

MARIANA GRAÇA TORRES

**CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO
DO ÓLEO EXTRAÍDO DA SEMENTE DE MAMÃO FORMOSA (*Carica
papaya L.*)**

**Dissertação apresentada ao Instituto
de Química, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em
Química.**

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro

ARARAQUARA

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

T689c	<p>Torres, Mariana Graça</p> <p>Caracterização e estudo do comportamento térmico do óleo extraído da semente de mamão formosa (<i>Carica papaya L.</i>). / Mariana Graça Torres. – Araraquara : [s.n], 2010 114 f. : il.</p> <p>Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: Clóvis Augusto Ribeiro</p> <p>1. Química analítica. 2. Óleo de mamão. 3. Extração por soxhlet. 4. Lecitina. I. Título.</p>
-------	--

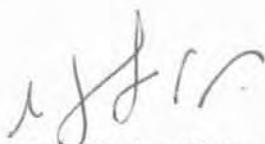
Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

MARIANA GRAÇA TORRES

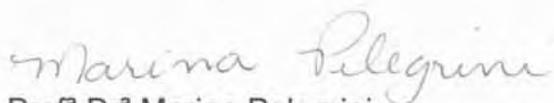
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 13 de agosto de 2010.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Profª Drª Marina Pelegrini
Divisão de Ensino da Academia da Força Aérea– AFA, Pirassununga



Profª Drª Roselena Faez
Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo

“AO MEU PAI NATALINO por ter sido sempre meu exemplo de dignidade e caráter, por acreditar em mim e ser o guia do meu trajeto”.

“A MINHA MÃE MARIA HELENA pelo exemplo de amor, perseverança e dedicação; estímulos necessários para seguir adiante”.

“A MINHA IRMÃ ARIANE, pelo carinho e atenção toda especial”.

Agradecimentos

À Deus, por todas as graças concedidas e pela proteção em todos os momentos;

Ao Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro, pela orientação, pelo inestimável apoio e pelos grandes ensinamentos;

À Prof. Dr. Marisa S. Crespi pelas colaborações para desenvolvimento do trabalho;

À Fapte e a Capes, pelas bolsas concedidas, a qual facilitou a realização dessa caminhada.

Aos colegas de laboratório do Grupo de Análise Térmica (AT), e do Grupo de Resíduo Sólidos e Contaminantes Orgânicos (GRESKO), pela colaboração na tese desenvolvida;

Aos meus familiares, pela compreensão e suporte durante todo o tempo;

Ao Anderson, por todo amor e atenção;

As amigas de república Paula, Josiane, Elaine, Fernanda, Micheli e Fernanda Martinelli, pela amizade incondicional;

Aos amigos das cidades de Catanduva/SP e de Valentim Gentil/SP por todo carinho e incentivo para finalizar esta etapa;

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

"A persistência é o sinônimo do êxito".

(Charles Chaplin)

"Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer!"

(Mahatma Gandhi)

"Nunca andes pelo caminho traçado, pois ele conduz somente aonde outros já foram."

(Alexander Graham Bell)

RESUMO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de mamão, porém as sementes da fruta são geralmente descartadas. A fim de fazer um uso mais eficiente do mamão, vale a pena investigar a utilização de suas sementes como fonte de óleo. Neste trabalho, vamos estudar o comportamento térmico e determinar as propriedades químicas e físico-químicas, através dos índices de acidez, iodo, saponificação e peróxido, do óleo extraído das sementes de mamão. A extração por Soxhlet, método clássico de extração de lipídeos com o uso sucessivo de solventes polares e apolares, foi eficiente, pois se obteve 25% de óleo de mamão. Essa extração também permitiu a obtenção de um subproduto atribuído como lecitina, que tem características espectroscópicas semelhantes à fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol. O óleo das sementes de mamão tem baixa acidez, índices de iodo, saponificação e peróxido adequados e comparáveis aos de outros óleos vegetais disponíveis no mercado, especialmente ao óleo de oliva extra virgem. A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas mostrou que os ácidos oléico e palmítico estão presentes em maior concentração no óleo de mamão, 52,88 e 30,40%, respectivamente, e o estudo do comportamento térmico realizado por técnicas de calorimetria exploratória diferencial, DSC convencional e DSC Modulado, mostraram transições de fase em intervalos de temperaturas similares entre as amostras de óleo de oliva extra virgem e óleo de mamão durante aquecimento e resfriamento.

Palavras chaves: óleo de mamão, Soxhlet, lecitina.

ABSTRACT

Brazil is the largest grower and exported of papayas, however the seeds of this fruits are generally discarded. In order to make a more efficient use of papaya, it is worth investigating the use of the seeds as a source of oil. In this work, we will study the thermo behavior and determine the chemical and physico-chemical properties (acids, iodine, saponification, peroxide values) from oil of papaya seeds. The Soxhlet extraction, the classical method of extraction of lipids with the use of successive polar and nonpolar solvents, was efficient, because we obtained 25% of oil from papaya. This extraction also allowed obtaining a byproduct assigned as lecithin, which has spectroscopic characteristics similar to phosphatidylethanolamine and the phosphatidylinositol. The oil from the seeds of papaya has low acidity, and iodine, saponification and peroxide values adequate and comparable to other commercially available vegetable oils, especially the extra virgin olive oil. The gas chromatography using mass spectrometry detector showed that oleic acid and palmitic acid are the fatty acids present in more concentration in the oil of papaya, 52.88 and 30.40%, respectively, and the study of thermal behavior by DSC and DSC Modulated showed phase transitions at similar intervals of temperatures between samples of extra virgin olive oil and oil of papaya upon heating and cooling.

Key words: oil of papaya, Soxhlet, lecithin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção de mamão no Brasil em 2007.	24
Figura 2 - Estrutura molecular do triglicerídeo formado por uma molécula de glicerol e três moléculas de ácido esteárico.	27
Figura 3 - Reação de esterificação do ácido palmítico com metanol catalisada pelo trifluoreto de boro.	33
Figura 4 - Fosfolipídeos, constituintes principais da lecitina.	33
Figura 5 - Sistema Soxhlet de extração.	39
Figura 6 - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.	42
Figura 7 - Óleo de mamão formosa: (A) extração com hexano; (B) extração com uso de três solventes, água, etanol e hexano, após secagem de sementes em estufas.	56
Figura 8 - Óleo de mamão formosa.	56
Figura 9 - Cromatograma qualitativo do óleo de mamão formosa.	67
Figura 10 - Cromatograma quantitativo do óleo de mamão formosa.	68
Figura 11 - Cromatograma quantitativo da mistura de padrões.	69
Figura 12 - (A) óleo extra virgem de oliva, (B) óleo de mamão formosa.	70
Figura 13 - Cromatograma quantitativo do óleo extra virgem de oliva.	71
Figura 14 - Curvas DSC para o óleo de mamão, resfriamento e aquecimento em atmosfera de N₂.	74

Figura 15 - Curvas DSC para o óleo extra virgem de oliva, resfriamento e aquecimento em atmosfera de N₂.	75
Figura 16 - Curvas DSC para o óleo de mamão formosa durante resfriamento de 25- 80°C.	77
Figura 17 - Curvas DSC para o óleo de mamão no resfriamento de 15 a -15°C, utilizando um artifício de resfriamento contínuo (DSC Modulado).	78
Figura 18 - Curvas DSC para o óleo de oliva no resfriamento de 15 a -15°C, utilizando um artifício de resfriamento contínuo (DSC Modulado).	79
Figura 19 - Curvas DSC para o óleo de mamão no resfriamento de 10 a -70°C.	80
Figura 20 - Curvas DSC para o óleo de mamão no aquecimento.	81
Figura 21 - Curvas DSC para o óleo de mamão sob aquecimento de -25 a 15°C.	83
Figura 22 - Curvas DSC para o óleo de mamão de 15 a -45°C/-45 a 15°C, $\beta=10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.	84
Figura 23 - Resfriamento e posterior aquecimento do óleo de soja.	85
Figura 24 - Resfriamento e posterior aquecimento do óleo de canola.	86
Figura 25 - Resfriamento e posterior aquecimento do óleo de milho.	86
Figura 26 - Resfriamento e posterior aquecimento do óleo de girassol.	87
Figura 27 - Curvas DSC correspondente ao resfriamento das amostras de óleo vegetais.	88
Figura 28 - Curvas DSC correspondente ao aquecimento das amostras de óleo vegetais.	88
Figura 29 - Lecitina de mamão formosa.	91

Figura 30 - Fosfolipídeos presente na lecinta. Hidrogênios numerados para identificação por RMN.	93
Figura 31 – Espectro de absorção na região do Infravermelho da lecitina de mamão.	95
Figura 32 - Curvas TG, DTG e DTA da lecitina de mamão em ar sintético.	96
Figura 33 - Curvas TG, DTG e DTA da lecitina de mamão em nitrogênio.	97
Figura 34 - Difratoograma de raios-X da lecitina de mamão formosa.	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valor nutricional em 100g de fruta.	26
Tabela 2 - Distribuição de ácidos graxos em óleos vegetais.	29
Tabela 3 - Ésteres metílicos utilizados na determinação quantitativa dos ácidos graxos totais.	47
Tabela 4 - Determinação do índice de acidez.	58
Tabela 5 - Determinação do índice de acidez após alteração do método de secagem e extração das sementes.	59
Tabela 6 - Determinação do índice de iodo.	60
Tabela 7 - Determinação do índice de iodo após alteração do método de secagem e extração das sementes.	61
Tabela 8 - Determinação do índice de peróxido.	62
Tabela 9 - Determinação do índice de saponificação.	63
Tabela 10 - Massas relativas ao teor de cinzas remanescentes.	64
Tabela 11 - Resumo das características físico-químicas do óleo de mamão formosa em relação a outros óleo vegetias.	65
Tabela 12 - Componentes presentes no óleo da semente de mamão formosa, através de cromatografia gasosa.	67
Tabela 13 - Resultado da composição em ácidos graxo totais do óleo da semente de mamão formosa.	69

Tabela 14 - Resultado da composição em ácidos graxos totais do óleo extra virgem de oliva.	71
Tabela 15 - Presença de ácidos graxos em amostras de óleos vegetais.	72
Tabela 16 - Dados de DSC obtidos durante resfriamento do óleo de mamão.	77
Tabela 17 - Dados de DSC obtidos durante aquecimento do óleo de mamão.	82
Tabela 18 - Dados de DSC obtidos durante resfriamento dos óleos vegetais, a $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera inerte de N_2.	89
Tabela 19 - Dados de DSC obtidos durante aquecimento dos óleos vegetais, a $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera inerte de N_2.	90
Tabela 20 - Deslocamentos químicos, ppm, dos grupos de átomos existentes no espectro de ^1H e para a lecitina de mamão e para o óleo de linhaça.	92
Tabela 21 - Fosfolipídeos presente na lecinta. Hidrogênios numerados para identificação por RMN.	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A absorbância

abs absorvido

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AR açúcares redutores

ASTM American Society for Testing and Materials

AT açúcares totais

BF₃ tri-fluoreto de boro

CDCl₃ clorofórmio deuterado

CG cromatografia gasosa

CH₃ grupo metila

cm⁻¹ centímetro inverso

COOH grupo carboxila

DSC calorimetria exploratória diferencial

DTA análise térmica diferencial

DTG termogravimetria derivada

FA ácido fosfórico

FC fosfatidilcolina

FE fosfatidiletanolamina

FI fosfatidilinositol

FS fosfatidilserina

IV infravermelho

KBr brometo de potássio

KOH hidróxido de potássio

min minutos

MS espectrometria de massas

N normalidade

NaOH hidróxido de sódio

PLE extração com fluido pressurizado

RMN ressonância magnética nuclear

T transmitância

t tempo

T_{on} temperatura onset

T_{off} temperatura offset

t_R tempo de retenção

°C grau Celsius

β razão de aquecimento

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO	20
---------------------	-----------

CAPÍTULO II - REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1 Classificação Científica	23
2.2 Origem e distribuição	23
2.3 O mamoeiro no território brasileiro	23
2.4 A colheita do mamão	25
2.5 Características e valor nutricional da fruta	25
2.6 Características de óleos e gorduras	27
2.7 Métodos empregados para extração de óleos	30
2.8 Técnicas empregadas para análise de óleos	32
2.9 Técnicas empregadas para análise de fosfolipídeos	33

CAPÍTULO III - OBJETIVOS

3 OBJETIVOS	36
3.1 Objetivo Geral	36
3.2 Objetivos Específicos	36

CAPÍTULO IV – PARTE EXPERIMENTAL

4 PARTE EXPERIMENTAL	38
4.1 Padrões e Reagentes	38
4.2 Preparação e Extração das Amostras	38
4.3 Caracterização do óleo proveniente da semente de mamão	39
4.3.1 Caracterização físico-química	40
4.3.1.1 Determinação do índice de acidez	40
4.3.1.2 Determinação do índice de iodo	41
4.3.1.3 Determinação do índice de peróxido	42
4.3.1.4 Determinação do índice de saponificação	44
4.3.1.5 Determinação do teor de cinzas	45
4.3.2 Determinação dos ácidos graxos totais por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS)	46
4.3.3 Estudo do comportamento térmico por calorimetria exploratória diferencial (DSC)	48
4.4 Caracterização da lecitina proveniente da semente de mamão	49
4.4.1 Ressonância magnética nuclear (RMN)	50
4.4.2 Espectrometria de absorção na região do infravermelho	50
4.4.3 Estudo do comportamento térmico por termogravimetria (TG)	51
4.4.4 Difractometria de raios-X	52

CAPÍTULO V – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1. Caracterização e estudo do comportamento térmico do óleo de mamão	57
5.1.1 Caracterização físico-química	57
5.1.1.1 Determinação do índice de acidez	57
5.1.1.2 Determinação do índice de iodo	60
5.1.1.3 Determinação do índice de peróxido	62
5.1.1.4 Determinação do índice de saponificação	63
5.1.1.5 Determinação do teor de cinzas	64
5.1.1.6 Comparação das características físico-química do óleo de mamão com outros óleo vegetais	64
5.1.2 Determinação dos ácidos graxos totais por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS)	66
5.1.2.1 Análise qualitativa	66
5.1.2.2 Análise quantitativa	68
5.1.3 Estudo do comportamento térmico por calorimetria exploratória diferencial (DSC)	74
5.1.3.1 Curvas de DSC para o óleo de mamão formosa durante resfriamento	76
5.1.3.2 Curvas de DSC para o óleo de mamão formosa durante aquecimento	81

5.1.3.3 Comparação do comportamento térmico do óleo de mamão com outros óleos vegetais	85
5.2 Caracterização da lecitina proveniente da semente de mamão	91
5.2.1 Espectros de RMN obtidos para a lecitina	91
5.2.2 Espectro de absorção na região do Infravermelho	95
5.2.3 Estudo do comportamento térmico por termogravimetria (TG)	96
5.2.4 Difractometria de raios-X para a lecitina de mamão formosa	98

CAPÍTULO VI - CONCLUSÕES E PROPOSTA PARA TRABALHOS FUTUROS

6 CONCLUSÃO E PROPOSTA PARA TRABALHOS FUTUROS	100
6.1 Conclusão Geral	100
6.2 Conclusões Específicas	100
6.2.1 Quanto ao preparo das amostras de óleo de mamão	100
6.2.2 Quanto ao método de análise do óleo de mamão	100
6.2.3 Quanto ao método de análise da lecitina	101
6.3 Proposta de trabalhos futuros	101
REFERÊNCIAS	102

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A importância dos óleos e gorduras no comércio mundial e para a nutrição humana é bem conhecida. O crescimento de diversos setores de consumo de óleos se deve à modificação dos hábitos alimentares, resultado de uma combinação de profundas mudanças sociais, econômicas e tecnológicas, associados ao grande desenvolvimento dos setores de restaurantes, sistemas de alimentação coletiva e alimentos de consumo imediato¹. Óleos e gorduras utilizados para fins comestíveis são de origem vegetal ou animal. Em comparação com os de origem animal, óleos e gorduras de origem vegetal apresentam maior proporção de ácidos graxos insaturados e satisfazem as necessidades alimentares dos ácidos graxos essenciais. Esta é a principal razão para a continuação da tendência de preparação de alimentos a partir de óleos vegetais e longe daqueles preparados a partir de gorduras animais². Óleos vegetais são importantes fontes de energia e de ácidos graxos essenciais (principalmente ácido linoléico – Ômega 6), além disso, são importantes também para o funcionamento do organismo humano, como veículos no transporte de vitaminas lipossolúveis³.

Mais de 100 variedades de plantas são conhecidas por terem sementes oleaginosas, mas poucos já foram comercializados. Atualmente, as principais fontes de óleo vegetal são sementes de plantas anuais, como canola, milho, amendoim, soja e girassol².

No presente trabalho pretende-se caracterizar e estudar o comportamento térmico do óleo proveniente da semente de mamão. O Brasil é o maior produtor e exportador de mamão, sendo que a maior plantação está localizada no estado do Espírito Santo e na região nordeste do país⁴. As sementes de mamão, que constituem cerca de 30-35% do fruto⁵, são geralmente descartadas, tanto no consumo doméstico como em indústrias alimentícias. A fim de fazer um uso mais eficiente da fruta, vale apenas a investigação e utilização de suas sementes como fonte de óleo⁶.

O mamão formosa, objeto de estudo deste trabalho, é um híbrido de origem chinesa, com peso de 0,800 g a 2,50 kg, polpa firme de cor amarela ou avermelhada, volumosa, doce com teor de açúcar mais elevado, cuja produção está acima de 70,0 toneladas por ano⁷. Suas sementes que correspondem 14,0% do peso do fruto podem ser utilizadas para extração de óleo para fins farmacêuticos,

com rendimentos industriais de 25,0%⁸. O sistema para extração do óleo de mamão é o sistema Soxhlet. Este extrator foi desenvolvido por Franz Von Soxhlet em 1879, e foi originalmente designado para a extração de lipídeos em materiais sólidos⁹. Na extração de óleos vegetais com solvente (Soxhlet), as sementes são extraídas com solventes apolares com ponto de ebulição de até 70°C, o aumento desta temperatura pode ser responsável pela formação de ácidos graxos livres, devido a quebra de ligações entre ácidos graxos e glicerol.

Os ácidos graxos livres também servem como parâmetros para o controle do processo de degradação dos óleos na estocagem de diferentes condições de temperatura, oxigenação, luz e na degradação de óleos para cozinhar ou fritar. O método padrão para a determinação de ácidos graxos livres em óleos é um procedimento titulométrico. Como alternativa, técnicas de extração e análise devem ser propostas para quantificar e qualificar a composição de ácidos graxos¹⁰, neste sentido usaremos a cromatografia gasosa para identificarmos esses compostos, aliada a esta técnica faremos o estudo do comportamento térmico do óleo de mamão formosa, que auxiliará no reconhecimento da estabilidade do óleo frente aquecimento e resfriamento.

Paralelamente ao estudo térmico e caracterização do óleo de mamão há a caracterização da lecitina, um dos subprodutos possíveis da extração do óleo pelo método de extração proposto. A lecitina é uma mistura de fosfolipídeos insolúveis em acetona, contendo principalmente a fosfatidilcolina e em menor quantidade outras substâncias (triglicérides, carboidratos, etc)¹¹.

CAPÍTULO II

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Classificação Científica

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophita

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Brassicales

Família: Caricaceae

Gênero: Carica

Espécie: C. Papaya

2.2 Origem e distribuição

Embora a área exata da origem seja desconhecida, o mamão é considerado nativo da América, mais para o sul do México e países vizinhos. Está registrado que as sementes foram levadas para o Panamá e, em seguida, à República Dominicana antes de 1525. Espanhóis levaram as sementes para as Filipinas em 1550, em seguida, as frutas se espalharam rapidamente para Malásia e Índia. A partir deste momento o mamão ficou conhecido em quase todas as regiões tropicais do velho mundo e nas ilhas do pacífico¹².

Em 1959, o mamão começou a ser comercializado em menor escala na região sul e central da Flórida. Atualmente, destacam-se com sucesso na produção e comércio o Hawaí, Malásia, África e América Latina¹².

2.3 O mamoeiro no território brasileiro

No Brasil a cultura do mamoeiro ficou caracterizada como migratória a partir da década de 1970 em função do “Mosaico Mamoeiro”, principal doença desta época sob condições brasileiras¹³.

Em 1966 existiam em São Paulo cerca de 3.500 hectares plantados com mamoeiro, 70% dos quais na região de Araraquara, resultando numa produção de aproximadamente 63.000 toneladas de frutos¹⁴.

Em 1967 os produtores tiveram suas lavouras arrasadas pelo “vírus mosaico”, fato que mudou a condição do estado de São Paulo de grande produtor para grande importador de mamão¹³. Hoje, a maior plantação de mamão está localizada no estado do Espírito Santo e na região nordeste do país, como pode ser observado na figura 1, sendo o Brasil considerado o maior produtor mundial da fruta¹⁵.

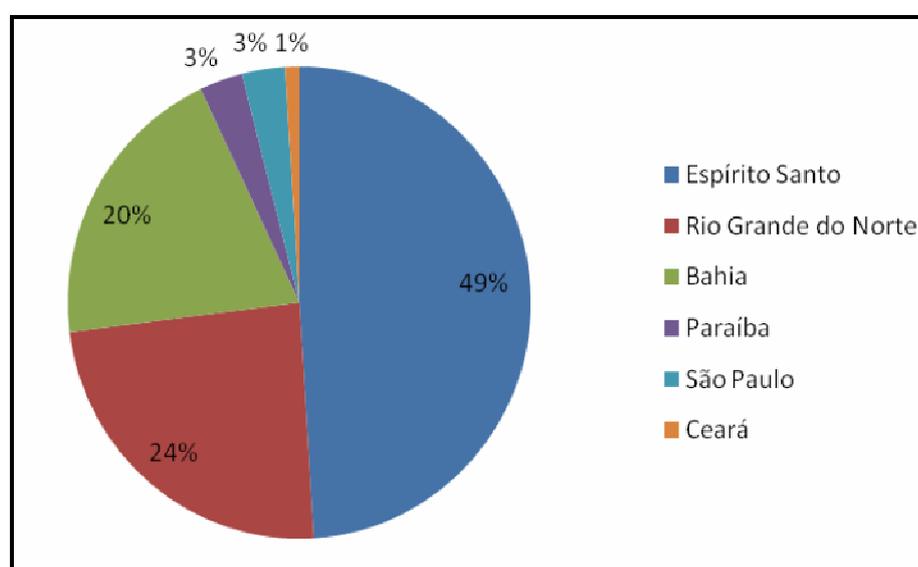


Figura 1 - Produção de mamão no Brasil em 2007.

Com uma extensão territorial de 8.512.965 km², o Brasil produz 43 milhões de toneladas de frutas tropicais, subtropicais e de clima temperado, proporcionando aos consumidores uma grande diversidade de frutas o ano inteiro, muitas delas exclusivas da região. Devido a estas características naturais o país se destaca internacionalmente como grande supridor de frutas frescas e processadas.

Em 2008, a exportação de mamão papaia foi de 29.967.964 kg, 7,12% a menos que 2007. Conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foram cultivados 34.973 hectares de pomares de mamão em 2007, com colheita de 1.811.535 toneladas¹⁵.

A produção nacional do mamão está baseada em dois grupos: o Formosa, que se destina principalmente ao mercado interno, e o Havaí, também conhecido como mamão papaia, tanto para o mercado interno como para o externo¹⁶.

O mamão é a terceira fruta consumida pelos brasileiros, sendo o consumo per capita pouco mais de 2 kg anuais, valor considerado ainda baixo para o mercado. O consumidor de maior poder aquisitivo opta pelo mamão Havaí, principalmente por suas características organolépticas e seu menor tamanho. Entretanto, o mamão Formosa é preferencialmente escolhido pelo público de menor renda, por custar entre 30-50% menos que o Havaí. Ressalta-se que a fruta é muito utilizada em hotéis, bares e lanchonetes, in natura ou para vitaminas e outros fins⁸.

2.4 A colheita do mamão

A colheita desempenha um dos papéis mais importantes na qualidade do fruto no mercado. A colheita do mamão é um processo contínuo e inicia-se a partir do oitavo mês após a semeadura. A planta apresenta ao longo de seu desenvolvimento frutos de maturidade fisiológica diferenciada, com flores e frutos em vários estágios de desenvolvimento. Em nosso país a maturação do mamão é realizada pela maioria dos produtores de forma empírica. A grande maioria dos produtores, no qual o destino da sua produção é o mercado interno, a seleção dos frutos é feita levando apenas em consideração o seu formato, tamanho e estágio de maturação.

O mamão, por ser um fruto altamente perecível, pode apresentar um alto nível de perda na fase pós-colheita, sendo este, atribuído principalmente a injúrias mecânicas, provenientes de atrito e/ou compressão, que ocorrem devido ao manuseio inadequado dos frutos, e do transporte⁸. Contudo, durante toda a vida do fruto ainda pertencente à planta mãe, todos os cuidados fitossanitários, principalmente, devem ser seguidos a rigor, para o perfeito funcionamento que em última análise proporcionarão a melhor comercialização do fruto.

2.5 Características e valor nutricional da fruta

O mamão é uma espécie tropical, muito sensível às geadas e limitada à região de 32°- 32° de latitude norte e sul. Precisa de chuvas abundantes e boa drenagem. Exposição breve ao frio, temperaturas próximas a -0,5°C pode ser prejudicial ao mamoeiro¹².

A fruta madura é mais comumente consumida fresca, sem sementes, cortada em fatias às vezes algumas sementes são reservadas para aqueles que apreciam o

seu sabor picante. A polpa é muitas vezes, cortada em forma de cubos e servida em salada de frutas. Os sucos podem ser preparados a partir dos frutos sem casca e podem ser vendidos frescos em garrafas¹².

O mamão é uma excelente fonte de β -caroteno, ácido ascórbico⁵, potássio, outros minerais e fibras. Além disso, contém papaína, uma importante enzima utilizada como suplemento digestivo eficiente¹⁷. Seu sabor doce é muito atrativo¹⁸ e a fruta pode ser de cor amarela esverdeada, amarela ou laranja quando madura⁵.

Os níveis de ácidos orgânicos no mamão é notavelmente baixo, sendo que o pH da polpa varia em torno de 4,5 a 6,0. Sua acidez titulável total varia de 0,05% a 0,18%. Também são destaques na composição química do mamão: açúcares totais (AT), de 5,60% a 12,00%; açúcares redutores (AR), de 5,40- 11,00%; pectina de 0,5% a 1,50%, e vitamina A de 0,12-11,0 mg por 100g de polpa¹⁹.

A tabela 1 mostra o valor nutricional da fruta¹².

Tabela 1 - Valor nutricional em 100g de fruta.

Mamão	
Calorias	23,1 - 25,8
Proteínas	85,9 - 92,6 g
Carboidratos	6,17 - 6,75 g
Fibras	0,500 - 1,30 g
Cálcio	12,9 - 40,8 mg
Fósforo	5,3 - 22,0 mg
Ferro	0,25 - 0,78 mg
Ácido Ascórbico	35,5 - 71,3 mg
Tiamina	0,0210 - 0,0360 mg
Riboflavina	0,024 - 0,058 mg
Niacina	0,227 - 0,555 mg

2.6 Características de óleos e gorduras

Os lipídeos formam um grupo de compostos cuja natureza química é extremamente variada, possuindo a propriedade de serem solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água. No organismo, de maneira geral, a gordura da dieta desempenha várias funções biológicas importantes, entre as quais, fornece e serve como forma de armazenamento de energia, proteção e estrutura celular. Por outro lado, compostos classificados como lipídeos atuam como mediadores da função celular²⁰.

Embora os lipídeos constituam significativa proporção dos requerimentos dietéticos de energia, essa não é a sua única função; servem como veículo para a mobilização das vitaminas lipossolúveis (A,D, E e K) e fornecem os ácidos graxos polinsaturados essenciais n-3 e n-6²¹. Eles são considerados essenciais porque não podem ser sintetizados no organismo devido à ausência das enzimas D12 e D15 dessaturase e, portanto devem ser fornecidos por meio da dieta²².

Os lipídeos são ingeridos em sua maior parte na forma de triglicerídeos, os quais compreendem uma molécula comum a todos chamada glicerol e três ácidos graxos ligados a ele. A composição desses ácidos graxos, portanto, é que caracteriza os triacilgliceróis²³, a figura 2 ilustra a formação de um triglicerídeo.

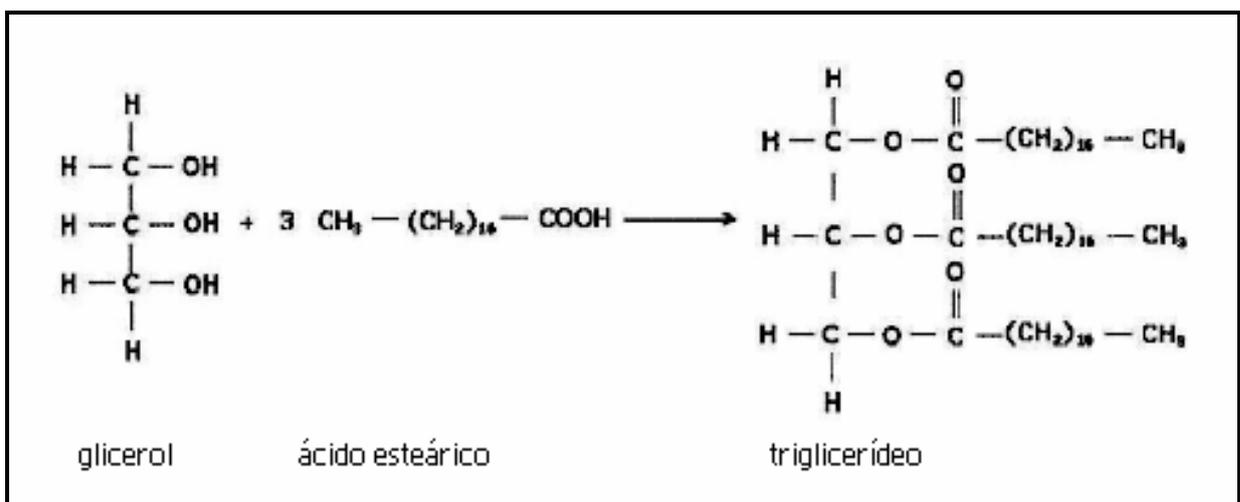


Figura 2 - Estrutura molecular do triglicerídeo formado por uma molécula de glicerol e três moléculas de ácido esteárico.

Os ácidos graxos apresentam, nas suas extremidades, grupamentos funcionais carboxila (COOH) e metil (CH₃) ligados a uma cadeia carbônica, podendo

variar de acordo com o número de insaturações (saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados) e com o comprimento da cadeia (curta, média e longa)²⁴. Mais de 95% dos óleos comestíveis são constituídos de triacilglicerídeos. Além de triacilglicerídeos, os óleos podem conter outros componentes, como: mono e diglicerídeos, ácidos graxos livres, tocoferol, esteróis e vitaminas lipossolúveis²⁵.

A variação no comprimento, número de insaturações e arranjo estrutural das cadeias carbônicas conferem aos ácidos graxos diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas, de maneira que o aproveitamento desses compostos pelo organismo está intimamente relacionado à sua estrutura²³.

Os ácidos graxos mais comuns nos alimentos consistem em um número par de átomos de carbono, variando de 12 a 22 carbonos, ainda que ácidos graxos mais curtos, mais compridos ou com um número ímpar de carbonos têm sido identificados em alimentos preparados²⁶.

Os ácidos graxos saturados se encontram, predominantemente, em alimentos de origem animal, como carne, ovos, queijo, leite e manteiga, e nos de origem vegetal, como óleos de coco e dendê, além dos produtos vegetais hidrogenados²⁶. Dentre os ácidos graxos saturados, o caprílico (C8:0) e o cáprico (C10:0) são encontrados no óleo de coco e dendê; o palmítico (C16:0) e o esteárico (C18:0) predominam nas gorduras²⁷.

O ácido oléico (C18:1) é o mais comum dos ácidos graxos monoinsaturados e se encontra na maioria das gorduras animais, incluindo aves, carne bovina e cordeiro, bem como em azeitonas, sementes e nozes²⁶.

Já os ácidos graxos poliinsaturados se classificam, funcionalmente, nas séries ômega 9 (n-9), ômega 6 (n-6) e ômega 3 (n-3) que se diferenciam pela posição da primeira dupla ligação contada a partir do grupo metílico terminal da cadeia do ácido graxo. O ácido linoléico (C18:2) é expoente da série (n-6) e está presente de forma abundante nos óleos vegetais como óleo de girassol, milho, soja, algodão, etc²⁶.

O ácido α -linolênico (C18:3, n-3), representante da família n-3, é encontrado em quantidades apreciáveis em sementes oleaginosas como canola, soja e linhaça²⁶. Contudo, tanto nos vegetais (algas, microalgas, fitoplancton), quanto nos animais de origem marinha, encontram-se outros ácidos graxos com maior número de carbonos e com maior quantidade de duplas ligações, que também pertencem à

série n-3, como o ácido eicosapentaenóico (C20:5) e o ácido docosaheptaenóico (C22:6)²².

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), considerando a necessidade de maior controle sanitário dos alimentos, fixou as características mínimas para assegurar a qualidade dos óleos e gorduras vegetais, baseada no teor dos ácidos graxos²⁸. A tabela 2 apresenta os principais ácidos graxos presentes nos óleos comercializados.

Tabela 2 - Distribuição de ácidos graxos em óleos vegetais²⁹.

Óleo	Composição em Ácido Graxo (% em massa)						
	Láurico C ₁₂ H ₂₄ O ₂	Mirístico C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Palmitico C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Estearico C ₁₈ H ₃₄ O ₂	Oléico C ₁₈ H ₃₂ O ₂	Linoléico C ₁₈ H ₃₀ O ₂	Linolênico C ₁₈ H ₂₈ O ₂
Algodão	-	1,50	22,0	5,00	19,0	50,0	-
Amendoim	-	0,500	6,00-11,4	3,00 – 6,00	42,3 – 61,0	13,0 – 33,5	-
Canola	-	<1,00	4,00	2,00	63,0	19,0	9,00
Milho	-	-	7,00	3,00	43,0	39,0	-
Girassol	-	-	3,60 – 6,50	1,30 – 3,00	14,0 – 43,0	44,0 – 68,0	-
Soja	-	-	2,30 – 11,0	2,40 – 6,00	23,5 – 31,0	49,0 – 51,5	2,00 - 10,5
Oliva	-	1,30	7,00 – 16,0	1,40 – 3,30	64,0 – 84,0	4,00 – 15,0	-

Kalayasiri et al.³⁰ estudou a composição de ácidos graxos e lipídeos totais em várias sementes incluindo as sementes de mamão. Os resultados mostraram que as sementes de mamão possuíam 48% de lipídeos totais, sendo 20,1% de ácidos graxos saturados, 76% de ácidos graxos monoinsaturados e 3,9% de ácidos graxos poliinsaturados. A composição de ácidos graxos no óleo de mamão foi similar para o óleo de oliva, sugerindo que o óleo de mamão traz grandes benefícios à saúde e possui propriedades antioxidantes³⁰.

Puangsri et al.¹⁸ determinou as propriedades físico-químicas do óleo extraído das sementes de *Carica papaya* L. por método enzimático e com solventes. A composição em ácidos graxos foi analisada por cromatografia gasosa¹⁸. O estudo de Singh mostrou que a composição em ácido graxo do óleo da semente de mamão é 0,4% de ácido láurico, 0,04% de ácido mirístico, 16,2% de ácido palmítico, 5,0% de ácido esteárico, 0,9% de ácido araquidônico, 1,6% de ácido docosanóico, 0,08% palmitoléico, 0,4% de ácido linoléico, sendo que o constituinte em maior concentração é o ácido oléico com 74,3%³¹.

2.7 Métodos empregados para extração de óleos

Os métodos tradicionais para a extração dos óleos a partir de sementes são a prensagem e a extração com solvente (Soxhlet) ou a combinação de ambos^{32, 33}. A extração por prensa mecânica realiza o esmagamento das sementes removendo parcialmente o óleo³³.

A metodologia descrita abaixo corresponde basicamente à metodologia empregada na produção de outros óleos vegetais já comercializados em larga escala e segue as seguintes etapas:

1. As sementes são submetidas à secagem para evitar rancificação, em um secador horizontal, que reduz o teor de umidade de 45% para 10%;
2. As sementes são previamente pulverizadas e aquecidas com o vapor e, posteriormente, extraída por prensagem mecânica;
3. O óleo bruto é refinado e neutralizado; em seguida é seco a vácuo e filtrado com terra diatomácea;
4. Finalmente o óleo filtrado é submetido à baixa temperatura, durante 48 horas (para separar os últimos traços de ceras e gomas). O óleo, após passar por este processo de desodorização, está pronto para ser comercializado³⁴.

Na extração de óleos vegetais com solvente (Soxhlet), as sementes são extraídas com solventes apolares com ponto de ebulição de até 70°C³³, e esta extração é realizada geralmente com hexano ou éter de petróleo, durante 20 horas¹⁰. Este equipamento utiliza refluxo de solvente em um processo intermitente. A eficiência desse método de extração depende da natureza do material a ser

extraído, da polaridade e quantidade de solvente, tamanho das partículas de amostra e a da circulação do solvente entre elas.

A extração com ultra-som não é comumente usada para extração de óleos vegetais, entretanto já existem relatos na literatura de seu uso³⁵. As vantagens do ultra-som estão na simplicidade do equipamento, na economia do custo inicial, na possibilidade de usar diferentes solventes para a extração, bem como diminuir o tempo necessário para realizá-las, além de apresentar uma boa reprodutibilidade³⁵⁻³⁶.

Atualmente outras técnicas de extração vêm sendo utilizadas como a extração com líquido pressurizado (PLE) e a extração com fluido supercrítico.

A extração com fluido pressurizado é um processo automatizado de extração de compostos orgânicos que pode ser aplicado a uma variedade de amostras sólidas e semi-sólidas. A PLE difere de um processo tradicional de extração porque utiliza solvente em elevada temperatura e pressão, as quais são aplicadas à célula de extração contendo uma quantidade de amostra conhecida, que é mantida aquecida durante todo o tempo de extração. Após a extração, o extrato é liberado através da passagem de gás inerte (N₂ ultra puro), e a amostra é lavada com uma quantidade definida do mesmo solvente usado na extração. O extrato e o líquido de lavagem são coletados em um frasco apropriado³⁷.

A técnica de extração com líquido pressurizado foi introduzida na prática analítica apenas em 1995. Desde então, a maioria das aplicações refere-se a amostras ambientais. A técnica também já foi aplicada em amostras de alimentos como laranjas, bananas e alimentos processados³⁷. Porém estudos obtidos com PLE mostram que as variáveis aplicadas ao processo de extração, temperatura e pressão, podem afetar o rendimento e as características do óleo³⁸.

O princípio de extração com fluido supercrítico aproveita as propriedades físicas no estado supercrítico. Como a densidade de um fluido supercrítico é de 100 a 1000 vezes maior que a de um gás, comparável à de um líquido, as interações moleculares nele podem ser fortes, permitindo diminuir suas distâncias intermoleculares oferecendo, portanto, maior capacidade de solvatação para várias substâncias químicas. Por conta da semelhança entre a viscosidade dos fluidos supercríticos e a dos gases, e por seu coeficiente de difusão ser maior que o dos líquidos, a extração das substâncias, mediante este processo, é muito facilitada. O desenvolvimento de equipamentos comerciais e de pesquisa, envolvendo a extração

com fluido supercrítico, tem crescido continuamente. Como exemplo, temos o uso deste método de extração aplicado à extração de óleo proveniente da semente de uva³⁹, com óleo de soja^{40,41} e girassol⁴² e extração do óleo de atum⁴².

2.8 Técnicas empregadas para análise de óleos

As técnicas de análises cromatográficas e espectroscópicas são utilizadas para identificar, caracterizar e quantificar os analitos presentes nas amostras de óleos vegetais.

As principais técnicas utilizadas são a cromatografia gasosa e líquida e técnicas espectroscópicas como: ultravioleta visível, ressonância magnética nuclear, infravermelho e espectrometria de massas^{43, 44}.

Os analitos de baixa massa molecular que apresentam pontos de ebulição inferiores a 300 °C são analisados por cromatografia gasosa. Porém, compostos com massa molecular elevada ou que apresentam sensibilidade a altas temperaturas devem ser analisados por cromatografia líquida^{43, 45}.

Neste trabalho usaremos a cromatografia gasosa aliada a derivatização para a identificação e quantificação dos ácidos graxos presentes no óleo de mamão formosa. O termo derivatização refere-se, em cromatografia, à transformação de um composto químico em outro com o intuito de obter-se uma análise mais rápida, ou conveniente. O novo composto formado geralmente apresenta uma ou mais das seguintes vantagens em relação ao composto de partida: é mais fácil de ser extraído ou analisado, ou pode ser medido com maior sensibilidade ou exatidão, ou ser mais facilmente separado de interferentes⁴⁶.

Existem diferentes procedimentos para se realizar uma derivatização^{47,48} sendo que o mais utilizado em amostras que contém ácidos graxos é a metilação usando BF_3 em solução de metanol, que substitui o hidrogênio reativo pelo grupo metila ($-\text{CH}_3$) como na figura 3^{49, 50,51}.

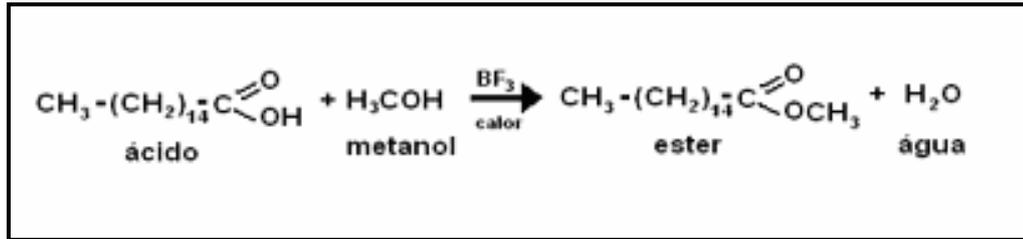


Figura 3 - Reação de esterificação do ácido palmítico com metanol catalisada pelo trifluoreto de boro.

2.9 Técnicas empregadas para análise de fosfolipídeos

A lecitina é uma mistura de fosfolipídeos insolúveis em acetona, contendo principalmente fosfatidilcolina (FC), fosfatidiletanolamina (FE), fosfatidilserina (FS), fosfatidilinositol (FI), cuja estruturas moleculares encontram-se na figura 4, e compostos secundários como ácido fosfórico (FA), e outras substâncias (triglicerídeos, carboidratos, etc.).

É amplamente utilizada na alimentação, em indústrias farmacêutica e de cosméticos¹¹. O percentual de distribuição de produtos de lecitina entre os diversos setores são: margarina, 25-30%; panificação, chocolate e sorvete, 25-30%, os produtos técnicos, 10-20%, cosméticos, 3-5%, e produtos farmacêuticos, de 3%⁵².

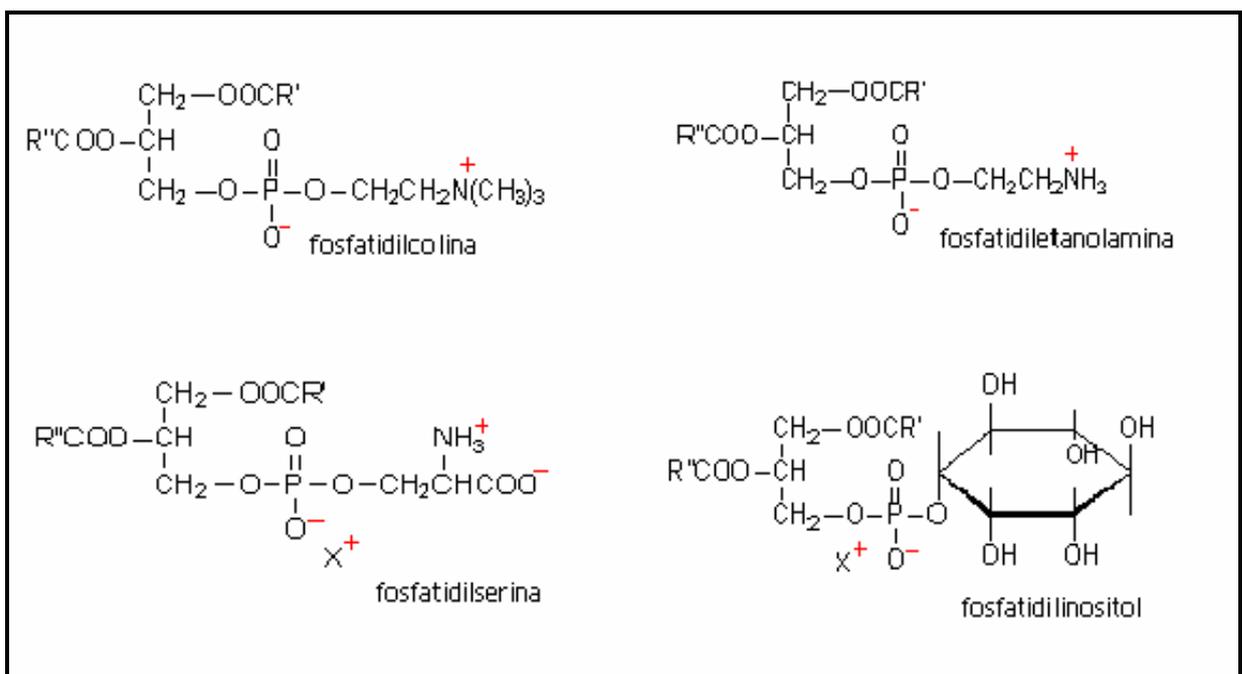


Figura 4 - Fosfolipídeos, constituintes principais da lecitina.

A lecitina tem várias funções no organismo. Especialmente, como suplemento de colina para o corpo. Colina é um cofator da produção de hormônio acetilcolina, neurotransmissor que ativa a contração muscular. A lecitina também, é fonte de ômega 3 e ácidos graxos essenciais. A terceira função da lecitina é como agente emulsificante no sistema digestivo, e são adicionadas aos alimentos como emulsificantes e estabilizantes⁵³.

Os métodos para a preparação de lecitina são variados, e normalmente envolvem extração e purificação⁵⁴. A lecitina tem sido empregada em vários propósitos ao longo das última décadas e seu método de preparação têm sido continuamente adaptado para suprir a demanda dos mercados interno e externo. Contudo, tornou-se necessário o surgimento de novas fontes fornecedoras de lecitina com grau de pureza elevado e baixo custo. Sendo assim, utilizou-se os resíduos industriais de óleo de soja, que antes eram considerados rejeitos, como incremento rico e barato de fosfolipídeos. A lecitina de soja contém, além da FC, outros fosfolipídeos importantes, como a fosfatidiletanolamina e o fosfatidilinositol, porém para determinadas aplicações esses produtos requerem graus de pureza específicos⁵⁵.

Mertins et *al.* determinou a pureza da fosfatidilcolina de soja através do espectro de ^1H e ^{31}P produzidos por ressonância magnética nuclear⁵⁵. Maximiano et *al.* estudou um método conveniente para purificação de lecitina da gema de ovos, empregando técnicas de extração com solventes, purificação e análise do produto final por espectrometria de massas⁵⁴.

Teberikler et *al.* extraiu a fosfatidilcolina da lecitina de soja por extração com fluido supercrítico⁵⁶ (extração seletiva da fosfatidilcolina). Martín-Hernández et al ⁵³ caracterizaram e quantificaram as proteínas de lecitina de soja por diferentes métodos. O comportamento térmico da lecitina foi estudado por TG e DSC no trabalho de Szécsényi et *al.*⁵⁷.

Neste sentido, é de grande importância a avaliação do subproduto da extração do óleo da semente de mamão, para identificação e atribuição como lecitina, por diferentes técnicas espectroscópicas e estudo do seu comportamento térmico por termogravimetria.

CAPÍTULO III

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Estudo do comportamento térmico e caracterização do óleo proveniente da semente de mamão formosa, *Carica papaya L*;
- Caracterização do subproduto de extração atribuído como lecitina, e identificação dos possíveis fosfolipídeos presentes.

3.2 Objetivos Específicos

- Extração do óleo de mamão formosa por Soxhlet, fazendo o uso de diferentes solventes;
- Estudo da composição físico-química do óleo extraído, através da comparação dos resultados obtidos dos índices de acidez, iodo, peróxido e saponificação com de outros óleos vegetais. Assim como a determinação do teor de cinzas;
- Identificação e quantificação dos ácidos graxos totais presentes no óleo de mamão;
- Estudo do comportamento térmico do óleo por técnicas de calorimetria exploratória diferencial (DSC e DSC Modulado);
- Caracterização da lecitina de mamão por ressonância magnética nuclear, RMN, e por espectrometria de absorção na região do infravermelho, IV. Assim como a determinação do seu comportamento térmico por termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA).

CAPÍTULO IV

PARTE EXPERIMENTAL

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Padrões e Reagentes

Os padrões para a análise quantitativa foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich, sendo que cada padrão apresentava sua pureza especificada, o derivatizante (solução metanólica BF_3 a 14%) também foi adquirido desta mesma empresa. Os demais solventes utilizados como hexano, heptano e etanol foram comprados da Mallinckrodt Chemicals, Merck e JT Baker, respectivamente.

4.2 Preparação e Extração das Amostras

Inicialmente as sementes de mamão eram retiradas do fruto e levadas ao sol para secagem, levando aproximadamente 30 dias para total secagem. Após este período, as sementes eram trituradas e em seguida levadas ao sistema de extração com solventes.

O sistema Soxhlet de extração foi o escolhido para o desenvolvimento desse trabalho, devido a disponibilidade e rendimento final satisfatório. A escolha do solvente hexano usado na extração advem da facilidade de dissolução da substância e da facilidade com que se pode isolar o soluto extraído, isto é, do baixo ponto de ebulição do solvente para sua posterior evaporação. Sendo o ponto de fusão do hexano -95°C e o ponto de ebulição 69°C .

Neste método de extração, as sementes secas, moídas em pequenas partículas são envoltas por papel de filtro. Este filtro é colcado na câmara de extração que está suspensa acima do balão contendo o solvente e abaixo de um condensador. O balão é aquecido e evapora o solvente que se move na fase gasosa em direção ao condensador onde é convertido em um líquido que goteja no filtro contendo a amostra. A câmara de extração é projetada de modo que quando o solvente em torno da amostra for superior a altura máxima do sifão, o líquido transborda para o balão onde é aquecido, e novamente evapora, completando um ciclo.

A figura 5, nos permite visualizar o extrator Soxhet, sendo que à direita da figura há a extração do óleo da semente de mamão formosa.

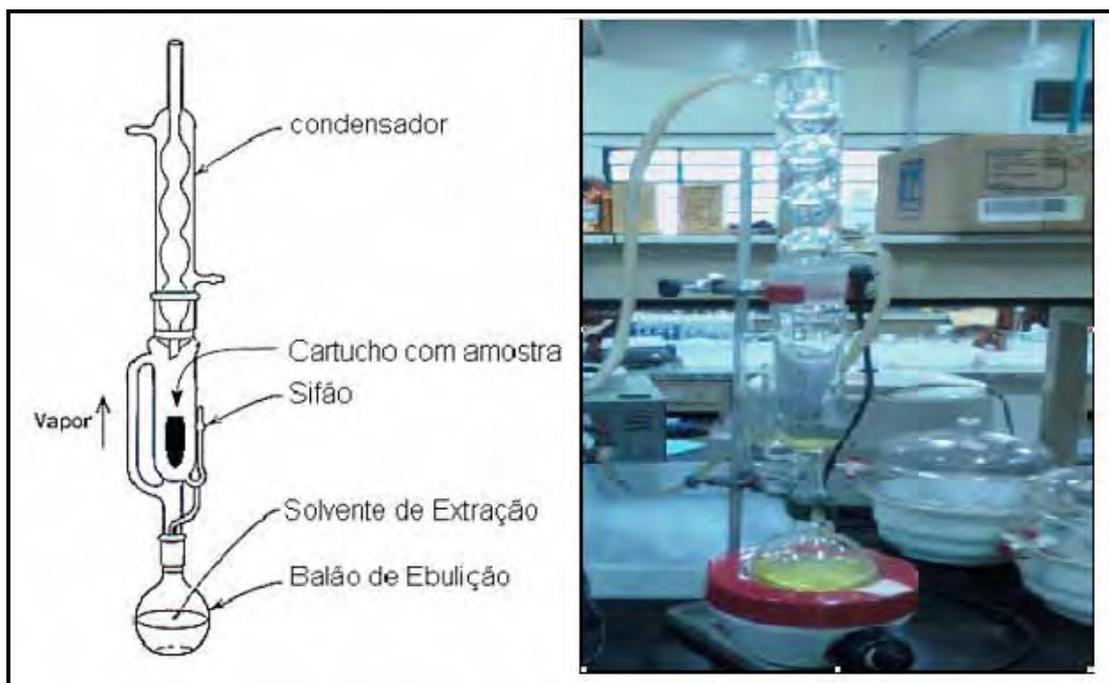


Figura 5 - Sistema Soxhlet de extração.

No final do processo de extração o solvente é retirado antes de atingir a altura máxima do sifão e o óleo é concentrado no balão.

4.3 Caracterização do óleo proveniente da semente de mamão

Primeiramente, o óleo extraído da semente de mamão formosa foi analisado de acordo com seus índices de acidez, iodo, saponificação, peróxido e teor de cinzas de acordo com metodologia do Instituto Adolfo Lutz⁵⁸. Estas determinações permitem avaliar melhor a qualidade do produto e potencialidade de aplicação.

A cromatografia gasosa acoplada ao detector de espectrometria de massas (CG/MS) auxiliou a identificação e quantificação dos compostos presentes na amostra de óleo. Aliada a esta técnica o estudo do comportamento térmico do óleo de mamão torna-se necessário para avaliação da sua estabilidade e determinação das suas transições de fases em temperaturas pré-determinadas.

4.3.1 Caracterização físico-química

As determinações feitas para análise de óleos e gorduras são geralmente as dos chamados índices, estes são expressões de suas propriedades físicas ou químicas e não são as porcentagens dos seus constituintes. São estes índices que servem para identificação e avaliação da maioria dos óleos e gorduras⁵⁸. Assim, são determinados os índices de acidez, iodo, saponificação e peróxidos, e determinado o teor de cinzas para o óleo de mamão formosa.

Vale destacar que as metodologias descritas utilizam termos não usuais, como normalidade (N) e miliequivalente (meq), mas que são apresentados neste trabalho por ser tratar de procedimentos analíticos de normas oficiais de análise.

4.3.1.1 Determinação do índice de acidez

O índice de acidez é definido como a quantidade em mg de hidróxido de potássio/sódio necessária para neutralizar os ácidos graxos livres de 1g da amostra de óleo em análise.

A determinação da acidez pode fornecer um dado importante na avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio.

A decomposição dos glicerídios é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez quase sempre é acompanhada pela formação de ácidos graxos livres. Estes são freqüentemente expressos em termos de índice de acidez ou em g do componente ácido principal, geralmente o ácido oléico. Os regulamentos técnicos costumam adotar esta última forma de expressão da acidez.

Procedimento: Em erlenmeyer de 125 mL pesou-se 2,00 g do óleo extraído, adicionou-se 25,0 mL da solução neutra de éter-álcool (2 + 1). Agitou-se a solução e adicionaram-se 2 gotas de indicador fenolftaleína. Posteriormente a solução foi titulada com hidróxido de sódio padronizada até que fosse observada a aparição de uma coloração rósea. O volume foi anotado a fim de calcular o índice de acidez correspondente.

O cálculo para índice de acidez, como foi mencionado na descrição do método, pode ser apresentado da seguintes maneiras:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{V \times f \times 5,61}{P}$$

$$\text{Ácido oléico (\%)} = \frac{V \times f \times 100 \times 0,0282}{P}$$

Onde:

V = número de mL de solução de NaOH gasto na titulação;

f = fator de correção do NaOH;

P = massa em gramas da amostra;

4.3.1.2 Determinação do índice de iodo

Este método destina-se à determinação do valor de iodo presente em gorduras e óleos que não contenham ligações duplas conjugadas. O valor de iodo é a medida da insaturação de gorduras e óleos, e é expresso em termos do número de gramas de iodo absorvido por 100 g de amostra.

Para cada óleo existe um intervalo característico do valor do índice do iodo, este também será relacionado com o método empregado na sua determinação. Geralmente, este índice é determinado pelo método de Wijs, este é utilizado em laboratórios oficiais de vários países, e será o método utilizado para a determinação do índice de iodo neste trabalho⁵⁸.

Procedimento: A amostra foi pesada em um erlenmeyer 250 mL. Adicionou-se 20,0 mL de clorofórmio e 25,0 mL da solução de Wijs. O sistema foi deixado em repouso durante 30 minutos ao abrigo da luz. Em seguida foram adicionadas 20,0 mL de iodeto de potássio e 100 mL de água destilada. Sob agitação mecânica efetuou-se uma titulação comum, utilizando como titulante tiosulfato de sódio. Ao observar o aparecimento de uma coloração amarelada, adicionou-se 1,00 mL da solução de amido e deu-se continuidade a titulação, até que houvesse o desaparecimento total da coloração azul. O volume do titulante foi anotado a fim de calcular o índice de iodo correspondente.

O cálculo do índice de iodo é realizado da seguinte forma:

$$\text{Índice de iodo} = \frac{12,69 \times N \times (B - S)}{\text{peso da amostra}}$$

Onde:

B = Volume (mL) de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gasto na titulação do branco;

S = Volume (mL) de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gasto na titulação da amostra;

N = normalidade da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

4.3.1.3 Determinação do índice de peróxido

Este método é indicador do grau de oxidação de óleo ou gordura.

A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis tornando os alimentos impróprios para consumo, além de também provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos. Os lipídeos podem ser oxidados por diferentes caminhos: reações hidrolíticas, oxidação enzimática, fotoxidação e autooxidação.

A autooxidação é o principal mecanismo de oxidação de óleos e gorduras. Farmer et al.⁵⁹ propuseram uma sequência de reações interrelacionadas para explicar o processo de autooxidação dos lipídeos demonstrada na figura 6.

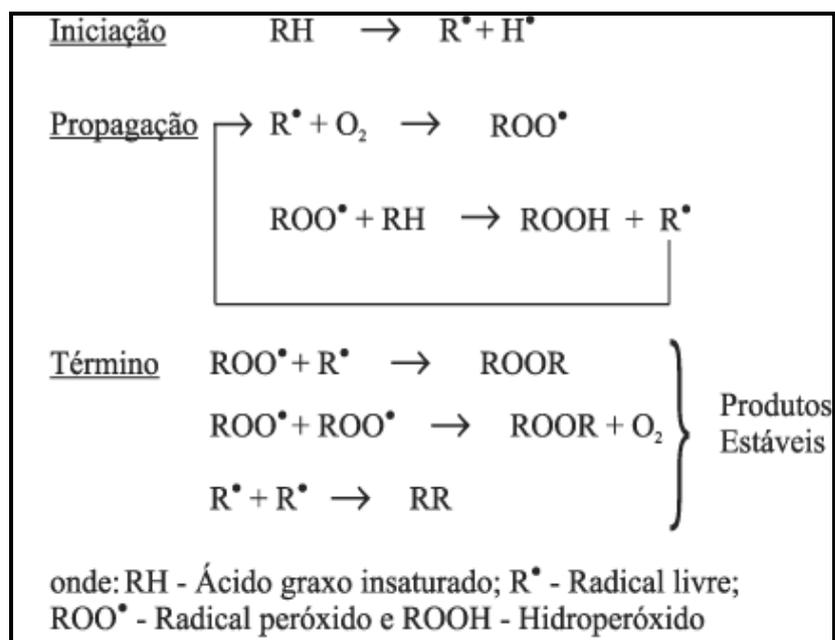


Figura 6 - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.

Como pode ser observado, a autoxidação dos lipídeos está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas:

- Iniciação – ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor.
- Propagação – os radicais livres que são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico, são convertidos em outros radicais, aparecendo os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico.
- Término – dois radicais combinam-se, com a formação de produtos estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis).

Para evitar a autoxidação de óleos e gorduras há a necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de energia, temperatura e luz, que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres, evitando a presença de traços de metais no óleo, o contato com oxigênio e bloquear a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídios⁶⁰.

Procedimento: Pesou-se 2 g de amostra em um erlenmeyer de 250 mL com tampa esmerilhada, conduzindo paralelamente o branco. Adicionou-se 30,0 mL de uma mistura de ácido acético + clorofórmio (3:2) e agitou-se até a dissolução completa da amostra. Adicionou-se 0,500 mL de solução saturada de iodeto de potássio e deixou-se em repouso ao abrigo da luz por um minuto. Em seguida adicionou-se 30,0 mL de água destilada e previamente fervida, titulou-se com solução de tiosulfato de sódio 0,0100 N até observar o quase desaparecimento da coloração amarela, adicionou-se 0,500 mL da solução de amido e deu-se continuidade a titulação, até que houvesse o desaparecimento total da coloração azul. O volume de titulante foi anotado a fim de calcular o índice de peróxido correspondente.

Cálculo para o índice de peróxido:

$$\text{Índice de peróxido} = \frac{(S - B) \times N \times f \times 1000}{\text{peso da amostra}}$$

Onde:

S = Volume de Na₂S₂O₃ (mL) gasto na titulação da amostra;

B = Volume de Na₂S₂O₃ (mL) gasto na titulação do branco;

N = Normalidade da solução de Na₂S₂O₃ (0,0100N);

f = fator de correção da solução de Na₂S₂O₃.

4.3.1.4 Determinação do índice de saponificação

Este método é aplicável a todos os óleos e gorduras e expressa o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar um grama de amostra. É inversamente proporcional ao peso molecular médio dos ácidos graxos dos glicerídeos presentes. É importante para demonstrar a presença de óleos ou gorduras de alta proporção de ácidos graxos de baixo peso molecular em mistura com outros óleos e gorduras.

Procedimento: Pesou-se 4,00 g de amostra, com uma pipeta adicionou-se 50,0 mL da solução alcoólica de hidróxido de sódio, conduziu-se o procedimento analítico para o branco simultâneo com a amostra. O erlenmeyer foi conectado ao condensador e a solução foi suavemente fervida, de forma constante por 1 hora (tempo para que a amostra fosse completamente saponificada). Desligou-se o sistema e esperou-se que o mesmo resfriasse, lavou-se então o interior de baixo do condensador com um pouco de água destilada afim de não perder amostra. O erlenmeyer foi desconectado do condensador, adicionou-se 1,00 mL de fenolftaleína, e deu-se início a titulação da solução com HCl 0,500 N até o desaparecimento da cor rosa.

Cálculo para o índice de saponificação:

$$\text{Índice de saponificação} = \frac{(B - S) \times f \times 28,05}{\text{peso da amostra}}$$

Onde:

S = Volume de HCl (mL) gasto na titulação da amostra;

B = Volume de HCl (mL) gasto na titulação do branco (55,4 ml);

f = fator de correção da solução de HCl.

4.3.1.5 Determinação do teor de cinzas

O método utilizado foi o ASTM E1755-01⁶¹, o qual é expresso em percentagem da massa seca do resíduo remanescente após a oxidação em $575 \pm 25^\circ \text{C}$. É empregado a madeiras duras e macias, matérias herbáceas, resíduos agrícolas, bem como a fração de fermentação resíduos sólidos. Fundamenta-se na perda de peso que ocorre quando o produto é incinerado com destruição da matéria orgânica sem apreciável decomposição dos constituintes do resíduo mineral ou perda por volatilização.

Procedimento: Tanto a amostra quanto o cadinho eram tratados em mufla (a amostra a 105°C e o cadinho a $575 \pm 25^\circ \text{C}$) por 3 horas, posteriormente eram colocados em um dessecador para que resfriassem a temperatura ambiente e por fim eram pesados. O mesmo procedimento era realizado, porém o tempo de mufla era de 1 hora, a repetição ocorria até que a massa obtida permanecesse constante, ou seja, variação menor que 0,3 mg. Este valor era então anotado e ambos estavam prontos para que o processo fosse iniciado.

Colocava-se então de 0,50 a 1,00g de amostra no cadinho, o sistema era levado a mufla por 3 horas a $575 \pm 25^\circ \text{C}$, resfriado em dessecador, pesado e submetido ao mesmo processo, porém agora com período de 1 hora na mufla, quando a massa obtida tivesse variação de menor que 0,3 mg, era considerada constante e o valor era anotado para que os cálculos pudessem ser realizados.

Cálculo para o teor de cinzas:

$$\%ash = \frac{m_{ash} - m_{cont}}{m_{od} - m_{cont}} \times 100$$

Onde:

% ash = percentagem da massa de cinzas, com base na amostra seca (forno a 105°C);

m_{ash} = massa (g) final do cadinho contendo as cinzas (após a incineração);

m_{cont} = massa (g) do cadinho preparado (antes de adicionar a amostra);

m_{od} = massa (g) inicial do cadinho contendo amostra.

4.3.2 Determinação dos ácidos graxos totais por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS)

Compostos voláteis podem ser separados pela cromatografia com gás, em que a fase móvel é, usualmente, um gás relativamente não-reativo, como hélio, nitrogênio ou hidrogênio. Os princípios são os mesmos da cromatografia líquida, mas o resultado é apresentado freqüentemente como um cromatograma, e não uma série de amostras eluídas. O cromatograma mostra quando cada componente está presente. A identidade do soluto que produz cada pico pode ser determinada comparando-se sua posição contra uma base de dados de compostos conhecidos.

O cromatógrafo a gás acoplado à espectrometria de massas, produz um espectro de massas de cada componente, bem como suas massas e posições no cromatograma. Um feixe de íons bombardeia cada composto quando sai do cromatógrafo. O composto se quebra em íons de diferentes massas e fornece um conjunto de picos estreitos ao invés de um só pico por composto. A quantidade relativa de cada fragmento é determinada e usada para ajudar a identificar o composto⁶⁷.

Técnicas de extração e análise propostas para quantificar e qualificar a composição de ácidos graxos em lipídeos, muitas vezes, apresentam necessidade de derivatizar os ácidos graxos livres⁶².

Neste trabalho, para a análise dos ácidos graxos totais presentes no óleo da semente de mamão foi necessária a saponificação e posterior reação de esterificação. A reação de saponificação baseia-se na quebra da molécula de triacilglicerol, formando glicerol e sais de metais alcalinos. Ao mesmo tempo, que esse procedimento está acontecendo também ocorre a reação de derivatização com a solução metanólica de BF_3 14%, este derivatizante provoca o deslocamento do metal alcalino pela metila do metanol presente no meio reacional, como descrito na seção 2.8.

O procedimento utilizado para qualificação e quantificação dos ácidos graxos do óleo de mamão foi baseado no método de Hermann para a esterificação com álcool metílico, também usado para avaliação dos ácidos graxos em óleo proveniente da semente de uva⁶³. Pesou-se 100 mg de óleo em um erlenmeyer de 100 mL e adicionou-se 5 ml de solução metanólica $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH. A seguir acoplou-se ao erlenmeyer um condensador e deixou o sistema em refluxo por 10 minutos em ebulição. Então foram adicionados 3mL de solução de tri-fluoreto de

boro 14 % em metanol. A mistura permaneceu em ebulição por dois minutos, em chapa de aquecimento com agitação, sendo então adicionados 5mL de heptano. Após 1 minuto de reação a solução foi resfriada naturalmente e recebeu pela parte superior do condensador 5 mL de solução saturada de cloreto de sódio. Finalmente a agitação foi suspensa, a solução transferida para tubo de ensaio onde a fase organica foi retirada. Essa por sua vez foi filtrada em sulfato de sódio anidro e tranferida para um vial.

Para a análise qualitativa dos ácidos graxos totais presentes no óleo de semente de mamão foi utilizado um CG/MS, marca Varian, modelo GC 3800 SATURN MS2000, com coluna cromatográfica VF5 MS.

Usou-se Hélio como gás de arraste com um fluxo de 1 mL min^{-1} . A injeção foi no modo split (1:10). O injetor foi mantido a 280°C , a temperatura de interface foi de 50°C , o aquecimento do forno obedeceu a seguinte sequência: temperatura inicial de 120°C , mantida por 5 min e temperatura final de 280°C com aquecimento de 2°C min^{-1} . O tempo de aquisição de cada cromatograma foi de 105 minutos, e a faixa de aquisição dos dados de 40 a 600 M/Z.

Os ésteres metílicos utilizados para a análise quantitativa estão na tabelas 3.

Tabela 3 - Ésteres metílicos utilizados na determinação quantitativa dos ácidos graxos totais.

Ácido Graxo	Composto	Fórmula molecular
C14:0	Miristato de metila	$\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{O}_2$
C16:1	Palmitoleato de metila	$\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_2$
C16:0	Palmitato de metila	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$
C18:2	Linoleato de metila	$\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_2$
C18:1	Oleato de metila	$\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{O}_2$
C18:0	Estearato de metila	$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$
C20:1	Araquidonato de metila	$\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{O}_2$
C20:0	Araquidato de metila	$\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_2$
C22:0	Behenato de metila (PI)	$\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{O}_2$

Para análise quantitativa dos ácidos graxos totais, preparou-se separadamente uma solução de 10ppm de cada padrão juntamente com uma solução contendo todos os padrões e o padrão interno, behentato de metila. As condições finais de análise foram idênticas às usadas no processo qualitativo descrito, exceto pelo modo de análise e pela rampa de aquecimento da coluna. O aquecimento do forno obedeceu a seguinte sequência: temperatura inicial de 160°C, mantida por 5 minutos, aquecendo-se o forno primeiramente a uma taxa de 15°C min⁻¹ até 190°C, alterou-se a taxa de aquecimento para 2°C min⁻¹ até 205°C, permaneceu nessa temperatura por 10 minutos e a partir daí a temperatura final de 280°C a uma taxa de aquecimento de 2°C min⁻¹. O forno foi mantido a temperatura final por 10 minutos.

A determinação da composição quantitativa dos ácidos graxos presentes na amostra, foi baseada no método de Moretto e Fett³³, levando-se em conta, a pureza específica de cada solução padrão para realização dos cálculos.

O tempo de aquisição de cada cromatograma quantitativo foi de 72 minutos.

4.3.3 Estudo do comportamento térmico por calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência, em função da temperatura enquanto são submetidos a uma programação controlada de temperatura. De acordo com o método de medição utilizado, existem duas modalidades: DSC com compensação de potência e DSC com fluxo de calor. Na DSC com compensação de potência, a amostra e o material de referência são mantidos isotermicamente, em células ou ambientes diferentes, pelo uso de aquecedores individuais. O parâmetro medido é a diferença na potência de entrada dos aquecedores, d (dQ/dt ou dH/dt). No DSC por fluxo de calor, a amostra e o material de referência são mantidos isotermicamente em uma mesma célula ou ambiente, pela aplicação de energia elétrica quando aquecidos ou resfriados a uma razão linear. A curva obtida é o registro do fluxo de calor dQ/dt como função da temperatura⁶⁴.

Através das curvas DSC, assim como as curvas DTA, análise térmica diferencial, as mudanças na temperatura da amostra devido à decomposição da

amostra, oxidação, fusão, sublimação, vaporização, modificação na estrutura cristalina da amostra, reações de desidratação, e outras reações químicas são registradas como reações endotérmicas ou exotérmicas⁶⁴.

Atualmente, há uma nova extensão da DSC chamada DSC Modulado, esta nova variação foi introduzida nos últimos anos por Reading, a qual combina uma rampa de aquecimento linear com uma rampa de aquecimento do tipo senoidal. Um conjunto de sinais são obtidos de forma direta, como o da capacidade calorífica, permitindo, portanto, a obtenção de resultados mais precisos.

O tratamento matemático adequado dos dados possibilita a decomposição do fluxo de calor em duas componentes: (1) fluxo de calor irreversível associado à componente cinética e (2) fluxo de calor reversível associado à componente termodinâmica. Esta modulação da temperatura na calorimetria exploratória diferencial é possível combinando-se três parâmetros experimentais: taxa de aquecimento, amplitude de modulação e frequência de modulação. A separação dos fenômenos reversíveis dos irreversíveis é dependente das condições experimentais utilizadas. A separação destes fenômenos tem ajudado na interpretação do comportamento de muitos sistemas o qual nos traz informações adicionais sobre características reversíveis e irreversíveis de um evento térmico, permitindo discernir melhor sobre a estrutura e o comportamento dos materiais⁶⁵.

Para a determinação da estabilidade térmica, o óleo de mamão foi analisado frente resfriamento e aquecimento em aparelho de DCS da marca Mettler Toledo modelo GC 10, em cadinho de alumínio aberto, sob atmosfera de N₂.

4.4 Caracterização da lecitina proveniente da semente de mamão

Como a fosfatidilcolina é o constituinte principal da lecitina e apresenta solubilidade considerável em etanol em relação aos outros fosfolipídios presentes¹³, separou-se o precipitado formado durante extração das sementes de mamão com etanol em rotaevaporador rotativo. A lecitina extraída com etanol, após evaporação do solvente foi dissolvida em acetona na proporção 1:4 (lecitina: acetona), e a solução foi levada à centrífuga por 10 minutos para separação do sobrenadante e do precipitado. Este procedimento foi realizado até que todo o precipitado fosse removido da solução, e em seguida descartou-se o filtrado. Método de preparação

de lecitina semelhante ao descrito aqui são encontrados nos trabalhos de Maximiano et al. e Mertins et al.^{54,55}.

Segundo Prasad et al.⁶⁶ os fosfolipídeos presentes em frutos de mamão correspondem a 34% de fosfatidilinositol, 28,1% de fosfatidilcolina, 18,7% de fosfatidiletanolamina e 19,2% de substâncias não identificadas⁶⁶. As técnicas espectrométricas nos (RMN e IV) ajudarão a analisar os constituintes majoritários da lecitina de mamão, assim como a técnica de termogravimetria, permitirá avaliar a perda de massa e possível identificação do resíduo final de análise.

4.4.1 Ressonância magnética nuclear (RMN)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear é basicamente outra forma de espectrometria de absorção semelhante à espectrometria de infravermelho ou de ultravioleta. Sob condições apropriadas em um campo magnético, uma amostra pode absorver radiação eletromagnética na região de radiofrequência (rf) em uma frequência governada pelas características estruturais da amostra. A absorção é função de determinados núcleos da molécula. Um espectro de RMN é um registro gráfico das frequências dos picos de absorção contra suas intensidades⁴³.

A ressonância magnética nuclear (RMN) é a principal técnica de identificação de compostos orgânicos e está entre as técnicas mais importantes de determinação de suas estruturas⁶⁷, dessa forma ela foi escolhida para identificação da composição da lecitina de mamão.

4.4.2 Espectrometria de absorção na região do infravermelho

A chamada radiação de infravermelho (IR) corresponde a parte do espectro situada entre as regiões do visível e das microondas. A porção de maior utilidade para o químico orgânico está situada entre 4000 e 400 cm^{-1} . Embora o espectro de infravermelho seja característico da molécula como um todo, certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência independentemente da estrutura da molécula. É justamente a presença destas

bandas, característica de cada grupo que permite ao químico a obtenção, através de simples exame do espectro e consulta a tabelas.

As posições das bandas dos espectros de infravermelho são apresentadas aqui em número de onda (ν), cuja unidade é o cm^{-1} . As intensidades das bandas podem ser expressas como transmitância (T) ou absorbância (A). A transmitância é a razão entre a energia radiante transmitida por uma amostra e a energia radiante que nele incide⁴³.

Para obtenção das medidas de IV utilizou-se um espectrofotômetro Nicolet modelo Impact 400. As amostras foram preparadas por diluição em KBr e prensadas na forma de pastilhas.

4.4.3 Estudo do comportamento térmico por termogravimetria (TG)

A termogravimetria é uma técnica termoanalítica que fornece informações a respeito do comportamento térmico de uma substância que podem ganhar ou perder massa em função da temperatura ou do tempo. O resultado da alteração de massa da substância fornecerá informações relativas à sua estabilidade térmica e também dos compostos formados durante o aquecimento e resíduo final, quando houver⁶⁴.

O registro obtido desta medida é chamado de curva termogravimétrica ou curva TG. A massa deve ser colocada em ordenadas, com valores decrescentes de cima para baixo e o tempo (t) ou temperatura (T) em abscissas, com valores decrescentes da direita para a esquerda.

A Termogravimetria Derivada (DTG) é a derivada primeira de uma eventual variação de massa da curva termogravimétrica. Os picos obtidos são chamados de curva termogravimétrica derivada ou curva DTG e são proporcionais à perda de massa da amostra. A derivada deve ser colocada em ordenadas, com as perdas de massa voltadas para baixo e o tempo (t) ou temperatura (T) em abscissas, com os valores crescentes da esquerda para a direita⁶⁴. As curvas registradas em análise térmica diferencial (DTA) são chamadas de curva de análise térmica diferencial ou curva DTA, e as diferenças de temperatura (ΔT) devem ser colocadas nas ordenadas, com as reações endotérmicas voltadas para baixo e tempo (t) ou temperatura (T) devem ser colocados em abscissas, com os valores crescentes da esquerda para a direita

As curvas TG-DTA e DTG foram obtidas utilizando-se o equipamento da TA Instruments, modelo SDT 2960, em atmosfera dinâmica de ar sintético e de nitrogênio com vazão de 100 mLmin⁻¹, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, cadinho de α -Al₂O₃ para a amostra e referência e massa da amostra de aproximadamente 8 mg. Antes de utilizar os cadinhos, estes foram flambados em chama de Bico de Bunsen ao rubro.

4.4.4 Difratomia de raios-X

Esta técnica é usada para determinar o arranjo dos átomos nos compostos sólidos e para determinar comprimentos e ângulos de ligação. Além disso, quase todos os recentes avanços da biologia molecular, tiveram origem no uso dessa técnica para determinação das estruturas de biomoléculas, como as proteínas e os ácidos nucleicos⁶⁷.

A condição para que se observe a difração de um feixe de raios X pelo cristal é dada pela equação de Bragg:

$$2d\sin\theta = \lambda$$

que relaciona o comprimento de onda do feixe de raios X, o ângulo de difração θ e a distância entre cada grupo de planos atômicos de uma rede cristalina.

A posição dos feixes difratados por um cristal depende apenas das dimensões e forma da unidade repetitiva deste e do comprimento de onda do feixe incidente de raios X. Quanto às intensidades dos feixes difratados, dependem, igualmente, do tipo de átomos no cristal e sua localização na unidade fundamental repetitiva. Não há, portanto, duas substâncias que tenham exatamente o mesmo modelo de difração, e é possível identificar individualmente os componentes cristalinos de uma mistura⁶⁸.

O resíduo final da termo decomposição da lecitina, em atmosfera de ar sintético, foi reservado, colocado em vidro relógio e levado ao laboratório para análise por difração de raios-X.

Os difratogramas de raios X, pelo método do pó, foram obtidos em um Difrátômetro Siemens D 5000. O tubo utilizado foi de cobre, submetido a 20 KV, 20mA, filtro de níquel, com radiação de Cu K α ; $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$. A amostra foi colocada

em suporte de vidro, próprio do equipamento, e exposta à radiação entre $5^\circ \leq 2\theta \leq 70^\circ$.

CAPÍTULO V

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os primeiros meses de desenvolvimento do trabalho foram destinados a sucessivas extrações, visando à pequena quantidade em massa de óleo obtida. O solvente remanescente da extração era eliminado da solução sob agitação em capela, e o óleo era armazenado em frasco de vidro com vedação adequada.

Após as primeiras tentativas de extração por Soxhlet, utilizando hexano como solvente extrator, o óleo de mamão apresentava altos índices de acidez e de iodo, como poderá ser visto detalhadamente nas seções 5.1.1.1 e 5.1.1.2, respectivamente, e odor característico de rancidez após período de armazenamento, sendo assim, algumas alterações foram necessárias nesta primeira etapa do trabalho, visando a obtenção de um óleo adequado às condições de análise.

Primeiramente, para minimizar o tempo de espera na preparação de amostras e obtermos resultados mais seguros, as sementes não mais foram secas ao sol após retirada do fruto. Elas eram cozidas em água fervente por 4 horas, sendo que a cada hora trocava-se a água, secas em estufa de circulação e renovação de ar à 70 °C por 8 horas.

As extrações passaram a ser realizadas fazendo uso de solvente mais polares como a água destilada e etanol, e em seguida, usou-se hexano para a retirada do óleo. Em evaporador rotativo e sob o fluxo de N₂, o óleo de mamão era separado do solvente residual.

A figura 7 mostra a diferença entre o óleo de mamão extraído inicialmente com hexano e o óleo obtido após mudanças nas condições de análise, secagem das sementes, extração e remoção de solvente.

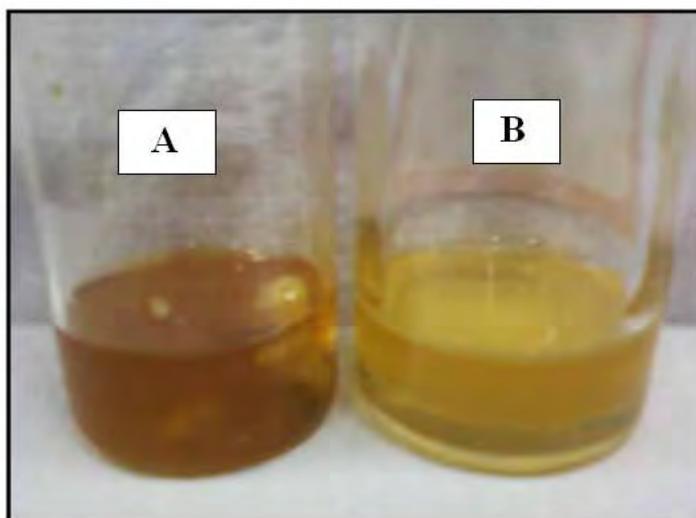


Figura 7 - Óleo de mamão formosa: (A) extração com hexano; (B) extração com uso de três solventes, água, etanol e hexano, após secagem de sementes em estufas.

Pela figura 7 podemos notar que o óleo obtido após mudanças nas condições de preparação do mesmo, apresenta-se de cor clara, confirmando bom estado de conservação e de qualidade suficientemente adequada para realização de todas as determinações físico-químicas e químicas que seguem. Após período de armazenamento, vemos na figura 8, que o óleo de mamão não apresenta alterações em relação às características já citadas.

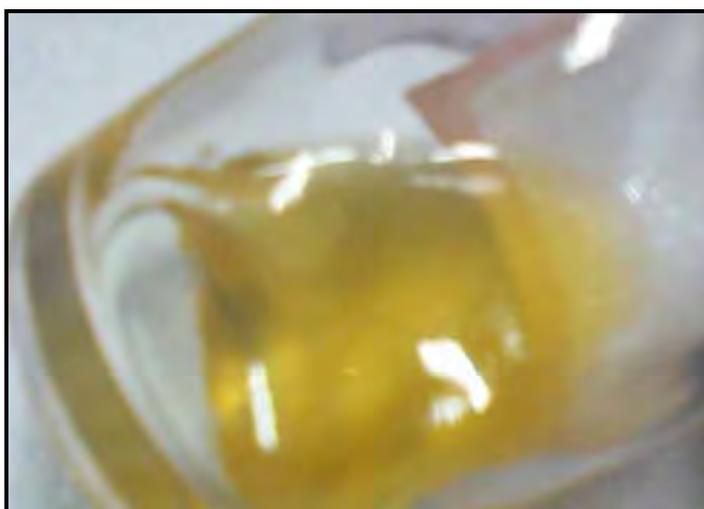


Figura 8 - Óleo de mamão formosa.

Vale destacar que obteve-se 25% de rendimento de óleo extraído das sementes de mamão formosa, e que os solventes usados nas extrações, etanol e hexano, eram removidos em evaporadores rotativos e recuperados por destilação.

5.1. Caracterização e estudo do comportamento térmico do óleo de mamão

5.1.1 Caracterização físico-química

5.1.1.1 Determinação do índice de acidez

A tabela 4 nos mostra o valor médio para o índice de acidez do óleo extraído da semente de mamão formosa após primeiras tentativas de extração com hexano.

Tabela 4 - Determinação do índice de acidez.

Amostra	Massa_{amostra} (g)	Índice de acidez (mg NaOH- KOH/ g óleo)	Ácido oléico (%)
01	2,034	33,55	59,80
02	2,007	33,46	59,64
03	2,013	33,62	59,93
04	2,001	33,43	59,59
05	2,013	33,62	59,93
Valor Médio		33,53 ± 0,088	59,78 ± 0,16
06	2,009	15,91	28,37
07	2,004	14,89	26,54
08	2,002	14,37	25,62
09	2,001	13,85	24,68
10	2,031	16,80	29,94
Valor Médio		15,16 ± 1,2	27,03 ± 2,12

A tabela 4 está dividida em dois grupos distintos, sendo que em cada grupo o teste para a determinação de acidez foi realizado em 5 replicatas.

O primeiro grupo é composto pelas amostras de número 01 a 05, referente ao óleo de mamão que após extração com hexano, teve todo o solvente remanescente eliminado por evaporação em capela após agitação, e armazenado por 30 dias.

O segundo grupo é composto pelas amostras de número 06 a 10, estas foram extraídas a temperatura controlada e próxima ao ponto de ebulição do hexano. Após a extração dessas amostras, o óleo de mamão foi levado a um evaporador rotativo, para remoção do solvente remanescente, e em seguida foi submetido ao fluxo de

nitrogênio gasoso, a fim de certificarmos a ausência do solvente, por fim o processo de determinação do índice de acidez foi realizado imediatamente.

Comparando os dois grupos de amostras, nota-se um decréscimo no valor do índice de acidez, o que confirma a influência da temperatura de extração, a maneira como o solvente é eliminado da solução e o tempo de armazenamento na qualidade do óleo obtido. Isso porque esses fatores aceleram a formação de ácidos graxos livres no meio reacional, alterando assim o valor real do índice de acidez.

Após a alteração do método de extração e preparação das sementes do fruto, o teste para a determinação do índice de acidez foi realizado novamente. Esse novo procedimento foi feito em triplicata, e não mais em 5 replicatas como descrito anteriormente, devido pequena quantidade em massa de óleo obtida e necessidade de realização rápida das demais análises físico-químicas para evitar possível oxidação e resultados incoerentes.

Tabela 5 - Determinação do índice de acidez após alteração do método de secagem e extração das sementes.

Amostra	Massa_{amostra} (g)	Índice de acidez (mg NaOH- KOH/ g óleo)	Ácido oléico (%)
01	2,040	0,7810	1,401
02	2,030	1,050	1,872
03	1,740	0,9190	1,643
Valor Médio		0,9167 ± 0,1345	1,639 ± 0,2355

Vemos que após a mudança do método de secagem das sementes de mamão e extração do óleo houve um decréscimo no valor obtido para o índice de acidez, de acordo com tabela 5. Este novo valor, corresponde a presença de 1,403 a 1,874% de ácido oléico na amostra de óleo. Na literatura vemos que, o óleo de mamão extraído com hexano apresenta $0,33 \pm 0,07$ % em ácido oléico¹⁸ e o óleo de mamão extraído com éter de petróleo apresenta índice de acidez de $3,0517^6$.

Contudo as alterações feitas foram satisfatórias para determinação de acidez do óleo de mamão formosa.

Importante acrescentar que a porcentagem de ácido oléico, determinado nesta seção, apenas é uma representação de como o índice de acidez é expresso, relacionando todos os ácidos graxos presentes nas amostras de óleos em termos de ácido oléico.

5.1.1.2 Determinação do índice de iodo

Na tabela abaixo, tabela 6, encontra-se o valor médio obtido para o índice de iodo do óleo de mamão formosa. O teste foi realizado em 5 replicatas antes da alteração do método de secagem e extração.

Tabela 6 - Determinação do índice de iodo.

Amostra	Massa_{amostra} (g)	Índice de Iodo (g iodo absorvido/ 100 g de óleo)
01	0,2013	144,0
02	0,2111	162,1
03	0,2107	145,0
04	0,2021	146,3
05	0,2007	170,8
Valores Médios ± Desvio Padrão		153,6 ± 12,1

Após a alteração do método de extração e remoção do solvente, o teste foi refeito em triplicata e os valores obtidos encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7 - Determinação do índice de iodo após alteração do método de secagem e extração das sementes.

Amostra	Massa_{amostra} (g)	Índice de iodo (g iodo absorvido/ 100 g de óleo)
01	0,2164	70,47
02	0,2172	69,00
03	0,2166	70,41
Valores Médios ± Desvio Padrão		69,96 ± 0,83

Como vemos, a alteração do modo de secagem de semente e extração foi válida, uma vez que os valores dos índices de iodo são bem menores que os valores encontrados anteriormente.

Antes das modificações necessárias para obtenção de um óleo de melhor qualidade e de difícil oxidação o índice de iodo obtido era de $153,6 \pm 12,1$, e após as mudanças durante o processo o novo valor para o índice de iodo foi de $69,13 - 70,79$ g de iodo absorvido/100 g óleo.

Segundo Harry W. Von Loesecke e Arthur J. Nolte⁶ o óleo de mamão que foi extraído com éter de petróleo apresentou um valor de 89,8 g de iodo absorvido/ 100 g de óleo, valor bem mais próximo do valor obtido após modificações descritas. Puangsri et al.¹⁸ mostra o que o óleo extraído por solvente da semente de mamão apresenta índice de iodo igual a $66,0 \pm 0,2$ g de iodo absorvido/ 100 g de óleo¹⁸.

Vale destacar também, que o desvio padrão para o segundo caso é bem menor que o encontrado para o teste antes das modificações, garantindo maior confiabilidade do resultado.

5.1.1.3 Determinação do índice de peróxido

As determinações dos índices de peróxido, saponificação e teor de cinzas, que são descritas abaixo, foram realizadas somente após a alteração do método de secagem de sementes, extração do óleo e remoção do solvente extrator, e em triplicatas, uma vez que confirmou-se a obtenção de resultados mais confiáveis para os índices de acidez e iodo.

A tabela 8 nos mostra o valor médio obtido do índice de peróxido para o óleo de mamão formosa.

Tabela 8 - Determinação do índice de peróxido.

Amostra	Massa_{amostra} (g)	Índice de peróxido (meq/ 1000g de óleo)
01	2,0290	2,910
02	2,0865	3,112
03	2,0310	2,903
Valor Médio ± Desvio Padrão		2,975 ± 0,119

Como o índice de peróxido é um indicador do grau de oxidação, o baixo valor encontrado ($2,975 \pm 0,119$ meq/ 1000 g de óleo), é um indicador de que a quantidade de amostra que oxida o iodeto de potássio nas condições do teste é pequena, determinando bom estado de conservação do óleo de mamão.

5.1.1.4 Determinação do índice de saponificação

A tabela 9 nos mostra o resultado para o índice de saponificação do óleo extraído da semente de mamão.

Tabela 9 - Determinação do índice de saponificação.

Amostra	Massa_{amostra} (g)	Índice de Saponificação (mg de KOH/g de óleo)
01	3,967	189,4
02	3,984	189,3
03	3,957	189,5
Valor Médio ± Desvio Padrão		189,4 ± 0,1

O valor obtido ($189,4 \pm 0,1$ mg de KOH/g de óleo) representa a quantidade de sal formado, partindo da quantidade de ácidos graxos presente na amostra. Como o índice de saponificação é inversamente proporcional ao peso molecular médio dos ácidos graxos dos glicerídeos presentes em amostra de óleos e gorduras, a técnica de CG/MS nos auxiliará na determinação e quantificação desses compostos para comparação com o valor do índice de saponificação obtido.

5.1.1. 5 Determinação do teor de cinzas

O valor médio encontrado para o teor de cinzas encontra-se na tabela 10, o teste foi realizado como descrito na seção 4.3.1.5.

Tabela 10 - Massas relativas ao teor de cinzas remanescentes.

	$M_{\text{cadinho seco}} \text{ (g)}$	$M_{\text{amostraseca}} \text{ adicionada (g)}$	$M_{\text{sistema inicial}} \text{ (g)}$	$M_{\text{sistema final}} \text{ (g)}$	% Massa de cinzas
01	25,52	0,5574	26,073	25,52	0,01801
02	24,92	0,7485	25,67	24,92	0,01320
Valor Médio \pm Desvio Padrão				0,01561 \pm 0,003401	

A porcentagem residual de cinzas foi extremamente baixa ($0,01561 \pm 0,003401\%$), afirmando que a amostra quando oxidada a $575 \pm 25 \text{ }^\circ \text{C}$ tem destruição praticamente completa da matéria orgânica, não restando assim praticamente nenhuma massa residual (inorgânico).

5.1.1.6 Comparação das características físico-química do óleo de mamão com outros óleo vegetais

A tabela abaixo mostra os valores para os índices de acidez, iodo, peróxido, saponificação e teor de cinzas para diferentes amostras de óleos vegetais e para o óleo de mamão formosa⁶⁹. Vale destacar que, os índices de acidez e iodo tabelados abaixo são os valores obtidos após alteração do método de secagem das sementes de mamão e extração do óleo.

Tabela 11 - Resumo das características físico-químicas do óleo de mamão formosa em relação a outros óleo vegetais⁶⁹.

Tipo	Acidez	Iodo (g iodo abs/100g de óleo)	Saponificação (mg de KOH/g de óleo)	Peróxido (meq/ 1000 g de óleo)	Cinzas (%)
Algodão	0,3000	99,00-119,0	189,0-198,0		
Amendoim		80,00-106,0	187,0-196,0		
Canola		110,0-126,0	182,0-193,0		
Milho	2,000	103,0-128,0		<10,00	0,2000
Girassol		120,0-138,0	188,0-195,0		
Soja		120,0-143,0			
Oliva	0,3000	99,0 – 119,0	189,0 – 198,0		
Mamão	0,7822 - 1,051	69,13- 70,79	189,3 – 189,5	2,856 – 3,094	0,01221 - 0,01900

A tabela 11 mostra que o óleo de mamão apresenta acidez comparável e próxima aos valor de acidez em relação a outros óleos vegetais.

O valor para o índice de iodo também está relativamente baixo, o que sugere a presença de compostos contendo poucas insaturações. O valor para o índice de iodo calculado para o óleo de mamão foi de 69,13- 70,79g iodo abs/100g de óleo, é o menor valor para este índice em relação as outras amostras de óleos.

O óleo de mamão formosa é o que apresenta menor teor de cinzas após incineração, 0,01221 - 0,01900%, resultado que de acordo com o valor de índice observado apresenta maior decomposição térmica com o aumento de temperatura.

Os resultados vistos do índice de saponificação para os óleos tabelados apresentam valores praticamente semelhantes e próximos ao índice de saponificação para o óleo de mamão, 189,3 – 189,5 mg de KOH/g de óleo.

O óleo de mamão formosa apresenta índice de peróxido igual a 2,856 – 3,094 meq/ 1000 g de óleo. Este valor considerado relativamente pequeno para o índice de peróxido sugere bom estado de conservação e qualidade do óleo sem processos adequados de purificação.

5.1.2 Determinação dos ácidos graxos totais por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS)

5.1.2.1 Análise qualitativa

A figura 9 nos mostra o cromatograma da análise qualitativa e logo abaixo a tabela contendo os componentes encontrados no óleo de mamão. Vale destacar, que essa análise foi realizada em triplicata.

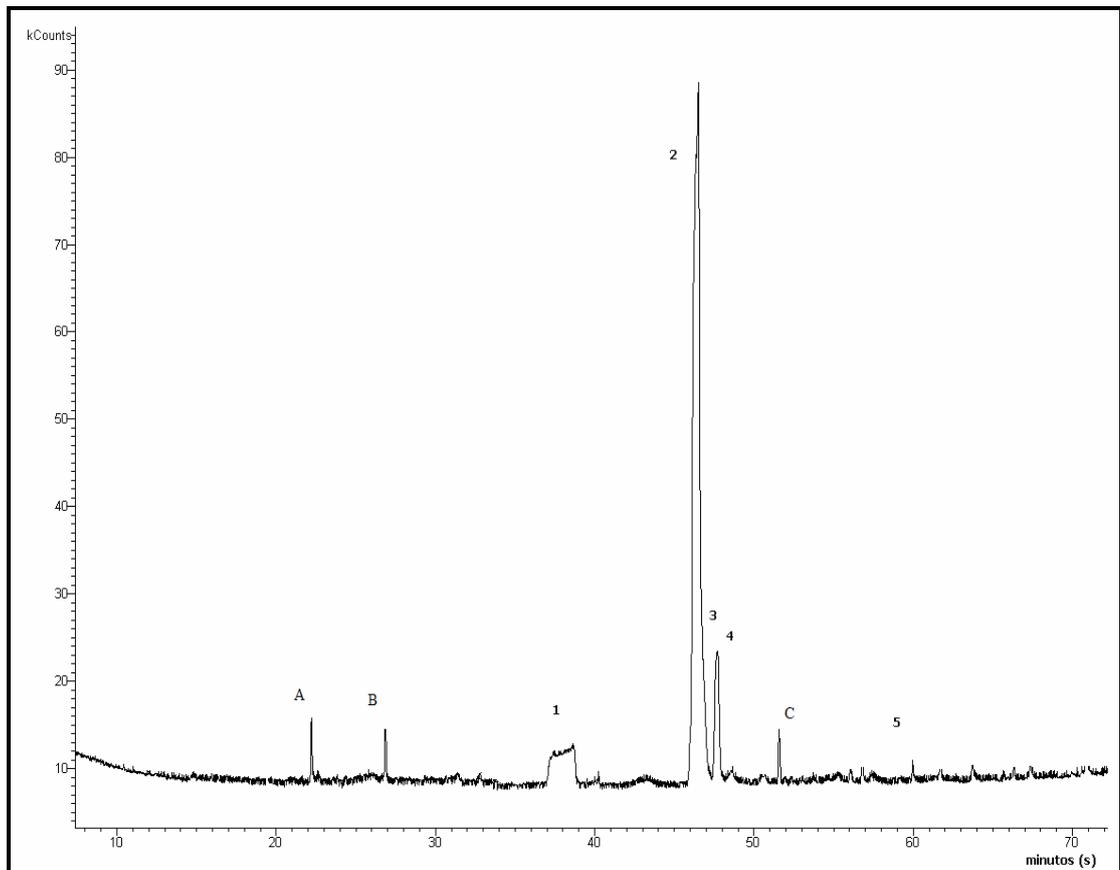


Figura 9 - Cromatograma qualitativo do óleo de mamão formosa.

Tabela 12 - Componentes presentes no óleo da semente de mamão formosa, através de cromatografia gasosa.

	Composto	Rt (min)	% Rel	Fragmentos mais intensos
A	Vitamina A	22,2	12,2	43/ 91/ 65
B	β caroteno	26,8	7,17	43/ 69/ 203
C	β caroteno	51,6	4,13	43/ 69/ 203
1	Estearato de metila	37,4	15,7	40/ 56/ 88
2	Oleato de metila	46,4	93,8	41/ 264/ 310
3	Palmitato de metila	47,6	8,05	40/ 88/ 312
4	Aracdonato de metila	47,7	11,9	40/ 88/ 312
5	Miristato de metila	59,9	3,54	40/ 57

A tabela 12 nos mostra os possíveis componentes presentes no óleo de mamão. Os ésteres de ácidos graxos estão identificados numericamente no cromatograma na Figura 9, juntamente com a provável presença de cada componente dada em porcentagem (% Rel) obtida pela biblioteca de análise de dados do software (CG/MS) e os fragmentos mais intensos.

Além dos ácidos graxos presentes na amostra de óleo derivatizada, outras substâncias foram observadas, como a vitamina A e o β caroteno.

No cromatograma da análise qualitativa do óleo de mamão podemos ver a predominância de ácido oléico em relação aos outros ácidos graxos. Contudo a análise quantitativa com a presença de padrões adequados, irá fornecer dados mais confiáveis em relação a presença dos ácidos graxos totais.

5.1.2.2 Análise quantitativa

A análise quantitativa dos ácidos graxos totais presentes no óleo de mamão foi realizada como descrito na Seção 4.3.2. Nesse procedimento os ácidos graxos livres e os ácidos graxos ligados ao glicerol que tenham sofrido saponificação foram derivatizados com uma solução de BF_3 em metanol 14% e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

As figuras 10 e 11 mostram respectivamente, um dos cromatogramas obtidos para o óleo de mamão formosa e para a mistura de padrões utilizados na quantificação de ácidos graxos totais. A quantificação foi realizada em triplicata, e os demais cromatogramas obtidos encontram-se semelhante aos apresentados abaixo.

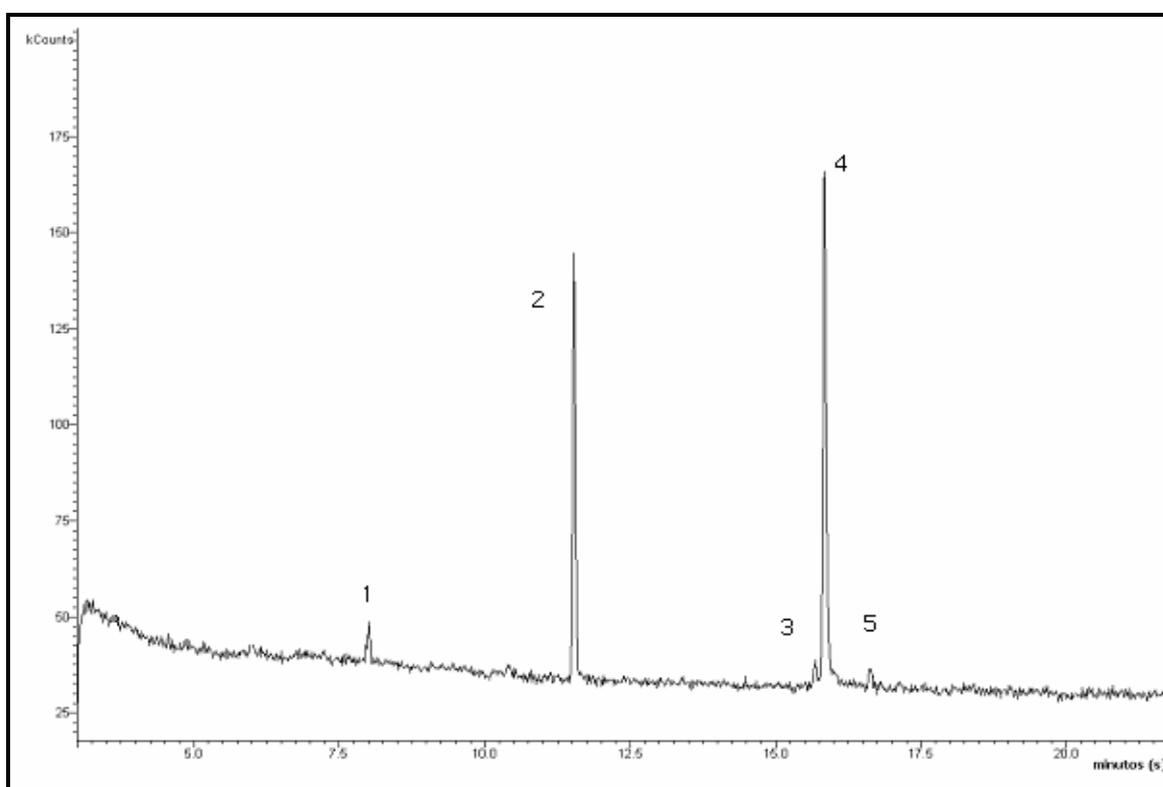


Figura 10 - Cromatograma quantitativo do óleo de mamão formosa.

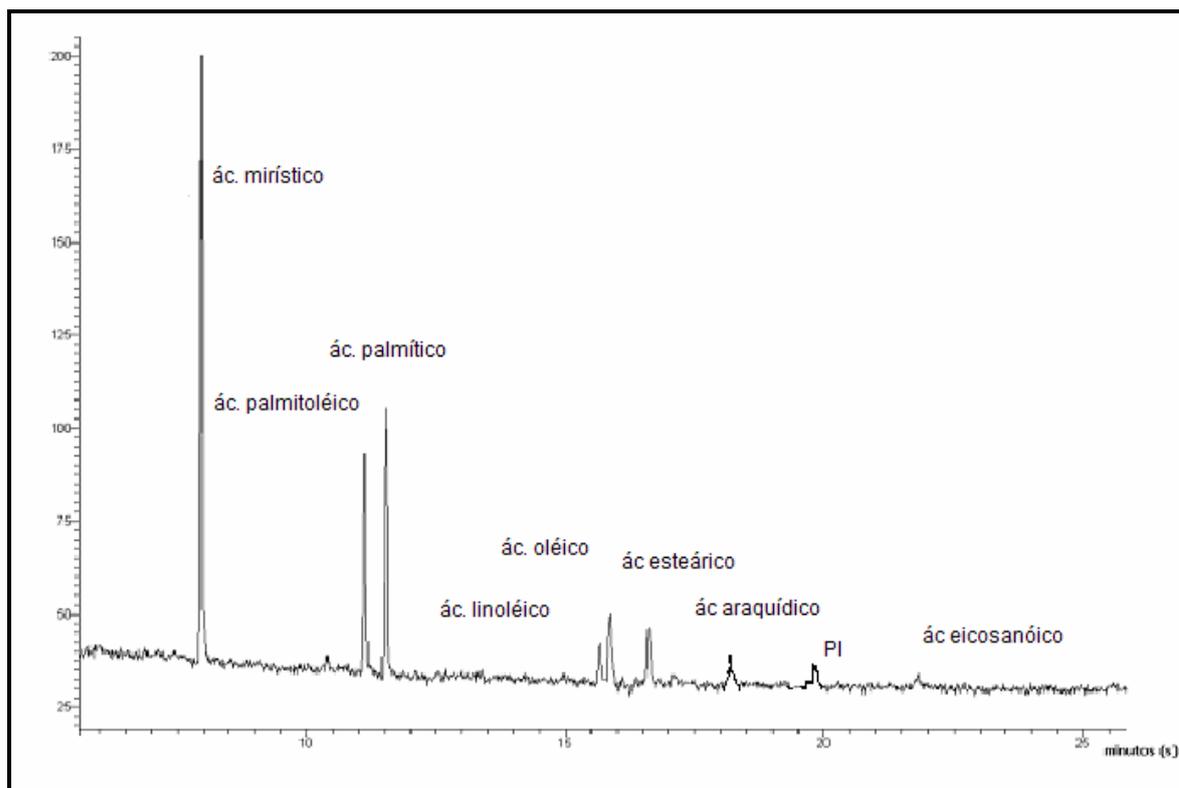


Figura 11 - Cromatograma quantitativo da mistura de padrões.

Os resultados quantitativos estão apresentados na tabela 13, e foram calculados de acordo com a área de cada padrão.

Tabela 13 - Resultado da composição em ácidos graxos totais do óleo da semente de mamão formosa.

	Composto	t_r (min)	Concentração do analito na amostra (ppm)	(%) Rel
1	Miristato de metila	8,00	$0,7144 \pm 0,0043$	$6,810 \pm 0,181$
2	Palmitato de metila	11,5	$3,319 \pm 0,017$	$30,40 \pm 0,84$
3	Linoleato de metila	15,8	$0,5122 \pm 0,0009$	$4,883 \pm 0,150$
4	Oleato de metila	15,8	$5,548 \pm 0,047$	$52,88 \pm 1,35$
5	Estearato de metila	16,6	$0,5395 \pm 0,0012$	$5,141 \pm 0,058$

Os ácidos graxos identificados e quantificados na amostra de óleo de mamão formosa estão próximo aos obtidos por Puangsri et al.¹⁸, uma vez que apresenta os mesmos ésteres de ácidos graxos, sendo o ácido oléico e o ácido palmítico os ácidos graxos encontrados em maior concentração.

O ácido palmitoléico, linoléico e o eicosanóico não foram quantificados neste trabalho, talvez por estarem abaixo do limite de detecção, ou não estarem presentes na espécie de mamão utilizado.

Segundo Kalayasiri et al.³⁰ a composição de ácidos graxos do óleo de mamão é similar ao óleo de oliva em ácidos graxos insaturados, e sugere que o óleo de mamão confere benefícios à saúde e tem algumas propriedades antioxidantes. Sendo assim, a análise quantitativa do óleo extra virgem de oliva foi realizada de forma semelhante ao óleo de mamão.

A figura 12 mostra amostras de óleo extra virgem de oliva e o óleo de mamão formosa. Por comparação vemos que estes dois óleos apresentam coloração parecida e o óleo de mamão formosa é aparentemente mais viscoso, contudo este parâmetro não foi verificado experimentalmente.

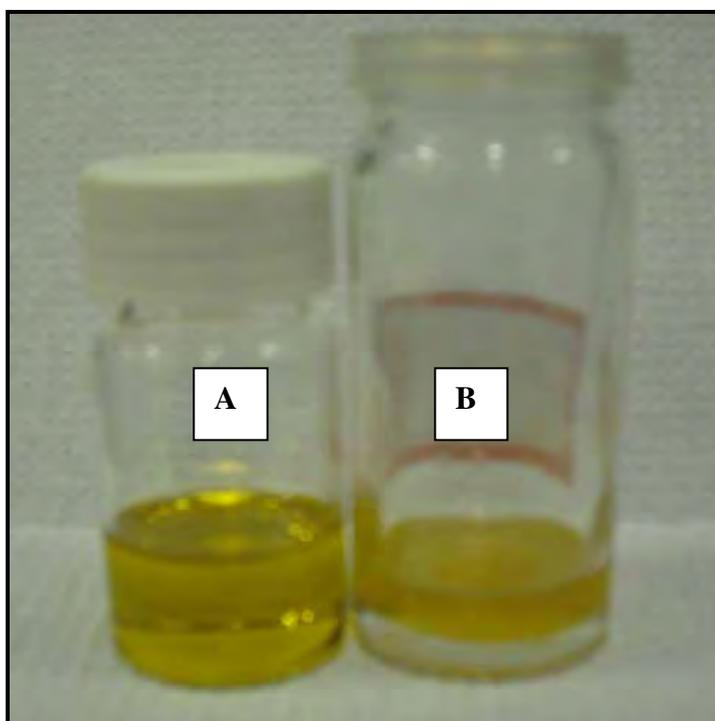


Figura 12 - (A) óleo extra virgem de oliva, (B) óleo de mamão formosa.

A análise quantitativa, realizada nas mesmas condições que o óleo de mamão, tem como resultado o cromatograma da figura 13, e os ácidos graxos quantificados estão presentes na tabela 14. Esta análise quantitativa também foi realizada em triplicata.

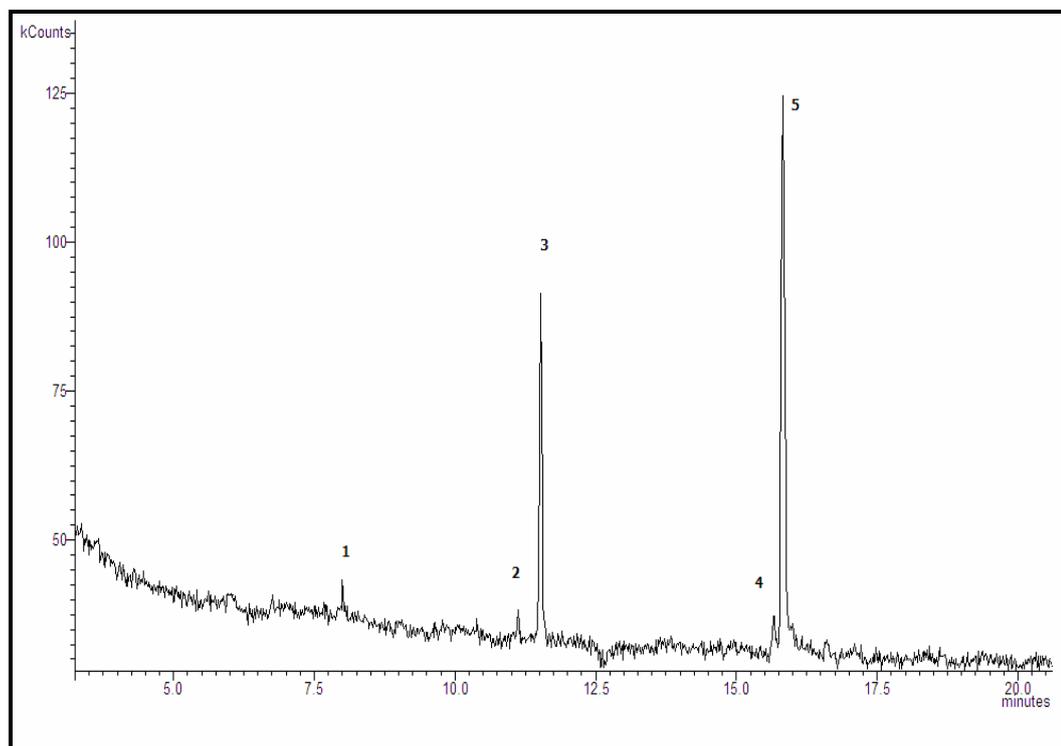


Figura 13 - Cromatograma quantitativo do óleo extra virgem de oliva.

Tabela 14 - Resultado da composição em ácidos graxos totais do óleo extra virgem de oliva.

Composto	t_r (min)	Concentração do analito na amostra (ppm)	(%) Rel
1 Miristato de metila	8,002	0,4666 ± 0,0084	4,377 ± 0,037
2 Palmitoleato de metila	11,12	0,5088 ± 0,0028	4,774 ± 0,088
3 Palmitato de metila	11,51	3,090 ± 0,0737	29,34 ± 0,47
4 Linoleato de metila	15,65	0,7082 ± 0,0056	6,646 ± 0,116
5 Oleato de metila	15,82	5,832 ± 0,076	54,71 ± 0,47

Pela tabela 14, vemos que o óleo extra virgem de oliva apresenta composição química em ácidos graxos próxima ao óleo de mamão formosa, e os ácidos oléico e palmítico são os ácidos graxos presentes em maior concentração em relação aos demais. O ácido pamioléico foi identificado e quantificado na amostra de óleo de oliva, mas não no óleo de mamão.

A tabela 15 mostra a presença de alguns ácidos graxos em porcentagem nos óleos vegetais em comparação com o óleo de mamão formosa e o óleo extra virgem de oliva.

Tabela 15 - Presença de ácidos graxos em amostras de óleos vegetais.²⁹

Óleo	Composição em Ácido Graxo (% em massa)						
	Láurico C ₁₂ H ₂₄ O ₂	Mirístico C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Palmítico C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Esteárico C ₁₈ H ₃₄ O ₂	Oléico C ₁₈ H ₃₂ O ₂	Linoléico C ₁₈ H ₃₀ O ₂	Linolênico C ₁₈ H ₂₈ O ₂
Algodão	-	1,50	22,0	5,00	19,0	50,0	-
Amendoim	-	0,50	6,00 - 11,4	3,00 – 6,00	42,3 – 61,0	13,0 – 33,5	-
Canola	-	<1,00	4,00	2,00	63,0	19,0	9,00
Milho	-	-	7,00	3,00	43,0	39,0	-
Girassol	-	-	3,60 – 6,50	1,30 – 3,00	14,0 – 43,0	44,0 – 68,0	-
Soja	-	-	2,30 – 11,0	2,40 – 6,00	23,5 – 31,0	49 – 51,5	2,00 - 10,5
Oliva	-	1,30	7,00 – 16,0	1,40 – 3,30	64,0 – 84,0	4,00 – 15,0	-
Extra Virgem de Oliva		4,4135- 4,3405	29,81 – 28,87	-	55,18 – 54,24	6,762 – 6,53	-
Mamão Formosa	-	6,629 - 6,991	29,56 – 31,24	5,083 – 5,199	51,53 – 54,23	4,733 – 5,033	-

Como visto acima, todos os óleos tabelados apresentam os ácidos palmítico, oléico e linoléico. Apenas o óleo de algodão juntamente com o óleo de mamão apresentam o ácido mirístico, sendo este ácido graxo encontrado em maior concentração no óleo de mamão formosa, $0,7144 \pm 0,0043$ ppm.

O ácido palmítico é o ácido graxo saturado presente em maior concentração no óleo de mamão, e apresenta composição relativamente alta comparada a sua porcentagem relativa em outros óleos vegetais, 29,56 – 31,24%.

A concentração do ácido palmítico é praticamente semelhante tanto no óleo de mamão e como no óleo extra virgem de oliva, 29,56 – 31,24 e 29,81 – 28,87%, respectivamente. Contudo a presença desse ácido graxo é bem maior em amostras de óleo de oliva e mamão formosa quantificado neste trabalho do que nos óleos de oliva e mamão encontrado na literatura.

Singh et al.³¹ determina a porcentagem de ácidos graxos em amostras de óleo de mamão, quantificando maior número de compostos químicos em relação ao óleo de mamão formosa, e o ácido palmítico apresenta-se em concentração igual a 16,2% na amostra, valor mais baixo do calculado para o óleo de mamão formosa. Kotti et al.⁷⁰ analisa por cromatografia gasosa a presença de ácidos graxos totais em amostras de óleo de oliva em diferentes cultivares da Tunísia, e confere que o ácido palmítico é o ácido graxo saturado presente em concentração maior nas amostras analisadas, mas em porcentagem de $13,1 \pm 0,2$ a $20,0 \pm 0,2$ % em massa.

O ácido linoléico está presente em concentração muito baixa no óleo de mamão e no óleo de oliva extra virgem em relação aos outros óleos vegetais.

O óleo extra virgem de oliva, quantificado neste trabalho, apresenta composição em ácidos graxos diferente em relação a composição química do óleo de oliva como descrito por Rinandi et al.²⁹ Vale salientar, a determinação quantitativa do ácido palmitoléico, em concentração igual a $0,5088 \pm 0,0028$ ppm, no óleo de oliva extra virgem, valor não tabelado acima.

No trabalho de Puangsri et al.¹⁸, o óleo de mamão extraído com hexano apresenta composição química distinta em relação a concentração dos ácidos graxos apresentados para o óleo de mamão formosa, citando a presença de ácido palmitoléico, linolênico, araquídico e eicosanóico, compostos não quantificados aqui.

5.1.3 Estudo do comportamento térmico por calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Como foi feito o estudo quantitativo dos ácidos graxos presente tanto no óleo de mamão como no óleo extra virgem de oliva, tornou-se necessário a avaliação do comportamento térmico dos mesmos.

O primeiro teste feito para estudar o comportamento térmico do óleo de mamão e do óleo extra virgem de oliva obedeceu as seguintes condições: primeiramente as amostras foram resfriadas de 25 a -80°C , e aquecidas novamente à temperatura ambiente. A razão de aquecimento usada foi de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de N_2 e fluxo de 50 mL min^{-1} .

Utilizou-se aproximadamente 3,5 g de cada amostra de óleo, para os testes que seguem.

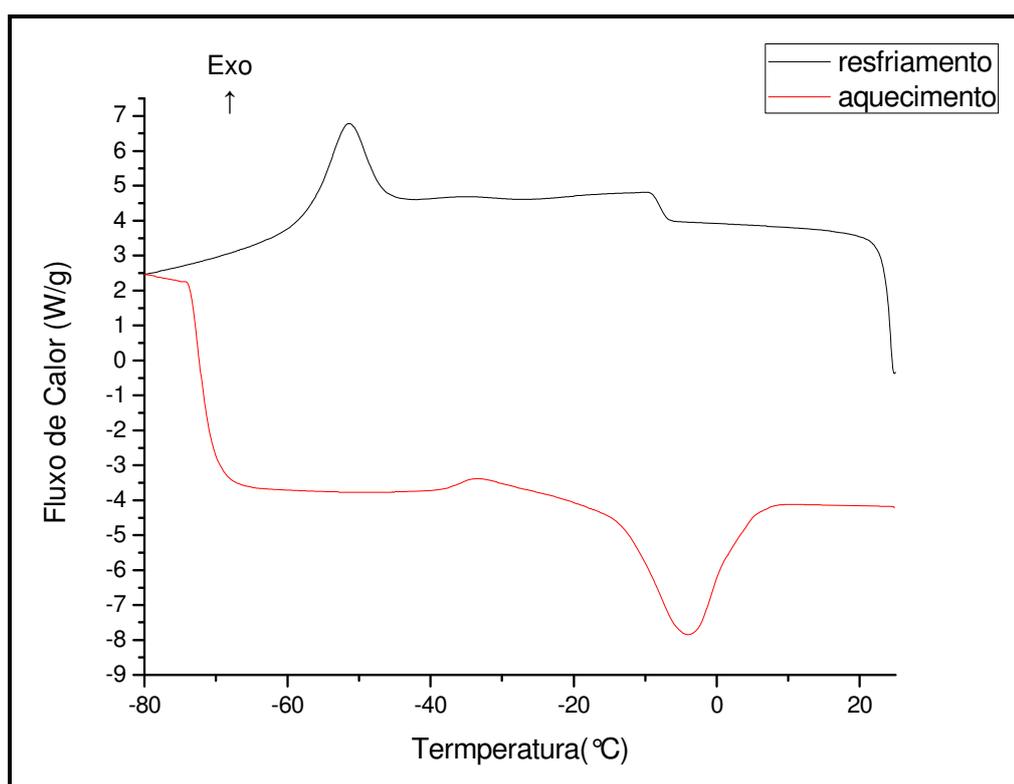


Figura 14 - Curvas DSC para o óleo de mamão, resfriamento e aquecimento em atmosfera de N_2 .

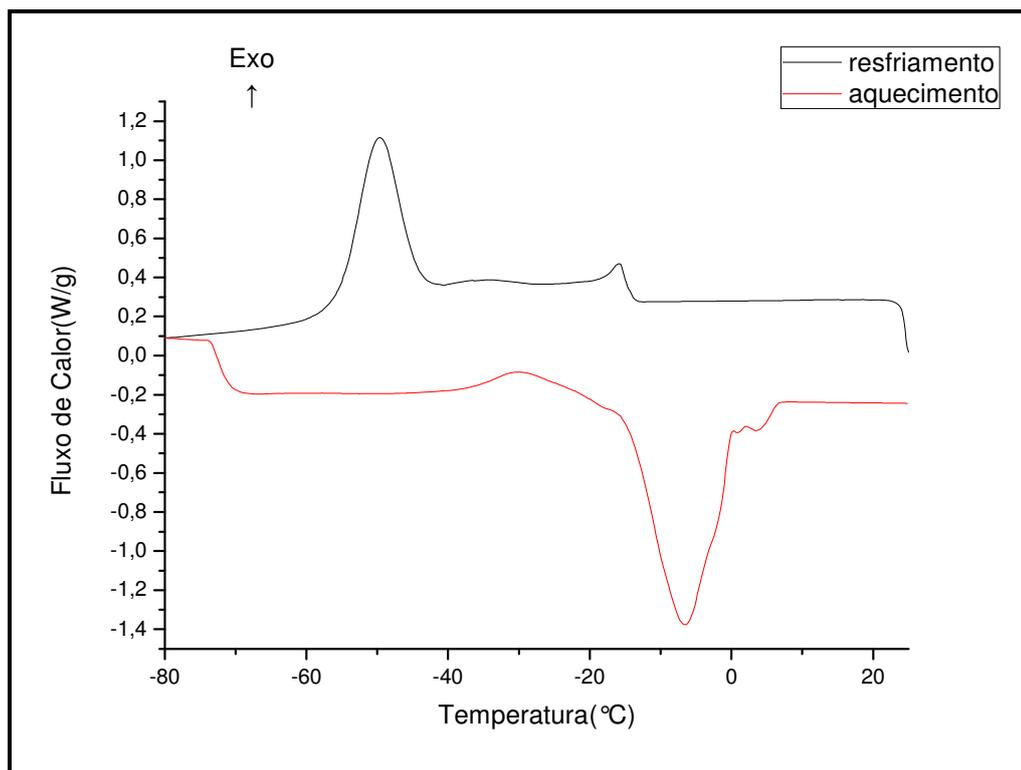


Figura 15 - Curvas DSC para o óleo extra virgem de oliva, resfriamento e aquecimento em atmosfera de N₂.

As figuras 14 e 15 ilustram o primeiro procedimento do estudo e avaliação do comportamento térmico para o óleo de mamão e para o óleo extra virgem de oliva, respectivamente.

Observa-se no óleo de mamão, quando este é submetido ao resfriamento até -80°C, figura 14, um evento principal com características de evento exotérmico, a -50°C. Este pode ser atribuído a cristalização completa dos constituintes do óleo de mamão, e o outro evento térmico observado próximo a -10°C, com avaliação dubia na literatura, será confirmado através de outros experimentos com DSC e DSC Modulado. Na mesma figura 14, observa-se que o óleo de mamão quando aquecido apresenta um pico exotérmico pouco intenso entre -40 e -25°C e finalmente o pico endotérmico atribuído à fusão dos componentes do óleo de mamão próximo a -5°C.

Durante o resfriamento, no óleo extra virgem de oliva nota-se dois picos exotérmicos bem definidos, um maior e outro menor localizado em temperatura próxima a -10°C, figura 15. No aquecimento do óleo extra virgem de oliva, há a presença de dois picos endotérmicos, um pico bem acentuado e outro menor,

localizado em temperaturas mais elevada, observa-se também, a presença de um pico exotérmico intermediário aos eventos citados em -30°C .

Pelas figuras 14 e 15, fica evidente a semelhança entre os comportamentos térmicos dos óleos de mamão e extra virgem de oliva, fato que pode estar relacionado a composição química parecida determinada por cromatografia gasosa, seção 5.1.2.2.

O comportamento térmico obtido neste trabalho para o óleo de oliva é comparável com o trabalho Kotti et al.⁷⁰, que descreve o comportamento do óleo de oliva em diferentes cultivares da Tunísia durante resfriamento e posterior aquecimento.

Dando continuidade ao estudo térmico do óleo de mamão, pensou-se em submeter o óleo novamente ao resfriamento até -80°C e em seguida ao aquecimento até temperatura ambiente fazendo o uso de diferentes razões de aquecimento para avaliar melhor os eventos térmicos já observados.

Importante destacar que todas as curvas apresentadas nas seções 5.1.3.1 e 5.1.3.2 foram feitas em atmosfera de N_2 , fluxo de 50 ml min^{-1} , e massa de amostra próxima a 3,5 mg.

5.1.3.1 Curvas de DSC para o óleo de mamão formosa durante resfriamento

Amostras de óleo de mamão foram caracterizadas durante o resfriamento com razões de aquecimento distintas, 10, 5, 2,5 e $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$, e suas propriedades térmicas podem ser vistas a partir das curvas DSC, figura 16.

A tabela 16 fornece algumas informações sobre as temperaturas onset (T_{on}), primeiro evento do resfriamento, temperaturas offset (T_{off}), final do último evento durante o resfriamento, e as diferenças entre estas no intervalo avaliado.

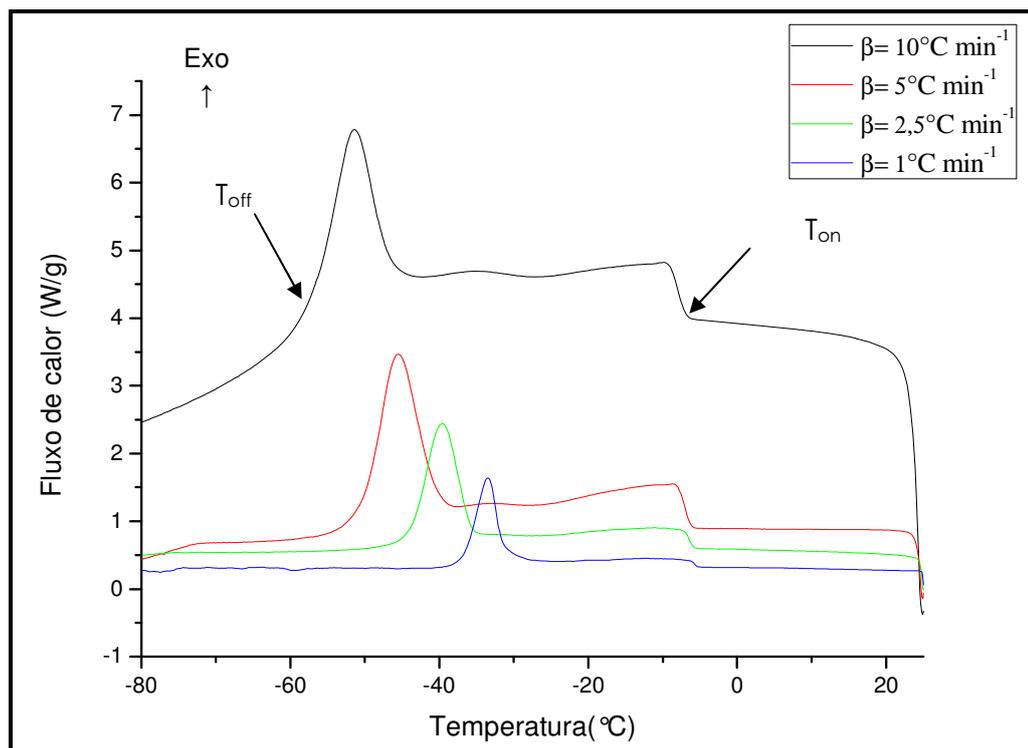


Figura 16 - Curvas DSC para o óleo de mamão formosa durante resfriamento de 25-80°C.

Tabela 16 - Dados de DSC obtidos durante resfriamento do óleo de mamão.

Amostras	ΔH (J/g)	T_{on} (°C)	T_{off} (°C)	$T_{on} - T_{off}$ (°C)
$\beta = 10^{\circ}\text{C min}^{-1}$	30,9	-8,95	-51,5	42,5
$\beta = 5^{\circ}\text{C min}^{-1}$	32,3	-7,85	-45,7	37,6
$\beta = 2,5^{\circ}\text{C min}^{-1}$	35,8	-7,16	-35,9	28,7
$\beta = 1^{\circ}\text{C min}^{-1}$	53,6	-6,39	-31,4	25,0

As curvas DSC no resfriamento nos mostram dois distintos eventos exotérmicos e pela tabela 16, vemos que estes eventos são influenciados cineticamente pela mudança na razão de aquecimento, uma vez que as temperaturas onset e offset são diferentes e maiores devido utilização de razões de aquecimento menores.

Pela figura 16, distinguimos os dois eventos térmicos observados no resfriamento, um evento maior (temperatura mais negativa) e outro evento exotérmico menor e localizado em temperatura menos negativa, como identificado anteriormente na figura 14. O maior evento exotérmico é atribuído à cristalização total dos componentes do óleo de mamão formosa, o outro evento térmico é característico de transição vítrea, passagem, no caso do óleo, de um estado viscoso para um estado vítreo e amorfo, como podemos ver na figura 17.

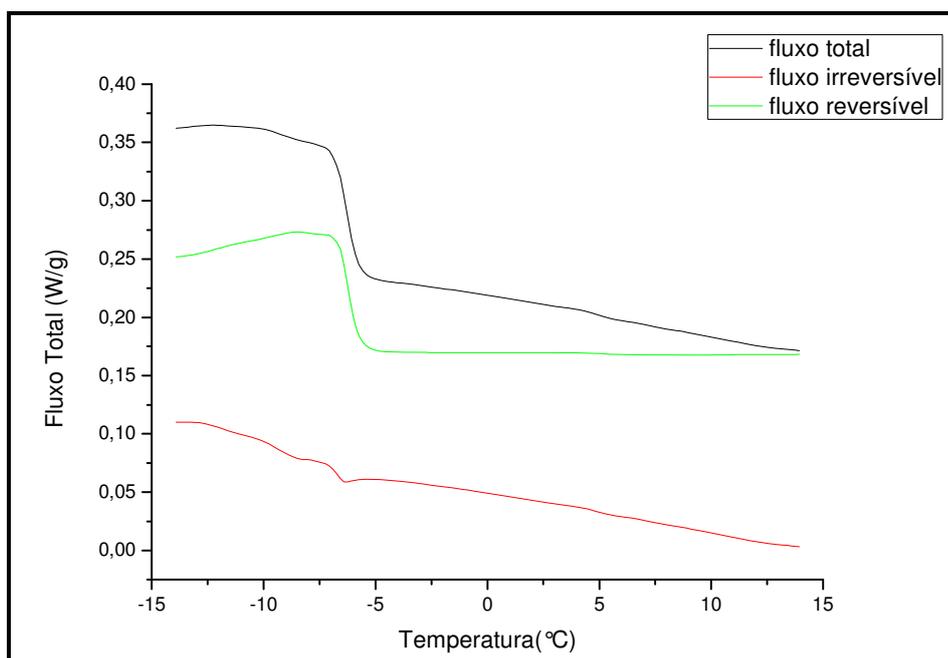


Figura 17 - Curvas DSC para o óleo de mamão no resfriamento de 15 a -15°C, utilizando um artifício de resfriamento contínuo (DSC Modulado).

Na figura 17 as curvas DSC Modulado com o auxílio do método TOPEM (ajuste matemático do equipamento de DSC utilizado) nos dão informações adicionais sobre o comportamento térmico do óleo de mamão formosa em temperaturas subambientais, facilitando a interpretação de eventos térmicos com características irreversíveis e reversíveis.

Alguns trabalhos mencionam que, quando uma amostra de óleo/gordura é resfriada dois eventos exotérmicos são exibidos, um maior e outro menor a temperatura mais alta, como pode ser observado para os óleos de mamão e de oliva nas figura 14 e 15. O evento exotérmico maior é atribuído à cristalização de triacilgliceróis altamente insaturados e o outro evento térmico é atribuído a

cristalização de compostos saturados^{70,71,72}, há também um evento térmico localizado em temperatura intermediária e atribuído como a cristalização de componentes monosaturados.

No entanto, como observado na figura 17, o menor evento térmico visto durante resfriamento do óleo de mamão tem uma contribuição de fluxo de calor total influenciado fortemente por uma transição reversível, evento mais próximo de uma transição de vítrea, do que de uma cristalização (transição irreversível), uma vez que há mudança da linha base. Porém, neste mesmo intervalo de temperatura também há a presença de uma pequena transição irreversível indicando a ocorrência de uma pré-cristalização dos constituintes do óleo de mamão. Neste sentido, este mesmo procedimento foi realizado para o óleo extra virgem de oliva, como pode ser visto na figura abaixo.

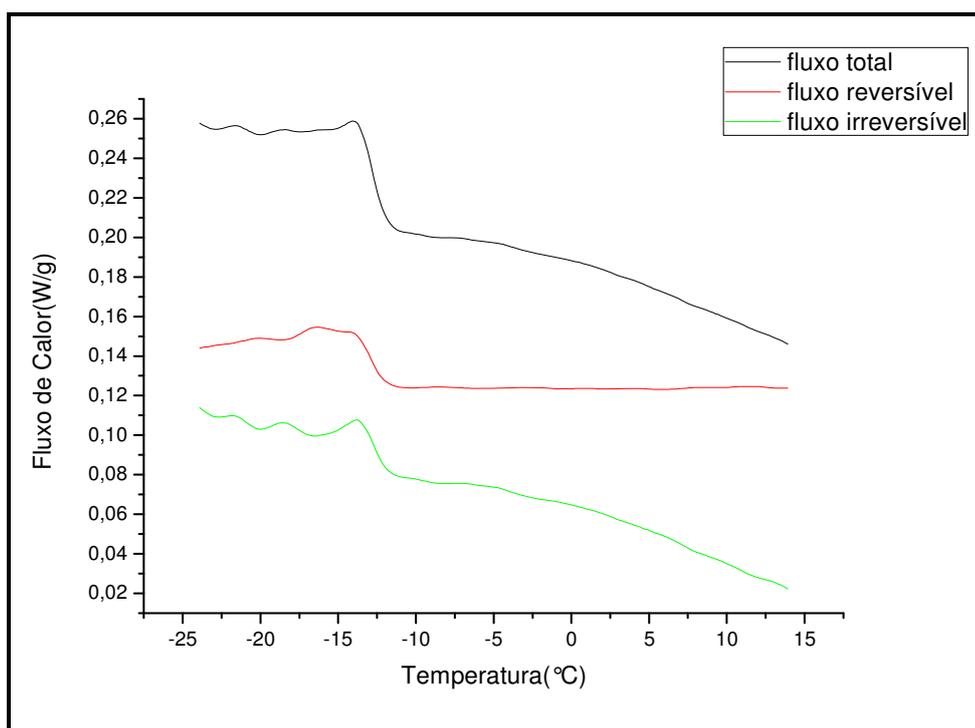


Figura 18 - Curvas DSC para o óleo de oliva no resfriamento de 15 a -15°C, utilizando um artifício de resfriamento contínuo (DSC Modulado).

Na figura 18 vemos que o primeiro pico do resfriamento do óleo de oliva apresenta tanto um comportamento de transição vítrea, caracterizado pela componente de fluxo reversível, como de cristalização (fluxo irreversível). Este

comportamento é parecido com o óleo de mamão, figura 17, contudo o óleo de mamão apresenta maior contribuição de fluxo reversível no intervalo analisado.

O artifício de resfriamento e aquecimento contínuo, TOPEM, foi utilizado novamente, para melhor interpretação das curvas DSC para avaliação do possível evento térmico localizado em temperaturas intermediárias em relação aos eventos já analisados anteriormente durante resfriamento das amostras de óleos.

A figura 19 mostra o comportamento do óleo de mamão, quando este é submetido ao resfriamento de 10 a -70°C.

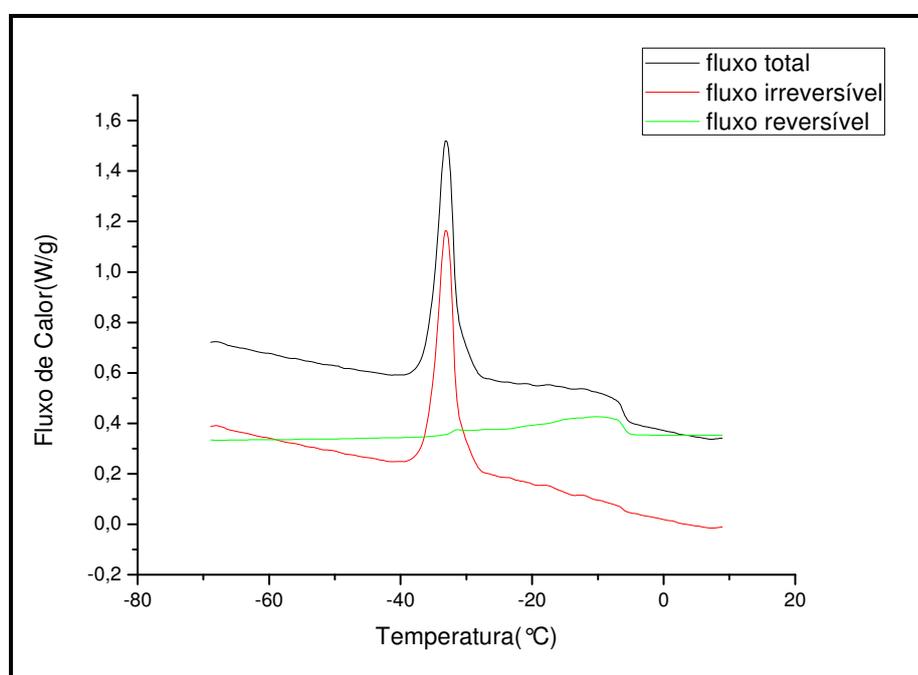


Figura 19 - Curvas DSC para o óleo de mamão no resfriamento de 10 a -70°C.

Pensou-se, primeiramente, que haveria um evento exotérmico localizado em temperatura próxima a -30°C e que poderia ser interpretado como uma pré-cristalização de acordo com os trabalhos de Kotti et al.⁷⁰ e Chiavaro et al.^{70,71} Porém, ao analisarmos cuidadosamente a curva em questão, vemos que quando uma amostra é submetida ao resfriamento ou aquecimento com o uso do TOPEM, a razão de aquecimento é de 1°C min⁻¹, então a transição de fase vista na figura 19, corresponde a cristalização completa dos componentes do óleo de mamão como

visto na figura 14, e não há portanto cristalização de constituinte triacilglicerol monossaturado.

Contudo as curvas DSC não fornecem nenhuma informação direta sobre a composição química dos óleos no âmbito de um determinado conjunto de condições experimentais, não podendo afirmar com certeza, que tipo de componente (saturado ou insaturado) que cristaliza ou funde em determinada temperatura. As curvas DSC apenas fornecem informações úteis sobre a natureza das mudanças termodinâmicas que são associados com as transformações de um estado físico para outro de óleos comestíveis⁷³.

5.1.3.2 Curvas de DSC para o óleo de mamão formosa durante aquecimento

As amostras de óleos também foram caracterizadas durante aquecimento, de -80 a 25°C. As curvas DSC para o óleo de mamão durante aquecimento estão demonstradas na figura 20.

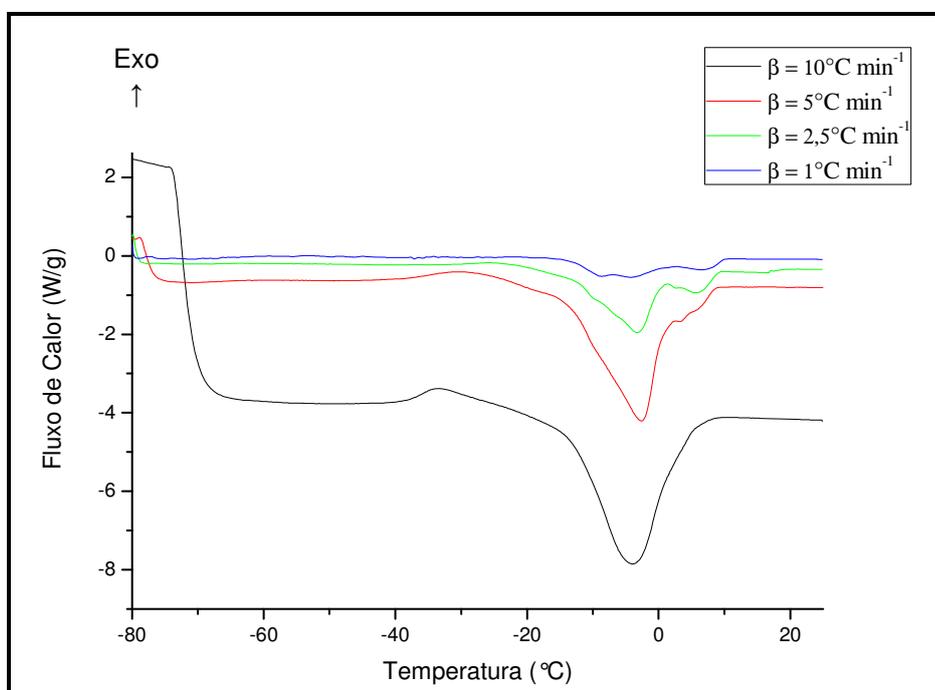


Figura 20 - Curvas DSC para o óleo de mamão no aquecimento.

O perfil de aquecimento apresentou-se mais complexo em relação ao resfriamento, exibindo múltiplos eventos exo e endotérmicos na faixa de -38,4 a 9,89 °C.

As propriedades térmicas do óleo de mamão durante aquecimento da amostra foram obtidas a partir das T_{on} e T_{off} dos eventos térmicos observados, estas temperaturas estão sumarizadas na tabela 17.

Tabela 17 - Dados de DSC obtidos durante aquecimento do óleo de mamão.

Amostras	ΔH (J/g)	T_{on} (°C)	T_{off} (°C)	$-(T_{on} - T_{off})$ (°C)
$\beta = 10^\circ\text{C min}^{-1}$	-72,1	-38,4	3,09	41,5
$\beta = 5^\circ\text{C min}^{-1}$	-72,5	-25,5	1,30	26,8
$\beta = 2,5^\circ\text{C min}^{-1}$	-39,1	-22,8	-0,22	22,6
$\beta = 1^\circ\text{C min}^{-1}$	-8,14	-37,6	9,89	27,7

As curvas DSC durante aquecimento das amostras não são facilmente interpretáveis, apresentando vários eventos reversíveis e irreversíveis, como pode ser visto na figura 21, quando as amostras de óleos são aquecidas sob condições do método TOPEM.

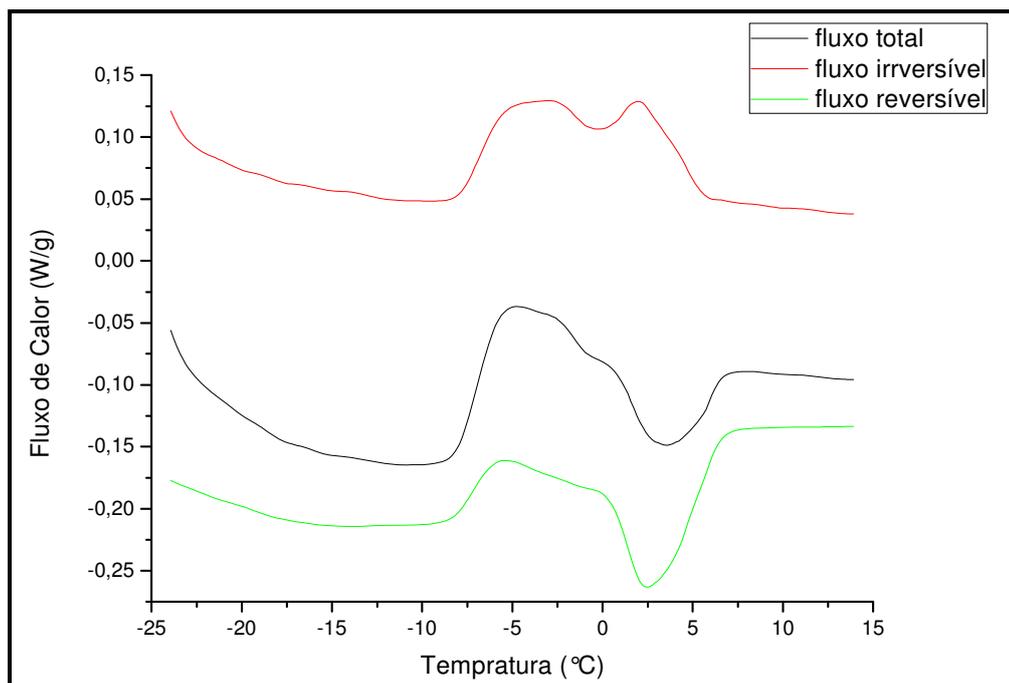


Figura 21 - Curva DSC para o óleo de mamão sob aquecimento de -25 a 15°C.

Uma vez que as curvas DSC durante aquecimento demonstram-se complexas, foi necessária a realização de outro experimento para melhor compreensão dos eventos térmicos que ocorrem neste intervalo de temperatura.

A figura 22 mostra com clareza as curvas DSC quando o óleo de mamão é resfriado até próximo a temperatura de cristalização, -45°C, e posterior aquecimento até 15°C.

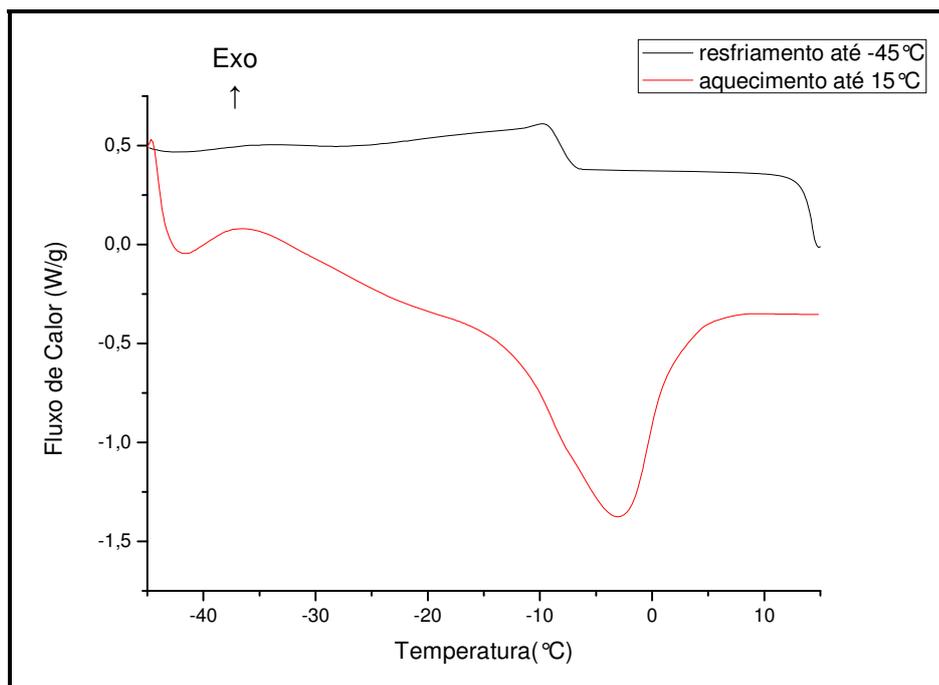


Figura 22 - Curvas DSC para o óleo de mamão de 15 a -45°C/-45 a 15°C, $\beta=10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

Como vemos na figura 22, o óleo de mamão foi resfriado de 15 a -45°C e em seguida, novamente aquecido. Durante o resfriamento, o menor pico característico de transição vítrea é observado (pico analisado na figura 17) e sem ocorrer a cristalização completa do óleo, este é aquecido até 15°C. Como a amostra não cristalizou completamente o pico endotérmico observado no aquecimento não está relacionado somente a fusão, mas também com um possível pico de relaxação, evento exotérmico proveniente do aumento de entalpia do sistema após a transição vítrea, uma vez que há mudança da linha base.

Assim, os eventos entre -38,4 e 9,98°C, figura 20, podem estar relacionados com fusão do óleo cristalizado, transição vítrea, pico de relaxação entre outras possibilidades.

5.1.3.3 Comparação do comportamento térmico do óleo de mamão com outros óleos vegetais.

As curvas DSC, figura 23 a 26, relacionam os comportamentos térmicos de óleos vegetais durante resfriamento e aquecimento. As análises foram realizadas em atmosfera inerte de N_2 , fluxo de 50 ml min^{-1} , e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

Os óleos analisados, soja, canola, milho e girassol, foram fornecidos por uma mesma empresa.

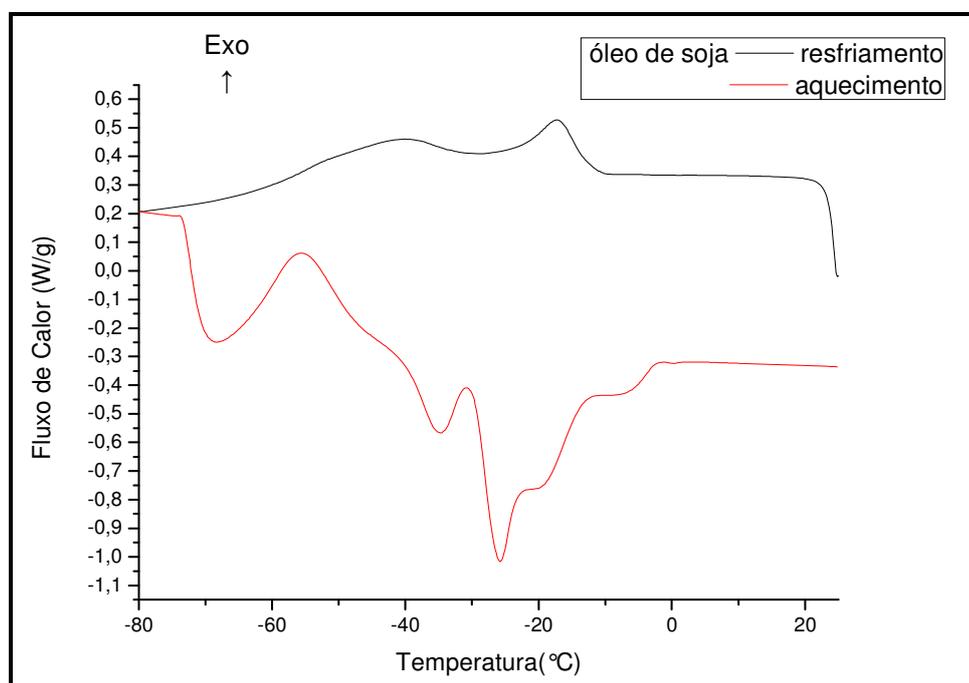


Figura 23 - Resfriamento e posterior aquecimento do óleo de soja.

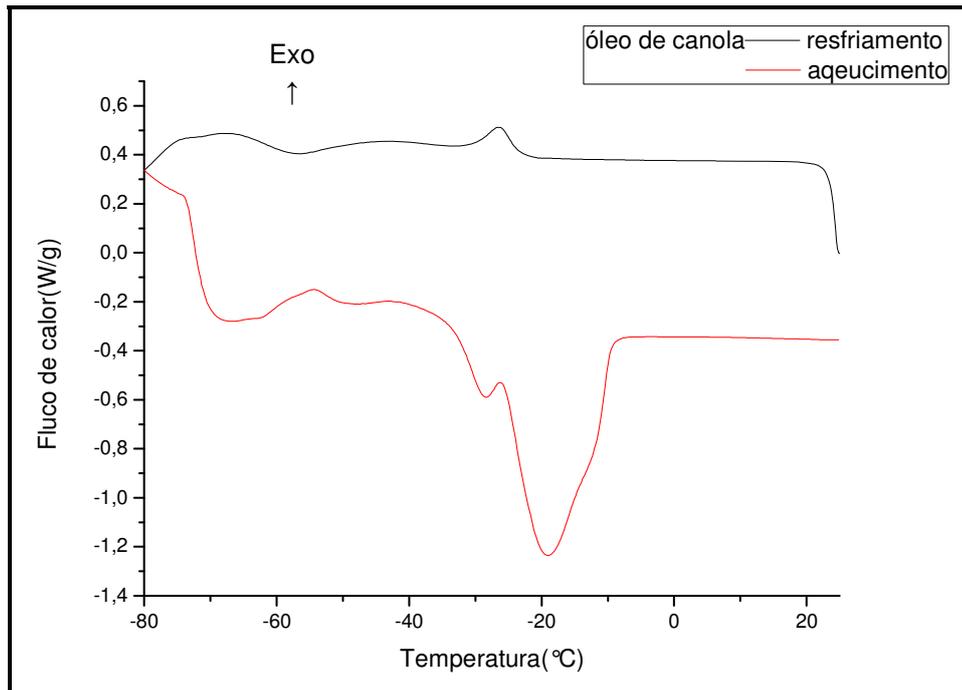


Figura 24 - Resfriamento e posterior aquecimento do óleo de canola.

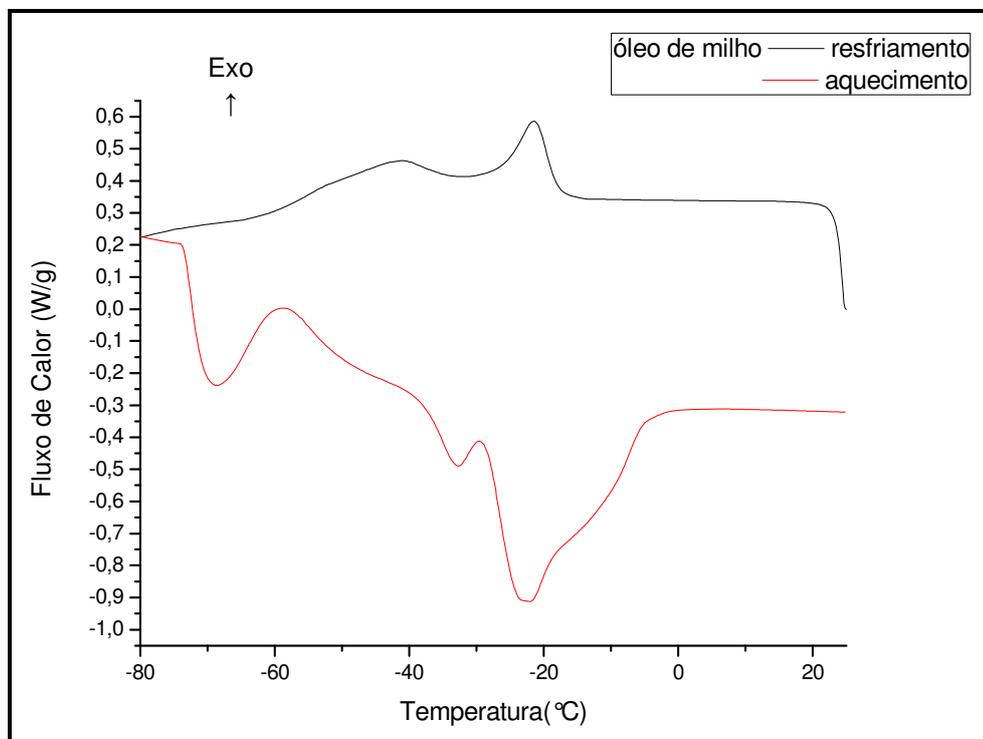


Figura 25 - Resfriamento e posterior aquecimento do óleo de milho.

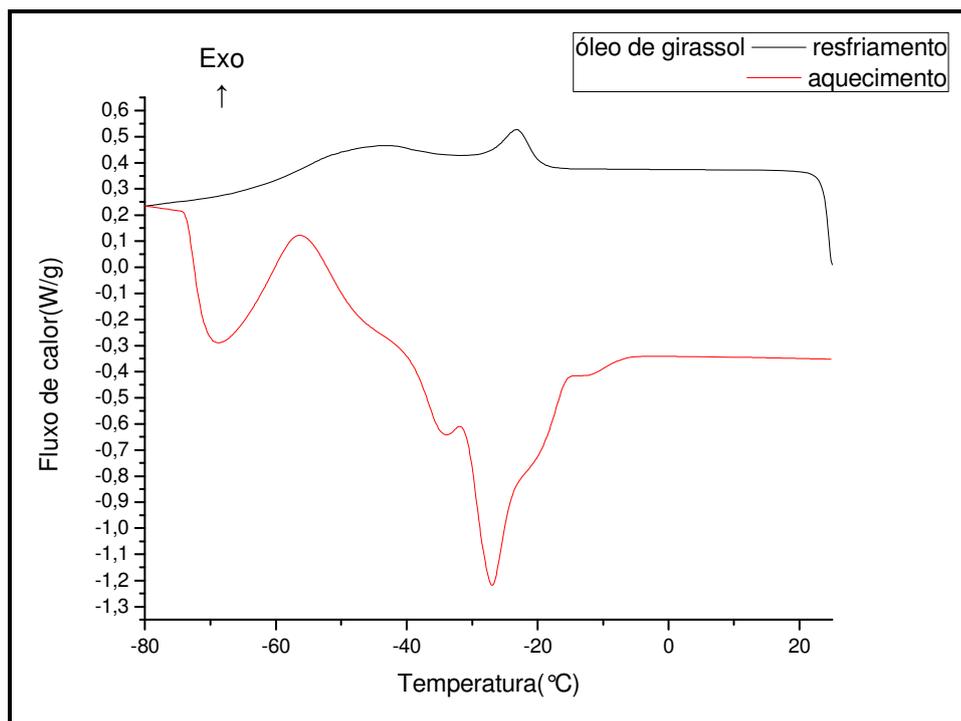


Figura 26 - Resfriamento e posterior aquecimento do óleo de girassol.

Pelas figuras 23 a 26, observa-se que as amostras de óleos são resfriadas de 25 a -80°C apresentam dois eventos exotérmicos, igualmente vistos para o óleo de mamão formosa, figura 14, e para o óleo de oliva, figura 15. Entretanto, durante o aquecimento dos óleos as curvas são também muito complexas, com várias transições de fases ocorrendo no intervalo de temperatura analisado.

As amostras de óleos vegetais foram estudadas separadamente (resfriamento e aquecimento), usando razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de N_2 , para comparação com as amostras de óleo de mamão e de oliva, estas curvas estão representadas abaixo, figuras 27 e 28.

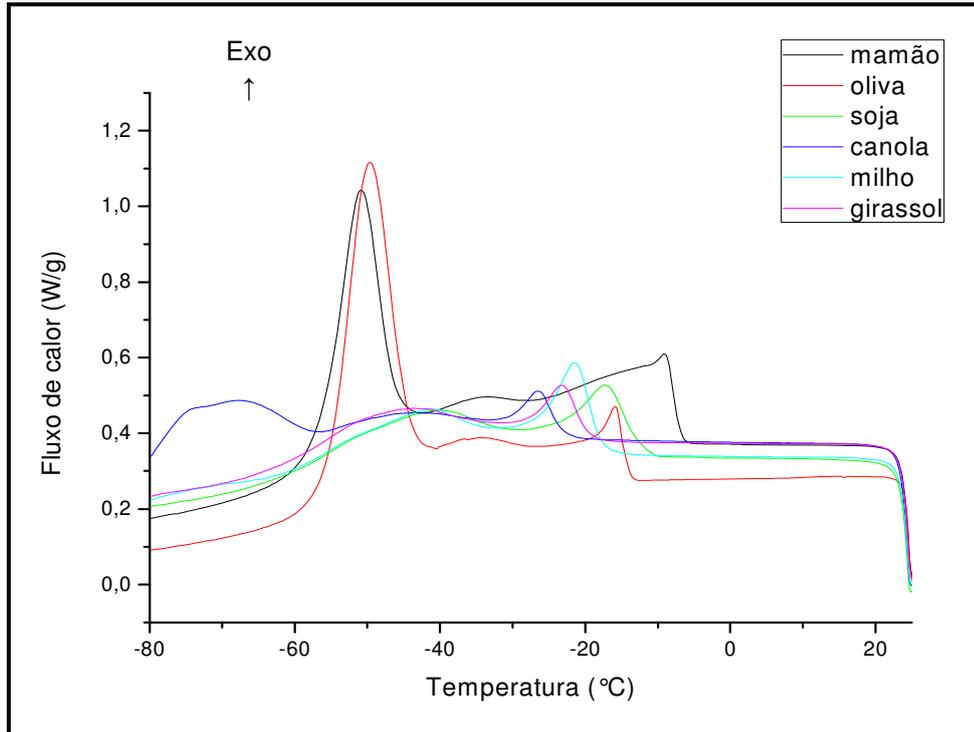


Figura 27 - Curvas DSC correspondente ao resfriamento das amostras de óleo vegetais.

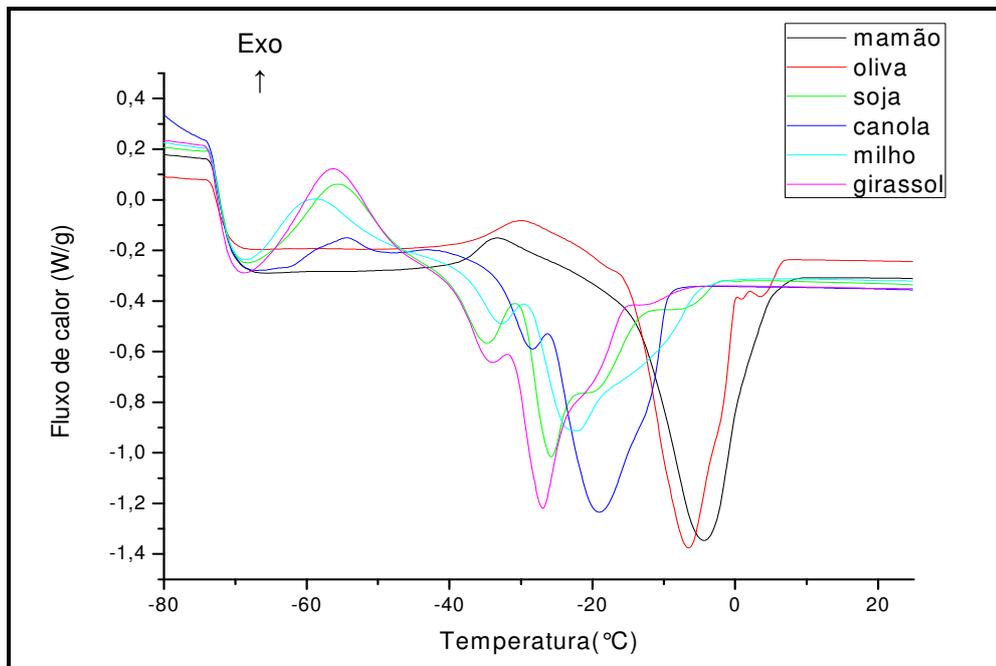


Figura 28 - Curvas DSC correspondente ao aquecimento das amostras de óleo vegetais.

Pela figura 27, vemos que o comportamento térmico para os óleo de milho, canola e girassol são praticamente parecidos no resfriamento e todas as amostras de óleo vegetais mostram picos exotérmicos que definem cristalização, mas em temperaturas distintas em relação aos óleos de mamão e oliva. E são as amostras de óleos de mamão e oliva que apresetam comportamentos próximos durante resfriamento e aquecimento, ja que apresentam composição praticamente semelhante em termos de ácidos graxos totais, seção 5.1.2.2.

A figura 28, ilustra o comportamento térmico obtido durante aquecimento de -80°C à 25°C das amostras de óleos vegetais. Todas as amostras analisadas apresentam seus picos que caracterizam a fusão bem definidos, eventos endotérmicos.

As propriedades térmicas de todos os óleos vegetais durante resfriamento e aquecimento estão tabelas abaixo, tabelas 18 e 19, respectivamente. Foram obtidas as temperaturas T_{on} e T_{off} dos eventos térmicos, e calculadas as diferenças entre elas.

Tabela 18 - Dados de DSC obtidos durante resfriamento dos óleos vegetais, a 10°C min⁻¹ em atmosfera inerte de N₂.

Amostras	ΔH (J/g)	T_{on} (°C)	T_{off} (°C)	$T_{on} - T_{off}$ (°C)
Soja	3,77	-12,3	-54,4	42,1
Canola	1,91	-26,0	-59,0	33,0
Milho	6,55	-21,9	-46,6	24,7
Girassol	3,58	-22,7	-48,8	26,1
Oliva	44,2	-15,8	-49,8	34,0
Mamão	30,9	-8,95	-51,5	42,5

Tabela 19 - Dados de DSC obtidos durante aquecimento dos óleos vegetais, a 10°C min⁻¹ em atmosfera inerte de N₂.

Amostras	ΔH (J/g)	T_{on} (°C)	T_{off} (°C)	- (T_{on} - T_{off}) (°C)
Soja	31,1	-55,6	-2,47	53,1
Canola	43,9	-62,6	-9,38	53,2
Milho	43,2	-64,6	-24,6	40,0
Girasol	27,8	-61,0	-27,2	33,8
Oliva	62,3	-28,2	4,21	24,0
Mamão	72,1	-38,4	3,09	41,5

Pelas tabelas 18 e 19 vemos que cada óleo possui comportamento térmico distinto, mesmo submetidos a condições experimentais idênticas, e que podem estar relacionados com a composição química dos mesmos, uma vez que estas influenciam o comportamento térmico de uma amostra como um todo. Também vimos que o óleo de mamão e o óleo de oliva extra virgem tem suas curvas DSC muito próximas, de acordo com as temperaturas onset e offset, para resfriamento e aquecimento.

5.2 Caracterização da lecitina proveniente da semente de mamão

Após a preparação do subproduto de extração do óleo de mamão formosa como descrito na seção 3.4, o produto final atribuído como lecitina pode ser visto na figura 29, e que corresponde a aproximadamente 3% das sementes de mamão extraída com água destilada e etanol.

Este subproduto se apresenta de cor marrom brilhante, e parecido com uma goma.



Figura 29 - Lecitina de mamão formosa.

5.2.1 Espectros de RMN obtidos para a lecitina

O subproduto de extração do óleo de mamão, atribuído como lecitina, foi encaminhado para o laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, diluído em clorofórmio deuterado (CDCl_3) para obtenção dos espectros de RMN.

Os espectro de ^1H estão anexados ao trabalho, anexo A a C, para melhor visualização.

A tabela abaixo estabelece os grupos de átomos e seus deslocamentos químicos obtidos a partir do espectro de ^1H para a lecitina de mamão e para o óleo de linhaça, no trabalho descrito por Hamilton⁷⁴.

Tabela 20 - Deslocamentos químicos, ppm, dos grupos de átomos existentes no espectro de ^1H e para a lecitina de mamão e para o óleo de linhaça.

Elementos Estruturais	Óleo Vegetal	Lecitina de Mamão
	Deslocamentos Químicos (ppm)	Deslocamentos Químicos (ppm)
$\text{CH}=\text{CH}$	5,3 – 5,4	5,255 – 5,282
$\text{CH}_2\text{-OH}$	4,1 – 4,3	4,054 – 4,239
$\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH-}$	2,8	1,919 – 1,1956
$\text{CH}_2\text{-CH}_2$	2,3 – 2,35	2,220 – 2,255
CH_2	1,1 – 1,5	1,184 – 1,550
CH_3	1,0	-
	0,8 – 0,9	0,793 – 0,821

Pela tabela 20, podemos ver que o espectro de lecitina de mamão, apresenta-se bem próximo ao espectro de óleo de linhaça, pela presença de picos com deslocamentos químicos parecidos. Os elementos estruturais descritos na tabela acima estão presentes nas cadeias carbônicas longas dos fosfolipídeos apresentados na figura 14 e assinalados como R' e R".

O trabalho de Hamilton estabelece a presença da fosfatidilcolina no óleo vegetal com pico em 3,2 ppm, devido a presença do grupamento $\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$, grupo principal da molécula. O mesmo pode ser visto nos trabalhos de Capitani et al.⁷⁵ e Mertins et al.⁵⁵ que estudaram as organelas da lecitina de soja por ressonância magnética nuclear. Eles analisaram os espectros de ^1H formado de acordo com a estrutura da fosfatidilcolina, especificando cada pico, principalmente um pico intenso de intensidade próximo a 3,4 ppm e 3,3 ppm, respectivamente, como os hidrogênios pertencentes ao grupo $\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$.

Para o estudo da lecitina de mamão, cada fosfolipídeo (FC, FE, FS e FI) foi desenhado separadamente e o seu respectivo espectro foi calculado com o auxílio do programa ACD/LAB, os picos observados podem ser encontrados na tabela 21.

Contudo o espectro de ^1H que apresentou maior semelhança espectral com a lecitina de mamão foi a fosfatidiletanolamina e o fosfatidilinositol. Descartou-se a fosfatidilcolina pois esta apresenta pico intenso em deslocamento químico igual a 4ppm, para identificação dos seus H do grupo $\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$, pico não observado para os

espectros de RMN da lecitina de mamão, e a fosfatidilserina, uma vez que esta apresenta espectro muito complexo.

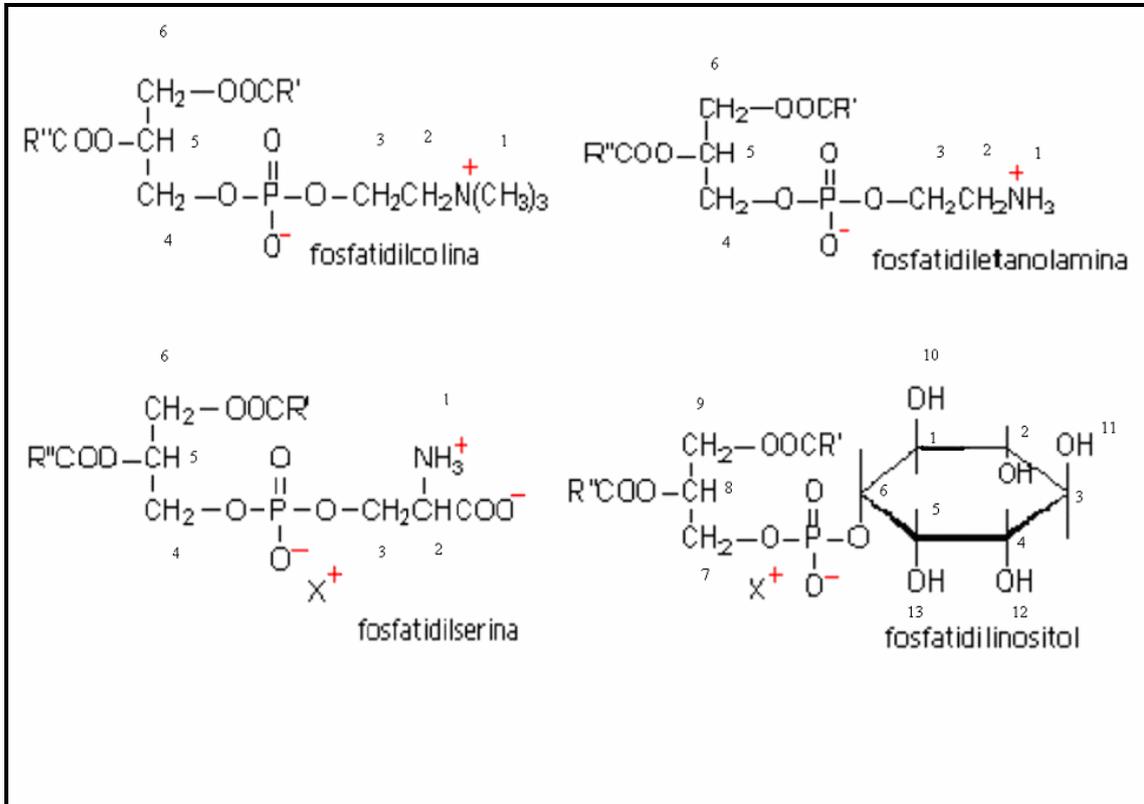


Figura 30 - Fosfolipídeos presente na lecitina. Hidrogênios numerados para identificação por RMN.

Tabela 21 - Fosfolipídeos presente na lecinta. Hidrogênios numerados para identificação por RMN.

	Deslocamento químico (ppm)			
	Fosfatidilcolina	Fosfatidiletanolamina	fosfatidilserina	fosfatidilinositol
1	4,00	4,70	9,12	1,29
2	3,88	3,64	4,51	4,57
3	4,31	3,99	4,46 / 4,52 / 4,55	4,37
4	4,21 / 4,26 / 4,42 / 4,45	4,52 / 4,69	4,52/4,69	4,13
5	3,28 / 3,32	4,10	4,12	5,37
6	2,74 / 2,88 / 2,93	2,74 / 2,88 / 2,93	2,74/ 2,88 / 2,93	4,47
7				3,98 / 4,06
8				3,15 / 3,23
9				2,74 / 2,88 / 2,93
10	-	-	-	
11				
12				4,13
13				

Diante do já exposto, podemos concluir que os espectros de ^1H para a lecitina de mamão, apresenta picos com deslocamentos químicos próximos as estruturas dos fosfolipídeos FE e FI.

5.2.2 Espectro de absorção na região do Infravermelho

A figura abaixo nos fornece o espectro de absorção na região do infravermelho para a lecitina de mamão.

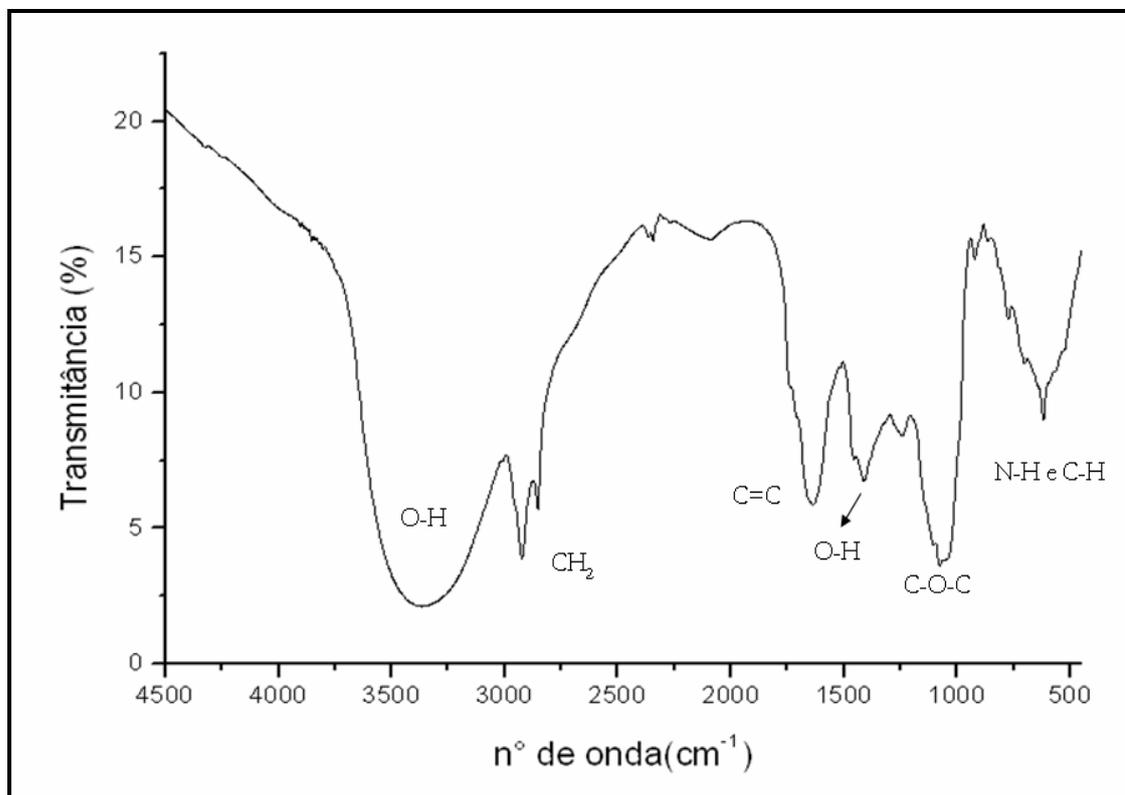


Figura 31 – Espectro de absorção na região do Infravermelho da lecitina de mamão.

O espectro acima nos mostra uma banda acentuada entre 3500-3000 cm^{-1} característico de deformação axial de O-H.

As bandas em 2924 e 2850 cm^{-1} caracterizam deformação axial assimétrica ($\nu_{as}CH_2$) e deformação axial simétrica (ν_sCH_2), que de acordo com a literatura, essas se encontram próximas a 2926 e 2853 cm^{-1} . A banda em 1637 cm^{-1} corresponde a uma deformação axial C=C (1642 cm^{-1}).

A banda formada em 1400 cm^{-1} representa deformação angular OH (1420-1330 cm^{-1}). A banda em 1242 cm^{-1} apresenta semelhança espectral com banda de deformação axial assimétrica de C-O-C (1275 - 1200 cm^{-1}) e com deformação axial simetria em 1000 cm^{-1} (1075 - 1020 cm^{-1}).

A presença de NH e CH é vista pelas pequenas bandas existentes entre 900 e 600 cm^{-1} .

O espectro obtido na figura 21 pode ser comparado com alguns espectros existentes na literatura^{80, 81,82} e cada banda de absorção mostrada está conivente com os grupos de átomos que compõem estrutura da fosfatidiletanolamina e do fosfatidilinositol.

5.2.3 Estudo do comportamento térmico por termogravimetria (TG)

As análises termogravimétricas foram realizadas em cadinho de α -alumina e em atmosferas de ar sintético e N_2 . Usou-se razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ até que a perda de massa com o aumento da temperatura apresenta-se constante, fato que foi observado entre $600\text{-}700^\circ\text{C}$. A massa de amostra utilizada ficou e torno de 8 mg.

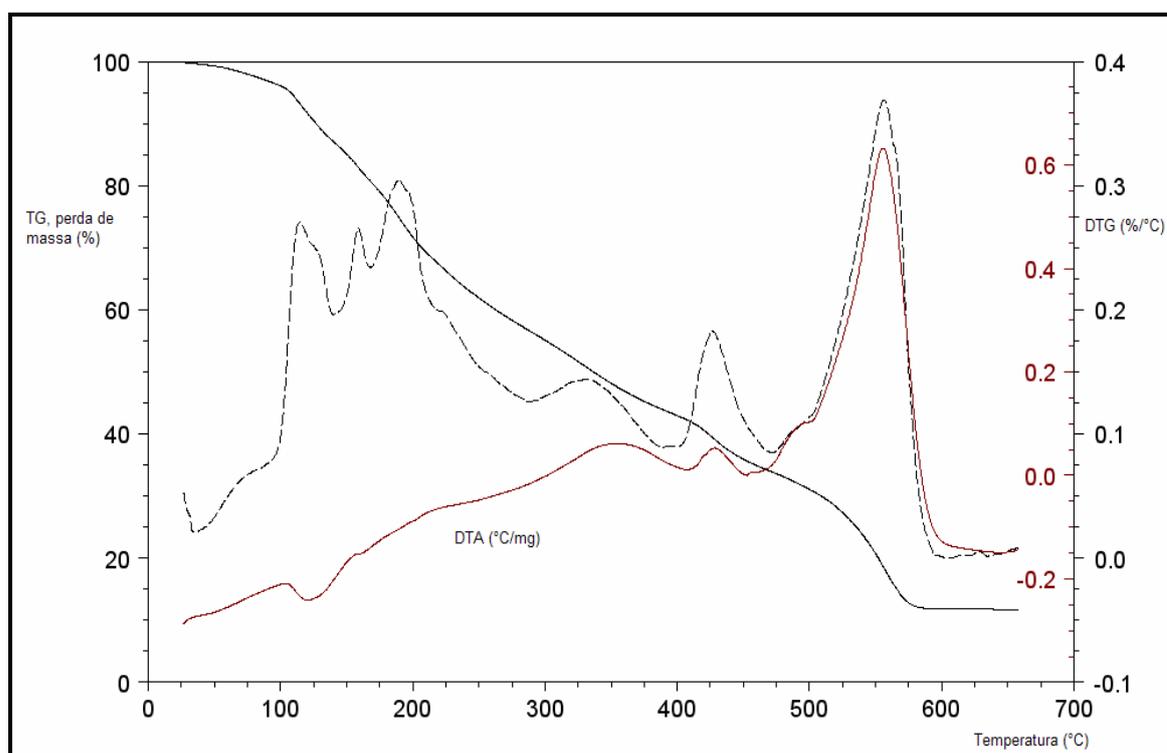


Figura 32 - Curvas TG, DTG e DTA da lecitina de mamão em ar sintético.

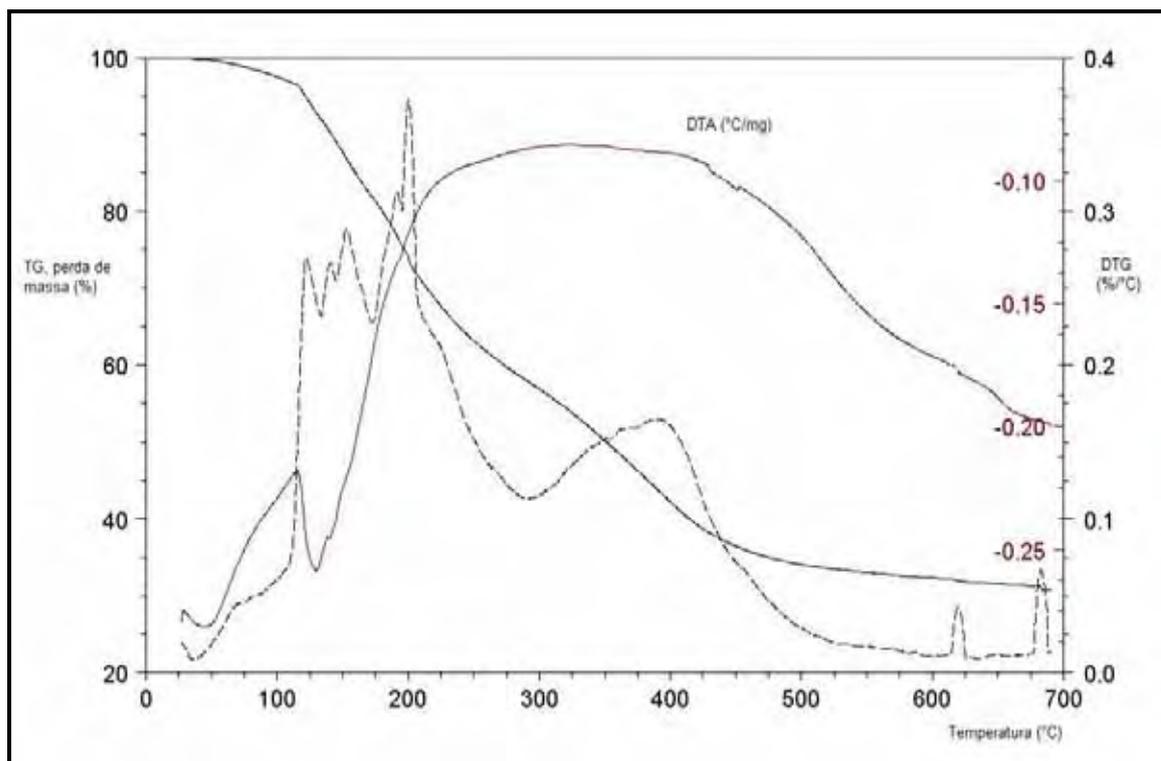


Figura 33 - Curvas TG, DTG e DTA da lecitina de mamão em nitrogênio.

A primeira perda de massa, evento endotérmico, pode estar relacionada à perda de água uma vez que ocorre em 114°C e em 109°C, quando a amostra é aquecida em atmosfera de N₂ e de ar sintético, respectivamente. De acordo com a curva de DTA, da figura 33, a perda de massa de amostra é lenta e não oxidativa.

O segundo evento de decomposição térmica, que pode ser visto com clareza nas figuras acima, correspondem a uma decomposição exotérmica, e ocorre em temperaturas próximas a 441°C e em 690°C, quando a lecitina de mamão é aquecida em atmosfera inerte e de ar sintético.

O resíduo final da decomposição térmica em atmosfera inerte, corresponde a 37,31% da massa de amostra inicial. Já, o resíduo de lecitina em ar sintético, corresponde a 14,58%, garantindo maior decomposição térmica oxidativa quando a amostra é submetida ao aquecimento em atmosfera oxidante, sendo que o resíduo pode ser devido a presença de compostos de fósforo.

5.2.4 Difratometria de raios-X para a lecitina de mamão formosa

O resíduo de lecitina, após passar pelo aquecimento em atmosfera dinâmica de ar sintético, foi encaminhado ao laboratório para análise por difratometria de raios-X, a figura abaixo ilustra o resultado obtido.

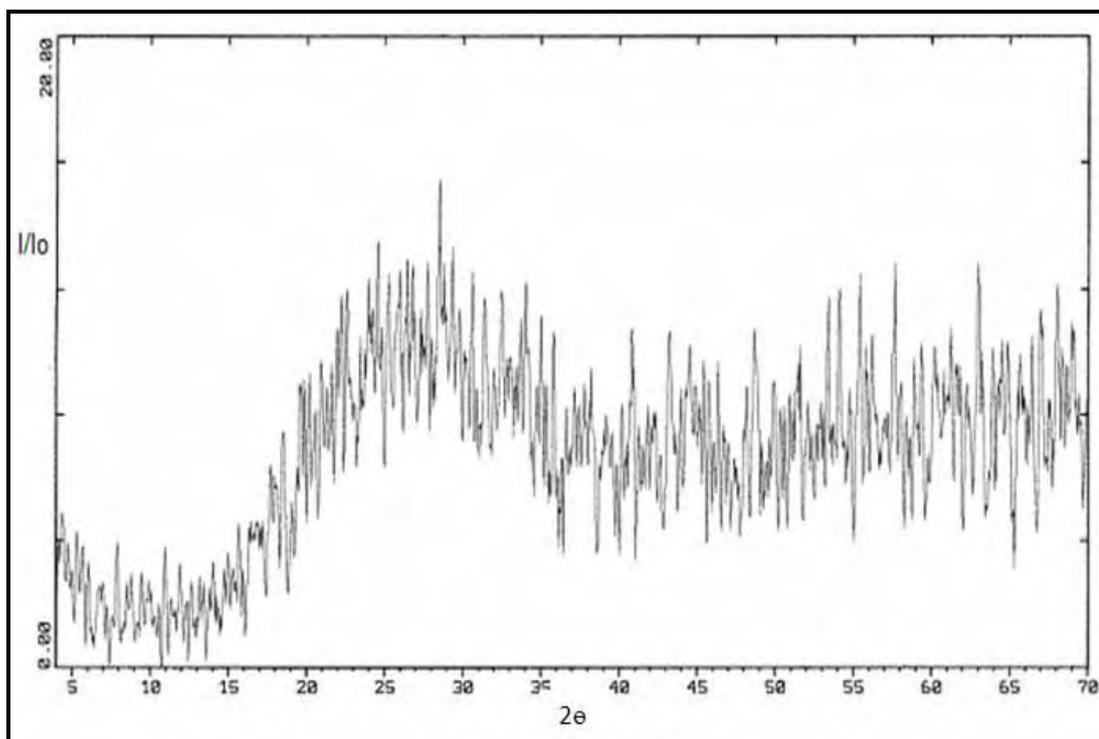


Figura 34 - Difratograma de raios-X da lecitina de mamão formosa.

Como visto acima, o resíduo de lecitina após aquecimento até 600-700 °C em ar sintético é um sólido amorfo, não apresenta estrutura cristalina e difícil identificação por esta técnica aliada a termogravimetria.

CAPÍTULO VI

CONCLUSÕES E PROPOSTA PARA TRABALHOS FUTUROS

6 CONCLUSÃO E PROPOSTA PARA TRABALHOS FUTUROS

6.1 Conclusão Geral

As metodologias desenvolvidas para a extração e caracterização do óleo de semente de mamão formosa mostraram-se eficiente, apresentando bons resultados de rendimento e composição química adequada e comparável a outros óleos vegetais, principalmente com o óleo extra virgem de oliva.

As sementes de mamão formosa são adequadas para a produção de óleo, podendo assim ser indicado a utilização deste para agregar valor à matéria-prima inicial.

6.2 Conclusões Específicas

6.2.1 Quanto ao preparo das amostras de óleo de mamão

A extração inicial do óleo de mamão por Soxhlet, utilizando somente hexano como solvente extrator, não foi adequada para garantir um óleo de qualidade. Sendo assim, foram satisfatórias as mudanças de preparação de amostras e do método de extração, com a presença de solventes polares, permitindo a obtenção de um óleo com baixo valor de acidez e bom estado de conservação após armazenamento, contudo obteve-se apenas 25% de lipídeos totais após extração, rendimento bem abaixo do conseguido por Kalayasiri et al.³⁰ na extração do óleo de mamão. Porém o rendimento da extração do óleo de mamão formosa poderia ser maior, uma vez que retirou a lecitina, tendo essa um rendimento de aproximadamente 3% após preparação de amostra.

6.2.2 Quanto ao método de análise do óleo de mamão

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas foi uma técnica adequada para a identificação e quantificação dos ácidos graxos presente no óleo de mamão. Esta técnica permitiu analisar os ácidos graxos presentes e concluir que os ácidos oléico e palmítico estão presentes em maior composição na amostra de

óleo. Este resultado está de acordo com o índice de saponificação calculado para o óleo de mamão. Como este índice é inversamente proporcional ao peso molecular médio dos ácidos graxos presentes em amostra de óleos e gorduras e o valor encontrado foi de $189,4 \pm 0,1$ mg de KOH/g de óleo, conclui-se que o óleo de mamão tem em sua constituição ácidos graxos de massa molecular não elevada.

O estudo térmico do óleo de mamão formosa foi adequado para determinação das transições de fase presentes. O uso do DSC Modulado, com o auxílio do TOPEM, permitiu uma melhora significativa na diversidade de informação sobre o comportamento térmico do óleo de mamão.

6.2.3 Quanto ao método de análise da lecitina

As técnicas de espectrometria de absorção na região do infravermelho e a ressonância magnética nuclear foram satisfatórias para identificação dos grupos químicos existentes nos fosfolídeos. Estas técnicas não permitem a quantificação, mas foram suficientemente adequadas para analisar a fosfatidiletanolamina e o fosfatidilinositol, como os possíveis fosfolídeos presentes na semente de mamão formosa.

6.3 Proposta de trabalhos futuros

Propor e estudar metodologias de extração de óleo proveniente da semente de mamão, com a utilização de quantidades mínimas de solventes, e que permitam obter rendimentos adequados, igualmente as técnicas clássicas de extração.

Avaliação cinética de oxidação do óleo de mamão e comparação com outros óleos.

Estudar detalhadamente a lecitina, subproduto de extração das sementes de mamão, envolvendo processos de purificação e técnicas de análise para quantificação dos fosfolídeos presentes.

Estudo toxicológico do óleo proveniente da semente de mamão, para avaliação da sua possível disponibilidade para alimentação, uma vez que já apresenta algumas características, comportamento térmico e composição em ácidos graxos parecidas, com o óleo de oliva extra virgem.

Referências

- 1 RÉ, P. V. D.; JORGE, N. Comportamento dos óleos de girassol e milho em frituras de produto cárneo empanado pré-frito congelado. **Ciência Agrotécnica**, v. 31, n. 6, p. 20-20, 2007.
- 2 TAN, C. P.; CHEMAN, Y. B. Differential scanning calorimetric analyst of edible olis; comparison of thermal properties and chemical composition. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 2, p. 143-155, 2000.
- 3 MASUCHI, M. H.; CELEGHINI, M. S.; GONÇALVES, L. G.; GRIMALDI, R. Quantificação de TBHQ (terc butil hidroquinona) e avaliação da estabilidade oxidativa em óleos de girassol comerciais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1053-1057, 2008.
- 4 BRAZILIANFRUIT. **Brazilian Papayas: healthfulness and flavor every day.** Disponível em: <http://www.brazilianfruit.org.br/Ingles/Index_Ing.htm>. Acesso em: 22 abr. 2010.
- 5 ALOBO, A. P. Proximate composition and selected functional properties of defatted papaya (*Carica papaya* L.) kernel flour. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 58, p. 1-7, 2003.
- 6 VON LOESECKE, H. W.; NOTLE, A J. Characteristics and composition of papaya seed oil. **Journal American Chemists' Society**, v. 12, p. 2565-2567, 1937.
- 7 VALOR RURAL. **Mamão–Variedades/Cultivares.** Disponível em: <<http://www.fazendeiro.com.br/GuiaProd/GuiaProduto.asp?codigo=51&Item=4>>. Acesso em: 15 maio 2009.
- 8 TODA FRUTA. **Novidades de pesquisa-Mamão.** Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br/>>. Acesso em: 16 maio 2009.

9 SOXHLET, F. Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. **Polytechnisches Journal Dingler's**, v. 232, p. 461-465, 1879.

10 MOLERO GOMEZ, A.; PEREYRA LÓPEZ, C.; MARTINEZ DE LA OSSA, E. Recovery of grape seed oil by liquid and supercritical carbon dioxide extraction: a comparison with conventional solvent extraction. **The Chemical Engineering Journal**, n. 61, p. 227-231, 1996.

11 CABEZAS, D. M.; DIEHL, B. M. K.; TOMÁS, M. C. Sunflower lecithin: application of a fractionation process with absolute ethanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, n. 86, n. 2, p. 189-196, 2009.

12 MORTON, J. F. **Fruits of warm climates**. Miami: Creative System Resources, 1987. p. 336-346.

13 RUGGIEIRO, C. Situação da cultura do mamão no Brasil. In: SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MAMOEIRO, 2., 1988, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1988. p. 5-18.

14 SIMÃO, S. **Manual de fruticultura**: mamoeiro. São Paulo: Agronômica Ceres, 1971. p. 313-338.

15 INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Frutas frescas**: produção. Disponível em: < http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp>. Acesso em: 16 maio 2009.

16 SARZI, B. **Conservação de abacaxi e mamão minimamente processados**: associação entre o preparo, a embalagem e a temperatura de armazenamento. 2002. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

17 ANUAR, N. S.; ZAHARI, S. S.; TAIB, I. A.; ARMAN, M. T. Effect of green and ripe carica papaya epicarp extracts on wound healing and during pregnancy. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2384-2389, 2008.

18 PUANGSRI, T.; ABDULKARIM, S. M.; GHAZALI, H. M. Properties of Carica Papaya L. (papaya) seed oil following extraction using solvent and aqueous enzymatic methods. **Journal Food Lipids**, v. 12, p. 62-76, 2005.

19 AUDI, J. G. **Irradiação gama e armazenamento do mamão “formosa” minimamente processado**. 2004. 96 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

20 COSTA, R. P.; SILVA, C. C. Doenças cardiovasculares. In: CUPPARI, L. **Guias de medicina ambulatorial e hospitalar: nutrição clínica no adulto**. Barueri: Manole, 2002. p. 263-288.

21 FISBERG, R. M.; VILLAR, B. S.; COLUCCI, A. C. A.; PHILIPPI, S. T. Alimentação equilibrada na promoção da saúde. In: CUPPARI, L. **Guias de medicina ambulatorial e hospitalar: nutrição clínica no adulto**. Barueri: Manole, 2002. p. 47-54.

22 GIBSON, R. A. Docosa-hexaenoic acid (DHA) accumulation is regulated by the polyunsaturated fat content of the diet: is it synthesis or is it incorporation. **Asia Pacific Journal Clinical Nutrition**, n. 13, p. S78-S89, 2004. Supplement.

23 MURRAY, R. K.; GRANNER, D. L.; MAYES, P. A.; RODOWELL, V. W. **Harper: bioquímica**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 920 p.

24 NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p.

25 FARIA, E. A.; LELES, M. I. G.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T. O.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. **Eclética Química**, v. 27, p. 111-119, 2002.

26 SALEM JUNIOR, N. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Brackgrounder**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 1999.

27 CARVALHO, P.; CAMPO, P. R. B.; NOFFS, M. A.; OLIVEIRA, J. G.; SHIMIZU, J. T.; SILVA, D. M. Aplicação de lípases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, v. 1, n. 1, p. 75-80, 2003.

28 OLIVEIRA, G. P.; ECHEVENGUÁ, M. M.; MESSIAS, R. S. **Processo de extração e caracterização do óleo da semente de uva**. Florianópolis: Ed. UFSC, 2003. 215 p.

29 RINALDI, R.; GARCIA, C.; MARCINIUK, L. L.; ROSSI, A. V.; SCHUCHARDT, U. Síntese de biodiesel: uma abordagem contextualizada de experimento para laboratório de química geral. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1374-1380, 2007.

30 KALAYASIRI, P.; JEYASHOKE, N.; KRISNANGKURAK, K. Survey of seed oils for use as diesel fuel. **Journal of American oil Chemists' Society**, v. 73, p. 471-474, 1996.

31 SINGH, L. D. **Papaya**. Delhi: Oxford & IBH, 1990. p. 224.

32 ROBBERS, J. B.; SPEEDIE, M. K.; TULER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotecnologia**. São Paulo: Premier, 1997. 278 p.

33 MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998. 150 p.

34 SINGH, J.; BARGALE, P. C. Mechanical expression of oil from linseed (*Linum Usitatissimum* L.). **Journal of Oilseeds Research**, v. 7, p. 106-110, 1990.

35 THOE, T. B.; ASPINWALL, D. K.; WISE, M. L. H. Review on ultrasonic machining. **International Journal of Machine Tools and Manufacture**, v. 38, n. 4, p. 239-255, 1998.

36 BENEDITO, J.; MULET, A; VELASCO, J.; DOBARGANES, M. C. Ultrasonic assessment of oil quality during frying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 16, p. 4531-4536, 2002.

37 ABAD, F. C. **Determinação multiresíduos de pesticidas em cenouras utilizando extração com líquido pressurizado e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas**. 2006. 106 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

38 SANAGI, M. M.; SEE, H. H.; IBRAHIM, W. A W.; NAIM, A. A determination of carotene, tocopherols and tocotrienols in residue oil from palm oil from palm pressed fiber using pressurized liquid extraction normal phase liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 538, p. 71-76, 2005.

39 LEE, W. Y.; CHO, Y. J.; OH, S. L.; PARK, J. H.; CHA, W. S.; JUNG, J. Y.; CHOI, Y. H. Extraction of grape seed oil by supercritical CO₂ and ethanol modifier. **Food Science Biotechnology**, v. 9, p. 174-178, 2000.

40 STAHL, E.; SCHÜTZ, E.; MAGOLD, H. K. Extraction of seed oils with liquid and supercritical carbon dioxide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 1153-1157, 1980.

41 CALVEY, E. M.; McDONALD, R. E.; PAGE, S. W.; MOSSOBA, M. M.; TAYLOR, I. T. Evaluation of SFC/FT-IR for examination of hydrogenated soybean oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, p. 542-547, 1991.

42 ALKIO, M.; GONZALES, C.; JANTTI, M.; ALTONEN, O. Purification of polynsaturated fatty acid esters from tuna oil with supercritical fluid chromatography. **Journal of the American Chemists' Society**, v. 77, p. 315-319, 2000.

43 SILVESTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Spectrometric identification of organic compound**. 4th ed. New York: John Willey, 1981. 442 p.

44 RUCKER, G.; NEUGEBAUER, M.; WILLEMS, G. G. **Intrumentelle pharmazeutische analytik**. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1998. 539 p.

45 MARCANO, D.; HASEGAWA, M. **Fitoquímica orgánica**. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1991. p. 17-38.

46 LANÇAS, F. M. **Cromatografia em fase gasosa**. São Carlos: Acta, 1993. 240 p.

47 SEPPÄNEN-LAAKSO, T.; LAAKSO, I.; HILTUNEN, R. Análisis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance research on health and nutrition. **Analytica Chimica Acta**, v. 465, p. 39-62, 2002.

48 LI, D.; PARK, J.; OH, J. Silyl derivatization of alkylphenols, chlorophenols, and bisphenol a for simultaneous GC/MS determination. **Analytical Chemistry**, v. 73, p. 3089-3095, 2001.

49 BEVERIDGE, T. H. J.; GIRARD, B.; KOPP, T.; DROVER, J. C. G. Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: varietal effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1799-1804, 2005.

50 GAMAZO-VÁZQUEZ, J.; GARCÍA-FALCÓN, M. S.; SIMAL-GÁNDARA, J. Control contamination of olive oil by sunflower seed oil in hottling plants by GC-MS of fatty acid methyl esters. **Food Control**, v. 14, p. 463-467, 2003.

51 VICARIO, I. M.; GRIGUOL, V.; LEÓN-CAMACHO, M. Multivariate characterization of the fatty acid profile of spanish cookies and bakery products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 134-139, 2003.

52 WU, Y.; WANG, T. Soybean lecithin fractionation and functionality. **Journal American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 4, p. 319-326, 2003.

53 MARTÍN-HERNÁNDEZ, C.; BÉNET, S.; MARVIN-GUY, L. F. Characterization and quantification of proteins in lecithins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 22, p. 8607-8613, 2005.

54 MAXIMIANO, F. A. A convenient method for lecithin purification from fresh eggs. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 910-913, 2008.

55 MERTINS, O.; SEBBEN, M.; SCHNEIDER, P. H.; POHLMANN, R.; SILVEIRA, N. P. Caracterização da pureza de fosfatidilcolina da soja através de RMN de ^1H e de ^{31}P . **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1856-1859, 2008.

56 TEBERIKLER, L.; KOSEOGLU, S.; AKGERMAN, A. selective extraction of phosphatidylcholine from lecithin by supercritical carbon dioxide/ethanol mixture. **Journal American Oil Chemists' Society**, v. 78, n. 2, p. 115-120, 2000.

57 SCÉCSÉNYI, K. M.; ESZTELECKI, I.; POKOL, G. Advantages and limits on usage of thermal methods in complex systems. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 89, n. 3, p. 829-833, 2007.

58 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**: óleos e gorduras. 4. ed. São Paulo: IMESP, 1985. v. 1.

59 FARMER, E. H.; BLOOMFIELD, G. G.; SUNDRALINGAM, S.; SUTTON, D. A. The course and mechanism of autoxidation reaction in olefinic and polyfinic substances, including rubber. **Journal of the Chemical Society: Faraday Transaction**, v. 38, p. 348-356, 1942.

60 RAMALHO, V. N.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

61 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS. **E 1755**: standard test method for ash in biomass. West Conshohocken, 1996-2010. Disponível em: <<http://www.astm.org/Standards/E1755htm>>. Acesso em: 18 jun. 2010.

62 BREITBACH, M.; BARTHEN, D.; SCHMIDT-TRAUB, H. Effect of ultrasound on adsorption and desorption process. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 22, p. 5635-5646, 2003.

63 FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de procedimentos de extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. 2007. 227 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

64 KOBELNICK, M. **Síntese, caracterização, estudo termoanalítico e crítico do 2-metoxibenzal piruvato de Mn, Fé, CO, Ni, Cu e Zn, no estado sólido**. 2009. 253 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

65 READING, M.; ELLIOT, D.; HILL, V. L. A new approach to the calorimetric investigation of physical and chemical transitions. **Journal of Thermal Analysis**, v. 40, p. 949-955, 1993.

66 PRASAD, R. B. N.; RAO, Y.; NAGENDER, R.; VENKOB, S. Phospholipids of palash (*Butea monosperma*), papaya (*Carica papaya*), jangli bodam (*Sterculia foetida*), coriander (*Coriandrum sativum*) and carrot (*Daucus carota*) seeds. **Journal of American oil Chemists' Society**, v. 64, n. 10, p. 1424-1427, 1987.

67 ATKINS, P. **Princípios de química**: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2006. 965 p.

68 WILLARD, H. H. **Análise instrumental**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1974. 986 p.

69 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução n° 482 de 23 setembro 1999**. Republicada dia 20/06/2000. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482_99.htm>. Acesso em: 16 maio 2009.

70 KOTTI, F.; CHIAVARO, E.; CERRETANI, L.; BARNAA, C.; GARGOURI, M.; BENDINI, A. Chemical and thermal characterization of Tunisian extra virgin live oil from Chetoui and Chemlali cultivars and different geographical origin. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 3, p. 735-742, 2009.

71 CHIAVARO, E.; VITTADINI, E.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; CERRERANI, L.; BENDINI, A. A differential scanning calorimeter application to the detection of refined hazelnut oil in extra virgin olive oil. **Food Chemistry**, v. 110, p. 248-256, 2008.

72 CHIAVARO, E.; BARNABA, C.; VITTADINI, E.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; CERRETANI, L.; BENDINI, A. Microwave heating of different commercial categories of olive oil: part ii. effect on thermal properties. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1393-1400, 2009.

73 BISHNU, P.; CHAPAGAIN, W. Z. Mandi-TOF/MS fingerprinting of triacylglycerols (tags) in olive oils produced in the Israeli Negev desert. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 4, p. 1135-1142, 2009.

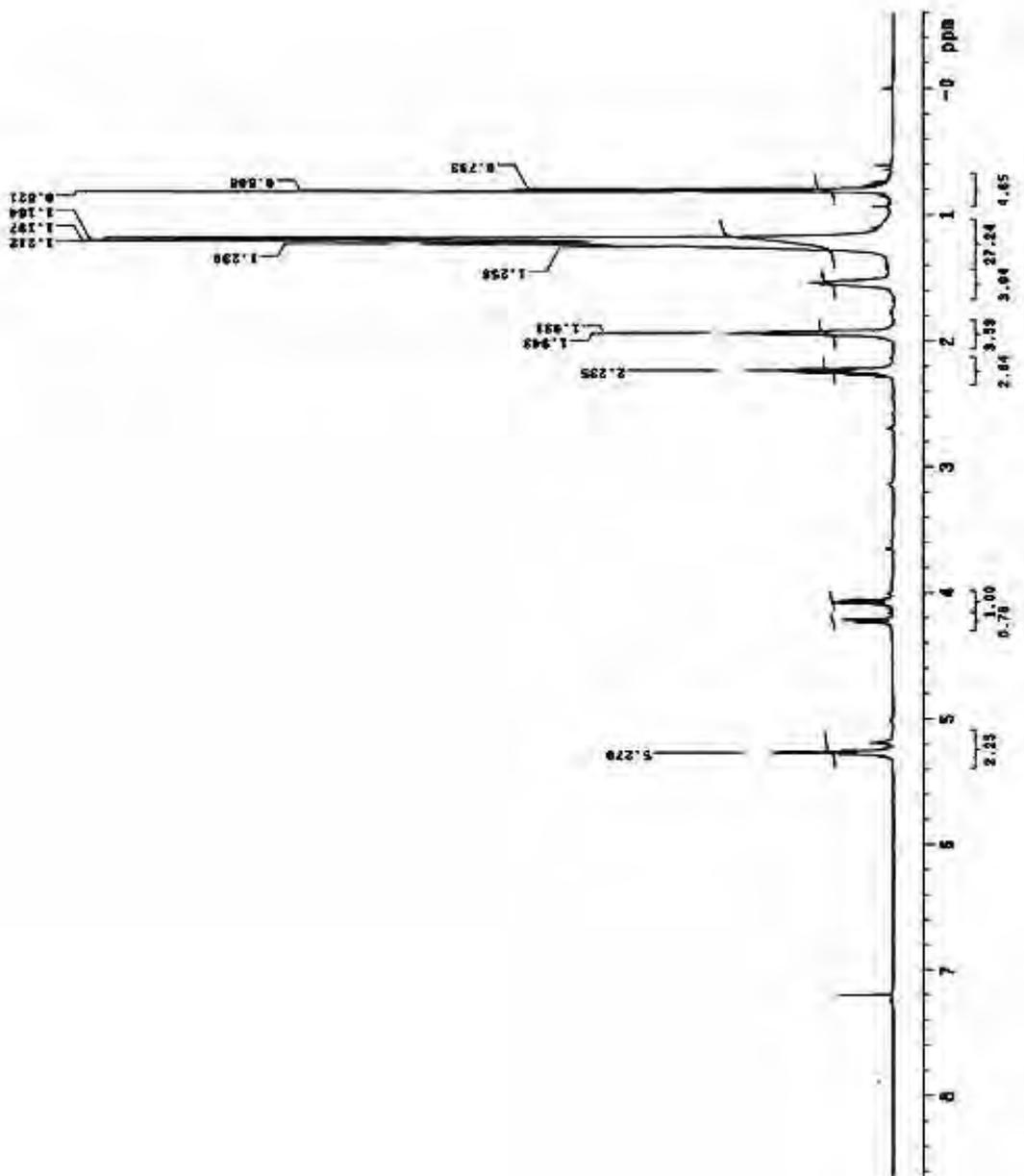
74 HAMILTON, R. J. **Lipid analysis in oils and fats**. 1998. 385 p.

75 CAPITANI, D.; SEGRE, A. L.; DREHER, F.; WALD, P.; LUISI, P. L. Multinuclear NMR investigation of phosphatidylcholine organelles. **Journal Physical Chemistry**, v. 100, n. 37, p. 15211-15217, 1996.

76 SIMINOVITCH, D. J.; WONG, P. T. T.; MANTSCH, H. H. High-pressure infrared spectroscopy of ether- and ester-linked phosphatidylcholine aqueous dispersions. **Journal of Biophysical Society**, v. 51, p. 465-473, 1987.

77 ZULL, J. E.; GREANOFF, S.; ADAM, H. K. Interaction of egg lecithin with cholesterol in the solid state. **Biochemistry Journal**, v. 7, n. 12, p. 4172–4176, 1968.

78 RATHJEN, T.; LANGE, R.; STEINHART, H. Analysis of lecithin by near-infrared spectroscopy. **Fett/Lipid**, v. 23, p. 130-135, 1984.

ANEXO A – Espectro de ^1H para a lecitina de mamão

ANEXO B - Espectro de ^1H para lecitina de mamão após ampliação no intervalo de 4,1-5,3 ppm.



ANEXO C - Espectro de ^1H para lecitina de mamão após ampliação no intervalo de 0,8-2,2 ppm.

