



UAAlg

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Extração e Caracterização de Óleo de Sementes de Frutos

Vanessa Rita de Sousa

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia de Alimentos

Trabalho efetuado sob a orientação:
Professora Doutora Paula Cabral
Professora Doutora Patrícia Cabrita

[2012]

Extração e Caracterização de Óleo de Sementes de Frutos

“Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.”



(Vanessa Rita de Sousa)

©2012 Vanessa Rita de Sousa

“A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos, reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.”

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer às minhas orientadoras, Doutora Paula Cabral e Doutora Patrícia Cabrita, pelo apoio e incansável paciência, conselhos, boa disposição e amizade mas principalmente, por serem exemplos tão fortes de determinação e dedicação ao seu trabalho.

A todos os membros da Área Departamental de Engenharia Alimentar, que contribuíram, direta ou indiretamente, na minha aprendizagem ao longo de todo o meu percurso académico.

Às técnicas do laboratório de processamento, Clarisse Ramalho e Teresa Soeiro e do laboratório de química, Teresa Cavaco e Vera Gonçalves pela prestação de apoio na utilização de material, assim como no fornecimento de diferentes pontos de vista na execução de algumas técnicas, sem esquecer a constante simpatia e atenção.

Ao Eng.º António Martins, que apesar de não se encontrar entre nós, auxiliou no melhoramento de diversos equipamentos no laboratório de processamento, dos quais usufruí e, por isso mesmo, tem também aqui o seu trabalho reconhecido.

Ao colega Vitor Campos, pelo sentido de entajuda e companheirismo no laboratório.

À melhor equipa de sempre, Ana Pio, Ana Catarina Lagoa, André Semedo, Nuno Silva, Carlos Coimbra, Cristiano Silva e restantes membros da Cidade da Música.

Ao grupo Nosolo Água, por ser um local de constante aprendizagem na ética e metodologia de trabalho.

Às minhas companheiras de casa e amigos, pelo apoio e entajuda nas noites passadas a estudar, Daniela Teixeira, Sandra Costa, Joana Oliveira, Orlando Ribeiro, Filipa Rodrigues, sem esquecer a nossa para sempre querida, Filipa Bárbara.

À D.ª Paula Sequeira por toda a sua amizade, carinho, conselhos e compreensão. Assim como à D.ª Antonieta, D.ª Fernanda e D.ª Fátima, pelas quais nutro um carinho especial.

Aos melhores amigos do mundo, com os quais vivi momentos inesquecíveis e que fizeram de mim uma pessoa muito mais completa e feliz, pois são absolutamente extraordinários, Vera Rodrigues, Miriam Julião, Natacha Timóteo, Lygia Silva, João Batista, Tânia Barros e Luciano Figueiredo.

À Beatriz Agostinho, Rita Agostinho e família, por estarem sempre lá, nos bons e maus momentos.

Um obrigado especial ao André Neto, pelo amor, companheirismo e compreensão. Por me fazer ver que devo sempre acreditar em mim e nas minhas capacidades, assim como a paciência e dedicação ao longo dos anos.

Ao meu pai, por me ter feito, à sua maneira, ver a vida com garra e ambição.

O meu mais profundo agradecimento vai para os três pilares da minha vida, a minha mãe Paula, a minha irmã Nadine, a minha tia Vera, fazendo também referência ao mais recente membro da nossa pequena grande família, a minha sobrinha Mia. Sem vocês nada disto seria possível, obrigada por me ensinarem a ser uma pessoa íntegra e por sempre me mostrarem o caminho certo a seguir. Prometo não vos desiludir!

RESUMO

A indústria alimentar gera grandes quantidades de subprodutos, alguns dos quais contendo compostos bioactivos, que podem ser utilizados como matérias-primas económicas na produção de compostos funcionais. O principal objetivo deste trabalho foi selecionar sementes de frutos com elevado conteúdo em óleo e caracterizar o seu perfil em ácidos gordos. Foram testadas sementes de abóbora, tomate, pimento, goiaba e uva. As grainhas de uva foram trituradas num moinho de martelos, sem crivo e com crivos de abertura diferente (2 a 0,75 mm) e classificadas em peneiros com diferentes tamanhos (8 a 0,106 mm). Obteve-se maior rendimento de extração de óleo quando a moenda apresentava um diâmetro médio de partícula de 0,67 mm, a que corresponde uma moagem com um crivo de 0,75 mm. Utilizou-se o método de Soxhlet na extração do óleo de grainha de uva e os solventes *n*-hexano e éter de petróleo. Alternativamente extraiu-se o óleo com uma prensa. Obteve-se maior rendimento de extração com *n*-hexano (10,2±3,4%). Com base nestes resultados, utilizou-se o crivo de 0,75 mm na moagem das sementes dos restantes frutos e, a extração por Soxhlet com *n*-hexano. Os rendimentos obtidos na extração de óleo de sementes de abóbora (47,8±1,2%), tomate (23,7±0,1%), pimento (21,4±0,04%) e goiaba (1,9%) demonstraram que as sementes de abóbora têm um elevado conteúdo em óleo. Analisou-se o perfil em ácidos gordos dos óleos extraídos das sementes de frutos e verificou-se que os ácidos palmítico (C16:0), oleico (C18:1) e linoleico (C18:2) estão maioritariamente presentes nestes óleos. O óleo extraído de sementes de abóbora apresentou na sua composição, maior concentração de C16:0 (21-24%), C18:1 (20-26%) e C18:2 (46-54%). Os óleos extraídos das sementes de abóbora, tomate, pimento e de grainha de uva, continham elevadas concentrações de C18:2 (60-72%) podendo ser utilizados como alimentos funcionais, constituindo uma valorização importante de subprodutos provenientes da indústria alimentar.

Palavras-chave: abóbora; alimentos funcionais; óleo de sementes de frutos; pimento; tomate; uva; subprodutos agro-industriais.

ABSTRACT

By-products obtained from various food processing steps, are attractive sources of valuable bioactive components, due to their low cost and availability in large quantity to use as raw materials for functional components. Furthermore, the use of these by-products can reduce the disposal cost of the food industry. The aim of this study was to select fruit seeds with high oil content and characterize the fatty acid profile. Seeds of pumpkin, tomato, pimento, guava and grape were tested. The grape seeds were crushed in a hammer mill without sieves, and using a range of sieves (2 mm, 1 mm, 0.75 mm). Grape seeds and the particles obtained were classified after milling in a standard sifter with several sizes (8, 5.6, 3.35, 2, 1, 0.6, 0.212, 0.106 mm). The highest yield of oil extraction was obtained with an average particle diameter of 0.67 mm, when the mill had a sieve of 0.75 mm. Conventional extraction was performed using *n*-hexane and petroleum ether in a Soxhlet apparatus. Alternatively, the grape seeds oil was extracted with a press. The highest oil extraction yield was obtained with *n*-hexane (10,2% ±3,41). According to these results, the extraction of oil from the other fruits was carried out using the 0.75 mm sieve in the mill and Soxhlet method with *n*-hexane. The oil extraction yields obtained from seeds of pumpkin (47,8% ±1,16), tomato (23,7% ±0,13), pimento (21,4% ±0,04) and guava (1.9 %) showed that pumpkin seeds are the most interesting for oil extraction. The fatty acid profile of oil extracted from these fruit seeds revealed that palmitic acid (C16:0), oleic acid (C18:1) and linoleic acid (C18:2) are the fatty acids mainly present in these oils, particularly the pumpkin seeds oil with the highest concentration of C16:0 (21.4 - 23.9 %), C18:1 (20 - 26 %) and C18:2 (46 – 54 %). In addition, the oils extracted from seeds of pumpkin, tomato, pimento and grape has high concentrations of C18:2 (60 - 72 %) therefore they can be used as functional foods, constituting an important recovery of byproducts from the food industry.

Keywords: agro-industrial byproducts, fruit seeds oil, functional foods, grape, pimento, pumpkin, tomato.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Frutos e seu processamento	1
Abóbora	1
Goiaba	1
Pimento	2
Tomate	2
Uva	3
1.2. Valorização de subprodutos	3
1.3. Lípidos	4
1.3.1. Composição	5
1.3.1.1. Glicéridos	5
1.3.1.2. Ácidos gordos	6
1.3.2. Óleo de sementes de frutos	8
1.4. Pré-tratamento das sementes	10
1.4.1. Limpeza	10
1.4.2. Secagem	10
1.4.3. Redução de dimensões	11
1.4.4. Classificação granulométrica	12
1.5. Métodos de extração do óleo	13
1.5.1. Método de Soxhlet	13
1.5.2. Prensagem	14
1.6. Análise do perfil em ácidos gordos por cromatografia gasosa	14
1.7. Métodos de análise para a caracterização físico-química do óleo de semente de abóbora	15
1.7.1. Cor	15
1.7.2. Percentagem de humidade e matéria volátil	17
1.7.3. Índice de acidez	18
1.7.4. Índice de ésteres	18
1.7.5. Índice de peróxidos	19
1.7.6. Índice de refração	19
1.7.7. Índice de saponificação	20
1.7.8. Massa volúmica (picnómetro)	21

1.7.9. Viscosidade	21
2. MATERIAIS E MÉTODOS	23
2.1. Materiais.....	23
2.2. Métodos	23
2.2.1. Pré-tratamento das sementes.....	23
2.2.1.1. Limpeza das sementes	23
2.2.1.2. Secagem das sementes.....	24
2.2.1.3. Redução de dimensões e classificação granulométrica	24
2.2.1.4. Resíduo seco.....	26
2.2.2. Extração do óleo pelo método de Soxhlet.....	26
2.2.3. Extração do óleo a frio com prensa.....	27
2.2.7. Tratamento estatístico dos resultados experimentais.....	28
2.2.6. Análise do perfil de ácidos gordos das amostras de óleo por cromatografia gasosa.....	28
2.2.4. Caracterização físico-química do óleo de semente de abóbora	29
2.2.4.1. Cor.....	29
2.2.4.2. Humidade e matéria volátil (%)	29
2.2.4.3. Índice de acidez.....	29
2.2.4.4. Índice de ésteres e Índice de saponificação	30
2.2.4.5. Índice de peróxidos	30
2.2.4.6. Índice de refração	30
2.2.4.7. Massa volúmica (picnómetro)	31
2.2.4.8. Viscosidade	31
2.2.5. Preparação das amostras de óleo para determinação do perfil em ácidos gordos	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1. Redução de dimensões e classificação granulométrica.....	33
3.2. Extração do óleo.....	35
3.2.1. Método de Soxhlet.....	35
3.2.2. Método a frio com prensa	37
3.3. Análise do perfil de ácidos gordos das amostras de óleo por cromatografia gasosa	38
3.4. Análise físico-química do óleo de semente de abóbora	41
3.4.1. Parâmetros físicos	41
3.4.2. Parâmetros químicos	43
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46

5. BIBLIOGRAFIA	47
------------------------------	-----------

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Estrutura do monoglicérido, diglicérido, e triglicérido	6
Figura 1.2 - Partes do ácido gordo, onde a porção hidrofóbica é a cauda e a porção hidrofílica é a cabeça	6
Figura 1.3 - Moinho de martelos	12
Figura 1.4 - Extrator de Soxhlet	13
Figura 1.5 - Espaço de cor Hunter L, a, b	16
Figura 1.6 – Representação da localização da cor, segundo o ângulo hue.....	16
Figura 1.7 - Ilustração de raio incidente, raio refratado e respectivos ângulos	20
Figura 1.8 - Picnómetro	21
Figura 1.9 - Representação esquemática do comportamento dos fluidos Newtonianos e não-Newtonianos.....	22
Figura 2.1 – Sequência da preparação das sementes contidas no repiso do tomate, por lavagem, precipitação e decantação.....	24
Figura 2.2 – Principais etapas da extração do óleo, utilizando a prensa.....	28
Figura 3.1 – Diferentes fases da redução de dimensões, no moinho de martelos, utilizando sementes de abóbora.....	33
Figura 3.2 – Efeito da moagem progressiva, com crivos de diferentes aberturas, sobre a distribuição de tamanhos da semente de uva.....	34
Figura 3.3 – Rendimento em óleo (%) das sementes dos frutos de abóbora, tomate, pimento, uva e goiaba, com extração utilizando o solvente <i>n</i> -hexano e respectivos desvios-padrões.....	36
Figura 3.4 – Rendimento em óleo (%) na extração com prensa, obtido a partir das sementes dos frutos de abóbora, uva, tomate e pimento.....	38
Figura 3.5 – Diferenças na percepção visual da cor, do óleo de semente de abóbora, extraído pelo método de Soxhlet.....	42
Figura 3.6 – Observação do comportamento do óleo de semente de abóbora como fluido Newtoniano, em que a) relação entre <i>shear stress</i> (N/m ²) e o <i>shear rate</i> (1/s) e b) medição da viscosidade (mPa.s) do óleo a diferentes <i>shear rates</i> (1/s).....	43

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1.1 - Os cinco países líderes na produção de abóbora, goiaba, pimento, tomate e uva, referente ao ano de 2010	3
Quadro 1.2 - Classificação dos lípidos.....	5
Quadro 1.3 - Ácidos gordos saturados mais comuns.....	7
Quadro 1.4 - Ácidos gordos insaturados mais comuns.....	8
Quadro 1.5 - Conteúdo em óleo e perfil em ácidos gordos das sementes de abóbora, goiaba, pimento, tomate e uva.....	10
Quadro 2.1 - Sementes de fruto e respectivas triturações, às quais foram sujeitas, para a redução de dimensões.....	25
Quadro 3.1 - Valores de diâmetro médio em massa (mm) para cada semente, em cada etapa da trituração.....	34
Quadro 3.2 - Comparação das médias de Dw pelo teste de Scheffe a, b, c.....	35
Quadro 3.3 - ANOVA.....	35
Quadro 3.4 – Perfil de ácidos gordos dos óleos de sementes de abóbora, pimento, tomate e uva analisados.....	39
Quadro 3.5 – Comparação entre os valores obtidos no presente estudo, com os obtidos por outros autores.....	41
Quadro 3.6 – Dados obtidos na análise da cor (Hunter Lab), índice de refração (25°C) e viscosidade (mPa.s).....	41
Quadro 3.7 – Dados obtidos na análise dos parâmetros químicos, realizada ao óleo de semente de abóbora	44

1. INTRODUÇÃO

1.1. FRUTOS E SEU PROCESSAMENTO

ABÓBORA

A abóbora pertence à família *Cucurbitaceae*. Os frutos variam no seu tamanho, cor, forma e peso. Têm uma casca moderadamente rija, com uma polpa edível densa e uma cavidade central onde se encontram as sementes. Existem bastantes sementes no fruto, a maioria tem uma tonalidade acastanhada ou esbranquiçada. As sementes estão envolvidas num revestimento que serve de proteção. A polpa é utilizada na alimentação humana em sopas, purés, compotas, doces e tartes. As sementes são consumidas diretamente como um aperitivo em muitas culturas em todo o mundo, sendo especialmente populares nos países árabes, após serem torradas e salgadas (Alfawaz, 2004). Em áreas da Europa central e oriental, mais particularmente na província Austríaca de Styria, as abóboras também são comercializadas pelas suas sementes, para a produção de óleo edível (Baxter *et al.*, 2012).

Segundo dados da “Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases” (FAOSTAT) os principais produtores de abóbora são a China, Índia, Rússia, Irão, e Estados Unidos da América, com quantidades de produção que chegam aos milhões de toneladas (Quadro 1.1). Em Portugal a produção é bastante inferior, tendo em 2010 chegado às 14722 toneladas, diminuindo em 2011 para 13039 toneladas, segundo dados da FAOSTAT.

GOIABA

A goiaba (*Psidium guajava* L.) é uma importante fruta tropical e subtropical, consumida maioritariamente fresca. A fruta contém uma polpa succulenta e numerosas pequenas sementes. Além de ser consumida crua, tem aplicações comerciais como a goiabada, geleia, pasta, fruta em calda, puré, sumos, xaropes, vinhos, etc. A fruta é excecionalmente rica em vitamina C, superando o conteúdo desta vitamina nos sumos cítricos, sendo por isso também utilizada como aditivo para outros sumos e purés (Kobori e Jorge, 2005; Mohamed *et al.*, 2011). As sementes são o produto residual destas indústrias, não tendo ainda nenhuma aplicação comercial (Mohamed *et al.*, 2011). Os países cuja produção desta fruta é maior são a Índia, China, Tailândia,

Paquistão e México (Quadro 1.1), segundo dados fornecidos pela FAOSTAT. Em Portugal não são conhecidos dados oficiais da produção deste fruto.

PIMENTO

O pimento (*Capsicum annuum L.*) é originário da América central e do sul, pertence à família *Solanaceae* e engloba culturas com elevado valor económico. É muito procurado pela indústria alimentar, à escala global, pelas suas propriedades aromáticas, corantes e devido ao seu paladar. É consumido crú ou cozinhado, sendo também utilizado na forma de pasta, em *pickles* e em molhos. O pimento moído, obtido pela secagem e pulverização do fruto, é utilizado como condimento e usado pela indústria alimentar como um ingrediente que ajuda a conferir sabor a outros produtos (Arslan e Özcan, 2010). Os seus subprodutos são as suas sementes e folhas que, se aproveitadas, constituem uma fonte promissora de compostos bioativos que podem ser valorizados pelas suas propriedades nutricionais (Azevedo, 2012).

Atualmente, o pimento é amplamente cultivado em países como a China, México, Turquia, Indonésia e Estados Unidos da América, com produções muito elevadas (Quadro 1.1). Em Portugal, em 2010 foram produzidas 1462 toneladas, segundo dados da FAOSTAT.

TOMATE

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum Mill.*) tem origem na região dos Andes, abrangendo o Peru, Equador e Chile, sendo cultivado também pelas primeiras civilizações do México (Silva, 2006). É um fruto bastante nutritivo, cultivado um pouco por todo o mundo. Os tomates são processados para a obtenção de produtos como puré, *ketchup*, molhos, pastas e tomate em pó. Os resíduos sólidos resultantes destes processamentos são a pele, sementes e matéria fibrosa, representando um problema ambiental para a sua indústria, onde as sementes constituem aproximadamente 60% do resíduo total (Botineştean *et al.*, 2012; Taveira *et al.*, 2010). Este é o fruto mais produzido em Portugal, com 1406100 toneladas só no ano de 2010, sendo os principais produtores mundiais a China, Estados Unidos da América, Índia, Turquia e Egito (Quadro 1.1) (FAOSTAT).

UVA

A uva é um fruto único, não só por ser o fruto mais cultivado a nível mundial, mas também devido ao seu produto derivado, o vinho, estimando-se que 80% das colheitas sejam utilizadas para a sua produção. No entanto, para além da produção de vinho, este fruto é utilizado pela indústria para a produção de sumo, doces, compotas e passas, sendo por isso mesmo um fator económico importante (Djilas, 2009; This *et al.*, 2006). As suas sementes representam 15% do resíduo sólido produzido na produção de vinho (Luque-Rodríguez *et al.*, 2005).

Em Portugal este fruto é o segundo mais cultivado, logo a seguir ao tomate, tendo no ano de 2010 chegado a um valor de produção de 947298 toneladas. A China é o país que lidera a produção (Quadro 1.1) seguindo-se a Itália, Estados Unidos da América, Espanha e França (FAOSTAT).

Quadro 1.1 - Os cinco países líderes na produção de abóbora, goiaba, pimento, tomate e uva, referente ao ano de 2010 (FAOSTAT).

País	Produção (em milhares de toneladas)				
	Abóbora	Goiaba	Pimento	Tomate	Uva
China	6732	4351	15002	46876	8652
Egito				8545	
Espanha					6107
EUA	793		933	12859	6778
França					5846
Índia	4456	15027		12433	
Indonésia			1332		
Irão	733				
Itália					7788
México		1633	2336		
Paquistão		1846			
Rússia	989				
Tailândia		2551			
Turquia			1987	10052	

1.2. VALORIZAÇÃO DE SUBPRODUTOS

Na indústria alimentar, embora o objetivo da produção seja a obtenção de um produto final, há sempre geração de resíduos. Estes representam perda de matéria-prima e geração de subprodutos, requerendo tempo e investimento para a sua gestão

(Veronezi e Jorge, 2012). Os resíduos sólidos têm enorme importância, tanto pelo perigo que representam como pelo volume que ocupam. Nos países europeus, a quantidade de resíduos gerados ronda os 5 bilhões de toneladas por ano, sendo responsáveis pela contaminação substancial do solo e da água (Thassitou e Arvanitoyannis, 2001).

As cascas, bagaços, sementes e aparas são alguns dos resíduos do processamento agro-industrial de frutas, sendo utilizados na alimentação animal ou como fertilizantes. Estando sujeitos à deterioração microbiana, a secagem torna-se um passo necessário. O custo da secagem, armazenamento e transporte, acarreta limitações económicas adicionais para a valorização dos resíduos. Os subprodutos provenientes das agro-indústrias possuem elevado valor nutricional e têm sido alvo de um crescente interesse por parte destas indústrias. A sua valorização potencia um maior valor económico, assim como contribui para a formulação de novos produtos alimentares, diminuindo a produção de resíduos (Djilas *et al.*, 2009; Naves *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2011).

1.3. LÍPIDOS

Os óleos e gorduras podem ser encontrados em células de origem animal, vegetal ou microbiana. São os maiores componentes do tecido adiposo e juntamente com as proteínas e hidratos de carbono, constituem os principais componentes estruturais de todas as células vivas. Os lípidos contêm um vasto número de diferentes tipos de substâncias, incluindo acilgliceróis, ácidos gordos (AG) e fosfolípidos, sendo compostos solúveis em solventes não polares, tais como o hexano ou o clorofórmio (Eliana e Elisena, 2007; Wiseman, 1998).

A importância nutritiva e fisiológica dos lípidos, baseia-se no seu papel como fonte de energia (9 Kcal/g triglicéridos) e como fonte de ácidos gordos essenciais e vitaminas (Belitz *et al.*, 2004).

Uma classificação geral dos lípidos pode ser encontrada no Quadro 1.2.

Quadro 1.2 - Classificação dos lípidos (Fennema, 1996).

Classe	Subclasse	Descrição
Lípidos Simples	Acilgliceróis	Glicerol + ácidos gordos
	Ceras	Álcool de cadeia longa + ácidos gordos de cadeia longa
Lípidos Compostos	Glicerofosfolípidos	Glicerol + ácidos gordos + fosfato + outro grupo usualmente contendo azoto
	Esfingomielinas	Esfingosina + ácido gordo + fosfato + colina
	Cerebrosídeos	Esfingosina + ácido gordo + açúcar simples
	Gangliosídeos	Esfingosina + ácido gordo + porção hidrato de carbono complexo que inclui o ácido siálico
Lípidos Derivados	Materiais que atendem à definição de lípido, mas não são simples nem compostos	Exemplos: carotenóides, esteróides e vitaminas lipossolúveis

1.3.1. COMPOSIÇÃO

1.3.1.1. GLICÉRIDOS

Estes lípidos saponificáveis são ésteres de ácidos gordos com um triálcool denominado de glicerina. Os compostos com um ácido gordo esterificado constituem os monoglicéridos, com dois ácidos gordos são os diglicéridos e com três ácidos gordos são os triglicéridos (Figura 1.1). Quando líquidos à temperatura ambiente, denominam-se de azeites ou óleos e, quando sólidos denominam-se de gorduras. Os triglicéridos diferem na identidade e na posição dos ácidos gordos que esterificam a glicerina, podendo ser simples, quando os três ácidos gordos são iguais, ou mistos, quando contêm dois ou mais ácidos gordos diferentes. Os mono e diglicéridos encontram-se em quantidades pequenas, sendo os triglicéridos os principais componentes de gordura nos animais. Nos vegetais encontram-se nas sementes e em alguns frutos, no entanto, os triglicéridos simples estão ausentes nas gorduras naturais (deMan, 1999; Pertierra *et al.*, 2006).

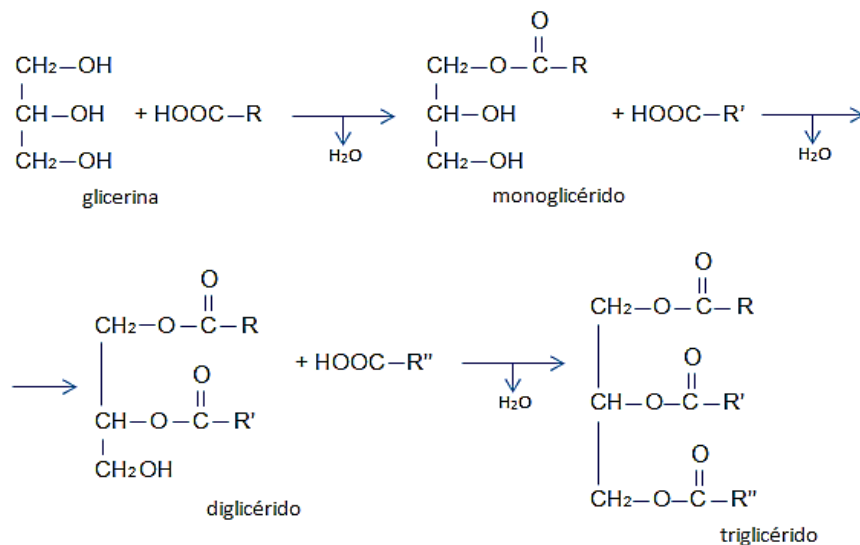


Figura 1.1 - Estrutura do monoglicérido, diglicérido, e triglicérido (Pertierra *et al.*, 2006).

1.3.1.2. ÁCIDOS GORDOS

Os ácidos gordos são moléculas constituídas por duas partes distintas, um longo segmento hidrocarbonado designado de cauda e, uma região menor, que tipicamente consiste num grupo carboxilo, designado por cabeça (Figura 1.2). A cauda hidrocarbonada consiste maioritariamente em grupos metileno quimicamente inertes, com um número variável de ligações duplas (Ochs, 2011).

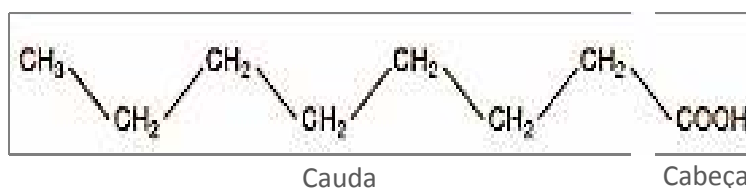


Figura 1.2 - Partes do ácido gordo, onde a porção hidrofóbica é a cauda e a porção hidrofílica é a cabeça (Ochs, 2011).

Distinguem-se três famílias, os ácidos gordos saturados (SAFAs “saturated fatty acids”) os quais não apresentam ligações duplas, os ácidos gordos monoinsaturados, (MUFAs “monounsaturated fatty acids”) e ácidos gordos polinsaturados (PUFAs “polyunsaturated fatty acids”), que têm duas ou mais ligações duplas (Vázquez, 2007).

Os ácidos gordos possuem normalmente número par de carbonos, sendo os de número ímpar muito raros. As gorduras originárias de animais, são geralmente saturadas, enquanto os óleos retirados das plantas, são normalmente polinsaturados (Malhotra, 2012).

ÁCIDOS GORDOS SATURADOS

Os ácidos gordos saturados têm a fórmula geral de $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ onde n é um número par e possuem $n + 2$ átomos de carbono (Hamilton e Hamilton, 1992). São denominados sistematicamente a partir do hidrocarboneto saturado com o mesmo número de átomos de carbono, alterando-se o final do seu nome por -óico. Assim sendo, o ácido gordo com 16 carbonos e com a fórmula estrutural $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ é denominado de ácido hexadecanóico, apesar de ser habitual encontrar-se na literatura o seu nome mais comum, ácido palmítico (Christie, 1994). No Quadro 1.3 encontram-se listados os ácidos gordos saturados mais importantes, assim como os seus nomes mais comuns.

Quadro 1.3 - Ácidos gordos saturados mais comuns (Lawson, 1985).

Nome comum	Nome sistemático	N.º de carbonos	Fórmula
Acético	Etanóico	2	CH_3COOH
Butírico	Butanóico	4	$\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}$
Capróico	Hexanóico	6	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{COOH}$
Caprílico	Octanóico	8	$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{COOH}$
Cáprico	Decanóico	10	$\text{C}_9\text{H}_{19}\text{COOH}$
Láurico	Dodecanóico	12	$\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{COOH}$
Mirístico	Tetradecanóico	14	$\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{COOH}$
Palmítico	Hexadecanóico	16	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$
Esteárico	Octadecanóico	18	$\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$
Araquídico	Eicosanóico	20	$\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{COOH}$

ÁCIDOS GORDOS INSATURADOS

Os ácidos gordos insaturados têm as ligações duplas, maioritariamente, em configuração *cis*, fazendo com que a cadeia do ácido gordo seja curva. Esta curvatura tem consequências importantes para as estruturas das membranas biológicas, pois contribui para a sua flexibilidade e para a formação de agregados fluidos (Garret e Grisham, 2012).

Os MUFAs de cadeia linear pares, com 10 a 30, ou mais átomos de carbono, contendo uma ligação dupla *cis*, têm sido caracterizados de fontes naturais. A ligação

dupla pode-se encontrar em várias posições e a sua fórmula geral é $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ (Christie, 1994).

Os PUFA's podem ser subdivididos em famílias de acordo com a sua derivação de precursores biossintéticos específicos. Em cada caso, as famílias contêm entre dois a um máximo de seis ligações duplas *cis*, separadas pelo único grupo metileno, tendo a mesma estrutura terminal. A fórmula geral é $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_x(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$

No Quadro 1.4 encontra-se uma listagem mais completa dos ácidos gordos insaturados, com os seus nomes sistemáticos e fórmulas (Christie, 1994).

Quadro 1.4 - Ácidos gordos insaturados mais comuns (Lawson, 1985).

Nome comum	Nome sistemático	N.º de carbonos	N.º de ligações duplas	Fórmula
Miristoleico	Tetradecenóico	14	1	$\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{COOH}$
Palmitoleico	Hexadecenóico	16	1	$\text{C}_{15}\text{H}_{29}\text{COOH}$
Oleico	Octadecenóico	18	1	$\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$
Linoleico	Octadecadienóico	18	2	$\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$
Linolénico	Octadecatrienóico	18	3	$\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$
Araquidónico	Eicosatetraenóico	20	4	$\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{COOH}$
Erúcido	Docosenóico	22	1	$\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{COOH}$

1.3.2. ÓLEO DE SEMENTES DE FRUTOS

Os óleos de sementes de frutos têm um importante papel funcional e sensorial nos produtos alimentares, devido à sua composição em ácidos gordos e às suas vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K). O grau de insaturação e a presença de ácidos gordos, como o ácido linoleico e ácido oleico em quantidades elevadas, sugere que estes óleos têm elevado valor nutricional e são responsáveis pelo crescimento e saúde humana. Estes ácidos gordos possuem capacidade de, por exemplo, reduzir o colesterol no sangue, podendo ser utilizados no tempero de saladas ou para outros usos culinários (Botineştean *et al.*, 2012; El-Adawy, 2000).

Por todas estas características, podem ser considerados como alimentos funcionais, sendo o conceito de alimento funcional regularmente citado como alimentos, ou matérias naturais, que podem melhorar estados de doença ou simplesmente manter a saúde (Schmidl e Labuza, 2000). Assim sendo, um alimento pode ser considerado “funcional” se for satisfatoriamente demonstrado que beneficia

uma ou mais funções no corpo, além da nutrição adequada, no sentido de melhorar a saúde e o bem-estar ou, se reduzir o risco de doenças. Um alimento funcional pode ser um alimento natural, um alimento ao qual foi adicionado um componente positivo ou retirado um componente prejudicial ou então, simplesmente um alimento cuja natureza de um ou mais componentes foi modificada (Gibson e Williams, 2000).

No caso da abóbora, estudos demonstram que as suas sementes são uma fonte de proteínas (32-40%), fibras (23-27%) e lípidos (44-50%), sendo os últimos ricos em ácidos gordos mono e polinsaturados, vitamina E e vitaminas do complexo B. Os ácidos gordos maioritários são o ácido palmítico, esteárico, oleico e linoleico (Veronezi e Jorge, 2010).

As sementes de goiaba que são descartadas pela indústria, e que representam cerca de 6 a 12% do peso do fruto, têm um rendimento em óleo entre 10 a 16%, rico em ácido oleico e ácido linoleico (Nicanor *et al.*, 2000; Sinha *et al.*, 2012). Já as sementes de pimento que são separadas do fruto e descartadas, antes de se consumir ou processar a sua polpa, constituem cerca de 60% do peso total do fruto seco, contendo entre 12 a 26% de óleo. Este é rico em ácidos gordos, como o ácido linoleico, oleico, palmítico e esteárico (Matthäus e Özcan, 2009).

Cerca de um terço da produção total do tomate que segue para a indústria de processamento, tem como principal componente dos resíduos a sua semente, cujo óleo tem um elevado conteúdo em ácidos gordos insaturados, com valores de ácido linoleico superiores a 50% (Cantarelli *et al.*, 1993).

Em relação ao óleo obtido a partir da semente de uva, o seu rendimento depende fortemente da sua variedade. Os valores podem variar entre os 10 e os 30% de peso seco, sendo o ácido linoleico predominante, seguindo-se o ácido oleico, o ácido palmítico, o ácido esteárico e o ácido linolénico (Canbay e Bardakçı, 2011).

No Quadro 1.5 apresentam-se, numa forma mais detalhada, o conteúdo em óleo e perfil em ácidos gordos das sementes acima referidas.

Quadro 1.5 - Conteúdo em óleo e perfil em ácidos gordos das sementes de abóbora, goiaba, pimento, tomate e uva (El-Adawy, 2000; Karimian, 2012; Kulkarni, 2012; Santos, 2011).

	Abóbora	Goiaba	Pimento	Tomate	Uva
Conteúdo em óleo (% w/w)	31,4	9,6	25,6	21,8	28,9
Ácido gordo (%)					
Mirístico (C14:0)	-	0,1	-	0,2	0,1
Palmítico (C16:0)	20,7	7,0	13,8	14,0	7,4
Palmitoleico (C16:1)	-	-	0,1	0,1	0,2
Estearico (C18:0)	6,0	5,1	3,7	6,0	4,7
Oleico (C18:1)	38,5	10,7	14,6	22,0	20,7
Linoleico (C18:2)	34,2	75,5	67,8	53,6	64,9
Linolénico (C18:3)	0,3	0,7	-	2,0	0,4
Araquídico (C20:0)	-	-	-	0,3	0,2

1.4. PRÉ-TRATAMENTO DAS SEMENTES

1.4.1. LIMPEZA

A limpeza é a operação na qual, os materiais contaminantes são removidos e separados da matéria-prima, de modo a deixar a sua superfície em condições adequadas para posterior processamento. Este é um método eficaz de reduzir o desperdício do produto, melhorar a economia do processamento e proteger o consumidor. Os equipamentos utilizados são categorizados em dois grupos: a húmido (e.g. imersão, pulverização, lavagem por flutuação e limpeza ultrasónica) ou, a seco (e.g. separação por ar, peneiros vibratórios, magnetismo ou métodos físicos) (Fellows, 2000).

A etapa de limpeza de sementes consiste em retirar cascas, folhas, sementes impróprias e outras impurezas que possam prejudicar a qualidade do óleo. Este é um processo que irá garantir a qualidade do óleo extraído sabendo que, quanto maior for o grau de pureza do óleo, maior será o seu valor no mercado (Mafrá *et al.*, 2009).

1.4.2. SECAGEM

A secagem é o processo de preservação mais antigo utilizado pelo Homem que, durante milhares de anos o utilizou na secagem de carne, peixe, frutos e vegetais. Hoje em dia, na indústria alimentar, as instalações podem variar entre as mais

simples, utilizando a luz solar ou secadores de ar quente, até às mais sofisticadas com secagem por pulverização ou liofilização. O termo secagem é definido como a aplicação de calor sob condições controladas, com o objetivo de remover a maior parte da água, que normalmente está presente no alimento, por evaporação (ou, no caso da liofilização, por sublimação) (Brennan, 2006; Fellows, 2000).

Este processo deve ser aplicado para reduzir a humidade nos produtos aos quais se vai extrair o óleo, visto que a elevada humidade no produto impede que o solvente consiga penetrar com facilidade nos seus tecidos, devido à hidrofobicidade do solvente (Nielzen, 2010). A secagem é uma operação que envolve a transferência simultânea de massa e calor. O calor latente deve ser transferido ao produto de modo a causar a evaporação da água. O produto sujeito a uma corrente de ar quente é o método mais utilizado para o fornecimento do calor. Este é transferido por convecção do ar à superfície do produto e por condução no seu interior. O equipamento utilizado na secagem com ar quente pode ser secador de prateleiras, secador em túnel, secador de tapete, secador de leiteo fluidizado e secador rotativo (Brennan, 2006).

A secagem torna o processo de moagem da amostra mais simples, para uma melhor extração do óleo, quebrando as emulsões óleo-água, de modo a fazer com que os óleos se dissolvam mais facilmente no solvente orgânico (Nielzen, 2010).

1.4.3. REDUÇÃO DE DIMENSÕES

A trituração efetuada para a redução de dimensões, tem como objetivo o rompimento da estrutura celular da semente, reduzindo a distância que o solvente terá de percorrer para entrar em contacto com o óleo que se encontra no seu interior, uma vez que o óleo se encontra em forma de glóbulos, dentro da estrutura celular. Este procedimento aumenta também a área superficial para um maior e melhor contacto entre o solvente e a semente durante o processo de extração, fazendo com que o óleo seja extraído com uma maior facilidade e rapidez, de forma a minimizar a deterioração, para uma maior qualidade do óleo. (Dunford, 2012; Mafra *et al.*, 2009). Por vezes, para alcançar uma determinada granulometria, poderá ser necessário a realização de sucessivas reduções, utilizando diferentes crivos entre elas (Brennan, 2006).

Para a redução de dimensões de alimentos secos, existe um vasto número de moinhos disponíveis: moinho de bolas, moinho de discos, moinho de martelos e moinho de rolos. O moinho de martelos (Figura 1.3) consiste numa câmara na qual se encontra um rotor com martelos ao longo do seu comprimento. Em funcionamento e a

alta velocidade, o alimento é desintegrado pela aplicação de forças de impacto. A saída do moinho pode ser condicionada pela presença de um crivo, sendo o alimento mantido na câmara, até que as suas partículas sejam suficientemente pequenas para passarem através das suas aberturas. Nestas condições de estrangulamento, as forças de atrito exercem um papel dominante na redução de dimensões (Fellows, 1990).

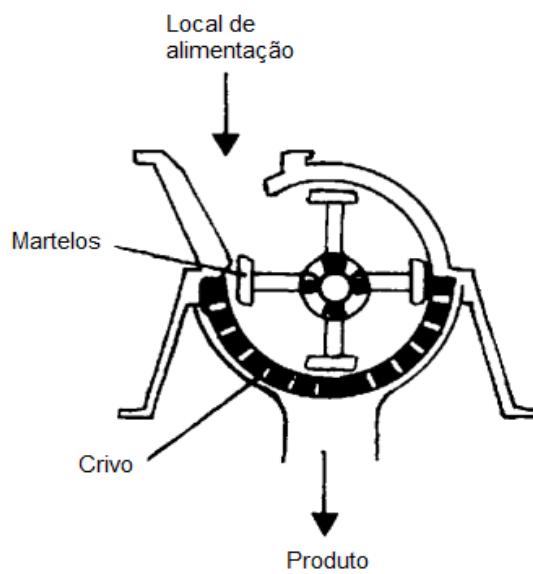


Figura 1.3 - Moinho de martelos (Fellows, 2000).

1.4.4. CLASSIFICAÇÃO GRANULOMÉTRICA

A peneiração é um processo mecânico de separação por tamanhos, utilizando a gravidade. Para uma quantidade considerável de produto sólido, são utilizados os peneiros de agitação automatizados. Estes podem ser de forma excêntrica, dando aos peneiros um movimento giratório ou, podem ser vibratórios o qual dá os peneiros um movimento de cima para baixo, com baixa amplitude e alta frequência (Toledo, 1999).

Para a obtenção de uma gama de partículas classificadas de acordo com o seu tamanho, são utilizados uma série de peneiros de malha sucessivamente menor. O material é agitado acima da malha do peneiro, para que as partículas cujo tamanho seja menor que a malha, possam passar com a ajuda da gravidade (Earle, 1983).

Os principais problemas associados a esta técnica de separação, são as elevadas quantidades de alimentação de produto no peneiro, podendo verificar-se uma sobredosagem, e as partículas menores serem descartadas com as maiores, além

disso, partículas de tamanhos grandes podem bloquear as aberturas do peneiro e, a presença de elevada humidade no produto pode conduzir à fixação de matéria à malha do peneiro e à aglomeração de pequenas partículas, formando partículas de maior tamanho (Fellows, 1990).

O tamanho das partículas classificadas por peneiração é geralmente determinado pela medida da malha que retém as partículas e da malha do último peneiro que permitiu a sua passagem (Toledo, 1999).

1.5. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO

1.5.1. MÉTODO DE SOXHLET

Os processos mais recentes à base de solventes, consistem na extração por sucessivas lavagens com um solvente orgânico (e.g. *n*-hexano, éter de petróleo) das sementes previamente trituradas. Apesar de existirem estudos de extração de óleo de sementes com éter de petróleo, como o realizado por Tsaknis, *et al.* (1997), o solvente mais utilizado é o *n*-hexano, sendo este um hidrocarboneto derivado do petróleo, miscível com o óleo e imiscível com a água, não transmitindo qualquer sabor ou odor desagradáveis ao óleo. Num extrator de Soxhlet (Figura 1.4), o solvente é aquecido até ao seu ponto de ebulição, gerando vapores que sobem até ao condensador, onde o vapor sofre condensação, caindo gota a gota sobre o cartuxo que contém a amostra, criando uma acumulação gradual do solvente por aproximadamente 5-10 minutos, envolvendo completamente a amostra. A

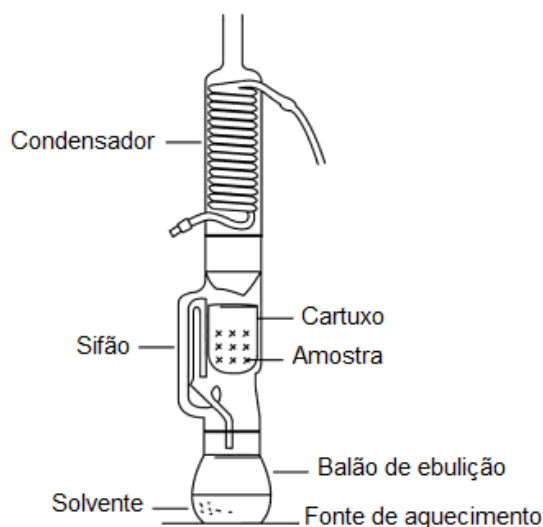


Figura 1.4 - Extrator de Soxhlet (Nielzen, 2010).

A solubilização do óleo no solvente ocorre por dois mecanismos, a dissolução pelo contacto entre as células vegetais destruídas durante a redução de dimensões ou, por difusão, onde o óleo atravessa lentamente as paredes semipermeáveis das células intactas para o meio líquido. Quando o nível de líquido que contém o material extraído atinge o mesmo nível do topo do sifão, é escoado até ao balão de extração, onde se encontrava o solvente inicial. No final do processo, o material extraído é recuperado

pela remoção do solvente, por evaporação em vácuo. (Brennan, 2006; Kazmi, 2012; Luthria, 2004, Ramalho *et al.*, 2012).

1.5.2. PRENSAGEM

Hoje em dia, os processos industriais modernos para a extração dos óleos de sementes de frutos, por prensagem mecânica e posterior filtragem do óleo, utilizam equipamentos mais sofisticados e com maior eficiência. Atualmente, o processo consiste numa extração mecânica, em prensas contínuas. Nestes equipamentos, as sementes entram em contacto com um parafuso helicoidal, que movimenta a matéria para a frente. Na saída da prensa existe um cone (nozzle) cujo tamanho pode ser regulado, de forma a aumentar ou diminuir a abertura para a saída do material, o que determina a pressão no interior da prensa. No final deste processo, são obtidos dois produtos, o bagaço, que consiste na parte sólida resultante da prensagem, e o óleo extraído, que poderá conter partículas sólidas resultantes da prensagem (Ramalho, 2012).

1.6. ANÁLISE DO PERFIL EM ÁCIDOS GORDOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA

Segundo a “International Union of Pure and Applied Chemistry” (IUPAC), a cromatografia define-se como um método utilizado essencialmente para a separação de componentes de uma amostra, onde estes estão distribuídos em duas fases, sendo uma estacionária e outra móvel. A fase estacionária pode ser um sólido, um líquido inserido num sólido, ou um gel. A fase estacionária pode ser colocada numa coluna, espalhada em camada, ou distribuída em filme. A fase móvel pode ser gasosa ou líquida (Braithwaite e Smith, 1985).

A separação de componentes presentes numa mistura por cromatografia, é alcançada por séries sucessivas de fases de equilíbrio. Estes equilíbrios dependem da partição ou adsorção diferencial dos componentes individuais entre as duas fases. A amostra é introduzida na fase móvel e sofre uma série de interações de partição ou adsorção, entre as fases móvel e estacionária, à medida que se movimenta através do sistema cromatográfico. As diferenças nas propriedades físicas e químicas dos componentes individuais determinam a sua afinidade relativa à fase estacionária e, por isso, os componentes irão migrar através do sistema, com velocidades diferentes. Um

componente com maior afinidade pela fase estacionária irá migrar mais lentamente do que um que possua menor afinidade (Braithwaite e Smith, 1985).

A cromatografia gasosa (CG) revolucionou o estudo dos lípidos, tornando possível a determinação da composição completa em ácidos gordos de um lípido, num curto espaço de tempo. Para tal, os ácidos gordos dos lípidos são convertidos em derivados voláteis mais simples, usualmente em ésteres metílicos de ácidos gordos ("fatty acid methyl esters" FAME). A preparação dos ésteres metílicos é a forma mais comum de reação química para a análise de lípidos (Christie, 1993). Estes são usualmente preparados pela reação do lípido com uma grande quantidade de metanol e reagentes catalíticos ácidos ou básicos (Cert *et al.*, 2000).

Tendo em conta o enorme consumo anual de frutos, tanto *in natura* como dos seus produtos derivados, devido à demanda crescente de produtos alimentares que sejam uma possível fonte de benefícios para a saúde e bem-estar do consumidor, e a inevitável produção de resíduos por parte da indústria durante o seu processamento, foi avaliado o potencial dos resíduos dos frutos de abóbora, goiaba, pimento, tomate e uva, nomeadamente das suas sementes, sendo o objetivo deste trabalho a extração do seu óleo para posterior caracterização físico-química e perfil em ácidos gordos.

1.7. MÉTODOS DE ANÁLISE PARA A CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DE SEMENTE DE ABÓBORA

1.7.1. CoR

As medições de cor são amplamente utilizadas por todos os segmentos da indústria alimentar, isto porque os instrumentos que fazem as leituras, denominados de colorímetros, duplicam a cor tal como os nossos olhos a percebem. O sistema Hunter Lab baseia-se nas medições de L , a , e b . O valor L representa a luminosidade e varia de 0 (preto) a 100 (branco). O valor a varia de $-a$ (verde) a $+a$ (vermelho) enquanto o valor b varia de $-b$ (azul) a $+b$ (amarelo). O colorímetro mede a cor do produto e fornece valores numéricos, que correlacionam ao que é perceptível pelo olho humano. Todas as cores visíveis podem ser representadas neste espaço tridimensional rectangular de cor L , a , b (Figura 1.5) (Sahin e Sumnu, 2006; Serna-Saldivar, 2012).

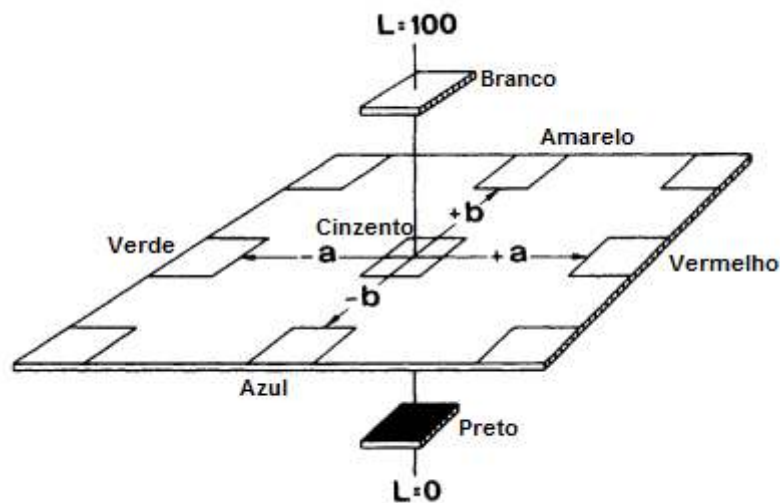


Figura 1.5 - Espaço de cor Hunter L, a, b (deMan, 1999 - adaptado).

A raiz quadrada da soma de a^2 e b^2 é conhecido como *chroma*, e descreve a intensidade ou saturação da cor. O *hue* (h°) descreve a sensação visual da cor, representando a aparência de uma determinada área em comparação com uma, ou porções de duas ou mais, cores padrão perceptíveis: vermelho, amarelo, verde e azul. Este é medido em ângulo (graus ou radianos) na roda da cor (Erickson e Hung, 1997). Esta roda subtende 360° (Figura 1.6), assumindo o arctangente, valores positivos no primeiro e terceiro quadrantes, e valores negativos no segundo e quarto quadrantes. Para uma interpretação válida dos resultados, o *hue* deve ser positivo entre os 0 e 360° , situando-se a cor vermelha à direita, num ângulo de 0° (ou 360°), amarelo, verde e azul nos ângulos de 90° , 180° e 270° , respetivamente (Jha, 2010).

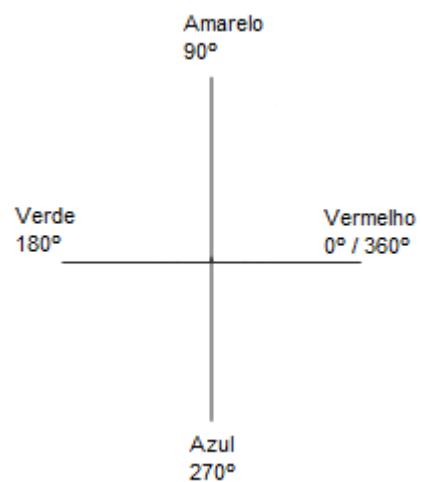


Figura Erro! Utilize o separador Base para aplicar 0 ao texto que pretende que apareça aqui. **6** - Representação da localização da cor, segundo o ângulo *hue* (Jha, 2010 - adaptado).

Para o cálculo de *hue* (h°) e *chroma*, utilizam-se as seguintes fórmulas (Jha, 2010):

$$\theta = \frac{\text{TAN}^{-1}\left(\frac{b}{a}\right)}{6,2832} \times 360 \quad (1)$$

se, $h^\circ = 360 + \theta$, se $a > 0$ e $b < 0$ $h^\circ = 180 + \theta$, se $a < 0$ e $b < 0$
 $h^\circ = \theta$, se $a > 0$ e $b > 0$ $h^\circ = 180 + \theta$, se $a < 0$ e $b > 0$

$$\text{Chroma} = [a^2 + b^2]^{0,5} \quad (2)$$

Os valores do ângulo *hue* variam de 0 (vermelho), 90 (amarelo), 180 (verde) e 270 (azul) (Ramallo e Mascheroni, 2012).

1.7.2. PERCENTAGEM DE HUMIDADE E MATÉRIA VOLÁTIL

Praticamente todos os produtos contêm água na sua composição, não sendo os óleos vegetais exceção. Estes podem conter água e compostos voláteis, como resultado do método de extração (água presente nos tecidos vegetais, etc.) podendo no entanto, comprometer a sua qualidade. A humidade e matéria volátil é expressa em percentagem (%) do peso total e, de acordo com padrões internacionais (FAO), devem ser limitados a 0,2% (m/m). A sua quantidade pode ser avaliada pela perda no peso do produto, quando aquecido a $103^\circ\text{C} \pm 2$, numa estufa, durante 30 minutos de cada vez, registando a diferença no peso, as vezes necessárias, até este valor não sofrer mais alterações (Lawson, 2005; Wiesman, 2009).

A percentagem de humidade e matéria volátil é calculada utilizando a equação (3) (Ranganna, 1986).

$$\% \text{ Humidade e matéria volátil} = \frac{(m_{\text{inicial}} - m_{\text{final}})}{m_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (3)$$

Onde m_{inicial} é a massa da amostra, em gramas, antes de ser aquecida na estufa e, m_{final} é a massa da amostra, em gramas, depois de ser aquecida na estufa.

1.7.3. ÍNDICE DE ACIDEZ

O índice de acidez é um marcador da degradação lipídica, refletindo-se no aumento da formação de ácidos gordos livres que ocorre ao longo do tempo (Nakavoua, 2011).

O índice de acidez pode ser definido como a massa de hidróxido de potássio, expressa em miligramas, necessária para neutralizar os ácidos gordos livres, contidos em um grama de gordura ou óleo (NP 903/1987).

O processo consiste na neutralização, por intermédio de solução alcalina titulada, dos ácidos gordos livres de uma toma de gordura ou do óleo, dissolvida num dissolvente indiferente (NP 903/1987).

O cálculo necessário para a determinação do índice de acidez é:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{5,611 \times V}{m} \quad (4)$$

m – massa, em gramas, da toma do óleo;

V – volume, em cm³, da solução alcalina 0,1 N gasto na titulação.

1.7.4. ÍNDICE DE ÉSTERES

O índice de ésteres é a massa, expressa em miligramas de hidróxido de potássio, necessária para saponificar os ésteres contidos num grama de óleo (NP 940/1985).

O processo realiza-se pela saponificação a quente do óleo, numa solução alcoólica 0,5 N de hidróxido de potássio, adicionada em excesso, o qual se titula pelo ácido clorídrico do mesmo título (NP 940/1985).

$$\text{Índice de ésteres (I}_E\text{)} = I_S - I_A \quad (5)$$

I_A – índice de acidez do óleo, determinado segundo a NP-903;

I_S – índice de saponificação, determinado segundo a NP-940.

1.7.5. ÍNDICE DE PERÓXIDOS

Entende-se por índice de peróxidos, de uma gordura ou óleo comestível, a quantidade de oxigénio ativo, expressa em miliequivalentes, contido num quilograma de gordura ou óleo. Para a determinação, é necessária a oxidação do iodeto de potássio, em meio acético, pelo oxigénio ativo de uma massa conhecida de gordura ou óleo e determinação da correspondente quantidade libertada de iodo, por solução titulada de tiosulfato de sódio, na presença do amido como indicador.

A medição do índice de peróxidos está diretamente ligada à degradação do óleo em estudo, pois quanto maior o índice de peróxidos, maior a sua degradação (Nakavoua, 2011).

O índice de peróxidos é determinado a partir da equação (6), quando é utilizada a solução de tiosulfato de sódio 0,01 N (NP 904/1987).

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{10 \times (V_1 - V_2)}{m} \quad (6)$$

m – massa, em gramas, da toma do óleo;

V_1 – volume, em cm^3 , da solução de tiosulfato de sódio, gasto na titulação do ensaio com o óleo;

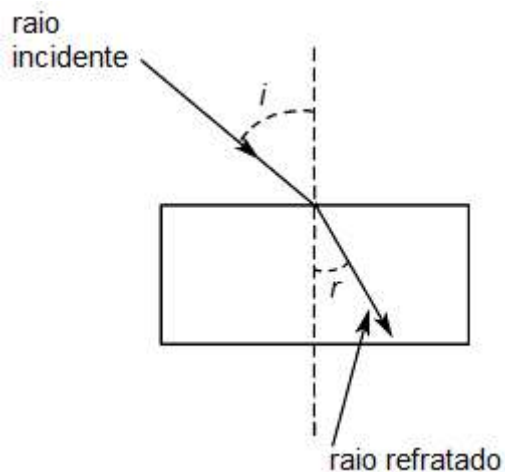
V_2 - volume, em cm^3 , da solução de tiosulfato de sódio, gasto na titulação do ensaio sem o óleo.

1.7.6. ÍNDICE DE REFRAÇÃO

O índice de refração de um óleo, é uma constante adimensional que pode ser utilizada para descrever a natureza do produto. Quando um feixe de luz passa de um meio para outro, e a densidade entre os dois difere, o feixe é desviado, ou refratado. O desvio do feixe de luz é uma função dos meios e dos senos dos ângulos de incidência e de refração, a uma dada temperatura e pressão (Figura 1.7). Então, qualquer que seja o valor do ângulo i , o ângulo r estará sempre relacionado, de modo que o índice de refração (η) é a razão entre eles (7) (Nielzen, 2010).

O índice de refração é uma propriedade física, bastante importante para a identificação de gorduras, sendo um método muito útil, podendo ser realizado de uma forma simples e rápida, utilizando apenas uma pequena quantidade de amostra. O índice de refração de gorduras, depende do tamanho das cadeias dos seus ácidos

gordos e do seu grau de insaturação, sendo o índice de refração dos monoglicéridos superior ao índice de refração dos triglicéridos correspondentes (Chakrabarty, 2003).



$$n = \frac{\text{sen}(i)}{\text{sen}(r)} \quad (7)$$

Figura 1.7 - Ilustração de raio incidente, raio refratado e respectivos ângulos (Nielzen, 2010, adaptado).

1.7.7. ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO

O índice de saponificação é a variável que reflete a qualidade de um lípido, estando ligado à massa molar do composto, assim quanto maior o índice de saponificação, menor a massa molar média, ou seja, menor o tamanho médio das cadeias de carbono (Nakavoua, 2011).

O índice de saponificação é a massa, expressa em miligramas de hidróxido de potássio, necessária para saponificar um grama de óleo (NP 940/1985).

O processo realiza-se pela saponificação a quente do óleo, numa solução alcoólica 0,5 N de hidróxido de potássio, adicionada em excesso, o qual se titula pelo ácido clorídrico do mesmo título (NP 940/1985).

$$\text{Índice de saponificação (I}_s\text{)} = 14,025 \times (V_2 - V_1) \quad (8)$$

V_1 – volume, expresso em cm^3 , de ácido clorídrico 0,5 N gasto na titulação do ensaio com $2,0000 \pm 0,0005$ g de óleo;

V_2 – volume, expresso em cm^3 , de ácido clorídrico 0,5 N gasto no ensaio em branco.

1.7.8. MASSA VOLÚMICA (PICNÓMETRO)

A massa volúmica (ρ_t) é definida por a massa, em gramas, no vazio, de um centímetro cúbico de óleo, à temperatura constante t , de referência. Esta temperatura t de referência é, em regra, de 20°C para os óleos. Para tal, é necessária a verificação da capacidade exata, em centímetros cúbicos, de um picnómetro (Figura 1.8), à temperatura t de referência e, a determinação da massa, em gramas, de óleo que ocupa à mesma temperatura (NP 938/1988). A massa volúmica do óleo é dada pela equação (9).

$$\rho_{\text{óleo}} = \frac{m_{\text{óleo}}}{m_{\text{água}}} \times \rho_{\text{água}} \quad (9)$$

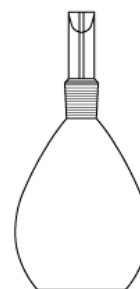


Figura 1.8 - Picnómetro

$\rho_{\text{óleo}}$ – densidade do óleo, à mesma temperatura t da água;

$\rho_{\text{água}}$ – densidade da água, à temperatura t , tabelada;

$m_{\text{água}}$ – massa da água, determinada experimentalmente, subtraindo o peso total do picnómetro cheio com água e o peso do picnómetro vazio;

$m_{\text{óleo}}$ – massa do óleo, determinado experimentalmente, subtraindo o peso total do picnómetro cheio com óleo e o peso do picnómetro vazio.

1.7.9. VISCOSIDADE

A viscosidade é definida como a resistência de um fluido ao escoamento. Os fluidos podem ser categorizados como Newtonianos ou não-Newtonianos. Os fluidos que seguem a lei de Newton de viscosidade são Newtonianos. No caso de um fluido Newtoniano, a tensão de cisalhamento (*shear stress*) aplicado ao fluido, é proporcional à taxa de cisalhamento (*shear rate*). Isto significa que a viscosidade será a mesma, mesmo que o viscosímetro utilizado seja operado a diferentes velocidades. O gráfico resultante dos dados obtidos de *shear stress* e *shear rate*, será representado por uma recta linear (Figura 1.9) que, quanto mais íngreme, maior será a resistência do fluido ao escoamento e maior será a sua viscosidade (Vaclavik e Christian, 2008). Os óleos, água e a maioria dos líquidos demonstram comportamento Newtoniano.

A viscosidade, tanto dos fluidos Newtonianos como dos fluidos não-Newtonianos, é afetada pela temperatura, uma vez que as temperaturas altas causam uma maior fluidez, diminuindo assim a viscosidade, enquanto as temperaturas baixas causam uma maior viscosidade. Por esta razão, é importante realizar as medições de viscosidade a temperatura constante, especificando-a (Vaclavik e Christian, 2008).

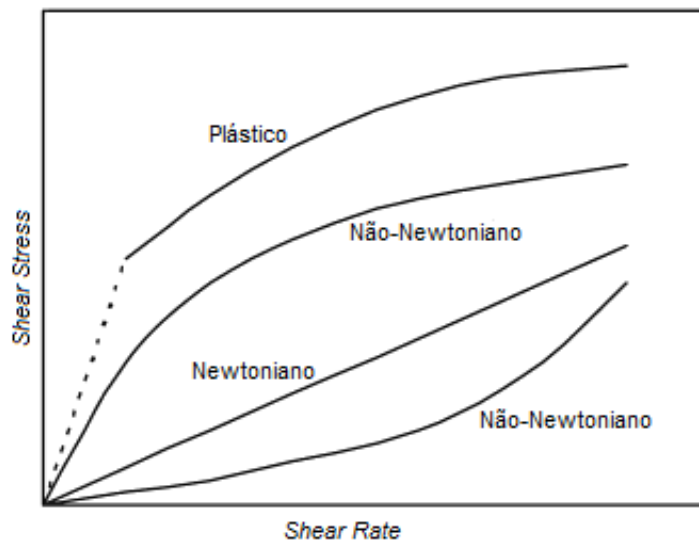


Figura 1.9 - Representação esquemática do comportamento dos fluidos Newtonianos e não-Newtonianos (Vaclavik e Christian, 2008, adaptado).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATERIAIS

As sementes de goiaba (*Psidium guajava* L.) foram extraídas de frutos adquiridos em superfícies comerciais.

As sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), pimento (*Capsicum annuum* L.) e abóbora, foram fornecidas pela empresa Hortomelão – Produtos Hortícolas e Frutos, Lda.

A grainha de uva foi fornecida por produtores da região de Santarém.

Os reagentes utilizados nas técnicas de extração, análise e caracterização do óleo, são de grau de pureza *pro analysis* e foram obtidos da fonte comercial Merck.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. PRÉ-TRATAMENTO DAS SEMENTES

Antes da extração do óleo das sementes dos frutos, é necessário realizar alguns passos importantes, para a garantia da qualidade do óleo extraído, nomeadamente, a limpeza, secagem, redução de dimensões e resíduo seco.

2.2.1.1. LIMPEZA DAS SEMENTES

As sementes de goiaba foram extraídas do fruto, retirando-se toda a polpa envolvente, seguidamente foram lavadas em água corrente, limpas com papel absorvente e submetidas a secagem.

As sementes de abóbora já se encontravam limpas e livres de qualquer vestígio de polpa.

As sementes de pimento que se encontravam congeladas, foram descongeladas e lavadas em água corrente, limpas em papel absorvente e submetidas a secagem.

O repiso do tomate congelado foi descongelado, lavado em água e as sementes foram separadas por precipitação e decantação da água, contendo a polpa e a pele do tomate. Este processo foi repetido várias vezes, até à obtenção de sementes livres de polpa. As sementes foram posteriormente submetidas a secagem (Figura 2.1).



Figura 2.1 - Sequência da preparação das sementes contidas no repiso do tomate, por lavagem, precipitação e decantação (©Vanessa Sousa, 2012).

2.2.1.2. SECAGEM DAS SEMENTES

Segundo a literatura (Dutta, 2007; Fruhwirth e Hermetter, 2008) as sementes consideram-se secas, a ponto de puderem ser utilizadas para extração do seu óleo, quando a sua percentagem de humidade é inferior ou igual a 5%. Deste modo, as sementes, depois de lavadas e limpas, foram colocadas em tabuleiros, formando uma camada fina, em secador de prateleiras (AFOS MINI KILN, England) com circulação forçada de ar em fluxo paralelo, à temperatura de 45°C. Ao longo do processo de secagem, foram retiradas amostras a cada hora e lida a percentagem de humidade numa balança de infravermelhos (Metler LP16-M) até se obter o valor pretendido.

2.2.1.3. REDUÇÃO DE DIMENSÕES E CLASSIFICAÇÃO GRANULOMÉTRICA

Para estudar o efeito da granulometria das sementes no rendimento da extração do óleo, selecionaram-se as sementes de abóbora, goiaba, pimento, tomate e uva. Utilizou-se um moinho de martelos (SK1, Retsch) no qual, as amostras de sementes foram trituradas por etapas sucessivas, pela ordem seguinte: trituração livre (sem crivo à saída do moinho); trituração com crivo de 2,00 mm; trituração com crivo de 1,00 mm e finalmente, trituração com crivo de 0,75 mm.

No Quadro 2.1 apresentam-se as sementes e os crivos utilizados na redução de dimensões.

Quadro 2.1 - Sementes de fruto e respectivas triturações, às quais foram sujeitas, para a redução de dimensões.

Semente	Trituração			
	Livre	2,00 mm	1,00 mm	0,75 mm
Abóbora	▪	▪	▪	
Goiaba	▪	▪	▪	▪
Pimento	▪		▪	
Tomate	▪	▪		
Uva	▪	▪		▪

Para a classificação granulométrica, foi utilizado um sistema de peneiração mecânica, com peneiros (Test Sieve Fritsch, Astm - Retsch) com aberturas de 5,6 mm (ref. n.º 100648), 3,35 mm (ref. n.º 010114), 2 mm (ref. n.º 015617), 1 mm (ref. n.º 100133), 0,600 mm (ref. n.º 014141), 0,212 mm (ref. n.º 015432) e 0,75 mm (ref. n.º 015148).

A granulometria da moenda foi determinada através do diâmetro médio em massa (\bar{D}_w) das sementes moídas, utilizando a equação (10) (Sahin e Sumnu, 2006).

$$\bar{D}_w = \sum_{i=1}^n x_i \bar{D}_{pi} \quad (10)$$

x_i – fração em massa da porção retida no peneiro i

\bar{D}_{pi} – diâmetro médio de partícula da porção retida no peneiro i

As frações em massa das porções de moenda retidas em cada peneiro, foram obtidas por pesagem em balança não analítica (Sartorius portable, PT6). O diâmetro médio de partícula da porção retida no peneiro i foi obtido pela média das dimensões das malhas do peneiro que reteve as partículas i e do peneiro de malha superior.

2.2.1.4. RESÍDUO SECO

Secou-se em estufa (Selecta), a 80 °C durante 10 minutos as placas de Petri e deixou-se arrefecer em exsiccador até atingir a temperatura ambiente. Pesaram-se as placas em balança analítica (Mettler, AE 240).

Colocou-se 20 a 30 g de semente triturada (consoante a percentagem de humidade da semente a analisar) numa placa, e secou-se a amostra em estufa (Selecta) a 105°C até atingir a humidade pretendida. Transferiu-se a placa para um exsiccador, até arrefecer completamente, sendo de seguida, pesada rigorosamente em balança analítica (Mettler, AE 240). O ensaio foi realizado em triplicado.

O resíduo seco, expresso em percentagem, foi determinado de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ Resíduo Seco} = \frac{m_2}{m_1} \times 100 \quad (11)$$

m_1 – massa da amostra fresca (g),

m_2 – massa de amostra seca (g)

2.2.2. EXTRAÇÃO DO ÓLEO PELO MÉTODO DE SOXHLET

A extração do óleo das sementes foi realizada de acordo com o método AOAC 963.15 (2005) com algumas alterações e adaptações. A um balão de 250 mL foram adicionadas esferas de vidro, reguladores de ebulição, sendo de seguida colocado numa estufa (Selecta) a 105°C, durante aproximadamente 12 horas. Depois de arrefecer num exsiccador até temperatura ambiente, foi pesado numa balança analítica (Mettler, AE 240). Num cartuxo (Schleider & Schüell) foram pesados 5 g de amostra, obtida anteriormente na determinação do resíduo seco, tendo-se colocado um pequeno pedaço de algodão a cobrir a amostra. Num balão de extração foram adicionados 200 mL de solvente (*n*-hexano ou éter de petróleo). Procedeu-se à extração da amostra sobre refluxo, numa manta de aquecimento (Selecta) durante 4 a 6 horas, dependendo das sementes utilizadas.

O solvente foi evaporado num evaporador rotativo (Heidolph, Laborota 4000) sendo a temperatura regulada para 40°C ou 60°C consoante o solvente a evaporar fosse *n*-hexano ou éter de petróleo. O balão contendo a amostra de óleo extraído foi

colocado na estufa a secar durante 10 minutos, a 105°C. O balão arrefeceu no exsiccador até atingir temperatura ambiente, sendo pesado em balança analítica.

O teor em óleo ou matéria gorda livre, expresso em percentagem, foi determinado de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ Matéria gorda livre} = \frac{m_2}{m_1} \times 100 \quad (12)$$

m_1 – massa da amostra seca (g),

m_2 – massa de matéria gorda livre (g)

O óleo extraído foi transferido para um frasco de vidro, onde foram adicionados 1000 μ L de *n*-hexano e, após selagem, foi congelado a -20°C, até posterior utilização.

2.2.3. EXTRAÇÃO DO ÓLEO A FRIO COM PRENSA

Para a extração do óleo a frio, as sementes limpas, secas e descascadas, foram colocadas inteiras no funil de alimentação de uma prensa. As sementes, no interior da prensa foram trituradas e conduzidas por um parafuso helicoidal, através de um tubo metálico de diâmetro cada vez menor até ao *nozzle*, pelo qual saía o bagaço resultante da trituração. O óleo extraído escoava pelos pequenos orifícios, na extremidade do tubo metálico, localizados antes do *nozzle*. Após a extração do óleo, este foi transferido para um tubo de centrifugação e colocado a centrifugar durante 15 minutos a uma velocidade de 2500 rpm. Após centrifugação, o óleo livre de resíduo foi transferido para um frasco de vidro e armazenado a -20°C até posterior utilização. Estas etapas estão representadas na Figura 2.2.



Figura 2.2 - Principais etapas da extração do óleo, utilizando a prensa (©Vanessa Sousa, 2012).

2.2.7. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Para avaliar a influência do diâmetro médio em massa das partículas utilizadas na extração do óleo e do solvente utilizado no rendimento obtido, foi realizada uma análise de variância univariada. Testou-se a homogeneidade da variância e, sempre que se observou efeito significativo ($p < 0,05$) procedeu-se à comparação das médias, pelo teste de Scheffe.

Esta análise foi realizada através do programa SPSS®- versão 18.0.

2.2.6. ANÁLISE DO PERFIL DE ÁCIDOS GORDOS DAS AMOSTRAS DE ÓLEO POR CROMATOGRAFIA GASOSA

As amostras foram ressuspensas em 1 mL de *n*-hexano e analisadas num cromatógrafo gasoso GC 14A (Shimadzu; Kyoto, Japan) equipado com um detetor de ionização de chama e com uma coluna capilar DB-wax (30 m x 0,32 mm i.d., d.f. = 0,50 μ m). As temperaturas do injetor e do detetor foram 250°C e 260°C, respetivamente. O injetor foi utilizado em “split mode”, com uma razão de 1/20. Foi utilizado o Hélio como gás de arraste, com pressão de 10 kPa e fluxo de 1 mL/min à saída da coluna. O programa de temperaturas utilizado foi a seguinte: 110°C durante 7 minutos, aumento de temperatura até 170°C com uma velocidade de 30°C/min, um

patamar a 170°C durante 45 minutos, aumento de temperatura até 230°C com uma velocidade de 7,5°C/ min e um patamar final a 230°C durante 15 minutos (Nunes *et al.*, 2011). A quantidade de cada amostra injetada foi de 5 µL. A percentagem molar de cada éster metílico de ácido gordo foi calculada com base nas massas molares dos vários ésteres metílicos de ácidos gordos presentes nas amostras.

O cálculo das percentagens mássicas de cada FAME foi realizado com base na razão da área dos respectivos picos e da sua área total. Em seguida foram calculadas as percentagens molares de cada FAME tendo em conta as massas molares respectivas (Quadro 2.2)

2.2.4. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DE SEMENTE DE ABÓBORA

2.2.4.1. COR

A cor do óleo foi determinada utilizando um colorímetro portátil (Dr. Lange, Spectro-color). Antes da determinação, o aparelho foi calibrado contra um disco padrão de referência branco ($X = 84,60$, $Y = 89,46$ e $Z = 93,85$) e, um disco padrão de referência preto ($X = 4,12$, $Y = 4,38$ e $Z = 4,71$). Foi utilizada a escala de Hunter L, a, b. Foram feitas seis leituras à amostra, rodando o suporte da amostra entre cada uma das leituras, evitando que a leitura se fizesse sempre no mesmo local.

2.2.4.2. HUMIDADE E MATÉRIA VOLÁTIL (%)

Colocou-se a amostra dentro de uma estufa (Selecta) a 105°C, durante 30 minutos de cada vez. Ao fim desse tempo, colocou-se a amostra no exsicador a arrefecer, e pesou-se. Este processo foi repetido até se atingir peso constante. Esta determinação foi realizada em triplicado.

2.2.4.3. ÍNDICE DE ACIDEZ

O índice de acidez foi realizado, em triplicado, de acordo com a NP 903, de 1987.

Num frasco de erlenmeyer de 250 mL, foram pesados, com aproximação ao miligrama, 10 g de óleo. A amostra foi dissolvida num volume de 50 mL de mistura dissolvente. Após agitação, foram adicionadas algumas gotas de fenolftaleína e titulou-

se até ao aparecimento da cor rosa persistente, com solução 0,1N de hidróxido de potássio.

2.2.4.4. ÍNDICE DE ÉSTERES E ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO

O índice de ésteres e índice de saponificação são executados, em triplicado, segundo a NP 940, de 1985.

Num balão de vidro de 250 mL, foram pesados 2 g de óleo. Foram adicionados 25 mL de solução alcoólica 0,5 N de hidróxido de potássio e alguns reguladores de ebulição (esferas de vidro). Foi adaptado o condensador de refluxo e saponificou-se sobre manta de aquecimento, mantido em franca ebulição, que dura, no máximo, 1 h. O condensador foi desmontado e foram adicionadas quatro gotas de solução de fenolftaleína e, com o líquido ainda morno, foi titulado com ácido clorídrico 0,5 N. De igual modo, foi executado um ensaio sem o óleo.

2.2.4.5. ÍNDICE DE PERÓXIDOS

O índice de peróxidos foi determinado, em triplicado, segundo a NP 904, de 1987.

Num erlenmeyer de 200 mL, foram pesados 2 g de óleo, com aproximação ao miligrama. Estes foram dissolvidos em 10 mL de clorofórmio e foram adicionados 15 mL de ácido acético glacial. Foi adicionado 1 mL de solução saturada de iodeto de potássio medido por pipeta, tendo-se rolhado imediatamente o frasco e agitado durante um minuto, aguardou-se cinco minutos ao abrigo da luz.

Passados os cinco minutos, foram adicionados 75 mL de água destilada, tendo sido titulado com solução 0,01 N de tiosulfato de sódio, servindo de indicador o cozimento de amido. Foi realizado um ensaio em branco, da mesma forma, mas sem a presença do óleo.

2.2.4.6. ÍNDICE DE REFRAÇÃO

O índice de refração foi medido, tendo-se seguindo o método AOAC 921.08 (2005).

Num refratómetro de Abbé, foram colocadas duas gotas de óleo de semente de abóbora, entre os dois prismas. Aguardou-se alguns minutos, para que a temperatura do refratómetro e da amostra fosse a mesma. Os prismas foram bem limpos entre as leituras, sendo estas realizadas em triplicado.

2.2.4.7. MASSA VOLÚMICA (PICNÓMETRO)

A determinação da massa volúmica, pelo picnómetro, foi realizada seguindo a NP 938, de 1988.

Pesou-se com precisão ao miligrama um picnómetro, depois de perfeitamente desengordurado, lavado e seco. De modo a que não ficasse qualquer bolha de ar interposta, encheu-se o picnómetro com água destilada, a temperatura constante, e registou-se o seu peso. No mesmo picnómetro, bem seco e limpo, encheu-se com o óleo, com o devido cuidado para que não se desse a formação de bolhas, tendo-se registado novamente o seu peso.

2.2.4.8. VISCOSIDADE

Num viscosímetro (Brookfield, DV-II +) foi adaptado um *spindle*, tamanho 18, ficando este no interior do copo da amostra. Ao copo da amostra, ligado a um banho de 21°C, de modo a que a leitura fosse realizada a temperatura constante, inseriu-se o óleo de semente de abóbora até este cobrir todo o *spindle*. Este passo foi realizado com cuidado, com o objetivo de não haver formação de bolhas de ar. Iniciou-se a leitura da viscosidade utilizando a programa SSINT, que mede a viscosidade numa escala de 18 velocidades diferentes, iniciando em 0,3 rpm e terminando em 100 rpm.

2.2.5. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE ÓLEO PARA DETERMINAÇÃO DO PERFIL EM ÁCIDOS GORDOS

O protocolo experimental foi realizado de acordo com Nunes *et al.* (2011). A solução de metilação foi preparada com 75 mL de metanol, 25 mL de *n*-hexano e 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. Esta solução foi mantida num erlenmeyer coberto com papel de alumínio, para que a luminosidade não alterasse a sua composição.

Num balão de 25 mL, colocaram-se 5 mL da solução de metilação previamente preparada e adicionaram-se 20 µL do óleo. O balão foi colocado numa manta de aquecimento, a qual se encontrava a 80°C e foi adaptado um tubo de condensação de Liebig. A metilação da amostra de óleo decorreu durante uma hora. Em seguida, retirou-se o balão da manta de aquecimento, adicionaram-se 10 mL de água destilada e 10 mL de éter de petróleo e procedeu-se a agitação vigorosa. O líquido foi de seguida transferido para uma ampola de decantação de 100 mL, onde ocorreu a separação das fases aquosa e orgânica. A fase aquosa, por ter maior densidade que a fase orgânica, foi descartada pela parte inferior da ampola. A fase orgânica foi lavada

com água destilada duas vezes (2 x 10 mL água destilada), sendo posteriormente adicionado sulfato de cálcio anidro, para que fossem removidos quaisquer vestígios de água presentes na fase orgânica. A fase orgânica foi filtrada e transferida para um balão periforme, onde o solvente foi evaporado, num evaporador rotativo de vácuo a 60°C. Após completa evaporação do solvente, o balão foi colocado numa estufa a 30-40°C, durante 30 minutos. Concluída esta etapa, analisou-se a amostra contendo os ésteres metílicos de ácidos gordos por cromatografia gasosa ou, esta foi devidamente selada, identificada e congelada (-20°C) para posterior análise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. REDUÇÃO DE DIMENSÕES E CLASSIFICAÇÃO GRANULOMÉTRICA

Na redução de dimensões, verificou-se que em algumas sementes, nomeadamente nas sementes de abóbora, pimento e de tomate, ocorreu a aglomeração das partículas mais pequenas, após a trituração com crivo de 1,00 e 0,75 mm. É demonstrada a aglomeração de partículas no caso das sementes de abóbora na Figura 3.1, em 5 e 6.



Figura 3.1 - Diferentes fases da redução de dimensões no moinho de martelos, utilizando sementes de abóbora (©Vanessa Sousa, 2012).

Esta aglomeração deve-se provavelmente à libertação do óleo, resultante do rompimento das células das sementes pela redução de dimensões, provocando também a fixação da matéria à malha do peneiro, bloqueando as suas aberturas, durante a classificação granulométrica.

Na classificação de dimensões das sementes, após as sucessivas triturações observou-se que, nas primeiras moagens, predominaram as partículas de maiores dimensões e que ao longo do processo, introduzindo crivos de menor abertura, as partículas predominantes adquiriram, conseqüentemente, dimensões menores, tal como se pode observar na Figura 3.2, onde se apresenta a distribuição normal das partículas da moenda para a grainha de uva.

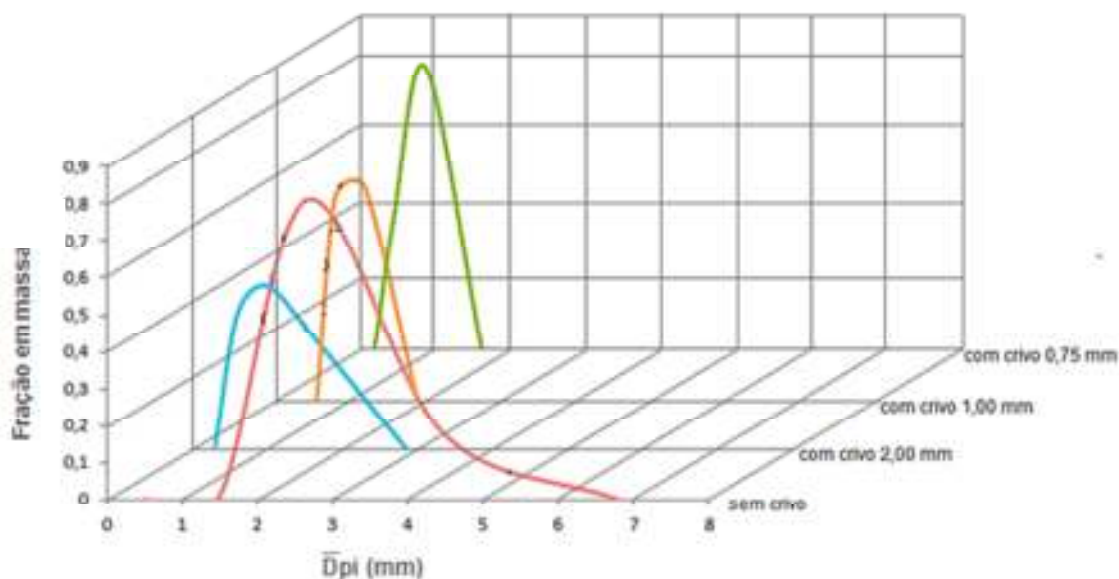


Figura 3.2 - Efeito da moagem progressiva com crivos de diferentes aberturas, sobre a distribuição de tamanhos da semente de uva.

Foi calculado o diâmetro médio em massa (\bar{D}_w), revelando os valores exatos em cada fase do processo de redução de dimensões (Quadro 3.1)

Quadro 3.1 - Valores de diâmetro médio em massa (mm) para cada semente, em cada etapa da trituração.

Semente	Trituração			
	Livre	Com crivo 2,00 mm	Com crivo 1,00 mm	Com crivo 0,75 mm
Pimento	2,810	.	0,861	.
Tomate	2,806	0,766	.	.
Goiaba	2,659	.	.	0,652
Abóbora	2,250	1,228	.	.
Uva	1,180	0,839	.	0,673

Verificou-se que os valores do diâmetro médio em massa também sofrem uma redução ao longo do processo de trituração, com crivos de aberturas cada vez menores, sendo esta observação comum a todas as sementes em estudo.

3.2. EXTRACÇÃO DO ÓLEO

3.2.1. MÉTODO DE SOXHLET

Utilizou-se grainha de uva triturada com diferentes granulometrias para testar o efeito do solvente e do tamanho de partícula da amostra no rendimento da extração de óleo. Os ensaios foram realizados em triplicado, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Quadro 3.2 - Comparação das médias de \bar{D}_w pelo teste de Scheffe.

.(I) \bar{D}_w	(J) \bar{D}_w	Média das diferenças (I-J)	Erro padrão	Nível de significância	95% Intervalo de confiança	
					Limite inferior	Limite superior
0,670	0,840	5,763667	0,7705211	8,013E-05	3,556471	7,970862
	2.920	8,288667	0,7705211	3,184E-06	6,081471	10,495862
0,840	0,670	-5,763667	0,7705211	8,013E-05	-7,970862	-3,556471
	2.920	2,525000	0,6891750	1,418E-02	0,550824	4,499176
2.920	0,670	-8,288667	0,7705211	3,184E-06	-10,495862	-6,081471
	0,840	-2,525000	0,6891750	1,418E-02	-4,499176	-0,550824

As diferenças observadas no rendimento obtido com diferentes solventes para igual D_w não são significativas, contudo o rendimento em óleo é significativamente maior quanto maior for o diâmetro em massa das partículas de moenda usadas na extração.

Quadro 3.3 - ANOVA

Fonte de variação	Soma dos Quadrados Tipo III	df	Média Quadrática	F	Nível de significância
Modelo corrigido	175,301	5	35,060	24,606	0,000
Intercepção	259,467	1	259,467	182,096	0,000
Solvente	3,537	1	3,537	2,482	0,146
\bar{D}_w	167,228	2	83,614	58,681	0,000
Solvente x \bar{D}_w	5,975	2	2,987	2,097	0,174
Erro	14,249	10	1,425		
Total	387,275	16			
Total corrigido	189,550	15			

Estes resultados vieram confirmar a observação feita por Magalhães *et al.* (2008), que verificou que, numa extração convencional de Soxhlet, o diâmetro médio de partícula tem um efeito significativo no rendimento de extração do óleo de sementes de uva. Por isso mesmo, as extrações do óleo das sementes de abóbora, goiaba, tomate e pimento foram posteriormente realizadas utilizando *n*-hexano, sendo utilizadas as sementes de granulometria menor.

Conforme se pode observar na Figura 3.3, o maior rendimento em óleo obtido foi com a semente de abóbora ($47,8 \pm 1,16$ %) seguindo-se a semente de tomate ($23,7 \pm 0,13$ %), pimento ($21,4 \pm 0,04$ %), grainha de uva ($10,2 \pm 3,41$ %) e goiaba (1,7 %).

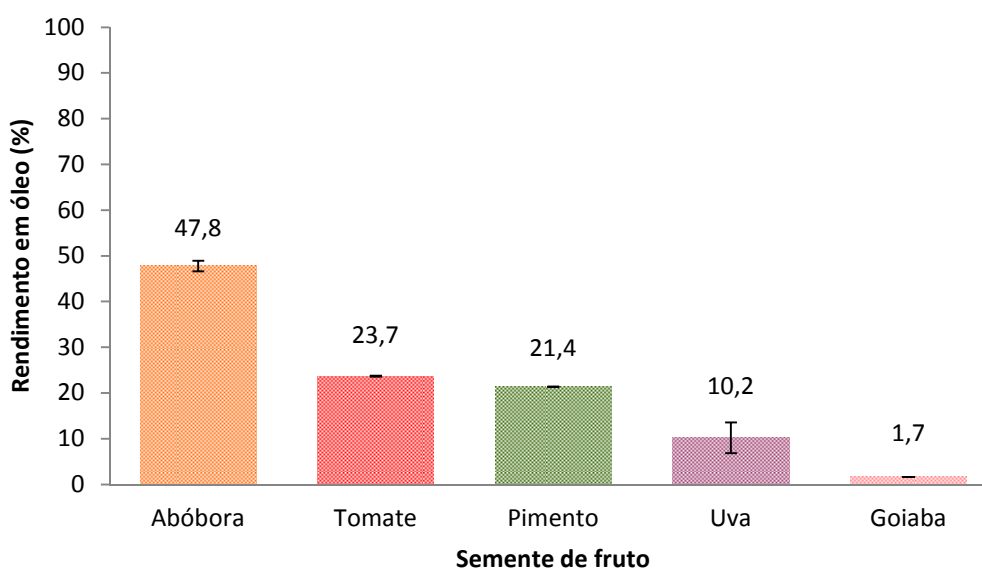


Figura 3.3 - Rendimento em óleo (%) das sementes dos frutos de abóbora, tomate, pimento, uva e goiaba, com extração utilizando o solvente *n*-hexano e respectivos desvios-padrão.

De todas as sementes analisadas, a semente de abóbora parece ser a mais promissora para extração de óleo e posterior utilização.

Nas sementes de abóbora, os valores são muito próximos dos apresentados por Fruhwirth e Hermetter (2008), Murkovic e Pfannhauser (2000) e Tsaknis *et al.* (1997) com valores de 41-50%, 50% e 48,6%, respetivamente. Sendo por outro lado um valor superior ao encontrado por Kulkarni *et al.* (2012) que obteve um rendimento de 31,4%.

A semente de goiaba foi a que obteve o rendimento mais distinto dos obtidos por outros autores, uma vez que Kobori e Jorge (2005), Mohamed *et al.* (2011), Nicanor *et al.* (2000) e Piombo *et al.* (2006) relataram rendimentos de 12,3%, 13,6%, 16% e

12,6%, respetivamente. Uma das razões principais desta disparidade entre valores pode dever-se ao fato de só ter sido realizada uma extração. Hel-S e Mokhtar (2011) obtiveram 19,6% de rendimento em óleo extraído da semente de pimento, valor bastante próximo ao obtido neste estudo (21,4%).

Para as sementes de tomate, o rendimento em óleo obtido é inferior ao obtido por Giannelos *et al.* (2004) e Kulkarni *et al.* (2012) com rendimentos respetivos de 32,1 a 36,9% e 30,3%. No entanto, Lazos *et al.* (1998) e Shao *et al.* (2012) obtiveram valores mais aproximados de 21,8% e 20,3%.

Na literatura, os valores para o rendimento de extração de óleo das sementes de uva são bastante semelhantes entre si, tendo os autores Baydar e Akkurt (2001), Baydar *et al.* (2007), Canbay e Bardakçı (2011) e Nerantzis e Tataridis (2006) registado rendimentos de 11,6 a 19,6%, 12 a 16%, 10 a 16% e 12 a 17%, respetivamente. Uma vez que neste estudo se obteve um rendimento de 10,20%, pode-se verificar que existe concordância com os valores apresentados por outros autores.

Existem diferenças entre os rendimentos em óleo obtidos neste estudo e os referidos por vários autores, devido a diferentes métodos utilizados na extração dos óleos e granulometrias, assim como nas variedades dos frutos.

3.2.2. MÉTODO A FRIO COM PRENSA

Procedeu-se à extração a frio do óleo das sementes de abóbora, pimento, tomate e grainha de uva. A quantidade reduzida de semente de goiaba, não permitiu a realização da extração do óleo a frio.

Mais uma vez se observa (Figura 3.4) que a semente com maior rendimento em óleo é a semente de abóbora com 14,1%, seguidas das sementes de uva (6,8%), tomate (3,9%) e pimento (2,1%).

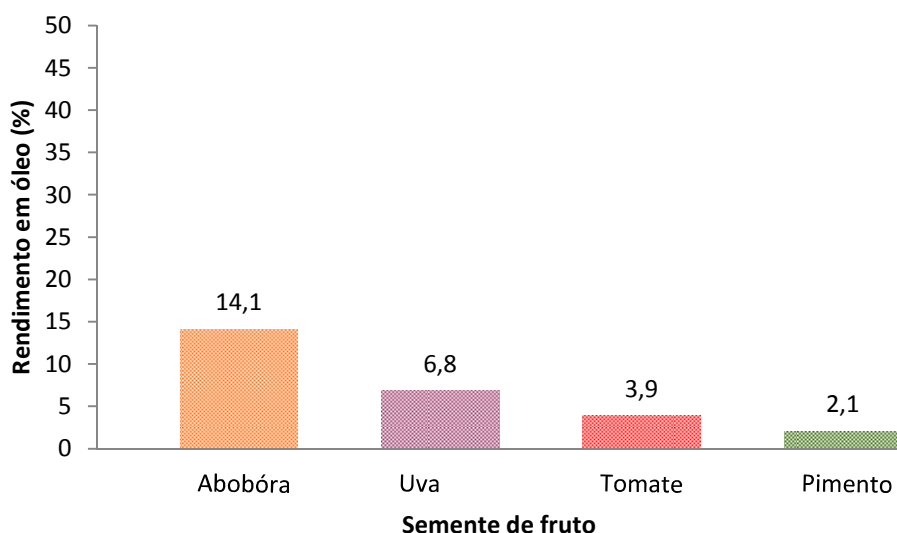


Figura 3.4 - Rendimento em óleo (%) na extração com prensa, obtido a partir das sementes dos frutos de abóbora, uva, tomate e pimento.

Comparando os dois métodos de extração de óleo, pode-se concluir que o método de Soxhlet é mais eficaz. Com efeito, há uma diminuição acentuada do rendimento quando se utiliza o método a frio.

Isto pode justificar-se pelo fato da extração do óleo, ocorrer apenas com a consequência do esmagamento das sementes na prensa, processo semelhante à etapa de redução de dimensões no moinho, realizada previamente à extração com solvente. Além disso, como já verificado por Botineștean *et al.* (2012) durante a prensagem, apesar de grande parte do óleo ser extraído das sementes, permanece sempre uma quantidade de óleo considerável no bagaço final, bagaço que não é recuperado neste trabalho.

3.3. ANÁLISE DO PERFIL DE ÁCIDOS GORDOS DAS AMOSTRAS DE ÓLEO POR CROMATOGRAFIA GASOSA

O perfil em ácidos gordos foi determinado para amostras de óleo extraído de sementes de abóbora, pimento, tomate e uva. Os óleos analisados foram extraídos utilizando o método de Soxhlet ou o método a frio com a prensa. A análise cromatográfica dos óleos extraídos permitiu identificar ácidos gordos majoritários: ácido palmítico, ácido oleico e ácido linoleico. Verificou-se a presença de outros ácidos gordos nos lípidos analisados em percentagem muito menor: ácido mirístico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido linolénico e ácido araquídico.

Em todos os óleos analisados, a percentagem de ácidos gordos insaturados foi superior à de ácidos gordos saturados, tornando estes óleos interessantes do ponto de vista nutricional.

Quadro 3.4 - Perfil de ácidos gordos dos óleos de sementes de abóbora, pimento, tomate e uva analisados.

Semente	Método	Ácido gordo (% molar)								Grau de insaturação (%)
		C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	
Abóbora	Soxhlet	0,00	21,47	0,91	5,30	25,99	45,94	0,38	0,00	73,23
	Prensa	0,00	23,89	0,00	1,93	19,85	54,33	0,00	0,00	74,18
Pimento	Soxhlet	0,09	17,98	0,11	1,38	7,46	72,00	0,60	0,38	80,17
	Prensa	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Tomate	Soxhlet	0,18	18,15	0,14	2,62	16,50	60,05	2,36	0,00	79,06
	Prensa	0,15	17,92	0,12	2,72	16,42	60,13	2,55	0,00	79,22
Uva	Soxhlet	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	Prensa	0,08	11,07	0,11	1,89	13,35	72,98	0,15	0,38	86,59

* - Valor discrepante com a literatura consultada

De todos os óleos analisados, o óleo de abóbora apresenta as maiores percentagens de C16:0, C16:1, C18:0 e C18:1. Dauquan *et al.* (2011) referem que o alto teor em ácidos gordos monoinsaturados, especialmente o ácido oleico, está associado à baixa incidência de doenças cardíacas coronárias, uma vez que diminui o colesterol total e o colesterol de lipoproteína de baixa densidade. O ácido gordo que se encontra em maior quantidade neste óleo é o ácido linoleico (45,94-54,33%), contribuindo para o seu valor nutricional. De acordo com Fruhwirth e Hermetter (2007) o ácido linoleico é um ácido gordo essencial para consumo humano, visto ser necessário à formação de membranas celulares, vitamina D e diversas hormonas. Os outros ácidos gordos presentes são: o ácido oleico (19,85-25,99%), o ácido palmítico (21,47-23,89%), estando presente em menor quantidade o ácido esteárico, o ácido palmitoleico e o ácido linolénico. Stevenson *et al.* (2007) e Popa *et al.* (2010) obtiveram um perfil em ácidos gordos, para o óleo de abóbora, semelhante aos apresentados neste estudo (Quadro 3.5).

O principal ácido gordo presente no óleo de semente de pimento, extraído pelo método de Soxhlet, foi o C18:2 (72%) valor muito semelhante ao apresentado por Hel-S e Mokhtar (2011), cujo refere que o ácido gordo presente em maior quantidade no

óleo de semente de pimento, é o ácido linoleico, com uma percentagem molar de 71,55%. O perfil obtido apresenta também outros ácidos gordos, nomeadamente C16:0 (17,98%) e C18:1 (7,46%). Por outro lado os ácidos gordos C18:0 (1,38%), C18:3 (0,60%), C20:0 (0,38%), C16:1 (0,11%) e C14:0 (0,09%) encontram-se em menor percentagem. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Kim *et al.* (2002) (Quadro 3.5). Pérez-Gálvez *et al.* (1999) referem o fato da pequena porção de ácido linolénico presente, conferir ao óleo uma elevada resistência à rancidez, provocado pela auto-oxidação, ao mesmo tempo que revela um elevado valor nutricional.

O óleo extraído da semente de tomate tem na sua composição um teor de ácidos gordos insaturados de 79%, onde se evidenciam os ácidos linoleico (60,05-60,13%), palmítico (17,92-18,15%) e oleico (16,42-16,50). Os ácidos gordos minoritários presentes no perfil foram o ácido mirístico (0,15-0,18%) e o ácido palmitoleico (0,00-0,11%). Estes resultados estão de acordo com os publicados por Giannelos *et al.* (2004) (Quadro 3.5), no entanto verificou-se uma maior quantidade de C14:0, C16:0 e C18:2 em relação ao óleo analisado por este autor, por outro lado, ambos os ácidos gordos monoinsaturados estão presentes em menor quantidade.

Os ácidos gordos presentes em maior quantidade no óleo extraído de sementes de uva são o C18:2 (72,98%), C18:1 (13,35-19,29%) e C16:0 (11,07). Os ácidos gordos com menor expressão no óleo de semente de uva são o C14:0 (0,08), C16:1 (0-0,11%), C20:0 (0,11-0,33%), C18:3 (0,15-0,24%) e C18:0 (1,89%). Todos os resultados obtidos para o óleo da semente de uva aproximam-se aos apresentados por Kanimian *et al.* (2012) e Arvanitoyannis *et al.* (2006) (Quadro 3.5).

O óleo de semente de uva apresentou o maior grau de insaturação (86,59%), o que faz deste um óleo ótimo para consumo humano, pois de acordo com Baydar *et al.* (2007), o alto conteúdo em ácidos gordos insaturados (85-90%) fazem deste, um óleo de elevada qualidade nutricional. O seu consumo revela propriedades na prevenção de trombozes, redução do colesterol no sangue, dilatação dos vasos sanguíneos e regulação dos nervos autónomos. Um elevado grau de insaturação do óleo torna-o mais susceptível a degradação por oxidação, no entanto, existem estudos que recomendam a redução do consumo de ácidos gordos saturados e o aumento moderado dos ácidos gordos insaturados, como forma de prevenir doenças cardíacas (Ardabili *et al.*, 2012).

Quadro 3.5 - Comparação entre os valores obtidos no presente estudo com os obtidos por outros autores.

semente	Ácido gordo (% molar)								Referência
	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	
	0,00	21,47 – 23,89	0,00 – 0,91	1,93 – 5,30	19,85 – 25,99	45,94 – 54,33	0,00 – 0,38	0,00	•
Abóbora	0,09 – 0,27 ^a	12,6 – 17,4 ^a	0,12 – 0,52 ^a	5,1 – 9,0 ^a	17,0 – 39,5 ^a	36,2 – 62,8 ^a	0,34 – 0,82 ^a	0,26 – 1,12 ^a	Stevenson, <i>et al.</i> (2007)
	-	13,16	-	5,66	28,65	49,62	-	-	Popa, <i>et al.</i> (2010)
Pimento	0,09	17,98	0,11	1,38	7,46	72	0,60	0,38	•
	0,1 ±0,01	13,6 ±0,02	0,2 ±0,03	1,9 ±0,03	8,6 ±0,02	73,9 ±0,03	0,4 ±0,01	0,3 ±0,01	Kim, <i>et al.</i> (2002)
Tomate	0,15 – 0,18	17,92 – 18,15	0,12 – 0,14	2,62 – 2,72	16,42 – 16,50	60,05 – 60,13	2,36 – 2,55	0,00	•
	0,10	12,26	0,35	5,15	22,17	56,12	2,77	0,41	Giannelos, <i>et al.</i> (2004)
Uva	0,08	11,07	0,11	1,89	13,35	72,98	0,15	0,38	•
	0,07 – 1,03 ^b	7,36 – 9,66 ^b	0,22 – 0,26 ^b	3,7 – 4,7 ^b	20,70 – 22,29 ^b	60,16 – 64,90 ^b	0,35 – 0,60 ^b	0,18 – 0,23 ^b	Kanimian, <i>et al.</i> (2012)
		5,0	0,5	3,0	15,0	69,0	0,3		Arvanitoyannis, <i>et al.</i> (2006)

- - Valores da extração efectuada com solvente e a frio (ou só um dos dois) do presente estudo
- a – valores mínimo e máximo, numa amostra de 12 variedades diferentes de semente de abóbora
- b – valores mínimo e máximo, numa amostra de 2 variedades diferentes de semente de uva

3.4. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DE SEMENTE DE ABÓBORA

Uma vez que o óleo de semente de abóbora foi o que teve maior rendimento, em ambas as extrações, foi efetuada a análise físico-química ao óleo extraído com o método de Soxhlet.

3.4.1. PARÂMETROS FÍSICOS

As análises realizadas para a caracterização dos parâmetros físicos do óleo (cor, densidade, índice de refração e viscosidade) são apresentadas no Quadro 3.6.

Quadro 3.6 - Dados obtidos na análise da cor (Hunter Lab), densidade (g/cm³, 19°C), índice de refração (25°C) e viscosidade (mPa.s).

Parâmetros Físicos	Óleo de semente de abóbora
Cor (Hunter <i>L</i> , <i>a</i> , <i>b</i>)	Vermelho escuro
<i>L</i>	20,947 ±0,113 ^a
<i>a</i>	0,812 ±0,158 ^a
<i>b</i>	-0,135 ±0,686 ^a
Hue (<i>h</i> °)	350,560
Chroma	0,678
Densidade (g/cm ³ , 19°C)	0,9192
Índice de refração (25°C)	1,468 ±0,00 ^b
Viscosidade (mPa, 21°C)	63,50 ±9,48 ^b

Média de ^aseis/ ^btrês réplicas ± desvio padrão;

Segundo os parâmetros de L , a e b da escala de Hunter, o óleo de semente de abóbora é vermelho escuro (Figura 3.5-1), isto deve-se ao valor do ângulo *hue* (350,560) que situa a cor no quarto quadrante, muito próximo dos 360°, correspondente à cor vermelha. Já o valor do parâmetro L de $20,947 \pm 0,113$ confere ao óleo pouca luminosidade, dando a percepção de uma cor escura.

Verificou-se também, que a cor da semente de abóbora nem sempre é vermelho escuro, pois quando se apresenta em pouca quantidade, o óleo é verde amarelado (Figura 3.5-2). Segundo um estudo realizado na universidade de Ljubljana, Kreft e Kreft (2009) chegaram à conclusão que o óleo de abóbora é uma substância dicromática, isto deve-se à diferença de espessura do óleo, ou seja, quando a camada de óleo é inferior a 0,7 mm, este apresenta uma cor verde e, quando a camada tem uma espessura superior a 0,7 mm, este apresenta uma cor vermelha.

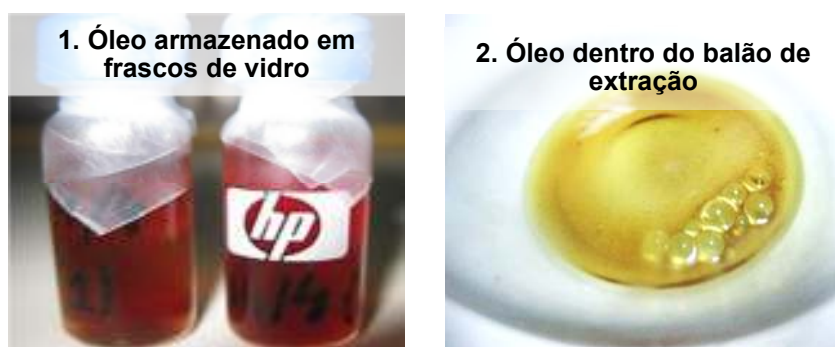


Figura 3.5 – Diferenças na percepção visual da cor, do óleo de semente de abóbora, extraído pelo método de Soxhlet.

Segundo o programa de limites para óleos vegetais, elaborado em conjunto com a FAO e a Organização Mundial de Saúde (World Health Organization, WHO) e posta em prática pela maioria dos países europeus, designado de Codex Stan 210 (1999), a densidade de $0,9192 \text{ g/cm}^3$, obtida com o picnómetro, está de acordo com os padrões descritos, os quais se situam entre $0,881$ e $0,929 \text{ g/cm}^3$. Este valor também é muito semelhante ao encontrado por Nwabanne (2012) e Schinas *et al.* (2008) para óleo de semente de abóbora, com valores de $0,9111 \text{ g/cm}^3$ e $0,9216 \text{ g/cm}^3$, respetivamente.

O índice de refração de $1,468 \pm 0,00$ (a 25°C) tem um valor muito próximo ao descrito por Alfawaz (2004) de $1,4656 \pm 0,004$, no entanto é menor que os valores obtidos por Kulkarni, *et al.* (2012) com $1,4728$. Este índice de refração também se

situa entre os valores descritos no Codex Stan 210 (1999) para os diferentes óleos vegetais, cujos apresentam um índice de refração mínimo de 1,447 e máximo de 1,477.

Verificou-se que o óleo de semente de abóbora é um fluido Newtoniano, através do gráfico onde é demonstrada a linearidade da recta obtida com os dados de *shear rate* e *shear stress* e da relação da sua viscosidade com *shear rate* (Figura 3.6) uma vez que a viscosidade assume, ao longo do tempo e a diferentes shear rates, valores constantes, característica própria desse tipo de fluídos. A viscosidade tem um valor médio de $63,50 \pm 9,48$ mPa.s, sendo menos viscoso que o óleo de semente de abóbora analisado por Tsaknis, *et al.* (1997) tendo este obtido um óleo com viscosidade de $72 \pm 0,58$ mPa.s, de igual modo, também o óleo obtido por Lazos, *et al.* (1995) tem uma viscosidade superior de $72,34 \pm 0,519$.

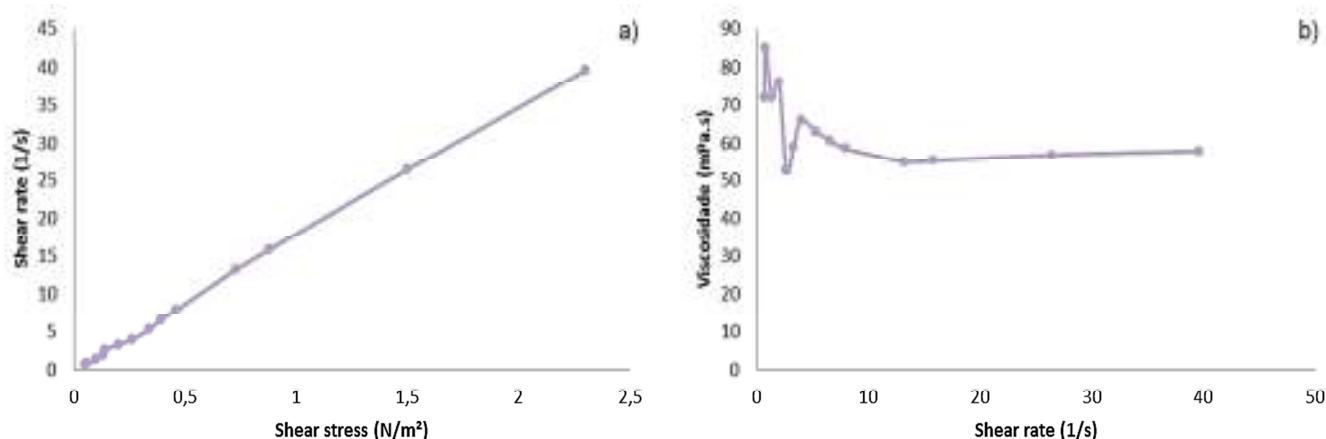


Figura 3.6 - Observação do comportamento do óleo de semente de abóbora como fluido Newtoniano, em que **a)** relação entre o shear stress (N/m²) e o shear rate (1/s) e **b)** medição da viscosidade (mPa.s) do óleo a diferentes shear rates (1/s).

3.4.2. PARÂMETROS QUÍMICOS

Os parâmetros químicos do óleo de semente de abóbora (índice de acidez, humidade e matéria volátil, índice de ésteres, índice de saponificação e índice de peróxidos) encontram-se no Quadro 3.7.

Quadro 3.7 – Dados obtidos na análise dos parâmetros químicos, realizada ao óleo de semente de abóbora.

Parâmetros Químicos	Óleo de semente de abóbora
Índice de acidez (mg KOH/ g)	0,982 ± 0,173
Humidade e matéria volátil (%)	0,165 ± 0,063
Índice de ésteres (mg KOH/ g)	172,928 ± 0,00
Índice de saponificação (mg KOH/ g)	173,91 ± 0,00
Índice de peróxidos (meq O ₂ / Kg)	19,008 ± 1,710

Média de três réplicas ± desvio padrão

Segundo o Codex Stan 210 (1999) o valor do índice de acidez do óleo de semente de abóbora encontra-se em conformidade, uma vez que este programa refere que os óleos extraídos a frio e óleos virgens, não devem apresentar um valor de acidez superior a 4 mg KOH/g. Também Kulkarni, *et al.* (2012) como Tsaknis, *et al.* (1997) registaram valores de acidez muito próximos, de 1 e $0,97 \pm 0,075$, respetivamente, por outro lado, observa-se que este óleo tem um índice de acidez superior ao referido por Alfawaz (2004) cujo obteve no óleo de semente de abóbora um valor de $0,53 \pm 0,25$ e por Younis, *et al.* (2000) que registou um valor de $0,66 \pm 0,20$.

Em termos de percentagem de humidade e matéria volátil, o Codex Stan 210 (1999) também refere que este deve assumir, no máximo, um valor de 0,2% (m/m) estando o óleo de semente de abóbora abaixo desse valor.

O índice de ésteres é menor que o obtido por El-Adawy, *et al.* (2000) uma vez que este autor registou valores de 203 mg KOH/g na análise de óleo de semente de abóbora e de 194 mg KOH/g em óleo de sementes de melancia.

Os autores Ardabili, *et al.* (2011) e Kulkarni, *et al.* (2012) registaram índices de saponificação superiores ao que foi observado neste estudo, de 190,69 e 191,4, respetivamente. Já Nwabanne (2012) obteve um valor de saponificação, para o óleo de semente de abóbora, de 162,69. O Codex Stan 210 (1999) apresenta, para óleos vegetais de diferentes origens, valores de saponificação que vão desde os 168 aos 265 mg KOH/g, tendo o óleo de abóbora, um índice de saponificação próximo dos limites inferiores.

O índice de peróxidos de $19,008 \pm 1,710$ é o mais discrepante de todos os valores encontrados por outros autores, que normalmente encontram no óleo de abóbora índices de peróxidos baixos, como $0,85 \pm 0,45$ (Alfawaz, 2004), $8,50 \pm 0,09$ (Schinas,

et al., 2008), sendo o valor mais elevado o de $10,85 \pm 0,62$, observado por Ardabili, *et al.* (2011). Tendo em consideração o fato que o limite máximo, previsto no Codex Stan 210 (1999) para óleos extraídos a frio e óleos virgens é, até 15 meq O₂/g, a análise do resultado obtido sugere que ocorreram reacções de oxidação no óleo, o que é mais propício e rápido, quando se verifica um grau de insaturação elevado, como o observado no óleo de semente de abóbora.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A redução de dimensões é uma etapa fundamental para a maximização da extração do óleo das sementes dos frutos. Entre as extrações com método de Soxhlet e com prensa, obtém-se maior rendimento em óleo (%) com o primeiro método, assim como se deve utilizar o *n*-hexano como escolha para solvente, pois para além de ser mais eficaz na extração, não é tóxico, tornando-o mais seguro e por isso mesmo, menos prejudicial.

As sementes de abóbora são as mais rentáveis em óleo, seguidas das sementes de tomate, pimento, uva e goiaba, tendo-se verificado estes resultados tanto na extração pelo método de Soxhlet com *n*-hexano, como na extração a frio com a prensa.

Na análise do perfil em ácidos gordos, foram detetados oito ácidos gordos nas amostras analisadas, sendo quatro deles saturados (C14:0, C16:0, C18:0 e C20:0), dois monoinsaturados (C16:1 e C18:1) e dois deles polinsaturados (C18:2 e C18:3).

Para todas as amostras de óleo de sementes analisadas, o ácido linoleico é o que tem maior percentagem molar sendo, por outro lado, o ácido palmitoleico o que apresenta menor percentagem molar.

Conclui-se finalmente que os óleos de semente de abóbora, tomate, pimento e uva poderão ser utilizados como alimentos funcionais, devido às suas propriedades, nomeadamente à sua composição rica em ácidos gordos insaturados.

Após o estudo realizado, no âmbito deste trabalho de mestrado, parece oportuno dar continuidade a esta linha de investigação, utilizando o óleo extraído de sementes de abóbora na bioprodução de lípidos estruturados. Lípidos estruturados são novos óleos e gorduras de elevado interesse nutricional e dietético, com aplicações nas áreas alimentar, farmacêutica e médica, que podem ser obtidos por processos enzimáticos, através da modificação da estrutura dos triacilgliceróis. Com efeito, Campos (2012) desenvolveu um trabalho de produção de triacilgliceróis do tipo MLM, contendo um ácido gordo de cadeia média (M) nas posições *sn*-1 e *sn*-3 e de um ácido gordo de cadeia longa (L) na posição *sn*-2, por acidólise de óleo extraído a partir de sementes de abóbora *Cucurbita maxima* com ácido cáprico (C10:0), catalisada por uma preparação comercial de lipase de *Thermomyces lanuginosa* (Lipozyme TL IM).

5. BIBLIOGRAFIA

- Alfawaz, M.A. (2004). Chemical composition and oil characteristics of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed kernels. *Food Science & Agriculture Research Centre*. **129**: 5-18
- Ardabili, A.G.; Farhoosh, R. e Khodaparast, M.H.H. (2011). Chemical composition and physicochemical properties of Pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* Subsp. *pepo* Var. *Styriaka*) grown in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*. **13**: 1053-1063.
- Arslan, D. e Özcan, M.M. (2010). Dehydration of red bell-pepper (*Capsicum annum* L.): change in drying behavior, colour and antioxidant content. *Food and Bioproducts Processing*. **89**: 504-513.
- Arvanitoyannis, I.S.; Ladas, D. e Mavromatis, A. (2006). Potential uses and applications of treated wine waste: a review. *International Journal of Food Science and Technology*. **41**: 475-487.
- Azevedo, A.C.A. (2012). Alterações no perfil metabólico e biológico de *Capsicum annum* L.: influência de bactérias promotoras do crescimento. Tese de Mestrado em Biotecnologia e Bioempreendedorismo de Plantas Aromáticas e Medicinais. Escola de Ciências – Universidade do Minho. 168 pp.
- Baxter, G.G.; Murphy, K. e Paech, A. (2012). The potencial to produce pumpkin seed for processing in North East Victoria. *Rural Industries Research and Development Corporation*. Australia.
- Baydar, G.N. e Akkurt, M. (2001). Oil content and oil quality properties of some grape seeds. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. **25**: 163-168.
- Baydar, G.N.; Ozkan, G. e Çetin, E.S. (2007). Characterization of grape seed and pomace oil extracts. *Grasas y Aceites*. **58**: 29-33.
- Belitz, H.-D.; Grosch, W. e Schieberle, P. (2004). *Food chemistry*. 3rd revised edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin.
- Botineştean, C.; Hădărugă, N.G.; Hădărugă, D.I. e Jianu, I. (2012). Fatty acids composition by gas chromatography – Mass spectrometry (GC-MS) and most important physical-chemicals parameters of tomato seed oil. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. **18**: 89-94.
- Braithwaite, A. e Smith F.J. (1985). *Chromatographic methods*. 4th edition. Chapman and Hall. New York.
- Brennan, J.G. (2006). *Food processing handbook*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA. Germany.
- Campos, V. Produção de lípidos estruturados por acidólise de óleo de semente de abóbora. Trabalho final de Mestrado em Tecnologia dos Alimentos. Instituto Superior de Engenharia - Universidade do Algarve, Faro. (Submetida em Setembro de 2012).
- Canbay, H.S. e Bardakçı, B. (2011). Determination of Fatty Acid, C, H, N and Trace Element Composition in Grape Seed by GC/MS, FTIR, Elemental Analyzer and ICP/OES. *SDU Journal of Science*. **6**: 140-148.

- Cantarelli, P.R.; Regitano-d'Arce, M.A.B. e Palma, E.R. (1993). *Scientia Agricola*. Piracicaba. **50**: 117-120
- Cert, A.; Wenceslao, M.; Camino, P. e Carmen, M. (2000). Methods of preparation of fatty acids methyl esters (FAME). Statistical assessment of the precision characteristics from a collaborative trial. *Grasas y Aceites*. **51**: 447-456.
- Christie, W.W. (1993). *Advances in lipid methodology – two*. The Oily Press.
- Christie, W.W. (1994). *Gas chromatography and lipids. A practical guide*. The Oily Press Ltd. Scotland.
- deMan, J.M. (1990). *Principles of food chemistry*. Third edition. Chapman & Hall, International Thomson Publishing.
- Djilas, S.; Čanadanovic-Brunet, J. e Ćetkovic, G. (2009). By-products of fruit processing as a source of phytochemicals. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*. **4**: 191-202.
- Dunford, N.T. (2012). *Food and industrial bioproducts and bioprocessing*. Wiley-Blackwell.
- Dutta, K.B. (2007). *Principles of mass transfer and separation processes*. Prentice-Hall. New Delhi.
- Earle, R.L. (1983). *Unit operations in food processing*. Pergamon Press. New York.
- El-Adawy, T.A. e Taha, K.M. (2000). Characteristics and composition of different seed oils and flours. *Food Chemistry*. **74**: 47-54
- Erickson, D.R. (1990). *Edible fats and oil processing: basic principles and modern practices*. American Oil Chemists Society.
- Erickson, M.C. e Hung, Y. (1997). *Quality in frozen food*. Chapman & Hall.
- FAO/WHO Food Standards Programme (1999). Codex Standard for Named Vegetable Oils. Codex Stan 210-1999.
- Fellows, P.J (2000). *Food Processing Technology. Principles and Practice*. Second edition. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- Fellows, P.J. (1990). *Food processing technology – Principles and practice*. Ellis Horwood Limited. England.
- Fennema, O.R. (1996). *Food chemistry*. 3rd edition. Marcel Dekker. New York.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database. Crop Production. (Acedido em 19 de Dezembro de 2012 em URL: <http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>).
- Fruhirth, G.O. e Hermetter, A. (2007). Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **109**: 1128-1140.
- Fruhirth, G.O. e Hermetter, A. (2008). Production technology and characteristics of Styrian pumpkin seed oil. Review article. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **110**: 637-644.

- Garret, H.R. e Grisham, C.M. (2012). *Biochemistry*. Fifth edition. Brooks/Cole, Cengage Learning. EUA.
- Giannelos, P.N.; Sxizas, S.; Lois, E.; Zannikos, F. e Anastopoulos, G. (2004). Physical, chemical and fuel related properties of tomato seed oil for evaluating its direct use in diesel engines. *Industrial Crops and Products*. **22**: 193-199.
- Gibson, G.R. e Williams, C.M. (2000). *Functional foods – Concept to product*. Woodhead Publishing Limited & CRC Press LLC.
- Hamilton, R.J. e Hamilton S. (1992). *Lipid analysis. A practical approach*. Oxford University Press Inc. New York.
- Hel-S, E. e Mokhtar, S.M. (2011). Chemical composition and nutritive value of lantana and sweet pepper seeds and nabak seed kernels. *Journal of Food Science*. **76**: 736-741.
- Jha, S.N. (2010). *Nondestructive evaluation of food quality – Theory and practice*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Karimian, H.; Nateghi, L. e Yousefi, M. (2012). Comparison of seed oil characteristics between two type of Shahrodi grape (red and Fakhri). *Advances in Environmental Biology*. **7**: 2126-2129
- Kazmi, A. (2012). *Advanced oil crop biorefineries*. Royal Society of Chemistry.
- Kim, S.; Park, J. e Hwang, I.K. (2002). Changes in FA composition and antioxidative activity of pigment extracts from korean red pepper powder (*Capsicum annuum L.*) due to processing conditions. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. **79**: 1267-1270.
- Kobori, C.N. e Jorge, N. (2005). Caraterização dos óleos de algumas sementes de fruta como aproveitamento de resíduos industriais. *Ciência e Agrotecnologia*. **29**: 1008-1014.
- Kreft, S. e Kreft, M. (2009). Quantification of dichromatism: a characteristic of color in transparente materials. *Journal of the Optical Society of America: Optics, Image Science and Vision*. **26**: 1576-1581
- Kulkarni, A.S.; More, V.I. e Khotpal R.R. (2012). Composition and lipid classes of orange, tomato and pumpkin seed oils of Vidarbha region of Maharashtra. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. **4**: 751-753.
- Lawson, H. (1995). *Oils and fats – Technology, utilization and nutrition*. Chapman & Hall.
- Lawson, H.W. (1985). *Standards for fats and oils*. Avi Publishing Company, Inc. A. L. J. Minor Foodservice Standards Series. Vol.5. Ohio.
- Lazos, E.S.; Tsaknis, J. e Bante, M. (1995). Changes in pumpkin seed oil during heating. *Grasas y Aceites*. **46**: 233-239
- Lazos, E.S.; Tsaknis, J. e Lalas, S. (1998). Characteristics and composition of tomato seed oil. *Grasas y Aceites*. **49**: 440-445.
- Luque-Rodriguez, J.M.; Castro, M.D.L. e Pérez-Juan, P. (2005). Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. *Talanta*. **68**: 126-130.

- Luthria, D.L. (2004). *Oil extraction and analysis. Critical issues and comparative studies*. AOCS Press.
- Mafra, A.P.S.; Martins, K.C.R.; Martins, L.S.P.; Costa, D.I.G. e Silva, L.E. (2009). Estudo da extração de óleo vegetal da semente de mamona. *IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica*, Belém, Brasil, 9-11 Dezembro 2009.
- Malhotra, V.K. (2012). *Biochemistry for students*. 12th edition. Jaypee Brothers Medical Publishers. New Delhi.
- Matthäus, B. e Özcan, M.M. (2009). Chemical evaluation of some paprika (*Capsicum annuum* L.) seed oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **110**: 637-644
- Mohamed, G.F.; Mohamed S.S. e Taha F.S. (2011). Antioxidant, antimicrobial, and anticarcinogenic properties of Egyptian guava seed extracts. *Nature and Science*. **9**: 32-41.
- Murkovic, M. e Pfannhauser, W. (2000). Stability of pumpkin seed oil. *European Journal of lipid science and technology*. **110**: 637-644.
- Nakavoua, A.H.W.; Mampouya, D.; Loumouamou, A.N.; Silou, T.; Chalard, P.; Guyot, G.; Verney, V., Figuéredo G. e Chalchat, J.C. (2011). Compared ageing of oil from Cucurbitea pepo in two different storage conditions. *Advanced Journal of Food Science and Technology*. **3**: 132-143.
- Naves, L.P.; Corrêa, A.D.; Abreu, C.M.P. e Santos, C.D. (2009). Nutrientes e propriedades funcionais em sementes de abóbora (*Cucurbita máxima*) submetidas a diferentes processamentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. **30**: 185-190.
- Nerantzis, E.T. e Tataridis, P. (2006). Integrated enology - utilization of winery wastes for the production of high added value products. *e-Journal of Science & Technology*. **1**: 79-89.
- Nicanor, A.B.; Moreno, A.O.; Ayala, A.L.M. e Ortiz, G.D. (2000). Guava seed protein isolate: functional and nutritional characterization. *Journal of Food Biochemistry*. **25**: 77-90.
- Nielzen, S.S. (2010). *Food Analysis*. Fourth edition. Springer Science + Business Media, LLC.
- Nunes, P.A. et al. (2011). Production of olive oil enriched with medium chain fatty acids catalyzed by commercial immobilized lipases. *Journal of Food Chemistry*. **127**: 993-998.
- Ochs, R.S. (2011). *Biochemistry*. Jones & Bartlett Learning. EUA.
- Pérez-Gálvez, A.; Garrido-Fernández, J.; Mínguez-Mosquera, M.I.; Lozano-Ruiz, M. e Montero-de-Espinosa, V. (1999). Fatty acid composition of two new pepper varieties (*Capsicum annuum* L. cv. Jaranda and Jariza). Effect of drying process and nutritional aspects. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. **76**: 205-208.
- Pertierra, A.G.; Rivera, J.M.T.; Gaitán, D.B.; Gutiérrez, C.V.; Oltras, C.M. e Rodrigo, J.R. (2006). *Fundamentos de bioquímica estrutural*. 2^a edição. Editorial Tébar. Madrid.

- Piombo, G.; Barouh, N.; Barea, B.; Boulanger, R.; Brat, P.; Pina, M. e Villeneuve, P. (2006). Characterization of the seed oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*). *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. **13**: 206-212.
- Popa, V.; Hădărugă, N.G.; Hădărugă, D.L. e Gruia, A.; Raba, D.; Moldovan, C. e Poiana, A. (2010). Fatty acids composition of some vegetable oils obtained in the west area of Romania. *Journal of Agroalimentary Processes and Technology*. **16**: 394-398.
- Ramalho, H.F. e Suarez, P.A.Z. (2012). A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. *Revista Virtual de Química*. **5**: 2-15
- Ramallo, L.A. e Mascheroni, R.H. (2012). Quality evaluation of pineapple fruit during drying process. *Food and Bioproducts Processing*. **90**: 275-283
- Sahin, S. e Samnu, S.G. (2006). *Physical properties of foods*. Springer Science + Business Media, LLC.
- Santos, C.X. (2011). Caracterização físico-química e análise da composição química da semente de goiaba oriunda de resíduos agroindustriais. Tese de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Brasil.
- Schinas, P.; Karavalakis, G.; Davaris, C.; Anastopoulos, G.; Karonis, D.; Zannikos, F.; Stournas, S. e Lois, E. (2008). Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil as an alternative feedstock for the production of biodiesel in Greece. *Biomass and Bioenergy*. **33**: 44-49
- Schmidl, M.K. e Labuza, T.P. (2000). *Essentials of functional foods*. Aspen Publishers, Inc.
- Serna-Saldivar, S.O. (2012). *Cereal grains – Laboratory reference and procedures manual*. Food Preservation Technology Series. Taylor & Francis Group, LLC.
- Shao D, Atungulu G.G, Pan Z, Yue T, Zhang A, Li X. (2012). Study of optimal extraction conditions for achieving high yield and antioxidant activity of tomato seed oil. *Journal of Food Science*. **77**: 202-8.
- Silva, L.M.M.; Sousa, F.C.; Feitosa, M.K.S.B.; Cruz, C.S.A. e Sousa, E.P. (2011). Qualidade físico-química de farinha da semente de abóbora desidratada em estufa a 40°C. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. **6**: 154-159.
- Silva, R.A. (2006). Comportamento do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) aos indutores de resistência à seca. Tese de Mestrado em Agronomia. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo. Piracicaba. 65 pp.
- Sinha, N.; Sidhu, J.; Barta, J.; Wu, J. e Cano, M.P. (2012). *Handbook of fruits and fruit processing*. Second edition. John Wiley & Sons, Ltd.
- Stevenson, D.G.; Eller, F.J.; Wang, L.; Jane, J. e Wang, T. (2007). Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **55**: 4005-4013.
- Taveira, M.; Silva, L.R.; Vale-Silva, L.A.; Pinto, E.; Valentão, P.; Ferreres, F.; Pinho, P. G. e Andrade, P.B. (2010). *Lycopersicon esculentum* seeds: An industrial

- byproduct as an antimicrobial agent. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **58**: 9529-9536.
- Thassitou, P.K. e Arvanitoyannis, I.S. (2001). Bioremediation: a novel approach to food waste management. *Trends in Food Science & Technology*. **12**: 185-196.
- This, P.; Lacombe, T. e Thomas, M.R. (2006). Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *TRENDS in Genetics*. **22**: 511-519.
- Toledo, R.T. (1999). *Fundamentals of food process engineering*. 2nd edition. Aspen Publishers, Inc. New York.
- Tsaknis, J.; Lalas, S. e Lazos, E.S. (1997). Characterization of crude and purified pumpkin seed oil. *Grasas y Aceites*. **48**: 267-272.
- Vaclavik, V.A. e Christian, E.W. (2008). *Essentials of food science*. 3rd Edition. Food Science Text Series. Springer Science + Business Media, LLC.
- Vázquez, S.N. (2007). Metabolismo lipídico, ácidos grasos en el cultivo larvário de almeja barbosa "*Venerupis pullastra*" (Montagu, 1803). Calidad ovocitaria, larvária y nutricional con una aproximación al uso de la microencapsulación lipídica. Tese de Doutoramento em Biologia. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Santiago de Compostela.
- Veronezi, C.M. e Jorge, N. (2010). Aproveitamento de sementes de abóbora (*Cucurbita sp*) como fonte alimentar. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*. **14**: 113-124.
- Wiesman, Z. (2009). *Desert olive oil cultivation - Advanced biotechnologies*. Academic Press, Elsevier.
- Wiseman, F.L. (1998). *Basic organic chemistry – A short course with applications*. McGraw-Hill, Inc.
- Younis, Y.M.H.; Ghirmay, S. e Al-Shihry S.S. (2000). African *Cucurbita pepo L.*: properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. *Phytochemistry*. **54**: 71-75.