

## **Carotenóides e estabilidade oxidativa do óleo da polpa de *Caryocar brasiliense* Camb. - efeito da extração assistida por ultrassom**

**Carotenoids and oxidative stability of *Caryocar brasiliense* Camb. pulp oil - effect of ultrasound assisted extraction**

**Carotenoides y estabilidad oxidativa del aceite de la pulpa de *Caryocar brasiliense* Camb. - efecto de la extracción asistida por ultrasonidos**

Received: 04/06/2023 | Revised: 04/24/2023 | Accepted: 04/25/2023 | Published: 04/30/2023

### **Beatriz Fraga**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3827-5734>  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil  
E-mail: beeefraga@gmail.com

### **Rafael Silva Naito**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7665-8162>  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil  
E-mail: rafael.naito@unesp.br

### **Beatriz do Santos Galvão**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8555-4760>  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil  
E-mail: bdsгалvao@gmail.com

### **Lívia Cirino de Carvalho**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1296-7668>  
Universidade Estadual de Maringá, Brasil  
E-mail: liviacirino@gmail.com

### **Cassia Roberta Malacrida**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0069-6581>  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Brasil  
E-mail: cassia.malacrida@unesp.br

### **Resumo**

A aplicação do pré-tratamento com ultrassom na obtenção do óleo da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) por prensagem a frio foi avaliada quanto ao rendimento, qualidade do óleo obtido, principalmente em relação à composição de carotenóides e ácidos graxos, e estabilidade oxidativa. Houve um aumento de aproximadamente 11% no rendimento do processo em relação à prensagem a frio sem pré-tratamento com ultrassom. A aplicação do pré-tratamento com ultrassom aumentou a quantidade de carotenoides totais (cerca de 1,5 vezes) no óleo e modificou a composição dos carotenoides presentes. Além disso, houve aumento da insaturação do óleo. A aplicação de ultrassom não interferiu negativamente na estabilidade oxidativa do óleo em relação ao calor e à luz após 20 dias de armazenamento. Óleos com pré-tratamento com ultrassom tiveram maior retenção de carotenóides até 10 dias de armazenamento e atingiram índices de peróxidos 2,6 vezes menores do que a amostra sem pré-tratamento após 20 dias de exposição à luz.

**Palavras-chave:** Carotenoide; Extração; Estabilidade oxidativa; Óleo da polpa de pequi; Ultrassom.

### **Abstract**

Application of ultrasound pretreatment in obtaining pequi pulp oil (*Caryocar brasiliense* Camb.) by cold pressing was evaluated concerning yield, quality of the oil obtained, mainly in relation to carotenoid and fatty acid compositions, and oxidative stability. There was an increase of approximately 11% in the process yield compared to the cold pressing without ultrasound pretreatment. The application of ultrasound pretreatment increased the amount of total carotenoids (about 1.5 times) in the oil and modified the composition of the carotenoids present. Furthermore, there was an increase in oil unsaturation. Ultrasound application did not interfere negatively on the oxidative stability of the oil with respect to heat and light after 20 days of storage. Oils with ultrasound pretreatment had a higher carotenoid retention until 10 days of storage and reached peroxide indices 2.6 times lower than samples without pretreatment after 20 days of exposure to light.

**Keywords:** Carotenoid; Extraction; Oxidative stability; Pequi pulp oil; Ultrasound.

## Resumen

La aplicación de pre tratamiento con ultrasonido para la obtención de aceite de pulpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) por prensado en frío fue evaluada en términos de rendimiento, calidad del aceite obtenido, principalmente en relación a la composición de carotenoides y ácidos grasos, y estabilidad oxidativa. Hubo un aumento de aproximadamente un 11% en el rendimiento del proceso en comparación con el prensado en frío sin pretratamiento con ultrasonidos. La aplicación del pretratamiento con ultrasonido aumentó la cantidad de carotenoides totales (alrededor de 1,5 veces) en el aceite y modificó la composición de los carotenoides presentes. Además, hubo un aumento en la insaturación del petróleo. La aplicación de ultrasonido no afectó negativamente la estabilidad oxidativa del aceite en relación al calor y la luz después de 20 días de almacenamiento. Los aceites con pretratamiento de ultrasonido tuvieron una mayor retención de carotenoides hasta los 10 días de almacenamiento y alcanzaron niveles de peróxido 2,6 veces más bajos que la muestra sin pretratamiento después de 20 días de exposición a la luz.

**Palabras clave:** Carotenoide; Extracción; Estabilidad oxidativa; Aceite de pulpa de pequi; Ultrasonido.

## 1. Introdução

O Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma fruta nativa do Brasil distribuída principalmente nas regiões do Cerrado e também encontrada em outros países da América do Sul e Central (Guedes, et al., 2017). Os frutos do pequizeiro são constituídos pelo exocarpo ou epicarpo (casca), mesocarpo externo, mesocarpo interno (polpa comestível), endocarpo espinhoso (camada lenhosa que recobre e protege a amêndoa) e amêndoa (Baeta, 2013), sendo a polpa parte mais consumida e comercializada do fruto, que pode ser obtida através do processamento do fruto ou utilizada para extração de óleo (Almeida, et al., 2022) A polpa comestível tem uma cor amarelada e é fortemente aromática, sendo o seu principal componente o óleo (cerca de 59%), rico em ácidos graxos insaturados, principalmente ácido oleico (56%) (Malacrida et al., 2013).

O ácido oleico participa do metabolismo humano e desempenha um papel importante na síntese de hormônios (Silva et al., 2022). Estudos demonstraram o efeito hepatoprotetor do óleo de pequi contra o desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas e adenomas em camundongos (Oliveira, et al., 2023) e contra os danos causados pelos radicais livres de oxigênio durante o exercício extenuante (Vale et al., 2019). Além disso, o óleo pode melhorar as condições cardíacas (Oliveira et al., 2017), prevenir aterosclerose (Marinho et al., 2018), anemia, inflamação e estresse oxidativo (Roll, et al., 2018).

O óleo extraído do pequi possui também um grande potencial de uso na produção de combustíveis e lubrificantes (Oliveira, et al., 2008; Oliveira & Scariot, 2010), sendo considerado vantajoso sobre outras oleaginosas, pois pode, por exemplo, produzir até 8 vezes mais L/ha de biodiesel do que a soja (Oliveira et al., 2008)

A extração do óleo da polpa geralmente é feita em pequena escala por processo manual empregando água quente, processo esse que é demorado e de baixo rendimento, caracterizado como um processo artesanal (Facioli & Golçalves, 1997). Além disso, as altas temperaturas empregadas podem influenciar nos parâmetros de qualidade de óleos comestíveis, como índice de peróxidos e índice de acidez (Brasil, 2005), e estudos indicaram que a composição fenólica do óleo da amêndoa do pequi é afetada quando extraído artesanalmente, devido à presença de água neste tipo de extração (Torres, 2016).

A prensagem a frio da polpa do pequi representa um processo alternativo viável para obtenção de óleo de alta qualidade, uma vez que não requer nenhum tipo de solvente químico, além de não gerar nenhum resíduo tóxico ao meio ambiente (Lira, et al., 2021) porém, muitas vezes apresenta baixo rendimento.

A extração assistida por ultrassom, por outro lado, é uma técnica simples usada para recuperar óleo e compostos bioativos de diferentes fontes (Kumar, et al., 2021). Esta técnica tem sido utilizada para aumentar o rendimento e a taxa de transferência de massa em diversos processos de extração. O uso de ultrassom resulta em cavitação que produz efeitos físicos como turbulência, ruptura de membranas celulares, redução do tamanho das partículas e aumento da difusão (Shirsath, et al., 2012). A extração por ultrassom pode ser concluída em minutos com alta reprodutibilidade, reduzindo o consumo de solvente e simplificando a

manipulação. Este método de extração é considerado uma técnica de extração verde, pois consome pouca energia, utiliza solventes alternativos e garante um produto final seguro e de alta qualidade (Chemat et al., 2017). A aplicação do ultrassom tem sido amplamente estudada para a extração de óleo de material vegetal, incluindo mamão, sementes de abóbora e uva e polpa de abacate (Malicanin et al., 2014; Samaran et al., 2015; Hernandez-Santos et al., 2016; Tan, Hean, et al., 2018).

Embora o pequi seja uma rica fonte de óleo, ainda é escasso o desenvolvimento de métodos de extração para manter ou aumentar a qualidade nutricional do produto. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o uso do ultrassom como pré-tratamento na extração a frio do óleo da polpa de pequi em relação ao rendimento do processo, estabilidade oxidativa e características do óleo resultante, a fim de reter os bioativos compostos presentes na fruta.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1 Material vegetal**

Para os experimentos de extração do óleo utilizou-se a polpa do pequi. Os frutos foram obtidos no CEASA – Centrais de Abastecimento de Campinas – SP, provenientes do estado de Goiás no período da safra de 2015/2016. Os frutos foram lavados, descascados, a polpa (mesocarpo interno) separada da parte externa das sementes (endocarpo) e cortada manualmente, utilizando faca comum, em pequenos pedaços para facilitar os procedimentos posteriores de secagem e aplicação do ultrassom.

### **2.2 Pré-tratamento com ultrassom**

A polpa de pequi (20 g) foi adicionada de água destilada na proporção de 1/1 (relação matéria-prima (base seca)/água destilada). A aplicação de ultrassom como pré-tratamento foi realizada utilizando uma sonda ultrassônica de potência (Sonic Ruptor 400, Omni International, EUA) equipado com ponteira de titânio (13 mm de diâmetro). Operou-se a uma frequência de 20 kHz, potência de 80 W e temperatura de aproximadamente 35°C controlada pela circulação de água em uma célula de revestimento duplo. A sonda foi imersa a uma profundidade constante e colocada centralmente na amostra. O tempo aplicado do pré-tratamento ultrassônico foi de 20 min. As condições de pré-tratamento ultrassônico (relação matéria-prima (base seca)/água destilada e potência ultrassônica) foram otimizadas previamente (Malacrida & Naito, 2022). Após a aplicação do ultrassom, a polpa do pequi foi seca em estufa de ar forçado à temperatura de 40° C por 24 horas e o óleo extraído por prensagem a frio.

### **2.3 Extração do óleo**

As extrações foram realizadas utilizando uma mini prensa hidráulica (PH 10, Nowak, Brasil) sendo aplicada uma força de 0,5 ton/cm<sup>2</sup> por uma hora. Para minimizar a influência da temperatura ambiente no processo de extração, um sistema composto por serpentina com circulação de água foi acoplado à camisa extratora, mantendo a temperatura do sistema em 30 ± 1° C. O óleo obtido foi pesado para cálculo do rendimento, acondicionado em frasco de vidro âmbar e armazenado em freezer (-18°C) para posterior análise. O rendimento de óleo (%) foi calculado como a razão entre a massa de polpa seca e a massa de óleo obtida após o processo de extração. Também foi calculada a eficiência de extração, considerando a quantidade total de óleo presente na polpa como aquela determinada pelo método de Soxhlet (AOCS, 2003).

## 2.4 Caracterização de óleos prensados a frio

### 2.4.1 Análise físico - química

Para determinar o índice de refração (40 °C), ácidos graxos livres (% em ácido oléico), índice de acidez (mg KOH/g) e valor de peróxido (meq peróxido/Kg) métodos padrão AOCS (AOCS, 2003) foram seguidos. A matéria insaponificável foi quantificada de acordo com o método descrito por Hartman e Esteves (1982)

### 2.4.2 Composição de carotenóides

A composição dos carotenóides foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Os carotenoides foram extraídos exaustivamente com acetona (Rosso & Mercadante, 2007) transferidos para éter de petróleo/éter dietílico (2:1, v:v) e saponificados por 12 horas no escuro com KOH metanólico 10%. Os extratos foram então lavados com água destilada para retirada do álcali e evaporados em rotaevaporador ( $T < 38^{\circ}\text{C}$ ).

Imediatamente antes da injeção, os resíduos foram redissolvidos em metanol/éter metil terc-butílico (1:1, v:v) e injetados no sistema HPLC equipado com detector de arranjo de fotodiodos. A separação dos carotenóides foi realizada em coluna C30 YMC (5  $\mu\text{m}$ , 250 x 4,6 mm), utilizando como fase móvel um gradiente linear de metanol/metil terc-butil éter de 95:5 (v:v) a 70:30 (v :v) em 30 minutos, para 50:50 (v:v) em 20 minutos, retornando então à condição inicial. A taxa de fluxo foi de 0,9 mL/min e a coluna de temperatura foi ajustada para 29 °C. Os espectros UV-VIS foram obtidos entre 250 e 600 nm e os cromatogramas foram processados a 450 nm (Rosso & Mercadante, 2007). Todos os solventes utilizados foram grau HPLC.

Os carotenoides foram identificados de acordo com as seguintes informações combinadas: ordem de eluição de fase reversa, espectro de absorção visível ( $\lambda_{\text{max}}$ ), estrutura espectral fina (%III/II), pico de intensidade cis disponível na literatura e co-cromatografia com amostras autênticas. Os carotenóides foram quantificados por meio de curvas de calibração para trans- $\beta$ -caroteno, all-trans- $\beta$ -criptoxantina e all-trans-luteína com um mínimo de sete níveis de concentração. Todas as curvas apresentaram coeficiente de regressão superior a 0,99, limite de detecção de 0,1  $\mu\text{g/mL}$  e limite de quantificação de 0,5  $\mu\text{g/mL}$ .

### 2.4.3 Composição de ácidos graxos

A composição de ácidos graxos foi analisada por cromatografia gás-líquido de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) de acordo com AOCS (AOCS, 2003). As análises de FAMEs foram realizadas com um cromatógrafo gás-líquido Shimadzu (2010 AF, Japão), equipado com um detector de ionização de chama, um injetor split-splitless e um autoamostrador. Os FAMEs foram separados usando uma coluna de biscianopropil altamente polar (SP-2560, Supelco, EUA) de 100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20  $\mu\text{m}$  de espessura de filme. A temperatura do forno da coluna foi inicialmente mantida a 140°C por 5 minutos, aquecida a 4°C/min até 240°C e mantida a 240°C por 15 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 e 260°C, respectivamente. Amostras de 1,0  $\mu\text{L}$  foram injetadas adotando uma proporção de divisão de 1:100. O gás de arraste foi o hélio com uma velocidade linear de 19,5 cm/s. Os FAMEs foram identificados comparando seus tempos de retenção com os dos padrões FAME puros (Supelco, EUA) nas mesmas condições de operação e quantificados por normalização de área (%).

## 2.5 Estabilidade de oxidação

### 2.5.1 Oxidação sob condições aceleradas

A oxidação foi realizada em becker de 50 mL retendo 5 g de amostras de óleo (relação superfície/volume 0,53  $\text{cm}^{-1}$ ) em estufa ajustada a 60 °C. As análises de valor de peróxido (AOCS, 2003) e carotenoides totais (Rodriguez- Amaya, 2016) foram

realizadas no início do armazenamento e acompanhadas periodicamente em intervalos de 5 dias por 20 dias. Para os tratamentos de controle, amostras de óleo sem pré-tratamento com ultrassom foram usadas.

### 2.5.2 Foto-oxidação

As amostras de óleo foram armazenadas sob iluminação (1300 Lux) à temperatura ambiente (28°C). A foto-oxidação foi realizada em becker de 50 mL retendo 5 g de amostras de óleo (relação superfície/volume 0,53 cm<sup>-1</sup>). As análises de valor de peróxido (AOAC, 2016) e carotenóides totais (Rodríguez-Amaya, 2016) foram realizadas no início do armazenamento e acompanhadas periodicamente em intervalos de 5 dias por 20 dias. Para os tratamentos de controle, amostras de óleo sem pré-tratamento com ultrassom foram usadas.

### 2.6 Análise estatística

Todos os experimentos e medições foram repetidos três vezes e os resultados foram relatados como valores médios ± erro padrão. Os dados das determinações analíticas foram submetidos à análise de variância e as diferenças entre as médias foram testadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o MINITAB 18 (Minitab Inc., EUA).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Processo de extração e composição do óleo

O processo de extração assistido por ultrassom resultou em rendimento de óleo de 36% e eficiência de extração de 61%. A aplicação do pré-tratamento com ultrassom aumentou em cerca de 11% o rendimento do processo quando comparado com a extração por prensagem a frio sem pré-tratamento (Malacrida, et al., 2018).

As características físico-químicas determinadas neste trabalho no óleo extraído da polpa do pequi por prensagem a frio com aplicação de pré-tratamento com ultrassom são apresentadas na Tabela 1. Nesta Tabela também são apresentados os valores obtidos por Malacrida et al. (2018) para as características físico-químicas do óleo de pequi obtido por prensagem a frio. Observa-se que o óleo obtido com aplicação do ultrassom apresentou maior quantidade de ácidos graxos livres (3,60%) quando comparado ao óleo obtido por prensagem a frio (1,18%), inclusive com um índice de acidez acima do determinado pelo Codex Alimentarius Commission (2008) para óleos brutos extraídos por prensagem a frio (4,0 mg KOH/g). A hidrólise de triacilgliceróis com formação de ácidos graxos livres, assim como a presença de lipases que causam hidrólise enzimática, é comum em frutas com alta umidade. Além disso, a aplicação de ultrassom aumenta a temperatura do meio e pode promover a termoxidação. Neste estudo a aplicação do ultrassom em meio aquoso pode ter causado a hidrólise dos triglicerídeos a ácidos graxos livres aumentando a acidez do óleo.

**Tabela 1** - Características físico-químicas do óleo da polpa de pequi extraído por prensagem a frio associada ao pré-tratamento com ultrassom (CPU).

	CPU <sup>a</sup>	Óleo da polpa de pequi <sup>b</sup>
Índice de refração (40°C)	1.4583 ± 0.0001	1.4582
Ácidos graxos livres (%)	3.60 ± 0.04	1.18
Índice de acidez (mg KOH / g)	7.15 ± 0.08	2.35
Índice de peróxidos (mEq / kg)	3.57 ± 0.17	3.19
Matéria insaponificável (%)	2.40 ± 0.21	1.00

<sup>a</sup> Óleo da polpa de pequi extraído por prensagem a frio associada ao pré-tratamento com ultrassom. <sup>b</sup> Malacrida et al. (2018)

Os índices de refração e de peróxidos diferiram pouco entre os óleos obtidos com e sem pré-tratamento com ultrassom, indicando que o mesmo não sofreu oxidação durante o processo de extração. De acordo com Samaran (Samaran et al., 2015) apenas o tempo de extração exibiu efeito significativo no valor de peróxido na extração de óleo assistida por ultrassom. Outras variáveis do ultrassom como temperatura, potência e relação solvente/amostra não induziram nenhum impacto significativo no valor de peróxido.

A porcentagem de matéria insaponificável foi mais elevada no óleo extraído com aplicação do ultrassom (2,40%) quando comparado ao óleo obtido por prensagem a frio (1,00%). A matéria insaponificável corresponde, entre outros, a compostos presentes em óleos como esteróis, tocoferóis e carotenóides, indicando que a aplicação do ultrassom pode ter contribuído para a maior extração desses compostos da polpa de pequi. Isso pode ser evidenciado pelo aumento na quantidade de carotenoides totais (Tabela 2) no óleo obtido com pré-tratamento (aproximadamente 1,5 vezes) quando comparado ao óleo extraído por prensagem a frio (Malacrida et al., 2018).

De acordo com a Tabela 2, o óleo de pequi revelou predominância dos ácidos oleico e palmítico e, em menor proporção, a presença dos ácidos palmitoleico, esteárico, linoleico e linolênico. Outros autores também verificaram composição semelhante em óleos de pequi obtidos por diferentes métodos de extração (Aquino, et al., 2016). A aplicação do pré-tratamento com ultrassom aumentou a porcentagem de ácidos graxos insaturados, principalmente do ácido oleico. Assim, não houve relação direta entre a aplicação do ultrassom e a possível ocorrência de oxidação lipídica com quebra das ligações insaturadas.

Os principais carotenóides identificados no óleo foram all-trans-zeaxantina, all-trans- $\beta$ -criptoxantina e all-trans- $\beta$ -caroteno (Tabela 2). O óleo obtido por prensagem mecânica sem aplicação de ultrassom apresentou como principais carotenóides o all-trans- $\beta$ -caroteno, all-trans- $\beta$ -criptoxantina e all-trans-zeaxantina (Malacrida et al., 2018). Observou-se aumento all-trans-zeaxantina com a aplicação do pré-tratamento com ultrassom. Assim, a aplicação do pré-tratamento com ultrassom aumentou a quantidade de carotenoides totais no óleo (Tabela 2) e modificou a composição dos carotenóides presentes. Os carotenóides geralmente existem em materiais vegetais ligados a algumas proteínas, carboidratos e lipossomas para formar compostos. Se essas ligações forem quebradas, os carotenóides aprisionados são liberados e extraídos mais facilmente. Além disso, as perdas de carotenóides devido à degradação após a extração do óleo, como as causadas pela luz, não podem ser excluídas.

**Tabela 2** - Composições de ácidos graxos e carotenóides do óleo da polpa de pequi extraído por prensagem a frio associada ao pré-tratamento com ultrassom (CPU).

	CPU <sup>a</sup>	Óleo da polpa de pequi <sup>c</sup>
Ácidos graxos (%)		
Palmítico (C16:0)	35.62 ± 0.27	39.06
Palmitoleico (C16:1)	0.85 ± 0.02	0.96
Esteárico (C18:0)	2.39 ± 0.02	1.95
Oleico (C18:1 n-9)	59.09 ± 0.26	56.19
Linoleico (C18:2 n-6)	1.62 ± 0.41	1.74
Linolênico (C18:3 n-3)	0.43 ± 0.12	0.10
UFA <sup>b</sup>	61.99	59.99
MUFA <sup>b</sup>	59.94	57.15
PUFA <sup>b</sup>	2.05	1.84
SFA <sup>b</sup>	38.01	41.01
Carotenoides (%)		
All-trans-zeaxantina	40.16 ± 0.27	15.32
All-trans-β-criptoxantina	22.68 ± 0.27	18.79
All-trans-β-caroteno	20.00 ± 0.27	20.27
9-cis-β-caroteno	3.58 ± 0.27	5.00
Não identificado	13.58 ± 0.27	40.62

<sup>a</sup> Valores médios ± desvio padrão (n = 3). <sup>b</sup> UFA, ácidos graxos insaturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; SFA, ácidos graxos saturados. <sup>c</sup> Malacrida et al. (2018).

O calor e a luz podem promover a isomerização dos carotenoides trans para as formas cis, resultando em perdas de cor e atividade da pró-vitamina A (Rodríguez- Amaya, 2016). A aplicação de ultrassom não influenciou a isomerização dos carotenoides: o óleo extraído com pré-tratamento ultrassônico apresentou menor percentual de 9-cis-β-caroteno (3,58%) do que o óleo prensado a frio (5,00%).

A temperatura é um dos fatores importantes que afetam a extração de carotenóides de materiais vegetais. Ofori-Boateng e Lee (2013) estudaram os efeitos das condições de extração assistida por ultrassom nas concentrações de β-caroteno, luteína e zeaxantina de folhas de dendezeiro e verificaram que os carotenóides são extraídos de maneira ideal em baixa temperatura, tempo de extração curto e baixa proporção de solvente para amostra.

Os carotenóides identificados na polpa do pequi são neoxantina, violaxantina, luteína, zeaxantina, β-criptoxantina e β-caroteno, sendo este último encontrado em maior quantidade (Geocze, 2011). Ramos, et al., (2001) identificaram na polpa do pequi como principais carotenóides o β-caroteno (12,17 μg/g), criptoflavina (12,65 μg/g), anteraxantina (31,28 μg/g) e zeaxantina (79,73 μg). Os autores encontraram um aumento significativo de zeaxantina de 4,32 μg/g na polpa bruta para 79,73 μg/g após o cozimento convencional.

O β-caroteno e a β-criptoxantina são os carotenóides pró-vitamina A presentes na polpa e no óleo de pequi. Embora o óleo extraído com pré-tratamento ultrassônico tenha apresentado maior quantidade de carotenóides totais do que o extraído apenas por prensagem, ambos apresentaram percentuais semelhantes de carotenóides pró-vitamina A. A zeaxantina não apresenta atividade de



vitamina A, mas é um potente antioxidante, essencial para a preservação da mácula ocular, prevenindo doenças oftalmológicas como a catarata (Krinsky, et al., 2003).

### 3.2 Processo de extração e composição do óleo

#### 3.2.1 Teste acelerado em estufa

Os resultados da quantificação de carotenoides totais nas amostras (com e sem pré-tratamento ultrassônico) submetidas à termoxidação a 60 °C por 20 dias são apresentados na Tabela 3. Nos três primeiros dias de armazenamento, a amostra com pré-tratamento diminuiu em aproximadamente 20 vezes a quantidade de carotenoides totais, enquanto a amostra sem pré-tratamento diminuiu cerca de 40 vezes. Ao final do tempo de armazenamento os óleos perderam mais de 95% dos carotenóides totais, o que é indicativo da baixa estabilidade desses compostos quando expostos ao calor. Os carotenóides são um grupo de pigmentos responsáveis pela coloração alaranjada do óleo de pequi. Durante o experimento, notou-se a perda quase total da coloração alaranjada de ambas as amostras.

**Tabela 3** - Carotenóides totais ( $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g}$ ) no óleo da polpa de pequi extraído por prensagem a frio (CP) e prensagem a frio associada ao pré-tratamento com ultrassom (CPU) sob testes de oxidação e foto-oxidação.

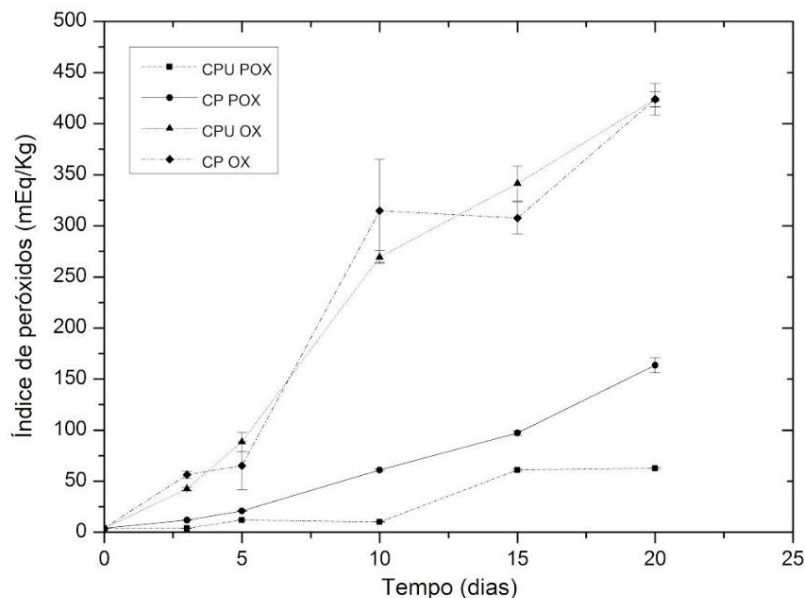
Tempo (dias)	Carotenoides totais ( $\mu\text{g/g}$ )			
	Oxidação		Foto-oxidação	
	CPU	CP	CPU	CP
0	339.9 $\pm$ 20.23 <sup>aA</sup>	232.0 $\pm$ 19.52 <sup>aB</sup>	339.9 $\pm$ 20.23 <sup>aA</sup>	232.0 $\pm$ 19.52 <sup>aB</sup>
3	22.2 $\pm$ 6.77 <sup>bC</sup>	11.5 $\pm$ 3.72 <sup>bC</sup>	303.6 $\pm$ 0.69 <sup>abA</sup>	100.7 $\pm$ 3.37 <sup>bB</sup>
5	5.0 $\pm$ 0.94 <sup>cC</sup>	8.9 $\pm$ 3.16 <sup>bC</sup>	282.2 $\pm$ 14.73 <sup>bA</sup>	29.8 $\pm$ 0.64 <sup>cB</sup>
10	5.1 $\pm$ 2.94 <sup>cB</sup>	2.6 $\pm$ 1.28 <sup>bB</sup>	154.6 $\pm$ 37.28 <sup>cA</sup>	5.3 $\pm$ 1.13 <sup>cB</sup>
15	4.5 $\pm$ 3.65 <sup>cA</sup>	4.0 $\pm$ 0.87 <sup>bA</sup>	6.1 $\pm$ 2.35 <sup>dA</sup>	3.0 $\pm$ 1.87 <sup>cA</sup>
20	7.0 $\pm$ 3.67 <sup>cA</sup>	5.2 $\pm$ 2.22 <sup>bA</sup>	1.6 $\pm$ 0.63 <sup>dB</sup>	1.5 $\pm$ 1.78 <sup>cB</sup>

<sup>a</sup> Média  $\pm$  desvio padrão (n = 3). <sup>b</sup> Média com letras maiúsculas diferentes em sobrescrito em cada linha são significativamente diferentes (teste de Tukey, p < 0,05). <sup>c</sup> Médias com diferentes letras minúsculas em sobrescrito em cada coluna são significativamente diferentes (teste de Tukey, p < 0,05).

Os peróxidos são usados como um índice de avaliação dos estágios iniciais da oxidação lipídica. As amostras apresentaram valores muito elevados durante o armazenamento com aumentos de mais de 100 vezes ao final de 20 dias, o que demonstra a baixa estabilidade oxidativa do óleo de pequi. Teoricamente, o óleo de pequi deveria ter maior estabilidade oxidativa devido a sua baixa concentração de ácidos graxos poliinsaturados (cerca de 2%). Ambos os óleos apresentaram comportamento semelhante (Figura 1) com relação à formação de peróxidos demonstrando que a aplicação do ultrassom não interferiu na estabilidade oxidativa do óleo com relação ao calor.



**Figura 1** - Alterações no índice de peróxidos do óleo da polpa de pequi extraído por prensagem a frio (CP) e processo de prensagem a frio associado ao pré-tratamento por ultrassom (CPU) submetido à termoxidação (CP OX e CPU OX) e foto-oxidação (CP POX e CPU POX) por 20 dias.



Fonte: Autores.

Halim e Thoo (2018) verificaram que o tratamento ultrassônico usando banho ultrassônico acelera o processo de oxidação lipídica em óleos de girassol e palma sem impacto significativo na geração de subprodutos da oxidação lipídica durante o armazenamento prolongado (a 60°C por 24 dias). Neste estudo, o aumento constante do índice de peróxidos dos óleos de pequi com o tempo de armazenamento também sugere que não houve formação de produtos de oxidação secundária.

### 3.2.2 Foto-oxidação

No teste de foto-oxidação a amostra com pré-tratamento ultrassônico apresentou maior retenção de carotenoides até 10 dias de armazenamento. As amostras sem pré-tratamento, após 3 dias, perderam mais da metade da quantidade de carotenóides (cerca de 56,6%). Após 15 dias de armazenamento não foram observadas diferenças significativas entre as amostras com e sem pré-tratamento e ao final do tempo de armazenamento, ambos os óleos perderam mais de 99% dos carotenóides totais. Durante o experimento, observou-se que a cor dos óleos com pré-tratamento permaneceu alaranjada por mais tempo, por outro lado as amostras sem pré-tratamento perderam a cor rapidamente.

Os carotenóides atuam como antioxidantes na foto-oxidação, extinguindo o oxigênio singlete ou o sensibilizador tripleto. Viljanen, et al., (2002) estudaram a fotooxidação de  $\beta$ -caroteno, luteína e licopeno a 3 °C sob 2.000 Lux por 60 min e verificaram que o mecanismo antioxidante dos carotenóides durante a foto-oxidação não envolve a doação de hidrogênio.

Ao analisar a variação dos índices de peróxidos com relação ao tempo (Figura 1) pode-se observar que nos primeiros cinco dias não houve diferenças significativas para as amostras, embora o aumento na amostra sem pré-tratamento tenha sido numericamente maior. Embora os dois tratamentos tenham apresentado altos valores de peróxidos ao final do teste de estabilidade,

pode-se observar que a amostra com pré-tratamento ultrassônico, mesmo após os 20 dias de exposição à luz, atingiu índices de peróxidos 2,6 vezes menores que a amostra sem pré-tratamento.

#### 4. Conclusão

A extração utilizando pré-tratamento com ultrassom foi eficiente e gerou um óleo com maior concentração de carotenóides e ácidos graxos insaturados. A composição de carotenóides também foi influenciada pelo pré-tratamento com ultrassom, mostrando um aumento considerável na concentração de zeaxantina. A estabilidade oxidativa não foi influenciada pela aplicação do ultrassom. O óleo obtido com pré-tratamento apresentou maior estabilidade no teste de foto-oxidação - maior retenção de carotenóides e menores valores de peróxidos - do que o óleo sem pré-tratamento. Assim, este processo pode ser considerado uma alternativa sustentável para a extração do óleo da polpa de pequi, uma vez que melhora a eficiência e resulta em um óleo de boa qualidade.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte e apoio financeiro da FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processo n. 2014/13894-2).

#### Referências

- Almeida, D. P., Capela, A., Martins, A. F., Costa, N., & Lelis, C. (2022). Chapter 21 - Biological activities of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil, Editor(s): Abdalbasit Adam Mariod, Multiple Biological Activities of Unconventional Seed Oils, Academic Press, Pages 257-267.
- AOAC Official Methods of Analysis. (2016). AOAC Official Method 976.06: Protein (crude) in animal feed and pet food. (20 th ed.) Rockville (MD): AOAC.
- Aquino, L. P., Borges, S. V., Queiroz, F., Antoniassi, R., & Cirilli, M. A. (2016). Extraction of oil from pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) using several solvents and their mixtures. *Grasas y Aceites*. 62:45-252.
- BRASIL. Resolução n. 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Diário Oficial da União, Brasília, 23 de setembro de 2005
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017) Ultrasound assisted extraction of foods and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason Sonochem*. V. 34:540-560.
- Codex Alimentarius Commission. (2008) Codex-Stan 210: codex standart for named vegetable oils. Rome: FAO; 2008.
- De Rosso, V. V., & Mercadante, A. Z. (2007). Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. *J. Agric. Food. Chem*. V. 55:5062-5072.
- Facioli, N. L., & Gonçalves, L. A. G. (1997). Modificação por via enzimática da composição triglicéridica do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). *Quím. Nova*, 21(1), 16-19.
- Geocze, K. C. (2011). Exploratory analysis of carotenoids, essential oils and triacylglycerids of pequi (*Cariocar Brasiliense* Camb) from Brazilian districts located in the Cerrado biome [thesis]. Viçosa (MG): Federal University of Viçosa; 2011.
- Guedes, A. M. M., Antoniasse, R., & Faria-Machado, A. F. (2017). Pequi: a Brazilian fruit with potential uses for the fat industry. *OCL* 24:1-4.
- Halim, H. H., & Thoo, Y. Y. (2018). Effect of ultrasound treatment on oxidative stability of sunflower oil and palm oil. *Int. Food. Red. J.* 25:1959-1967.
- Hartman, L., & Esteves, W. (1982).Tecnologia de óleos e gorduras vegetais. Governo do Estado de São Paulo, editor. São Paulo (SP): Secretaria de Estado da Indústria.
- Hernández-Santos, B., Rodríguez-Miranda, J., Herman-Lara, E., Torruco-Uco, J. G., Carmona-García, R., Barrientos, J. M., Chávez-Zamudio, R., & Martínez-Sánchez, C. E. (2016). Effect of oil extraction assisted by ultrasound on the physicochemical properties and fatty acid profile of pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo*). *Ultrason Sonochem*. 31:429-436.
- Krinsky, N. I., Landrum, J. T., & Bone, R. A. (2003). Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Annu. Rev. Nutr.* 23:171-201.
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrason. Sonochem*. 70:1-11.

- Lira, G. B., Lopes, A. S. C., Nascimento, F. C. A., Conceição, G. S., & Brasil, D. S. B. (2021). Processos de extração e usos industriais de óleos de andiroba e açai: uma revisão. *Research, Society and Development*, 10(12).
- Malacrida, C. R., Moraes, I. C. F., De Rosso, V. V., Rodrigues, C. E. C., & Souza, A. C. (2018). Effect of the application of an enzymatic pretreatment on bioactive compounds of Caryocar Brasiliense Camb pulp oil. *J. Food Process. Preserv.* 42:1-6.
- Malacrida, C. R., & Naito, R. S. (2022). Desenvolvimento de um processo alternativo de extração a frio de óleo da polpa de pequi, in Silva-Matos, R. R. S, Melo, G. S., Rodrigues, B. E. L., editors. Desenvolvimento rural e processos sociais nas ciências agrárias. Ponta Grossa: Editora Atena; p. 175-181.
- Malicanin, M., Rac, V., Antić, V., Antić, M., Palade, L. M., Kefalas, P., & Rakić, V. (2014). Content of antioxidants, antioxidant capacity and oxidative stability of grape seed oil obtained by ultrasound assisted extraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 91:989-999.
- Marinho, A. L., Bicas, J. L., Fuentes, E., Alarcón, M., Gonzalez, I. P., Pastores, G. M., Maróstica Junior, M. R., & Cazarin, C. B. B. (2021). Non-nutrients and nutrients from Latin American fruits for the prevention of cardiovascular diseases. *Food Res. Int.*; 139:1-14.
- Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS: Champaign; 2003.
- Ofori-Boateng, C., & Lee, K. T. (2013) Response surface optimization of ultrasonic-assisted extraction of carotenoids from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Fronds. *Food Sci. Nutr.* 1:209-221.
- Oliveira, M. E. B., Guerra, N. B., Barros, L. M., & Alves, R. E. (2008). Aspectos Agrônômicos e de Qualidade do Pequi. Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos 113, Fortaleza, CE.
- Oliveira, W. L., & Scariot, A. (2010). Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do pequi. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 84 p.
- Oliveira, L. G., Moreno, L. G., Melo, D. S., Costa-Pereira, L. V., Carvalho, M. M. F., Silva, P. H. E., Alves, A. M., Magalhães, F. C., Dias-Peixoto, M. F., & Esteves, E. A. (2017). *Caryocar brasiliense* oil improves cardiac function by increasing Serca2a/PLB ratio despite no significant changes in cardiovascular risk factors in rats. *Lipids Health Dis.* 16:37-45.
- Oliveira, V. C. L., Furlan, M. R., Ferreira, D. A. S. P., & Silva, C. V. S. (2023). Efeitos do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) na prevenção do câncer: uma revisão. *Ciências da Saúde*, 120.
- Ramos, M. I. L., Umaki, M. C. S., Hiane, P. A., & Ramos Filho, M. M. (2001). Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides pró-vitamínicos "A" da polpa do piqui (*Caryocar brasiliense* Camb). *CEPPA Bulletin.* 19:23-32.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). A guide to carotenoids analysis in food [monography]. Washington (DC): ILSI Press.
- Roll, M. M., Vilela, M. A. N., Longo, P. F., Costa, A. T. S., & Grisolia, C. K. (2018). The pequi pulp oil (*Caryocar brasiliense* Camb.) provides protection against aging-related anemia, inflammation and oxidative stress in Swiss mice, especially in females. *Genet. Mol. Biol.* 41:858-869.
- Samaran, S., Mirhossein, H., Ping Tan, C., Ghazali, H. M., Bordbar, S., & Serjouie, A. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: oil recovery, radical scavenging antioxidant activity and oxidation stability. *Food Chem.* 172:7-17.
- Silva, L. C., Castelo, R. M., Magalhães, H. C. R., Furtado, R. F., Cheng, H. N., Biswas, A., & Alves, C. R. (2022). Characterization and controlled release of pequi oil microcapsules for yogurt application, *LWT*, Volume 157, 113105.
- Shirsath, S. R., Sonawane, S. H., & Gogate, P. R. (2012). Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations – A review of current status. *Chem. Eng. Process.* 53:10-23.
- Tan, C. X., Hean, C. G., Hamzah, H., & Ghazali, H. M. (2018). Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction to produce virgin avocado oil with low free fatty acids. *J. Food Process Eng.* 41:1-9.
- Torres, L. R. O. Avaliação físico-química de óleos da amêndoa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) obtidos artesanalmente e por prensagem a frio e sua influência sobre marcadores bioquímicos, oxidativos e inflamatórios de ratos submetidos à toxicidade aguda por tetracloreto de carbono. São Paulo, 2016. [Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo]
- Vale, A. F., Ferreira, H. H., Benneti, E. J., Rebelo, A. C. S., Figueiredo, A. C. R., Barbosa, E. C., & Simões, K. (2019). Antioxidant effect of the pequi oil (*Caryocar brasiliense*) on the hepatic tissue of rats trained by exhaustive swimming exercises. *Braz. J. Biol.* 79:257-262.
- Viljanen, K., Sundberg, S., Ohshima, T., & Heinonen, M. (2002). Carotenoids as antioxidants to prevent photooxidation. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104:353-359.