



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Coordenação de Capacitação
Divisão Apoio Técnico

PIBIC

2.351

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO INPA
RELATÓRIO FINAL

**DETERMINAÇÃO DO β -CAROTENO E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
DO ÓLEO DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes* Kunth) ATRAVÉS DE DOIS
MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.**

BOLSISTA: Michele Pereira dos Santos

ORIENTADOR(A): Helyde Albuquerque Marinho

Relatório Final apresentado ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como requisito para a conclusão como participante do Programa de Iniciação Científica do INPA.

Manaus – Amazonas
2017

Apoio Financeiro:



Realização:



MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES





Título Trabalho do Bolsista: Determinação do β -caroteno e da atividade antioxidante do óleo de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) através de dois métodos de extração.

Resumo

O potencial da pupunheira como cultivo oleaginoso foi relatado pela primeira vez por Arkcoll e Aguiar (1984), que encontraram frutos com 62% de óleo no mesocarpo seco e 34% de óleo em relação ao peso do cacho, valores similares ao encontrado no dendezeiro (*Elaeis guineensis*, Jacq.). Sendo este um produto de grande potencial nas indústrias de alimentos e cosméticos (Santos *et al.* 2013). O presente trabalho teve como objetivo analisar os carotenoides totais, o β -caroteno e a atividades antioxidantes (AAO) dos óleos de pupunha com intuito de selecionar a técnica que melhor expressa o conteúdo lipídico sem perder as características nutricionais. Os frutos foram caracterizados quanto à sua biometria e composição centesimal para a pupunha com e sem casca. Foram analisados os compostos bioativos nos óleos da pupunha. A variação dos dados biometricos da pupunha, é prevista, assim como, os parametros fisico-quimicos, uma vez que, o cultivo das sementes foram realizados no campo experimental do INPA. O melhor rendimento, para extração do óleo de pupunha foi pelo método de Soxhlet variou de 7,05 a 7,26% para pupunha com e sem casca, respectivamente. Os teores de carotenoides totais no óleo de pupunha variaram de 0,5831 a 6,3798 mg/100g, tendo uma grande variação entre os métodos. Os teores de β -caroteno encontrados foram de 77,4781 \pm 4,90 mg/100g a 149,37 \pm 2,90 mg/100g com destaque no óleo de pupunha sem casca pelo método de Bligh & Dyer. Os compostos antioxidantes variaram de 10,00 a 105,18 (μ g carotenoides/mL). Com base nas análises dos carotenoides e β -caroteno os melhores resultados foram no método de Bligh & Dyer da pupunha sem casca, mostrando melhor preservação os nutrientes. Os resultados da AAO mostrou que o método Soxhlet, pupunha com casca, apresentou maior valor. O ideal é que um dos métodos apresentasse melhores valores de carotenoides e de IC₅₀, porém não foi observado no presente estudo, portanto, sugere-se que haja novos estudos comparando métodos de extração de óleos, e com isso contribuindo para obtenção de óleos vegetais sem perdas na atividade antioxidante.

Palavras Chave: *Bactris gasipaes* Kunth, óleo, carotenoides, β -caroteno, antioxidante.

Apoio Financeiro:



Realização:



MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES



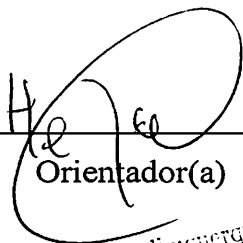


Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Coordenação de Capacitação
Divisão Apoio Técnico

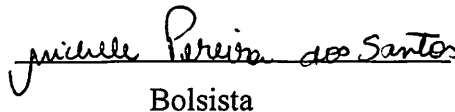
Financiamento

(PIBIC/CNPq ou PAIC/FAPEAM)

Data: 12 / 09 / 2017


Orientador(a)

Helyde Albuquerque Maranhão
Pesquisador Titular
SIAPE Nº 0662958
INPA/IMCTI


Bolsista

Apoio Financeiro:



Realização:



MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES



1. INTRODUÇÃO

A palmeira *Bactris gasipaes* H.B.K. (pupunha) possui ampla diversidade genética nas suas populações cultivadas, isto se deve ao fato destas populações estarem em diferentes estágios de domesticação e em diferentes ambientes. O fruto pode ser usado integralmente para consumo humano (cozido ou assado), na produção de farinha fina ou grossa, como ração animal, na produção de óleo e o meristema apical na produção de palmito (Clement e Mora-Urpi, 1987). Os seus frutos são considerados importantes em valor nutricional, por serem fonte de proteínas, gorduras, fibras, carboidratos, minerais, além de conterem elevado teor de carotenoides com atividade de provitamina A, podendo ser exploradas também como agentes terapêuticos, cosméticos e medicinais (Melhorança Filho e Pereira, 2012).

O potencial da pupunheira como cultivo oleaginoso foi relatado pela primeira vez por Arkcoll e Aguiar (1984), que encontraram frutos com 62% de óleo no mesocarpo seco e 34% de óleo em relação ao peso do cacho, valores similares ao encontrado no dendezeiro (*Elaeis guineensis*, Jacq.). Sendo este um produto de grande potencial nas indústrias de alimentos e cosméticos (Santos *et al.* 2013).

Aproximadamente, 10% dos carotenoides apresentam atividades de pró-vitamina “A” e também com propriedades antioxidantes e anti-carcinogênicos (Uenojo *et al.* 2007). A maioria dos carotenóides são considerados substâncias antioxidantes, e seu estudo nos últimos anos tem revelado um grande interesse, principalmente nos efeitos das espécies reativas nos sistemas biológicos (Berg *et al.* 1999). As pesquisas com antioxidantes naturais têm crescido em importância tanto no aspecto do conhecimento dos benefícios como com o objetivo de aumentar a qualidade dos alimentos (Hassimotto *et al.* 2005; Wang; Prior 1996).

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

No entanto, a obtenção do óleo vegetal bruto é ainda feita por meio de métodos físicos e químicos usando-se um solvente como extrator ou prensagem hidráulica (Gonçalves *et al.* 2002). A

prensagem é um método que, por não utilizar solvente ou algum tipo de gás, obtém-se um produto com suas propriedades naturais preservadas. No entanto, normalmente é realizada em combinação com a extração por solvente, pela sua menor eficiência na retirada de óleo (Moretto ; Fett, 1998).

A extração de óleo com solvente é um processo de transferência de constituintes solúveis (o óleo) de um material inerte (a matriz graxa) para um solvente com o qual a matriz se acha em contato. Os processos que ocorrem são meramente físicos, pois o óleo transferido para o solvente é recuperado sem nenhuma reação química (Regitano-d'Arce e Lima, 1987). A extração de lipídios é uma determinação importante em estudos bioquímicos, fisiológicos e nutricionais dos mais diversos tipos de alimentos e, portanto, deve ser realizada com acurácia (Kates 1972).

Existem vários métodos para extração de lipídios por solventes, dentre eles, Soxhlet e Bligh & Dyer são os métodos de extração dominantes para a avaliação do teor de lipídios em alimentos e ingredientes alimentícios (Hyvonen 1996; Xiao *et al.* 2012).

O método de Soxhlet é uma extração a quente, baseada em três etapas: extração da gordura da amostra com solvente, eliminação do solvente por evaporação e quantificação da gordura extraída por pesagem. É necessário um controle da temperatura e do tempo de exposição do material no solvente. Os dois solventes mais utilizados são o éter etílico e o éter de petróleo (Cecchi 2003).

O método Bligh & Dyer (1959) é um método de extração a frio frequentemente utilizado por diversos pesquisadores nacionais e internacionais. Esta técnica apresenta vantagens tais como a extração de todas as classes de lipídios sem aquecimento e equipamentos sofisticados, o extrato obtido pode ser utilizado em análises posteriores como determinação de índice de peróxidos, dienos conjugados, ácidos graxos livres dentre outras (Undeland *et al.* 1998).

O presente estudo teve como objetivo comparar dois métodos de extração de lipídeos, onde serão quantificados os carotenoides totais, os teores de β -caroteno e as atividades antioxidantes dos óleos de pupunha com intuito de selecionar a técnica que melhor expressa o conteúdo lipídico sem perder as características nutricionais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Aquisição dos Frutos

Os frutos de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) foram provenientes do Banco de Germoplasma do INPA-AM no período da safra que ocorre geralmente entre Dezembro à Março. Os frutos foram transportados até o Laboratório de Alimentos e Nutrição do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia-INPA.

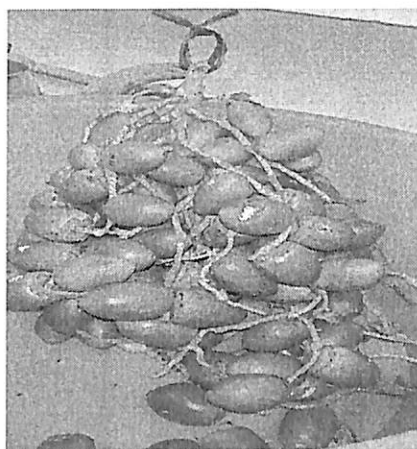


Figura 1: Cachos de pupunha (*In natura*).
Fonte: Santos, 2017

2.2. Análise física

Foram pesados aleatoriamente 30 (trinta) unidades de pupunha na balança digital, previamente nivelada e tarada. Marca: Shimadzer Cooperation Japan. BL- 320 H, capacidade 320 g e em seguida, aferidas a altura e diâmetro. A altura e o diâmetro foram mensurados por meio do paquímetro.

2.3. Seleção, Limpeza e Preparação da amostra

Os frutos com coloração característica de maturação foram selecionados, excluindo os verdes e os que sofreram injúrias. Em seguida foram lavados em água corrente para retirada da sujidade macroscópica e levados à cocção. Após o cozimento foram retiradas, manualmente, as sementes com auxílio de uma faca de mesa em inox, previamente higienizada, para a avaliação do rendimento do fruto (polpa e casca).

2.4. Análise centesimal

As pupunhas cozidas foram submetidas às análises de umidade, proteínas, lipídios, teor de cinzas e carboidratos de acordo com a metodologia preconizada pelo IAL (São Paulo, 2008).

Para a determinação do teor de umidade foi realizado o método de secagem direta em estufa a 105°C durante 04 horas, repetindo-se até peso constante. O teor de cinzas foi determinado por incineração das amostras em mufla a temperatura de 550°C, até peso constante. O extrato etéreo (lipídio) foi determinado por processo gravimétrico, em extrator de Soxhlet. As proteínas foram determinadas pelo nitrogênio total, utilizando o método Kjeldahl, onde o teor de proteína bruta foi obtido pelo fator 6,25 para conversão do nitrogênio em proteína. A fibra bruta foi realizada no aparelho de Determinador de Fibras, modelo TE-149, marca Tecnal, onde as amostras dessecadas e desengorduradas foram submetidas aos processos de digestões, em meio ácido (H₂SO₄ a 1,25%), seguido por digestão em meio alcalino (NaOH a 1,25%). Os carboidratos foram determinados por diferença, subtraindo-se de 100 os valores de proteínas, lipídios, cinza, fibras e umidade.

O valor calórico do fruto (pericarpo e mesocarpo) foram calculados a partir dos dados da composição centesimal, utilizando-se os seguintes fatores de conversão de Atwater: 9 kcal por grama de lipídios, 4 kcal por grama de proteínas, 4 kcal por grama de carboidratos (TBCA-USP 2014).

2.5. Obtenções das frações lipídicas

2.5.1. Obtenção do óleo da pupunha através dos métodos: Soxhlet e Bligh & Dyer

Foram pesados 15 g da pupunha cozida em uma balança digital, previamente triturada, nivelada e tarada de marca: Shimadzer Coopo foration Japan. BL- 320 H. Em seguida a amostra foi acondicionada no equipamento tipo Soxhlet, segundo o método do Instituto Adolfo Lutz-IAL (São Paulo, 2008 2008). Consistindo no tratamento sucessivo e intermitente da amostra imersa em um solvente (hexano), devido à sifonagem e subsequente condensação do solvente aquecido dentro do balão na base do aparelho.

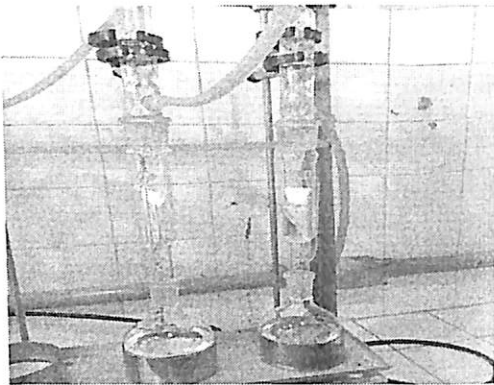


Figura 2: Extração do óleo de pupunha pelo método de Soxhlet.
Fonte: Santos, 2017

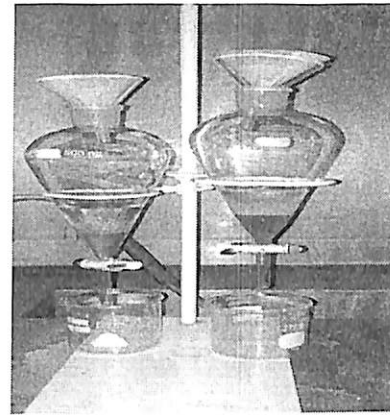
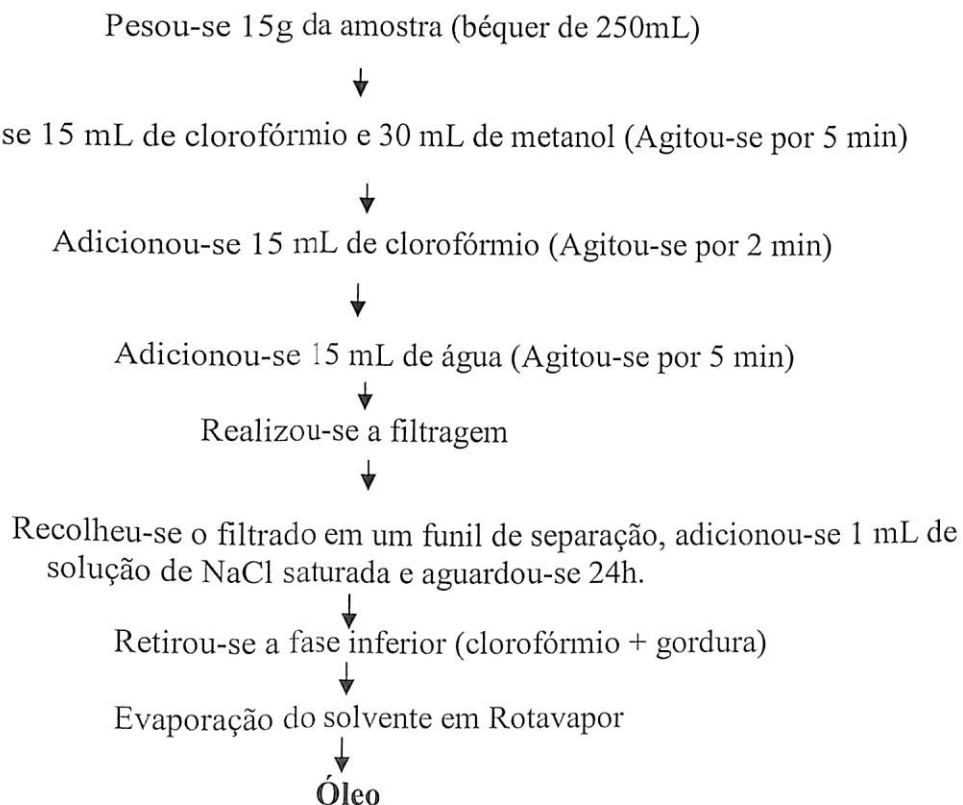


Figura 3: Extração do óleo de pupunha pelo método Bligh & Dyer (1959)
Fonte: Santos, 2017

O método de extração Bligh & Dyer (1959) é um método a frio que utiliza uma mistura de clorofórmio, metanol e água em exatas proporções (1:2:1), para a extração de todas as classes de lipídios. O método consiste nas seguintes etapas:



Fluxograma 1. Extração do lipídio pelo método de Bligh & Dyer (1959)

2.6. Saponificação e Partição

As amostras foram trituradas e pesadas, em seguida foi adicionado 10 mL de metanol-água (90:10, v/v) contendo 5% de hidróxido de potássio. Os tubos foram homogeneizados e levados ao banho-maria (Quimis, modelo 215.M2) a 60° C por 30 minutos para saponificação.

Depois de resfriados à temperatura ambiente, os extratos foram centrifugados por 10 minutos a 8.000 rpm. Após a centrifugação, retirou-se 5 mL dos extratos saponificados, 1,5 mL de água milli-Q e 2,5 mL de n-hexano foram transferidos para o tubo de ensaio e misturado por 10 minutos, usando-se uma plataforma misturadora. Esse procedimento de partição permite a migração dos carotenóides não saponificados presentes no extrato da pupunha do metanol para o n-hexano.

A separação das fases, metanol-hexano, foi facilitada por uma centrifugação a 8.000 rpm por 10 minutos. Foi deixado na Capela de Fluxo Laminar até evaporação total do solvente. As amostras foram armazenadas em recipiente protegido da luz a -18°C para posteriores análises.

2.7. Determinação dos Carotenóides

Os carotenoides foram determinados nos óleos de pupunha (*B. gasipaes*) obtidos por dois métodos de extrações, Soxhlet e Bligh & Dyer. Os óleos, após saponificados, foram suspensos em etanol absoluto e analisados em espectrofotômetro UV/VIS-552^a (Perkin-Elmer) com o comprimento de onda 450 nm, segundo a metodologia de Rodriguez *et al.* (1976). A quantidade de carotenoides presentes pode ser calculada a partir da equação:

$$\text{mcg/g} = \frac{\text{volume} \times \text{absorvância} \times 10^4 \times \text{diluição}}{\text{peso da amostra} \times E_{1\%}^{1\text{cm}}}$$

$E_{1\%}^{1\text{cm}}$ é o coeficiente de absorvidade molar específica, ou seja, a absorbância de uma solução de 1g daquele carotenoide em 100mL da solução, foi usado o valor de 2500, onde é frequentemente tomado quando nenhum valor experimentalmente determinado foi reportado.

2.8. β -Caroteno

As análises do β -Caroteno foram realizadas em HPLC de marca Shimadzu, possui uma coluna cromatográfica Shim-pack CLC-ODS (M)[®] C18, 250 × 4,6 mm, 5 μ m e detector UV-VIS (Shimadzu), com comprimento de onda ajustado para 450 nm. Os óleos, após a saponificação, foram suspensas em 1 mL da solução da fase móvel composta de acetonitrila: diclorometano: metanol (70:20:10 v/v), onde o fluxo do aparelho foi de 1,5 mL/min em sistema isocrático. A identificação do β -caroteno foi através da comparação entre o tempo de retenção obtido para o padrão (β -Carotene de marca SIGMA) e as amostras, analisando sob as mesmas condições cromatográficas (Cortés *et al.* 2004).

2.9. Análise de Compostos Antioxidante

A ação antioxidante dos óleos de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) saponificados, foram analisadas pela capacidade de os antioxidantes presentes na amostra captarem o radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina) conforme a metodologia descrita por Brand-Williams (1995) com algumas modificações. O extrato foi suspenso em 2 mL de metanol, em seguida foi realizado diluições das amostras em μ g de carotenoides/mL. Na amostra-teste foi adicionada 1 mL da solução metanólica de DPPH• (Sigma-Aldrich, Alemanha) 0,1 mM. A mistura foi agitada por 1 minuto em vórtex e deixado em repouso, em temperatura ambiente, por 15 minuto, ao abrigo da luz. A absorvância foi lida a 517 nm.

Para avaliar a atividade captadora de radical, foi obtida a porcentagem de inibição, conforme a equação:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{(\text{Absorbância do controle} - \text{absorbância da amostra}) \times 100}{\text{Absorbância do controle}}$$

A determinação do IC₅₀, ou seja, concentrações das amostras que causam 50% de inibição das concentrações inicial de DPPH foram obtidas por regressões lineares dos pontos plotados graficamente. Para a plotagem dos pontos, foram utilizados os valores das médias obtidas de

triplicatas realizadas para cada um dos testes. O valor do IC_{50} é inversamente proporcional da atividade antioxidante.

2.11. Análise estatística

As análises foram realizadas segundo delineamento inteiramente causalizado (DIC), com três repetições. Os resultados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) pelo teste de comparação de médias de Tukey, ambos ao nível de probabilidade de 5%, utilizou-se o programa estatístico Minitab, versão 14.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado das características biométricas dos frutos de pupunha estão demonstrados na Tabela 1, onde o peso médio dos frutos foi de 20,76 g, variando de 16,50g a 27,75g. Esses resultados foram obtidos a partir das medidas de 30 frutos escolhidos aleatoriamente, a variedade escolhida da pupunha foi classificada como Mesocarpa, segundo a proposta de Clement. (1988). Observou-se que a parte comestível da pupunha foi de 88,70%.

Tabela 1. Parâmetros Biométricos da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth)

n°30	Fruto(g)	Pericarpo(g)	Sementes(g)	Altura (cm)	Diâmetro (cm)
Média	20,76	18,41	2,15	2,56	2,55
Desvio Padrão	3,069	2,94	0,32	0,14	0,18
Mínimo	16,50	14,34	1,55	2,30	2,30
Máximo	27,75	25,04	2,98	2,90	2,90
Mediana	20,28	17,76	2,10	2,50	2,50
Moda	-	-	-	2,50	2,50

Fruto, Pericarpo e Semente não apresentam moda.

O peso médio do fruto, comprimento e o diâmetro estão de acordo ao encontrado por Carvalho *et al.* (2013), observando valores variando entre 16,06 a 39,17g, 2,97 a 5,12 cm e 2,41 a

4,90 cm, respectivamente. Verifica-se uma diversidade no tamanho e no peso de frutos de acordo com área de origem da coleta, sendo que o da Bacia Amazônica apresentou 58g, no litoral do pacífico Colombiano 50g, na Costa Rica 42g e no Rio Solimões e Amazonas 35g. As variações percebidas podem ser decorrentes de diversos fatores tais como: genética e o número de frutos por planta (Piedrahita e Velez, 1982; Clement, 1986; Arkcoll e Aguiar 1984; Clement e Mora Urpi 1988; Fonfría *et al.*, 1996). A variação dos dados biometricos da pupunha, é prevista, assim como, os parametros fisico-quimicos, uma vez que, o cultivo das sementes foram realizados no campo experimental do INPA, com grande variabilidade genética, em processo de domesticação do fruto.

Na análise de composição centesimal, a pupunha sem casca mostrou teores maiores para os lipídios, proteínas, carboidratos, fibras e cinzas, porém somente carboidratos e cinzas apresentaram diferença significativa quando comparada com a pupunha com casca, respectivamente $25,17 \pm 0,34\%$ e $0,44 \pm 0,02\%$ ($p < 0,05$) (Tabela 2). O teor de umidade foi o único que apresentou teores maiores para a pupunha com casca $70,25 \pm 0,36\%$ em relação à pupunha sem casca $62,97 \pm 0,97\%$, apresentando diferença significativa entre si ($p < 0,05$).

Tabela 2. Composição centesimal da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) sem e com casca.

Componentes	Pupunha Sem Casca	Pupunha Com Casca
Umidade (%)	$62,97 \pm 0,97^b$	$70,25 \pm 0,36^a$
Lipídio (%)	$2,63 \pm 0,27^a$	$1,55 \pm 0,24^a$
Proteína (%)	$2,12 \pm 0,10^a$	$2,07 \pm 0,01^a$
Carboidratos (%)*	$31,77 \pm 1,31^a$	$25,17 \pm 0,34^b$
Fibras (%)	1,22	1,19
Cinzas (%)	$0,49 \pm 0,02^a$	$0,44 \pm 0,02^b$
VET* ¹	159,31	127,44

*Calculado por diferença

*¹ Cálculo do VET (Valor Energético Total): obtido a partir do fator de conversão: (9 kcal por grama de lipídios, 4 kcal por grama de proteínas, 4 kcal por grama de carboidratos. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significavelmente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de tukey.

Pires (2013) avaliou a composição centesimal de frutos de pupunha da variedade Vaupés com e sem casca, cozidas e *in natura*, adquiridos no mercado do Ver-o-peso de Belém, sendo estes oriundos de cultivares no município do Acará, onde encontrou valores de umidade para pupunha com casca $55,42 \pm 0,6$ e sem casca $55,81 \pm 0,2$ ($p > 0,05$), valores estes inferiores ao do presente estudo onde a pupunha com casca alcançou valores de umidade de $70,25 \pm 0,36$ e pupunha sem casca $62,97 \pm 0,97$, ($p < 0,05$). A quantidade de água de um alimento está relacionada com a densidade energética (DE) definida como a energia disponível por unidade de peso (kcal/g ou kj/g), assim, a pupunha é classificado como alimento de “media densidade”, de acordo com a classificação de densidade energética da CDC (2005).

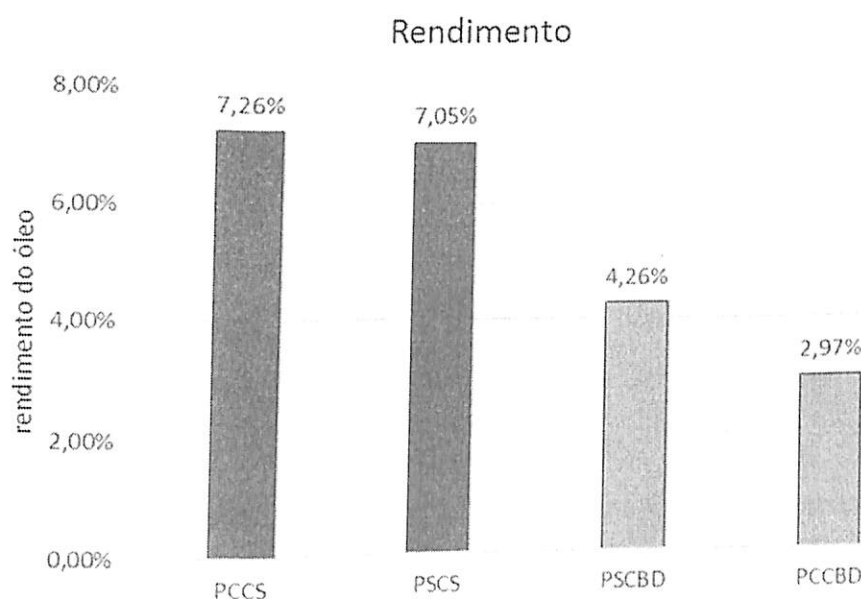
Em relação aos teores lipídicos, os valores de pupunha cozida com casca apresentaram valores $6,57 \pm 0,3\%$ e sem casca $5,91 \pm 0,2\%$ foram superiores ao do presente estudo que apresentaram valores de lipídios para pupunha cozidas com casca de $1,55 \pm 0,24\%$, e sem casca $2,63 \pm 0,27\%$, mostrando assim que esta variedade Vaupés apresentou maior teor de lipídeos do que a variedade Mesocarpa. Em um outro estudo de Andrade, (2003) avaliou a composição físico-química de polpa de pupunhas cozidas e *in natura*, onde na cozida apresentou valores inferiores de proteína ($1,16 \pm 0,07\%$), enquanto que no presente estudo, encontramos para pupunha sem casca valores de $2,12 \pm 0,10\%$ de proteína. Em um estudo realizado por Arkcoll; Aguiar, (1984) que avaliou a composição proteica do mesocarpo da pupunha, embora tenha apresentado baixo teor proteico, mostrou que todos os aminoácidos essenciais estão presentes, principalmente Arginina (7,3%) e ácido glutâmico (4,7%) que são os mais abundantes.

Os percentuais dos teores de cinzas foram 0,49% e 0,44% para pupunha com casca e sem casca, respectivamente. Pires (2013) observou 0,57% sem casca e 0,63% com casca, em um estudo sobre obtenção de farinhas de pupunha para aplicação no desenvolvimento de produtos. Os valores de fibras totais foram de 1,22% para pupunha sem casca e 1,19% para pupunha com casca. Os valores encontrados na pupunha sem casca foram semelhantes ao Ferreira e Pena (2003), 1,6% para pupunha *in natura* e 1,4% para pupunha cozida. A Anvisa (2012), estabelece que para um alimento sólido ser fonte de fibra, necessita conter no mínimo 3% em sua composição. Essa espécie estudada apresentou baixo teor de fibra.

A pupunha apresenta alto potencial nutricional devido ao seu alto teor de carboidrato, que no presente trabalho apresentou valores na pupunha sem casca de $31,77 \pm 1,31$ % e na pupunha com casca de $25,17 \pm 0,34$ % ($p < 0,05$). O teor de carboidratos encontrado indica que a pupunha é boa fonte desse nutriente, segundo o Guia Alimentar para a população Brasileira (Brasil, 2014).

O Gráfico 1 representa o rendimento do óleo de pupunha cozida com e sem casca por dois métodos de extração, Bligh & Dyer e Soxhlet. Os resultados apresentaram frutos com teor de óleo para o método de Soxhlet variando de 7,05 a 7,26% para pupunha com e sem casca, respectivamente. No método de Bligh & Dyer o teor de óleo variou de 2,97 a 4,26% para pupunha com e sem casca, respectivamente. Foi possível observar as diferenças no rendimento dos teores lipídicos nas amostras analisadas pelos dois métodos, evidenciando que o melhor rendimento foi o método de Soxhlet da pupunha com casca.

Gráfico 1. Gráfico do rendimento do óleo de pupunha com e sem casca por dois métodos de extração, Bligh & Dyer e Soxhlet.



PCBD= Pupunha com casca Bligh & Dyer; PSBD=Pupunha sem casca Bligh & Dyer; PCS= Pupunha com casca Soxhlet; PSS= Pupunha sem casca Soxhlet.

Santos, 2012 realizou estudo com frutos de diferentes espécies de palmeiras nativas do Amapá utilizando diferentes métodos de extração, constatou também que o melhor método de extração foi o Soxlet, apresentando altos rendimentos dos óleos extraídos da Bacaba (38,3%), do Buriti (28,3%), do Inajá (35,2%), da Pupunha (16,7%) e do Tucumã (26,6%).

No presente trabalho foi observado valores de carotenoides totais no óleo de pupunha variando de 0,5831 a 6,3798 mg/100g, com destaque no óleo de pupunha sem casca extraído pelo método Bligh & Dyer (6,3798 mg/100g), como mostra na Tabela 3. Essa diferença no teor de carotenoide no óleo é, provavelmente, devido ao método Bligh & Dyer não haver adição de calor. Segundo Gama e Sylos (2007), os carotenoides apresentam estabilidades químicas distintas quanto à degradação em função das condições aplicadas durante o tratamento térmico. Dentre os principais fatores que promovem a degradação dos carotenoides, seja por isomerização e/ou oxidação, podem-se citar: calor, luz, ação enzimática, oxidação promovida por peróxidos provenientes da oxidação lipídica, etc. (Rodriguez-Amaya, 2001).

Tabela 3. β -Caroteno do óleo de pupunha por dois métodos de extração.

Componentes	Pupunha S/ Casca Bligh & Dyer	Pupunha C/ Casca Bligh & Dyer	Pupunha S/ Casca Soxhlet	Pupunha C/ Casca Soxhlet
β -Caroteno(mg/100g)	149,37 \pm 2,90 ^a	124,85 \pm 3,32 ^b	165,77 \pm 10,85 ^a	77,4781 \pm 4,90 ^c
Carotenoides (mg/100g)	6,3798	2,1497	1,9494	0,5831

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de tukey.

Jatunov *et al.* (2010), em um estudo de seis variedade de pupunha constatou que no mesocarpo da pupunha cozida houve uma grande variação no conteúdo de carotenoides variando de 1,3 a 21,1 mg/100g do mesocarpo. Santos, 2012 avaliou o potencial funcional de óleos obtidos de frutos de palmeira nativas oriundas do Amapá, utilizando o método extrator Soxleth, verificou valores médios de carotenoides para a pupunha de 2,62 mg.100g⁻¹. No presente estudo verificou que pelo mesmo método de extração do óleo (Soxleth), conseguiu-se 6,3798 mg/100g, portanto expressivamente maior do que Santos, 2012.

O conteúdo de β -Caroteno encontrado neste estudo foi de 77,47 a 149,37 mg/100g, considerado bastante alto comparado com o fruto da pupunha cozida que variou de 8,54 a 0,51 mg/100g no trabalho Jatunov *et al* (2010). Essa diferença pode ter ocorrido devido ao método de extração Bligh & Dyer ser a frio, não degradando o β -caroteno no óleo.

Os efeitos benéficos dos carotenoides em prevenir doenças em humanos vem sendo estudados a alguns anos, porém os estudos não resumem somente os benefícios causados pela vitamina A, mas também pela atividade antioxidante (Rodriguez-Amaya 1996; Bub *et al.* 2000)

Neste estudo, foram observados valores de compostos antioxidantes no óleo de pupunha variando de 10,00 a 105,18 (μ g carotenoides/mL), com destaque no óleo de pupunha sem casca pelo método de Soxhlet (10,00 μ g /mL).

Tabela 4. Atividade captadora do radical DPPH (IC₅₀)

Componentes	Pupunha S/ Casca Bligh & Dyer	Pupunha C/ Casca Bligh & Dyer	Pupunha S/ Casca Soxhlet	Pupunha C/ Casca Soxhlet
IC ₅₀ (μ g carotenoides/ml)	105,18	37,44	32,31	10,00

Existem poucos trabalhos na literatura sobre atividade antioxidante no óleo de pupunha, para efeito de comparação. Jatunov *et al* (2010) estudando a composição de carotenoides e atividades antioxidantes do mesocarpo cozido e cru de seis variedades de *Bactris gasipaes*, observou que o IC₅₀ da pupunha cozida variou de $5,7 \pm 0,40$ a $41,1 \pm 0,55$ (μ g carotenoides/ml), portanto, dentro dos valores encontrados para o óleo de pupunha do presente trabalho, podemos observar que tanto a pupunha quanto o óleo tem potencial antioxidante. Na literatura evidenciou-se que, frutos com maior teor de carotenoides possui também melhor atividade antioxidante, porém observamos que no presente trabalho o melhor teor de carotenoides foi no método de Bligh & Dyer, enquanto que os melhores índices de IC₅₀ foram observados no método de Soxhlet, o ideal é que um dos dois métodos

apresentasse melhores valores de carotenoides e de IC_{50} o que não foi observado neste estudo. Porém, é notório que o método Bligh & Dyer foi o que melhor conservou os carotenoides.

Apoio Financeiro:



Realização:



MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES



CONCLUSÃO

Os resultados da análise centesimal mostraram que esta variedade de pupunha (*Mesocarpa*), possui um baixo teor de lipídios, porém o teor de carboidrato encontrado indica que a pupunha é boa fonte desse nutriente. O método de extração Soxhlet foi o que apresentou melhor rendimento, tanto para a pupunha cozida com casca quanto sem casca. Com base nas análises dos carotenoides e β -caroteno os melhores resultados foi observado no método de Bligh & Dyer da pupunha sem casca, mostrando que este método de extração foi o que melhor preservou os nutrientes. Os resultados de atividade antioxidante mostrou que o método de extração Soxhlet, pupunha com casca, apresentou melhor atividade. O ideal é que um dos métodos apresentassem melhores valores de carotenoides e de IC_{50} , porém não foi observado no presente estudo, portanto, sugere-se que haja novos estudos comparando métodos de extração de óleos, e com isso contribuindo para distinguir quais os melhores métodos para obtenção de óleos vegetais sem perdas na atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS

- Andrade, J. S.; Pantoja, L.; Maeda, R. N. 2003. Melhoria do rendimento e do processo de obtenção da bebida alcoólica de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 23, p. 34-38.
- ANVISA-2012 (<http://portal.anvisa.gov.br/>) Acesso em 03/07/2017.
- Arkcoll, D.B.; Aguiar, J.P.L. 1984. Peach palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.), a new source of vegetable oil from the wet tropics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.35, p.520-526.
- Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, p. 911-917, 1959.
- Brand-Williams W, Cuvelier M.E, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol.* ;28: 25-30.
- Brasil.2014. Guia Alimentar da população brasileira/Ministério da Saúde, Secretaria de atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. 2ed., 1 reimpr. – Brasília: ministério da Saúde. (www.saude.gov.br/bvs) Acesso em 07/07/2017.
- Bub A, Watzl B, Abrahamse L, Delincée H, Adam S, Wever J, Müller H, Rechkemmer G. 2000. Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. *J Nutr.*; 130: 2200–06.
- Carvalho, A. V.; Beckman, J. C.; Maciel, R. A.; Farias Neto, J. T. 2013. Características físicas e químicas de Frutos de pupunheira no estado do Pará. *Rev. Bras. Frutic.*, v. 35, p. 763-76.
- CDC-Centers for Disease Control and Prevention.2005. Can eating fruits and vegetables help people to monage their weight? Research to Praticce Series, nº 1. (www.cdc.gov/) Acesso em 03/07/2017.
- Cecchi, M. H. 2003. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. 2.ed. Campinas: Editora UNICAMP. 207p.
- Clement, C. R. 1988. Demestication of the Pejibaye Palm (*Bactris gasipaes*): Past and Presnt In The palm – Tree of Life: Biology, Utilation e Conservation. New York Botanical Garden. Michael J. Balick. *Advances in Economic Botany*, v.6 p. 155-174.

Clement, C.R. 1986. *Descriptores mínimos para el pejibaye (Bactris gasipaes H.B.K.) y sus implicaciones filogenéticas*. Tese de Mestrado, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 216 p.

Clement, C.R.; Mora Urpi, J.1988. *Phenotypic variation of peach palm observed in the Amazon basin*. In: Clement, C.R.; Coradin, L. (eds.). Final report (revised): Peach palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.) germplasm bank. U.S. Agency for International Development (grant number DAN-5542-G-SS-2093-00), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Centro Nacional de Recursos Genéticos/Embrapa, Manaus, AM. pp. 2005, 20-54.

Clement, C.R.E.; Mora-Urpi, J.E. 1987. Pejibaye palm (*Bactris gasipaes*, Arecaceae): multiuse potential for the lowland humid tropics. *Economy Botany*, 41(2): 302-311.

Cortés C, Esteve M.J., Frígola A, Torregrosa F. 2004. Identification and quantification of carotenoids including geometrical isomers in fruit and vegetable juices by liquid chromatography with ultraviolet-diode array detection. *J Agric Food Chem.*; 52: 2203-12.

Ferreira , C. D.; Pena, R. S. 2003. Comportamento higroscópico da farinha de pupunha (*Bactris gasipaes*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 23, p. 251-255.

Fonfría, M. A.; Orenge,V. A.; Alcaina, M. A.; Ferrer, M. J.; Romero, V. E. 1996. *Citros: Desenvolvimento e Tamanho Final do Fruto*. Porto Alegre: Cinco Continentes. 102 p.

Gama, J. J. T.; Sylos, C. M. 2007. Effect of thermal pasteurization and concentration on carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice. *Food Chemistry*, London, v. 100, n. 4, p. 1686-1690.

Gonçalves, C.; Batista, E.; Meirelles, A.J.A.2002. Liquid-Liquid Equilibrium Data for the System Corn Oil + Oleic Acid + Ethanol + Water at 298.15 K. *J. Chem. Eng.* v.47, n.3, p.416 – 420.

Hassimotto, N. M. A.; Genovese, M. I.; Lajolo, F. M. 2005. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 53, p. 2928-2935.

Hyvönen, L 1996. Approach to fat analysis of foods. *Food Chemistry*, Vol. 57, No. 1, pp. 2326.

Jatunov, S., Quesada, S., Díaz, C., & Murillo, E. 2010. Carotenoid composition and antioxidant activity of the raw and boiled fruit mesocarp of six varieties of *Bactris gasipaes*. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 60(1), 99-104. PMID:21090177.

Kates, M.; 1972. *Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids*, Elsevier Applied Science: London, cap. 2.

Melhorança Filho, A. L.; Pereira, M. R. R. 2012. Atividade antimicrobiana de óleos extraídos de açaí e de pupunha sobre o desenvolvimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. *Biosci. FATEC*. v. 28, n. 4, p. 598-603.

Moretto, E.; Fett, R. 1998. *Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais*. São Paulo: Varela. 150p.

Piedrahita, C.A.; Velez, P.C.A. 1982. Metodos de producción y conservación de la harina obtenida del fruto del chontaduro. Informe de Investigación, *Departamento de Procesos Químicos y Biológicos*, Sección Alimentos, Universidad de Valle, Cali, Colombia.

Pires, M. B. 2013. *Obtenção de Farinhas de Pupunha (Bactris gasipaes) para Aplicação no Desenvolvimento de Produtos*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará. 89p.

Regitano-D'Arce, M. A. B.; Lima, U. A. 1987. Emprego de álcool etílico na extração do óleo de girassol (*Helianthus annuus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.7, n.1, p.1-14.

Remédios, C. M. R.; Nunes, E. C. D. B.; Cabral, A. Jr. D. F.; Nero, J. D.; Alcantara Jr., P.; Moreira, S. G. C. 2006. *Estudo espectroscópico de óleos derivados de frutos da palma*. Dissertação de Mestrado, Institutos de Ciências Exatas e Naturais/Universidade Federal do Pará. Belém, Pará. 83pp.

Rodriguez, D.B., Raymundo, L.C., LEE, T.C., SIMPSON, K.L. & CHINCHESTER, O. 1976. Carotenoid pigments changes in ripening *Momordica charantia* fruits. *Annals of Botany* 40:615-624.

Rodriguez-Amaya, D. B. 1996. Assessment of the provitamin A contents of foods - The Brazilian experience. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 9, p. 196230.

Rodriguez-Amaya, D. B. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. 2001. Washington: ILSI Press. 64 p.

Santos MFG, Marmesat S, Brito ES, Alves RE, Dobarganes MC. 2013. Major components in oils obtained from Amazonian palm fruits. *Grasas Aceites* 64, 328–334.

Santos, M. F. G. 2012. *Qualidade e potencial funcional da porção comestível e do óleo de frutos de palmeiras nativas oriundas do Amapá*. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal da Paraíba. Paraíba, 170 f.

São Paulo. 2008. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. (http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf) Acesso em 20/05/2017.

TBCA-USP.2014. Tabela de Brasileira de Composição de Alimentos. (<http://www.intranet.fcf.usp.br/tabela/>) Acesso e 15/05/2017).

Uenojo M, Maróstica Junior MR, Pastore GM. 2007. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Química Nova* 30, 616–622.

Undeland, I.; Harrodärröd, M.; Lingnert, H. 1998. Comparison between methods using low-toxicity solvents for the extraction of lipids from herring (*Clupea havengus*). *Food Chemistry*, Oxford, v. 61, n. 3, p. 355-365.

Van den Berg ; Haenen G. R. M. M.; Berg, H. van den; Bast, A. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, v. 66, p. 511-517.

Wang, H.; Cao, G.; Prior, R. L. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 44, p. 701-705.

Xiao, L.; Mjos, S. A.; Haugsgjerd, B. O. 2012. Efficiencies of three common lipid extraction methods evaluated by calculating mass balances of the fatty acids. *Journal of Food Composition and Analysis*, Oxford, v. 25, n. 2, p. 198-207.

Apoio Financeiro:



Realização:



MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

