostras.

Ensaio	Nomenclatura	Solvente	Método
1	A1	Isopropanol	Soxhlet
2	B1	Isopropanol	Ultrassom
3	A2	Etanol	Soxhlet
4	B2	Etanol	Ultrassom
5	A3	Hexano	Soxhlet
6	B3	Hexano	Ultrassom
7	A4	Acetato de Etila	Soxhlet
8	B4	Acetato de Etila	Ultrassom

Fonte: Autoria própria (2023).

3.2.3 Caracterização do óleo

Em se tratando da caracterização do óleo extraído, este foi avaliado por cromatografia gasosa para se determinar a sua concentração de ácidos graxos e pelo método do DPPH para obtenção de sua atividade antioxidante. Essas análises, descritas a seguir, dão suporte para a comparação dos métodos e solventes utilizados na extração.

3.2.3.1 Determinação dos ácidos graxos do óleo de cupuaçu

O óleo extraído foi enviado para o Centro de Pesquisa em Lipídios Vegetais e suas Aplicações (CEPELIVA) e ao Laboratório Multiusuário Central Analítica Multiusuário de Medianeira (CEANMED), sediados no Campus de Medianeira da Universidade Tecnológica Federal do Paraná na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, que realizaram a quantificação de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa.

Antes da análise cromatográfica, as amostras foram preparadas na forma de ésteres metílicos de ácidos graxos de acordo com o método de descrito por Hartman e Lago (1973), e adaptado por Maia e Rodriguez-Amaya (1993). As análises cromatográficas foram realizadas utilizando cromatógrafo a gás, com detector de ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida SelectFame CP 7420 (100 m, 0,25 mm e 0,25 µm d.i., Agilent J&W).

A metodologia de separação dos ésteres metílicos de ácidos graxos consistiu em adicionar 225 µL de padrão interno e 2 mL de isoctano em 20 mg de óleo e misturar por 30 segundos. Em seguida, adicionou-se, em metanol 2 mol.L⁻¹, 1,75 mL

de solução de NaOH, sendo homogeneizado em shaker por 5 minutos. Armazenou-se 1 mL desta amostra (de ésteres) a -18°C para a leitura posterior no cromatógrafo.

3.2.3.2 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH

A determinação da atividade antioxidante foi baseada no método fotolorimétrico do DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazila) adaptado de Kalantzakis *et al.* (2006), que em sua metodologia descreveu a utilização da solução de DPPH em acetato de etila na concentração de 200 µg/mL. Para isso, foi deixado a solução em repouso no escuro por 30 min e posteriormente foi lida a absorbância no espectrofotômetro em 512 nm, sendo o resultado expresso em porcentagem de inibição.

Construiu-se a curva padrão do DPPH com ácido ascórbico. O preparo da solução de DPPH consistiu-se na pesagem de 2,4 mg de DPPH, que foi dissolvido em acetato de etila no balão volumétrico de 100 mL. Para as soluções de ácido ascórbico, trabalhou-se com 1 mL em diluições nas concentrações apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Concentrações das soluções de ácido ascórbico e volume da solução de DPPH adicionado.

Concentração de ácido ascórbico (mg/L)	Solução de DPPH (mL)
17,6	4
35,2	4
52,8	4
70,4	4
88,1	4
105,7	4
123,8	4
140,9	4
158,5	4
176,1	4
193,7	4
211,3	4
229,0	4
246,6	4
264,2	4
281,8	4

Fonte: Autoria própria (2022).

Após a construção da curva padrão, realizou-se as diluições do óleo extraído com o acetato de etila, resultando em uma amostra de 1 mL nas proporções 40% e 70%, e a terceira amostra de óleo puro. Adicionou-se 4 mL da solução de DPPH e

reservou-se em lugar escuro por 30 min, sendo em seguida realizada a leitura da absorbância no espectrofotômetro em 512 nm. As análises foram realizadas em duplicatas para cada óleo extraído por diferente método e solvente, possibilitando a comparação entre os mesmos.

Calculou-se a porcentagem de inibição de DPPH pela Equação 2, sendo que quanto maior a porcentagem de redução, maior será a capacidade antioxidante da amostra. Com estes dados construiu-se a curva de concentração, em miligramas de ácido ascórbico equivalente por litro de solução, pela porcentagem de inibição de DPPH.

$$\% \text{ inib} = \frac{Abs \text{ branco} - Abs \text{ amostra}}{Abs \text{ branco}} \times 100$$

Equação 2: Porcentagem de inibição.

Onde:

Abs branco = absorbância do branco (nm);

Abs amostra: absorbância da amostra (nm);

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão apresentados os resultados de teor de óleo nas extrações com diferentes solventes e diferentes métodos, além do teor de ácidos graxos identificado via análises cromatográficas e da porcentagem de inibição de DPPH em cada amostra de óleo.

4.1 Quantificação da extração do óleo

O óleo de cupuaçu foi obtido pelo método de soxhlet e pelo banho ultrassônico, com os solventes isopropanol, etanol, hexano e acetato de etila. Em cada um dos experimentos foi possível a quantificação do óleo para posterior comparação.

No método do soxhlet, o óleo foi extraído após 6 ciclos de refluxo, sendo o tempo correspondente de extração para cada solvente apresentado na Tabela 3. Observa-se que a extração utilizando o etanol (A2) foi a mais longa, com 3h e 50 min, e a mais rápida correspondeu ao hexano (A3), com 1h e 24 min. Ainda em relação à Tabela 3, são apresentados os resultados da porcentagem de óleo obtida na duplicata e a sua média, além do desvio padrão.

Nota-se na Tabela 3 que os valores de porcentagem de óleo foram próximos, por volta de 37%, para o isopropanol (A1), hexano (A3) e acetato de etila (A4), sendo as amostras extraídas com etanol (25,4089%) as mais divergentes. Entre os solventes estudados, o etanol é o que possui a maior polaridade, favorecendo a extração dos componentes polares do grão, o que acarreta em uma diminuição do teor de óleo (CAO *et al.*, 2022).

Tabela 3: Porcentagem de óleo obtida pelo método de soxhlet.

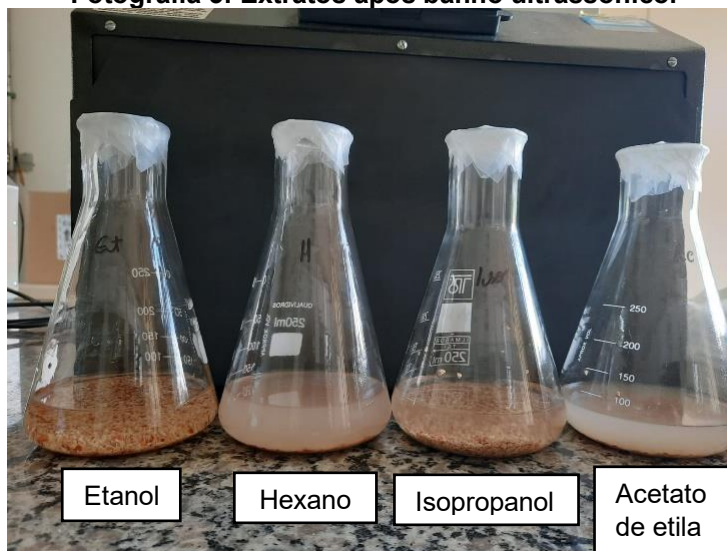
AMOSTRA	TEMPO DE EXTRAÇÃO	% ÓLEO 1	% ÓLEO 2	MÉDIA (%)	DESVIO PADRÃO
A1	2h15min	34,8816	37,6689	36,2753	1,9709
A2	3h50min	23,9274	26,8903	25,4089	2,0951
A3	1h24min	34,9945	36,5029	35,7487	1,0666
A4	1h40min	36,9849	36,0836	36,5343	0,6373

Fonte: Autoria própria (2022).

Já em relação ao banho ultrassônico, a porcentagem de óleo foi determinada considerando a extração realizada numa proporção de 5/1 de

solvente/amostra, em um tempo de extração para cada solvente de 90 min. Após o processo, observou-se que os extratos obtidos com hexano e com acetato de etila ficavam mais turvas que as com etanol e isopropanol (Fotografia 3), sendo isso um indicativo de maior quantidade de óleo extraído.

Fotografia 3: Extratos após banho ultrassônico.



Fonte: Autoria própria (2022).

Os resultados dos teores de óleo obtidos na duplicata, a sua média e o desvio padrão são apresentados na Tabela 4. Como indicado na análise visual das amostras, a extração com acetato de etila e hexano proporcionaram os maiores rendimentos médios de óleo, de 34,2544% e 20,3118%, respectivamente. Por outro lado, o óleo extraído com etanol (B2) foi o que apresentou o rendimento mais baixo.

Geralmente, solventes não polares tem maior rendimento de óleo em comparação com solventes polares. Porém, nos resultados do ultrassom o acetato de etila apresentou um rendimento maior de óleo do que o hexano. Isso pode ser explicado pelo fato de que solventes ligeiramente polares aceleraram a destruição da membrana citoplasmática, o que é propício para extrair o óleo de semente de cupuaçu de forma mais completa (TIR *et al.*, 2012). Este mesmo comportamento foi observado no estudo realizado por CAO *et al.* (2022), que indicou que solventes ligeiramente polares foram mais eficazes para a extração de óleos de sementes de peônia.

Tabela 4: Porcentagem de óleo obtida pelo método de ultrassom.

AMOSTRA	TEMPO DE EXTRAÇÃO	% ÓLEO 1	% ÓLEO 2	MÉDIA (%)	DESVIO PADRÃO
B1	1h30min	10,7159	12,5524	11,6342	1,2986
B2	1h30min	8,8760	10,7312	9,8036	1,3118
B3	1h30min	18,7288	21,8947	20,3118	2,2386
B4	1h30min	32,0058	36,5029	34,2544	3,1799

Fonte: Autoria própria (2022).

Percebeu-se também por análise visual que, tanto pelo soxhlet quanto pelo ultrassom, as amostras extraídas com etanol (A2 e B2, respectivamente) apresentaram um corpo de fundo grosso marrom escuro na parede do balão após a rotoevaporação, conforme a Fotografia 4. Isto também pode ser justificado pela polaridade do etanol, que se caracteriza por extrair maiores quantidades de materiais não-gordurosos, como antioxidantes, tocoferóis, pigmentos, entre outros (BHUTADA *et al*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2017), influenciando no aparecimento desta borra. Os demais solventes extraíram óleos que não apresentaram corpo de fundo.

Fotografia 4: Corpo de fundo da extração com etanol após rotoevaporação.



Fonte: Autoria própria (2022).

Comparando os dados do óleo de cupuaçu da Tabela 3 e da Tabela 4, observa-se que os rendimentos foram maiores utilizando o soxhlet, exceto para o solvente acetato de etila em que a porcentagem do óleo foi maior no banho ultrassônico. Apesar dos maiores teores de óleo obtidos no soxhlet, o método apresenta desvantagens devido à alta temperatura utilizada na extração, que é a temperatura de ebulição do solvente, o que pode fazer com que o óleo oxide mais facilmente (BRINKMANN, 2000). Outro fator a ser considerado é o alto tempo despendido no processo para que ocorra a extração do óleo.

Por outro lado, a extração ultrassônica assistida destaca-se por ter menor tempo de extração, com uma relação reduzida de solvente/amostra e com temperaturas mais baixas, devido à potência das ondas ultrassônicas no processo. Assim, pode evitar danos térmicos aos extratos e minimizar a perda de compostos bioativos (PEREIRA *et al.*, 2017).

Diante do exposto, para ambos os métodos, o acetato de etila, um éster de média polaridade, foi o solvente que proporcionou maiores rendimentos de óleo de cupuaçu. Assim, a utilização do acetato de etila apresenta-se como uma alternativa ao hexano, este com maior toxicidade e inflamabilidade em relação à aquele, nos processos de extração de óleo.

4.2 Determinação dos ácidos graxos

Os óleos extraídos foram enviados ao Centro de Pesquisa em Lipídios Vegetais e suas Aplicações (CEPELIVA) e ao Laboratório Multiusuário Central Analítica Multiusuário de Medianeira (CEANMED), onde foram conduzidas as análises cromatográficas nos mesmos, para a quantificação total de ácidos graxos em cada extração. A concentração de ácidos graxos do óleo de cupuaçu obtido com os solventes estudados, em mg.g^{-1} de lipídios totais, encontra-se na Tabela 5, para o soxhlet, e na Tabela 6, para o banho ultrassônico. Relembrando a nomenclatura adotada, 1, 2, 3 e 4 correspondem aos solventes isopropanol, etanol, hexano e acetato de etila, respectivamente.

Tabela 5: Concentração de ácidos graxos dos óleos extraídos pelo método de soxhlet.

Amostra	A1 (mg.g^{-1})	A2 (mg.g^{-1})	A3 (mg.g^{-1})	A4 (mg.g^{-1})
C16:0	7062,32	7051,47	7109,04	6957,85
C18:0	33135,88	32910,44	33699,81	33436,75
C18:1n-9	38214,05	38557,91	39067,69	37665,33
C18:2n-6	2674,06	2644,83	1056,07	2625,03
C18:3n-3	96,11	98,59	0,00	93,58
C20:0	10034,06	9985,22	10214,71	10354,47
C20:1	325,27	339,11	312,43	339,77
C20:4n-6	1458,01	1439,09	1501,87	1532,69

C16:0 – ácido palmítico; C18:0 – ácido esteárico; C18:1n-9 – ácido oleico; C18:2n-6 – ácido linoléico; C18:3n-3 – ácido linolênico; C20:0 – ácido araquídico; C20:1 – ácido gondoico; C20:4n-6 – ácido araquidônico;

Fonte: Autoria própria (2023).

Tabela 6: Concentração de ácidos graxos dos óleos extraídos por ultrassom.

Amostra	B1 (mg.g ⁻¹)	B2 (mg.g ⁻¹)	B3 (mg.g ⁻¹)	B4 (mg.g ⁻¹)
C16:0	6891,51	7399,46	6852,82	6985,10
C18:0	32196,74	31418,33	33128,49	33135,47
C18:1n-9	39096,57	40279,95	38794,28	37702,97
C18:2n-6	2895,75	3021,23	2459,29	2735,92
C18:3n-3	107,99	120,54	82,30	97,52
C20:0	9955,91	9136,18	9935,01	10432,49
C20:1	348,79	362,84	316,78	354,61
C20:4n6	1505,43	1284,21	1431,40	1555,31

Fonte: Autoria própria (2023).

Ao observar os dados da Tabela 5 e da Tabela 6, nota-se que as discrepâncias entre as concentrações de cada ácido graxo foram mínimas, quando se compara o solvente utilizado e o método de extração. Por exemplo, avaliando o ácido oleico (C18:1n-9), que foi o que apresentou maior concentração, os valores variaram de 37702,97 mg.g⁻¹ (B4) a 40279,95 mg.g⁻¹ (B2), representando uma dispersão menor do que 2% entre as amostras.

Destaca-se na Tabela 5 e na Tabela 6, que o óleo de cupuaçu extraído é composto majoritariamente pelo ácido oleico (C18:1n-9), um ácido graxo monoinsaturado, e pelo ácido esteárico (C18:0), um ácido graxo saturado. Estes ácidos são responsáveis pelo baixo ponto de fusão do óleo (aproximadamente 30°C), o que caracteriza então a nomenclatura de manteiga ao produto obtido, que proporciona maciez que funde rapidamente em contato com a pele (CARVALHO, PEZOA-GARCIA e AMAYAFARFAN, 2006; COHEN, 2005). Para facilitar a visualização dos dados, construiu-se a Tabela 7, que apresenta os resultados em termos de porcentagem das frações dos ácidos graxos.

Tabela 7: Porcentagem equivalente do perfil de ácidos graxos dos óleos extraídos.

Amostra	A1(%)	B1(%)	A2(%)	B2(%)	A3(%)	B3(%)	A4(%)	B4(%)
C16:0	7,6	7,4	7,6	8,0	7,6	7,4	7,5	7,5
C18:0	35,6	34,6	35,4	33,8	36,2	35,6	36,0	35,6
C18:1n-9	41,1	42,0	41,5	43,3	42,0	41,7	40,5	40,5
C18:2n-6	2,9	3,1	2,8	3,2	1,1	2,6	2,8	2,9
C18:3n-3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1
C20:0	10,8	10,7	10,7	9,8	11,0	10,7	11,1	11,2
C20:1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4
C20:4n-6	1,6	1,6	1,5	1,4	1,6	1,5	1,6	1,7

Fonte: Autoria própria (2023).

E se tratando da Tabela 7, corrobora-se com o observado anteriormente, em que a concentração dos ácidos graxos do óleo para ambos os métodos e nos diferentes solventes não apresentaram diferença significativa, estando de acordo com o encontrado por Lannes (2004). O mesmo comportamento ocorreu no trabalho de JESUS *et al.* (2013), onde observaram que o perfil cromatográfico de todos os óleos de palma extraídos fora semelhante, independente da técnica de extração ou solvente. Estes mesmos autores destacaram, porém, que outros componentes, como fosfolipídios, hidrocarbonetos de alto peso molecular e cera, por exemplo, podem ser extraídos de forma distinta dependendo da técnica de extração e do solvente, o que pode influenciar outras propriedades químicas do óleo.

Ainda analisando a Tabela 7, concluiu-se que o óleo extraído possui as características esperadas para a gordura bruta de cupuaçu descritas por CALVACANTI *et al.* (2016), consistindo principalmente de ácidos graxos insaturados como o oleico (C18:1n-9) e o linoleico (C18:2n-6), além dos ácidos graxos saturados como o palmítico (C16:0) e o esteárico (C18:0). Os níveis de ácidos graxos saturados e insaturados foram muito próximos, com uma ligeira vantagem dos ácidos graxos saturados em relação aos insaturados. Os ácidos graxos saturados predominantes foram o esteárico, o araquídico e o palmítico com valores de 33,8 a 36,2%, 9,8 a 11,2% e 7,4 a 8,0%, respectivamente. Já os principais ácidos graxos insaturados foram o oleico 40,5 a 43,3% e o linoleico 1,1 a 3,2%.

Como citado anteriormente, é inegável os benefícios dos ácidos graxos que se destacam no óleo de cupuaçu. O ácido oleico possui alta resistência à degradação térmica e oxidativa, e seu consumo está associado a importantes benefícios à saúde, como a redução dos níveis de colesterol total, colesterol LDL, entre outros. Já o ácido esteárico tem pouco efeito aterogênico relatado e seu consumo não altera significativamente os níveis de colesterol, o que pode ter um efeito nutricional positivo (SILVA *et al.* 2023).

4.3 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH

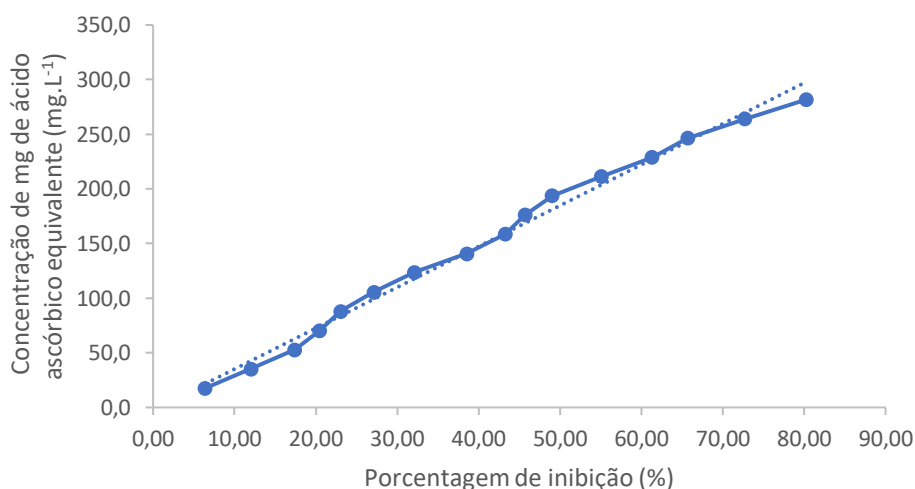
A atividade antioxidante foi avaliada para as gorduras de cupuaçu obtidas pelos dois métodos de extração com os solventes estudados, a fim de analisar a influência dos parâmetros de extração na qualidade dos extratos. Nesse sentido, o

método de antioxidante foi selecionado com base em sua simplicidade, rapidez, disponibilidade do equipamento necessário (um espectrofotômetro de absorção UV/visível) e a ampla aplicação com extratos naturais.

O método foi o de redução do radical DPPH, um radical livre estável devido à distribuição do elétron desemparelhado por toda a sua estrutura, que apresenta uma cor púrpura com um pico de absorção máximo em 515 nm. Quando um antioxidante ou uma espécie radical atua sobre ele, o DPPH é reduzido a 2,2-difenil-picril-hidrazina, que tem uma coloração amarela. Assim, a atividade antioxidante é quantificada pelo decréscimo na absorção da solução de controle em comparação com a solução contendo o extrato (SHI *et al.* 2022).

Em se tratando da determinação da atividade antioxidante das amostras, inicialmente construiu-se a curva padrão de ácido ascórbico, sendo o mesmo escolhido devido ao seu valor comercial mais barato (Fotografia 5).

Fotografia 5: Curva padrão de ácido ascórbico.



Fonte: Autoria própria (2022).

Com a curva padrão obteve-se $R^2=0,9918$ e a equação da reta (Equação 3):

$$y = 3,741x - 2,3157$$

Equação 3: Equação da reta da curva padrão.

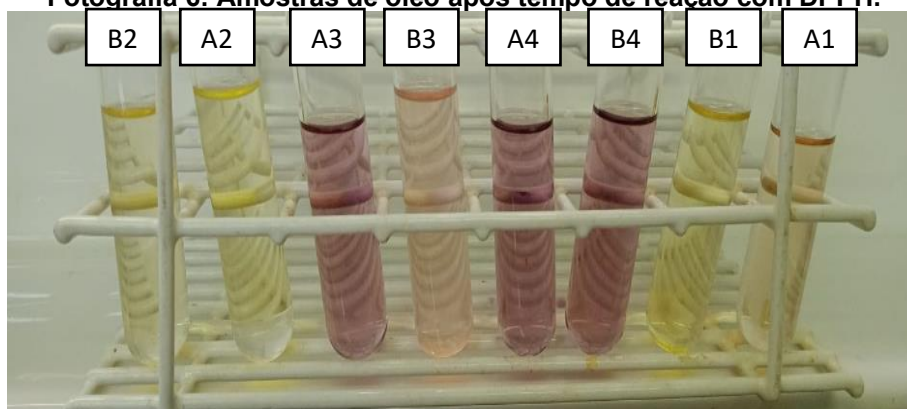
Onde:

Y = concentração em mg de ácido ascórbico equivalente (mg.L⁻¹) dispostos na Tabela 4;

X = porcentagem de inibição (%);

Pegou-se as amostras com o DPPH, conforme explicadas anteriormente, reservou-se em ambiente escuro e após 30 min retirou-se, conforme Fotografia 6, para a leitura no espectrofotômetro. Com a análise visual é possível verificar que a gordura de cupuaçu possui alto teor de atividade antioxidante, uma vez que este método é baseado na mudança de coloração, inicialmente roxo e após reação amarelado (MONTEIRO, 2017).

Fotografia 6: Amostras de óleo após tempo de reação com DPPH.



Fonte: Autoria própria (2022).

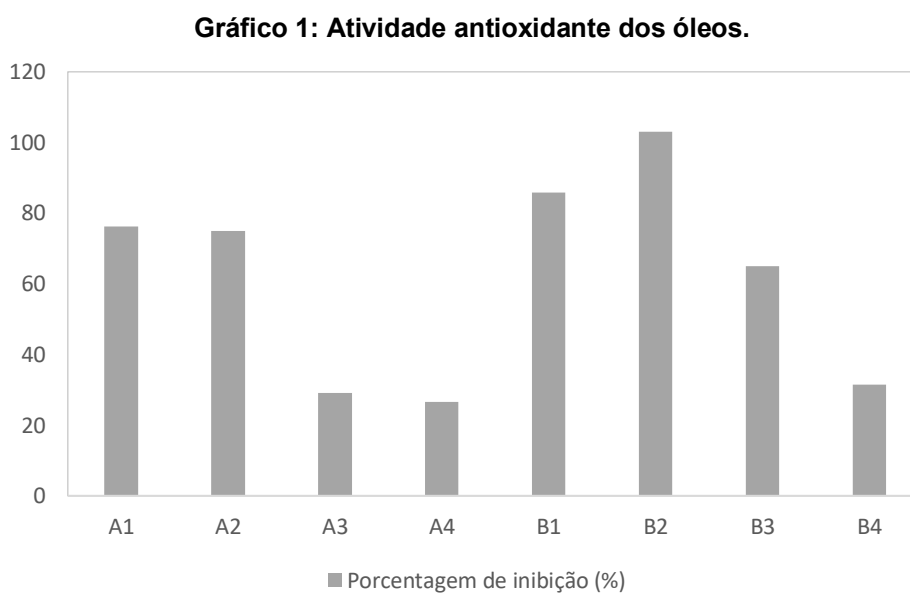
As amostras foram inseridas no espectrofotômetro de absorção UV/visível, sendo os resultados de absorbâncias dispostos na Tabela 8. Calculou-se a porcentagem de inibição de DPPH de cada amostra, utilizando a absorbância do controle (0,781 nm) e seguindo a Equação 2. Posteriormente determinou-se a quantidade em miligramas de ácido ascórbico equivalente por litro de óleo em cada amostra com a equação da reta obtida na curva padrão (Equação 3), com seus resultados dispostos na Tabela 8.

Tabela 8: Atividade antioxidante dos óleos.

AMOSTRA	ABSORBÂNCIA 1 (nm)	ABSORBÂNCIA 2 (nm)	MÉDIA DA ABSORBÂNCIA (nm)	PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO (%)	ÁCIDO ASCÓRBICO EQUIVALENTE (mg.L ⁻¹)
A1	0,183	0,189	0,186	76,18	283
B1	0,106	0,116	0,111	85,79	319
A2	0,195	0,197	0,196	74,90	278
B2	0,217	0,219	0,218	103,00	382
A3	0,551	0,557	0,554	29,07	106
B3	0,270	0,276	0,273	65,04	241
A4	0,571	0,577	0,574	26,50	97
B4	0,529	0,541	0,535	31,50	116

Fonte: Autoria própria (2023).

Os dados de porcentagem de inibição para cada óleo obtido por soxhlet (A) e por ultrassom (B), com isopropanol (1), etano (2), hexano (3) e acetato de etila (4) da Tabela 10 foram representados na Figura 11, para facilitar a visualização dos resultados.



Fonte: Autoria própria (2023).

Analisando a Tabela 8 e a Gráfico 1, observa-se que as amostras extraídas pelo ultrassom apresentaram valores de porcentagem de inibição, e consequentemente quantidade em miligramas de ácido ascórbico equivalente, maiores que as amostras extraídas pelo método de soxhlet (A). Por exemplo, para a extração utilizando isopropanol como solvente, encontrou-se porcentagem de inibição de 85,79% e 319 mg.L⁻¹ de ácido ascórbico equivalente para o banho ultrassônico, enquanto que para o soxhlet esses valores ficaram em 79,18% e 283 mg.L⁻¹. Este comportamento ocorreu em todos os solventes estudados.

O fato de que no soxhlet a extração ocorre na temperatura de ebulição do solvente, que é uma temperatura alta comparada à extração no ultrassom, pode provocar uma diminuição na capacidade antioxidante dos extratos, devido à uma possível oxidação dos fenólicos (FERNÁNDEZ-AGULLÓ *et al.* 2015). Ressalta-se, ainda, que a cavitação ocorrida no banho ultrassônico causa vibrações, quebrando as paredes celulares da oleaginosa, o que favorece a penetração dos solventes e a consequente melhorando a liberação dos compostos bioativos (SILVA *et al.*, 2021).

De acordo com a Tabela 8 e a Gráfico 1, verifica-se que os solventes isopropanol e etanol (A1, B1 e A2, B2, respectivamente) foram os que apresentaram valores maiores de atividade antioxidante, enquanto hexano e acetato de etila (A3, B3 e A4, B4, respectivamente) ficaram com valores inferiores, para ambos os métodos. A amostra B2 foi a única que na proporção de 100% de óleo ultrapassou o valor da curva padrão, sendo assim necessário diluir-se e utilizar-se o fator de correção para encontrar seu real valor de miligramas de ácido ascórbico equivalente por litro de óleo.

Observa-se que quanto maior o carácter apolar do solvente, menor é a sua atividade antioxidante, o que pode ser um indício de que os compostos fenólicos que tendem a formar polímeros, como a catequina e a epicatequina, estão em sua fórmula estrutural isolada. Tanto o isopropanol quanto o etanol, possuem em suas estruturas um grupo hidroxila que confere à molécula uma estrutura polar, fazendo com que a interação com os compostos fenólicos majoritários no cupuaçu tenha uma melhor interação eletrostática em relação ao hexano e o acetato de etila (KUGLER *et al.*, 2023).

Pereira *et al.* (2017), também discutiram sobre a influência da polaridade do solvente na extração de compostos bioativos da semente de maracujá, uma vez que encontraram as maiores atividades antioxidantes nos extratos obtidos com etanol. Os mesmos autores atribuem isto carácter polar do etanol que possui capacidade de solubilizar compostos polares com propriedades antioxidantes da amostra, como o α e γ -tocoferol (vitamina E).

Desta forma, os resultados da Tabela 8 e da Gráfico 1 mostram a afinidade dos solventes de maiores polaridades com os compostos antioxidantes presentes nas sementes de cupuaçu. Em seus estudos, Yang *et al.* (2003) observaram o alto poder atividade antioxidante de compostos presentes na semente do cupuaçu e concluíram que a utilização dos produtos contendo derivados de suas sementes, principalmente o óleo, apresentam grande potencial antioxidante.

Nas pesquisas de trabalhos que utilizam ensaio do DPPH, o uso de diferentes solventes e procedimentos podem causar diferenças no padrão antioxidante dos ensaios, já o solvente pode afetar a capacidade de doação de hidrogênio do antioxidante tornando os métodos difíceis de serem comparados. No entanto, os resultados deste estudo, sugerem que a gordura de cupuaçu mostrou-se eficiente na

eliminação dos radicais DPPH e, desta forma, apresentando alta capacidade oxidante.

A boa capacidade antioxidante do cupuaçu, pode ser atribuída também ao ácido oleico (C18:1n-9), que, como visto no tópico anterior, foi o ácido graxo em maior concentração nas amostras. Um estudo publicado por Rufino *et al.* (2012) avaliou a atividade antioxidante de diferentes partes do cupuaçu, e concluíram que a polpa e as sementes apresentaram alta atividade antioxidante, sendo o ácido oleico foi um dos principais compostos responsáveis por essa atividade.

Compostos antioxidantes, como os presentes na gordura de cupuaçu, possuem inúmeras aplicações nas áreas alimentícia, cosmética e farmacêutica, pois podem ser utilizadas para proteção contra doenças crônicas e degenerativas, como câncer e diabetes mellitus, além de diminuir os fatores de risco de doenças cardiovasculares, entre outras (AO *et al.*, 2011, COSTA *et al.*, 2020). Assim, esse estudo mostrou que a semente de cupuaçu, um subproduto agroindustrial, pode ser aproveitado para a obtenção desses compostos.

5 CONCLUSÃO

Ao avaliar o rendimento em cada ensaio, a extração por soxhlet obteve valores maiores de porcentagem de óleo extraído, em contrapartida, a extração por ultrassom obteve valores maiores em porcentagem de inibição de DPPH. Isso pode estar atrelado a degradação das propriedades do óleo devido as elevadas temperaturas utilizadas no método de soxhlet, já que o ultrassom pode evitar danos térmicos aos extratos e minimizar a perda de compostos bioativos. Considerando o tempo de extração para o método soxhlet e a quantidade de solvente utilizada, o ultrassom mostra-se como uma boa alternativa a sua substituição, já que requer menos tempo, menor temperatura, menos solvente e maior segurança no processo.

Com relação aos solventes, visando uma possível substituição do hexano, analisando apenas a quantidade de óleo extraído, o acetato de etila mostrou-se uma boa alternativa, independentemente do método de extração, devido ao seu caráter ligeiramente polar. Enquanto que considerando apenas a atividade antioxidante do óleo, etanol e isopropanol se mostraram bons substituintes. Percebeu-se também que, tanto pelo soxhlet quanto pelo ultrassom, as amostras extraídas com etanol apresentaram um corpo de fundo grosso marrom escuro na parede do balão após a rotoevaporação, que também se explica devido a sua polaridade, pois por ser maior favorece a extração dos componentes polares do grão.

O perfil de ácidos graxos em ambos os métodos e/ou solventes não apresentou grandes variações, porém outras propriedades químicas do óleo podem ter sido influenciadas. O óleo extraído consistiu-se principalmente dos ácidos graxos insaturados como o oleico (C18:1n-9) e o linoleico (C18:2n-6), além dos ácidos graxos saturados como o palmítico (C16:0) e o esteárico (C18:0), o que corresponde com as literaturas encontradas.

Nas análises de DPPH, é possível verificar o alto potencial antioxidante do óleo já na parte visual da análise, sendo o mesmo comprovado com as leituras no espectrofotômetro. O que corrobora com o fato do ácido oleico ser encontrado em altas concentrações no óleo extraído. Estudos mostram a afinidade dos solventes de maiores polaridades com os compostos antioxidantes presentes nas sementes de cupuaçu, sendo comprovado neste trabalho.

5.1 Trabalhos futuros

Para trabalhos futuros é sugerido que se analisem quantitativamente os compostos fenólicos presentes no óleo de cupuaçu, visto que o presente trabalho encontrou atividade antioxidante nas amostras, sendo elas importantes para os seres humanos já que são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células.

REFERÊNCIAS

- ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; JONGH, D. C.; LEEL, N. A.; STEVES, C. L. **Química Orgânica**, 2ªed., 171-173, 1976.
- ALVES R. M., SEBBENN A. M., ARTERO A. S., CLEMENT C., FIGUEIRA A. High levels of genetic divergence and inbreeding in populations of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Tree Genet Gen**, v. 3, p. 289-298, 2007.
- ALMEIDA, C.; BORIN, C. Cupuaçu só surgiu com a domesticação de fruto por indígenas. **Jornal da USP**, 2023.
- AO, C., HIGA, T., KHANH, T. D., UPADHYAY, A., & TAWATA, S. Antioxidant phenolic compounds from *Smilax sebeana* Miq. **Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie**, v. 44(7), p. 1681-1686, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.02.001>>. Acesso em: dezembro, 2023.
- ARAÚJO, V. F.; PETRY, A. C.; ECHEVERRIA, R. M.; FERNANDES, E. C.; PARTORE JR, F. **Plantas da cupuaçu para produção cosmética: uma abordagem química – 60 espécies do extrativismo florestal não-madeireiro da Amazônia**. 244 p. Brasília, 2007.
- AZEVEDO, A. B. A. **Extração e fracionamento da gordura de cupuaçu das sementes com fluidos supercríticos**. Campinas, São Paulo, 2001.
- AZEVEDO, A.B.A., KOPCAK, U., MOHAMED, R.S., 2003. Extraction of oil from fermented Cupuacu seeds with supercritical solvents. **J. Supercrit. Fluids**, 27 (2), 223–237.
- BAKER, E. C.; SULLIVAN, D. A. Development of a pilot-plant process for the extraction of soy flakes with aqueous isopropyl-alcohol. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 60, n. 7, p. 1271-1277, 1983.
- BARROS, H. R. M. **Efeito dos compostos fenólicos do camu-camu e do cupuaçu no desenvolvimento da obesidade e diabetes mellitus tipo 2**. Tese (Doutorado em Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. UNICAMP: Campinas, 1995.
- BELING, R. R. **Anuário Brasileiro de Fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2005. 136p.
- BRUNI, G. P.; MACHADO, H. B.; MORAIS, M. M.; EHLERS, R.; CREXI, V. T. **Estudo do método de ultrassom para a extração de óleo de sementes de uva**

provenientes de rejeitos do processo vinícola. COBEQ – Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis, Santa Catarina, 2014.

BHUTADA, P. R., JADHAV, A. J., PINJARI, D. V., NEMADE, P. R., JAIN, R. D., Solvent assisted extraction of oil from Moringa 45upuaçu45 Lam. **Seeds. Ind. Crops and Prod.**, v. 82, p. 74-80, 2016.

BRINKMANN, B. Quality criteria of industrial frying oils and fats. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 102, n. 8-9, p. 539-541, 2000.

BURDGE, Graham C.; CALDER, Philip C. Introduction to fatty acids and lipids. **Intravenous Lipid Emulsions**, v. 112, p. 1-16, 2015.

CAO, W.; WANG, Y.; SHEHZAD, Q.; LIU, Z.; ZENG, A. R. Effect of Different Solvents on the Extraction of Oil from Peony Seeds (*Paeonia suffruticosa* Andr.): Oil Yield, Fatty Acids Composition, Minor Components and Antioxidant Capacity. **Journal of Oleo Science**. Japão, 2022. DOI: 10.5650/jos.ess21274.

CARBONAR, H. L. **Avaliação do uso do etanol e do isopropanol como alternativa ao n-hexano na extração do óleo de café verde (*Coffea 45upuaçu*) em banho ultrassônico e caracterização dos extratos obtidos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2022.

CARMO, L. R. **Caracterização do óleo de café verde e a solubilidade.** Trabalho de Conclusão de Curso, Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2019.

CARVALHO, A. V.; GARCÍA, N. H. P.; WADA, J. K. A. Caracterização físicoquímica e curvas de solubilidade proteica de sementes, amêndoas fermentadas e torradas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, n. 2, p. 127-134, 2005.

CARVALHO, A. V.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; AMAYA-FARFAN, J. Physicochemical cupuaçues of the flour, protein concentrate, and protein isolate of the cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) seed. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 8, p. S573-S578, 2006.

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

CAVALCANTI, R. N., ALBUQUERQUE, C. L. C., MEIRELES, A. A. Supercritical CO₂ extraction of cupuaçu butter from defatted seed residue: Experimental data, mathematical modeling and cost of manufacturing. **Food and bioproducts processing**, v. 97, p. 48-62, 2016.

CHAZIN, E. L. Ethyl Acetate (CAS No. 141-78-6). **Revista Virtual de Química**, v. 4, 2012.

COHEN, K. O.; JACKIX, M. N. H. Estudo do liquor de cupuaçu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 182-190, 2005.

COSTA, R. S.; SANTOS, O. V.; LANNES, S. C. S.; CASAZZA, A. A.; ALIAKBARIAN, B.; PEREGO, P.; RIBEIRO-COSTA, R. S.; CONVERTI, A.; JÚNIOR, J. O. C. S. Bioactive compounds and value-added applications of cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Schum.) agroindustrial by-product. **Food Sci. Technol**, Campinas, v. 40(2), p. 401-407, Apr.-June 2020.

DAGOSTIN, J. L.; CARPINE, D.; CORAZZA, M. L. Extraction of soybean oil using ethanol and mixtures with alkyl esters (biodiesel) as co-solvent: kinetics and thermodynamics. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 69-75, 2015.

DORNI, C.; SHARMA, P.; SAIKIA, G.; & LONGVAH, T. Fatty acid profile of edible oils and fats consumed in India. **Food Chemistry**, v. 238, p. 9–15, 2018.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível. ISSN 1980-3982. 2018.

ESALQ – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. USP - Universidade de São Paulo. Disponível em: <http://www4.esalq.usp.br/banco-de-noticias/chegou-vez-das-nativas>. Acesso em: 25 de novembro de 2022.

ESPÍN J.C; SOLER-RIVAS C; WICHES H.J. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. **Journal Agric Food Chem**, 2000.

FERNÁNDEZ-AGULLÓ, A.; FREIRE, M. S.; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, J. Effect of the extraction technique on the recovery of bioactive compounds from eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) wood industrial wastes. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 105–113, 2015.

FLECK, C.A.; NEWMAN, M. Advanced Skin Care: A Novel Ingredient. **Journal of the American College of Clinical Pharmacy**, Wound Spec 4:92-4, 2012.

FREITAS S. P.; FREITAS-SILVA O.; MIRANDA I. C.; COELHO M. A. Z. Extração e fracionamento simultâneo de óleo castanha-do-brasil com etanol. **Food Science and Technology**, v. 27, p. 14-17, 2007.

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de procedimentos de extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. 227 p. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, UFRGS, Porto Alegre, 2007.

FREITAS, I. C. **Formação de acetato de etila a partir do etanol sobre catalisadores de Cu/ZrO₂:Efeito da carga de cobre nas propriedades físicas e catalíticas.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química - Universidade Federal de São Carlos, 2010.

GABRIEL, L. C. **Extração assistida por banho ultrassônico de óleo de café verde (*Coffea arabica*) utilizando etanol e hexano como solventes e caracterização dos extratos por cromatografia gasosa e ressonância magnética nuclear de hidrogênio.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2020.

GANDHI, A. P.; JOSHI, K. C.; JHA, K.; PARIHAR, V. S.; SRIVASTAV, D. C.; RAGHUNADH, P.; KAWALKAR, J.; JAIN, S. K.; TRIPATHI, R. N. Studies on alternative solvents for the extraction of oil-I soybean. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 369-375, 2003.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. **Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids.** Laboratory practice 1973, 22, 475.

INT – Instituto Nacional de Tecnologia. Solvente verde de alto rendimento. Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: https://www.gov.br/int/pt-br/nucleo-de-inovacao-tecnologica/solucoes-tecnologicas-solvente-verde-de-alto-rendimento_int-mcti.pdf. Acesso em: 15 jun. 2022.

JENSEN, W. B. The Origin of the Soxhlet Extractor. **Journal of Chemical Education**, 2007. DOI :10.1021/ed084p1913.

JESUS, A. A.; ALMEIDA, L. C.; SILVA, E. A.; FILHO, L. C.; EGUES, S. M. S.; FRANCESCHIA, E.; FORTUNYA, M.; SANTOS, A. F.; ARAUJO, J.; SOUSA, E. M. B. D.; DARIVA, C. Extraction of palm oil using propane, ethanol and its mixtures as compressed solvent. **J. of Supercritical Fluids**, v. 81, p. 245– 253, 2013.

KALANTZAKIS, G. *et al.* Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 108, n. 4, p. 329-335, 2006.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidante assay. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 4, p. 412-422, 2011. DOI: 10.1007/s13197-011-0251-1.

KIM, Y.; GIRAUD, D. W.; DRISKELL, J. A. Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, Netherlands, v. 20, n. 6, p. 458-465, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2007.02.001>.

KUGLER, L. V.; PENTEADO, M. E.; WATANABE, E. R. L. R. **Avaliação da atividade antioxidante e da concentração de fenólicos totais em sementes de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)**. XXVIII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR Ciência e Tecnologia na era da Inteligência Artificial: Desdobramentos no Ensino Pesquisa e Extensão. Ponta Grossa, 2023.

LAGO, Regina C.A.; FREITAS, Suely P.; **Extração dos Óleos de Café Verde e da Borra com Etanol Comercial**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ISSN 0103-5231, 2006.

LANNES, S. C. S.; MEDEIROS, M. L.; AMARAL, R. L. Rheological properties of cupuassu and cocoa fats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. vol. 55, n. 2, p.115-121, 2004.

LEE, J. M.; CHUNG, H.; CHANG, O. S.; LEE, J. H. Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). **Food Chem**, 2006.

LEMES, M. R. M. **Extração do óleo de gergelim**. Trabalho de Conclusão de Curso, Engenharia Química. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, Minas Gerais, 2018.

LIAUW, M. Y. *et al.* Extraction of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) using n-hexane and etanol: studies of oil quality, kinetic and thermodynamica. **Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 3, n. 3, p. 49-54, 2008.

LIMA, L. M. O. **Estudo do Aproveitamento dos Bagaços de Frutas Tropicais, Visando a Extração de Fibras**. 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2001.

LOHANI, U. C., FALLAHI, P., MUTHUKUMARAPPAN, K., Comparison of Ethyl Acetate with Hexane for Oil Extraction from Various Oilseeds. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 92, p. 743-754, 2015.

LOUSADA, J. E.; NEIVA, J. N. N.; RODRIGUEZ, N. M.; PIMENTEL, J. C. M. P., LÔBO, R. N. B. Consumo e Digestibilidade de Subprodutos do Processamento de Frutas em Ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 2, p. 659-669, 2005.

LOW, C. M. R.; LEY, S. V. **Ultrasound in Synthesis**. Springer-Verlag, Berlin, 1989. LUCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas à manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate**. 195 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, Campinas, 2001.

MAIA, E. L.; RODRIGUES-AMAYA, D. **Avaliação de um método simples e econômico para metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes**. Revista Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, vol. 53, p.27-35, 1993.

MATA, T.M.; MARTINS, A.A.; CAETANO, N.S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Portugal, v. 14, p. 217-232, 2009.

MATTIETTO, R. D. A. **Estudo comparativo das transformações estruturais e físicoquímicas durante o processo fermentativo de amêndoas de cacau (Theobroma cacao L.) e cupuaçu (Theobroma grandiflorum Schum)**, 2001.

MATOS, L. J. B. L.; COSTA, E.; LIMA, L. P. L; FERNANDES, A. N. **Estudo Comparativo da Extração do Óleo da Borra de Café**. Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2010.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. A. G. L.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**, 3 ed., John Wiley: New York, 1991.

MULET, A; BENEDITO, J; GOLAS, Y; CARCEL, J.A. Noninvasive ultrasonic measurements in the food industry. **Food Rev. Int.** 18: 123-133, 2002.

NIKI, E.; YOSHIDA, Y.; SAITO, Y.; NOGUCHI, N. **Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. Biochemical and Biophysical Research Communications**, Califórnia, v. 338, n. 1, p. 668-676, 2005.

OLIVEIRA, A. P.; MENEZES, E. G. T. EXTRAÇÕES DE ÓLEO DA POLPA DE ABACATE (Persea americana MILL) UTILIZANDO DIFERENTES SOLVENTES. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, Viçosa/MG, BR, v. 3, n. 6, p. 0819–0823, 2017. DOI: 10.18540/jcecvl3iss6pp0819-0823. Disponível em: <https://periodicos.ufv.br/jcec/article/view/2390>. Acesso em: 10 out. 2022.

OLIVEIRA, G. P.; ECHEVENGUÁ, M. M.; MESSIAS, R. S. **Processo de extração e caracterização do óleo de semente de uva**. UFSC, Santa Catarina, 2003.
OLIVEIRA, L. M. Benefícios comprovados de óleos brasileiros. **Cosmetics & Toiletries** (edição em português), vol. 15, 50-56 p., 2003.

OLIVEIRA C. M.; GARAVAZO B. R.; RODRIGUES C. E. C. **Liquid-liquid equilibria for systems composed of rice bran oil and alcohol-rich solvents: application to extraction and deacidification of oil**. J Food Eng. 110:418-27, 2012.

PEREIRA, M. G.; HAMERSKI, F.; ANDRADE, E.F.; SCHEER, A. P.; CORAZZA, M. L. Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 338, 2017.

PUGLIESE, A. G. **Compostos fenólicos do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e do cupulate: Composição e possíveis benefícios**. 146 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, 2010.

RAMADAN M. F.; MOERSEL J. T. **Screening of the antiradical action of vegetable oils**. J Food Compost Anal. 2006.

REVILLA, J. **Apontamentos para a cosmética amazônica**. 532 p. SEBRAE-AM/INPA. Manaus, 2002.

RODRIGUES, C. E. C.; ARACAVA, K. K.; ABREU, F. N. Thermodynamic and statistical analysis of soybean oil extraction process using renewable solvent. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 11, p. 2407-2414, 2010.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F. **Antioxidant Activity of *Theobroma grandiflorum* (Cupuaçu) Pulp and Seed Extracts**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 60, p. 5876-5888, 2012.

SAID, M. M. **Aspectos culturais e potencial de uso do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng. Schum.) no estado do Amazonas**. Manaus, UFAM, 2011.

SAMARAM, S., MIRHOSSEINI, H., TAN, C. P., GHASALI, H. M., BORDBAR, S., SERJOUIE, A., Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. **Food. Chem.**, v. 172, p. 7-17, 2015.

SANTOS, Gerusa Matias *et al.* Atividade antioxidante e correlações com componentes bioativos de produtos comerciais de cupuaçu. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1636-1642, 2010.

SERRA, J. L., RODRIGUES, A. M. C., FREITAS, R. A., MEIRELLES, A. J. A., DARNET, S. H., SILVA, L. H. M. Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: Fatty acids, methyl tocols, total carotenoids and chemical composition. **Food Research International**, v. 116, p. 12-19, 2019.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Byproducts of plant food processing as a source of functional compounds: recent developments. **Trends Food Science Technology**, Cambridge, v. 12, n. 11, p. 401-413, 2001. PMid:21299575. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00012-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00012-2).

SCHONS, J. I.; FIORI, K. P.; RIBEIRO, E. B.; ANDRIGHETTI, C. R.; NOGUEIRA, R.; VALLADÃO, D. M. S. Extração assistida por ultrassom e caracterização do óleo da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). **Interciência**, v. 42, n. 9, p. 586-590. Asociación Interciência Caracas, Venezuela, 2017.

SETH S.; AGRAWAL, Y. C.; GHOSH, P. K.; JAYAS D. S.; SINGH B. P. N. **Oil extraction rates of soya bean using isopropyl alcohol as solvent**. *Biosyst Eng*, 97:209-17, 2008.

SHI, L.; ZHAO, W.; YANG, Z.; SUBBIAH, V.; SULERIA, H. A. R. Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 54, p. 81112-81129, 2022.

SILVA, A. R.; PINELA, J.; GARCÍA, P. A.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L. **Cytinus hypocistis (L.) L.: Optimised heat/ultrasound-assisted extraction of tannins by response surface methodology**. *Separation and Purification Technology*, v. 276, 2021.

SILVA, D. A.; RODRIGUES, A. M. C.; SANTOS, A. O.; REYES, R. S.; SILVA, L. H. M. Physicochemical and technological properties of pracaxi oil, cupuassu fat and palm stearin blends enzymatically interesterified for food applications. **LWT - Food Science and Technology**, v. 184, 2023.

SILVA, J. L.; DURIGAN, M. F. B.; CARVALHO, G. F. Métodos para extração de óleo das sementes da *Theobroma grandiflorum* como oportunidade a agroindústria familiar. **Revista Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, v.11, n.01, 2018.

SOUSA, M. S. B.; Vieira, L. M.; Lima, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, 14, 202, 2011.

SUTILLE, C.; NADAL, B. A.; ORSO, D.; GUAZZELLI, M.; NOLLA, D.; RODRIGUES, V. M. **Extração de óleos vegetais a frio e a quente**. Simpósio de alimentos para a região sul. Passo Fundo, Rio Grande do Sul, 2007.

TACO, A. M. L.; COLUGNATI, F. A.; PADOVANI, R. M.; RODRIGUEZ-AMAVA, D. B.; SAIAY, E.; GALEAZZI, M. A. M. **Tabela brasileira de composição dos alimentos**. Versão II, 2 ed., 2006.

TIR, R.; DUTTA, C.; BADJAH, Y. Effect of the extraction solvent polarity on the sesame seeds oil composition. **Eur. J. Lipid Sci. Technol**, v. 114, p. 41-52, 2012. TIWARI, B. K. Ultrasound: A clean, green extraction technology. **Trends in Anal. Chem.**, v. 71, p. 100-109, 2015.

TSUKUI, Anna; **Extração Assistida por Micro-ondas de Óleo de Café Verde (*Coffea arabica* L.) e Quantificação de Diterpenos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.** Dissertação de Mestrado Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.

UNESP. **Cromatografia a gás - Centro de assistência Toxicológica.** Instituto de Biociências - Campus de Botucatu – SP. 2022.

VALLADÃO, D. M. S.; SCHONS, J. I.; RIBEIRO, E. B.; FIORI, K. P.; ANDRIGHETTI, C. R.; NOGUEIRA, R. Extração assistida por ultrassom e caracterização do óleo da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). **Interciência**, Venezuela. p. 586-590. ISSN: 0378-1844. 2017.

VAN WIJNGAARDEN, L. **Mechanisms of collapsing cavitation bubbles.** Ultrasonics Sonochemistry, v.29, p.524-527, 2016.

VILALBA, F. A. **Fragmentação mecânica de amêndoas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) por meio de um beneficiamento de cilindros.** Campinas, São Paulo. 2003.

YANG, H.; PROTIVA, P.; CUI, B. M.; BAGGETT, S.; HEQUET, V.; MORI, S.; WEINSTEIN, B.; KENNELLY, E. New Bioactive Polyphenols from *Theobroma grandiflorum*. **J. Nat. Prod.**, New York, v. 66, p. 501-504, 2003.